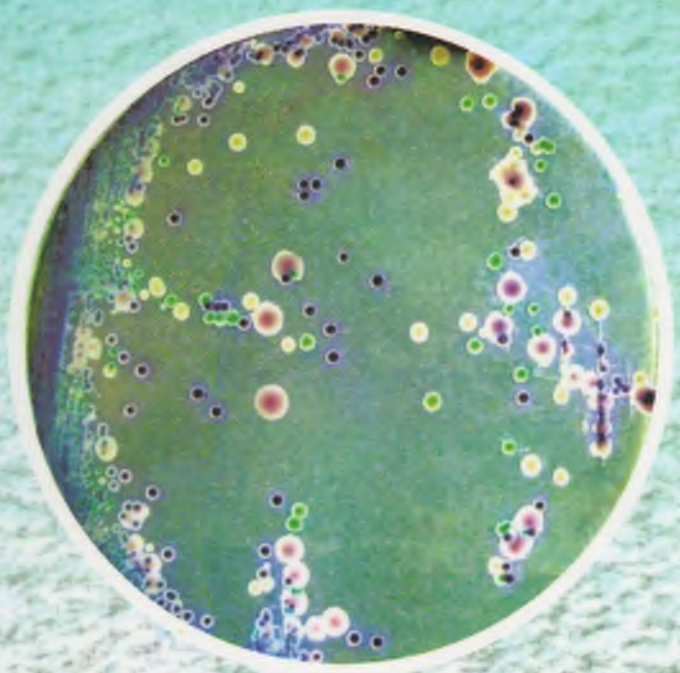
УЧЕБНИК ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ВУЗОВ

Медицинская микробиология, вирусология и иммунология



Под редакцией
профессора
МУХАМЕДОВА И.М.

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ

ПОД РЕДАКЦИЕЙ
ПРОФЕССОРА И.М. МУХАМЕДОВА

TOSHKENT TIBBIYOT AKADEMIYASI
URGANCH FILIALI
AXBOROT RESURS
MARKAZI
"___" ___ 200__ yil.
№ 23460

Ташкент
«Янги аср авлоди»
2011

УДК 579 61 (075)
ББК 5254+52. 63 Я 7
М - 39

Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник под редакцией И.М.Мухамедова –Т.: «Янги аср авлоди» 2011, 896 стр.

ISBN 978-9943-08-721-7

Учебник написан коллективом кафедры «Микробиологии, вирусологии и иммунологии» Ташкентской и Московской медицинской Академии, в соответствии с официально утвержденными программами преподавания микробиологии на всех факультетах медицинских ВУЗов Узбекистана.

В учебнике учтены новые данные по классификации микробов (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition, 2001), решение 7-го Международного конгресса по таксономии вирусов о вступлении в силу новой классификации вирусов с января 2002 г, а также перечень микробов и диагностических исследований. Учебник состоит из 21 глав, в которых последовательно разбираются вопросы общей и частной микробиологии, вирусологии и иммунологии. Включены главы по противомикробным препаратам, особенностям иммунитета при различных состояниях организма, клинической микробиологии.

Учебник рекомендован для студентов медицинских ВУЗов всех факультетов, а также врачей, магистров и клинических ординаторов всех специальностей.

УДК 57961 (075)
ББК 5254+52. 63 Я 7
М –39

Под редакцией
Профессора **И.М. Мухамедова**

Рецензенты

Т.А. ДАМИНОВ,
зав. кафедрой «Инфекционных и детских инфекционных болезней с эпидемиологией» Ташкентской медицинской академии, академик АН РУз, профессор.

Х.И. ИСХАКОВА,
зав. кафедрой «Микробиологии, вирусологии и иммунологии» Ташкентского института усовершенствования врачей, доктор мед. наук, профессор

ISBN 978-9943-08-721-7

© **Медицинская микробиология, вирусология и иммунология:** Учебник под редакцией И.М.Мухамедова -Т.: «Янги аср авлоди» 2011.

АВТОРСКИЙ КОЛЛЕКТИВ

Мухамедов Иламан Мухамедович — доктор медицинских наук, профессор, академик Российской Академии медико-технических наук, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Ташкентской медицинской академии. Автор более 300 печатных работ, в том числе учебников, учебных пособий, монографий.

Воробьев Анатолий Андреевич — доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки, трижды лауреат государственных премий, академик РАМН и РАМТН, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Московской медицинской академии имени И.М. Сеченова. Автор более 500 печатных работ, в том числе учебников, учебных пособий, монографий.

Рахмонова Санобар Собировна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней с курсом аллергологии. Заместитель директора Ургенчского филиала Ташкентской медицинской академии.

Миронов Андрей Юрьевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Московской медицинской академии имени И.М. Сеченова, академик РАМТН. Автор более 200 печатных работ, в том числе учебников, учебных пособий, монографий.

Зокиров Мухсин Мухтарович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии Ташкентской медицинской академии. Старший научный сотрудник лаборатории по контролю качества и стандартизации лекарственных препаратов Минздрава РУз.

Баженова Светлана Семеновна — старший преподаватель кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Ташкентской медицинской академии.

Дамирова Шахноза Бадриддиновна — кандидат медицинских наук, докторант кафедры ортодонтии и детской стоматологии Института усовершенствования врачей.

Алиев Шавкат Рузиматович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Ташкентской медицинской академии.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ 14

ЧАСТЬ I. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

ГЛАВА 1. ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ
Мир микробов и его роль в жизни человека 17
Микробиология – наука о микробах 19
Иммунология – сущность и задачи 21
Связь микробиологии с иммунологией 21
История развития микробиологии и иммунологии 22
Эвристический период 22
Морфологический период 22
Физиологический период 24
Иммунологический период 26
Молекулярно-генетический период 27
Вклад ученых России в развитии микробиологии и иммунологии 28
Вклад учёных Узбекистана в развитии микробиологии и иммунологии 30
ГЛАВА 2. КЛАССИФИКАЦИЯ И МОРФОЛОГИЯ МИКРОБОВ
Систематика и номенклатура микробов 34
Классификация и морфология бактерий 35
Формы бактерий 37
Структура бактериальной клетки 40
2.1. Строение и классификация грибов 47
2.2. Строение и классификация простейших 51
2.3. Строение и классификация вирусов 55
ГЛАВА 3. ФИЗИОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ 60
Механизмы питания бактерий 60
Секреция продуктов жизнедеятельности бактериальной клеткой 63
Способы питания 64
Ферменты 66
Метаболизм 67
Отношение бактерий к кислороду 68
Рост и способы размножения бактерий 69
Условия культивирования бактерий 73
Особенности физиологии грибов и простейших 74
Физиология вирусов 75
Репродукция вирусов 75
«Раздевание» (депротеинизация) вирусов. 77
Абортивный тип взаимодействия вирусов с клеткой 82
Интегративный тип взаимодействия вирусов с клеткой (вирогения) 83
Культивирование вирусов 83
Бактериофаги (вирусы бактерий) 87
ГЛАВА 4. ЭКОЛОГИЯ МИКРОБОВ – МИКРОЭКОЛОГИЯ 92
4.1. Распространение микробов в окружающей среде 92
Микрофлора почвы 92
Микрофлора воды 93
Микрофлора воздуха 93
Микрофлора продуктов питания 94
Микрофлора растительного лекарственного сырья. фитопатогенные микробы 95
Микрофлора производственных, бытовых и медицинских объектов 97

Роль микробов в круговороте веществ в природе 97
4.2. Микрофлора организма человека. 98
Биология полости рта. Принципы классификация микробов. 98
Классификация микрофлоры полости рта 102
Характеристика факультативно-анаэробной микрофлоры полости рта 105
Микрофлора кожи 111
Нормофлора ЖКТ. Микрофлора желудка 112
Микрофлора тонкой кишки 112
Микробиоценоз толстой кишки 113
Физиологические функции нормальной микрофлоры ЖКТ 114
Основные представители нормальной микрофлоры 117
Бифидобактерии 118
Лактобактерии 119
Энтеробактерии 121
Эшерихии 121
Протеи 122
Клебсиеллы 123
Энтеробактеры 124
Цитробактеры 124
Стрептококки 125
Стафилококки 126
Клостридии 127
Псевдомонады 128
Пропионибактерии и эубактерии 129
Пептококки и пептострептококки 129
Вейллонеллы 130
Грибы Кандида 130
Микробная экология влагалища 132
Вагинальная среда. 133
Нормальная вагинальная микрофлора 136
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА МИКРОБЫ 139
5.1. Влияние физических факторов 139
Влияние химических веществ 140
Влияние биологических факторов 140
5.2. Уничтожение микробов в окружающей среде 141
Стерилизация 141
Дезинфекция 144
Асептика и антисептика 146
5.3. Санитарная микробиология 146
Микробиологический контроль воздуха 149
Микробиологический контроль продуктов питания 149
Микробиологический контроль лекарственных средств 151
ГЛАВА 6. ГЕНЕТИКА МИКРОБОВ 152
Строение и репликация генома бактерий 152
Расшифрованные геномы 153
Репликация ДНК 153
Репликация линейных геномов 154
Изменчивость генома у бактерий 154
Мутации у бактерий 155
Особенности генетики вирусов 158
Применение генетических методов в диагностике инфекционных болезней: метод молекулярной гибридизации, полимеразная цепная реакция. 163
ГЛАВА 7. БИОТЕХНОЛОГИЯ. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ 168
Сущность биотехнологии. Цели и задачи 168

Краткая история развития биотехнологии 171
Микроорганизмы и процессы, применяемые в биотехнологии 172
Генетическая инженерия и область ее применения в биотехнологии 173
ГЛАВА 8. ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ 176
Химиотерапевтические препараты 176
Антибиотики 177
Источники и способы получения антибиотиков 177
Классификация антибиотиков по химической структуре 178
Синтетические противомикробные химиопрепараты 180
Механизмы действия противомикробных химиопрепаратов 182
Ингибиторы синтеза клеточной стенки 182
Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот 183
Ингибиторы функций ЦПМ 183
Осложнения при антимикробной химиотерапии 183
Лекарственная устойчивость бактерий 185
Генетические основы приобретенной резистентности 185
Реализация приобретенной устойчивости 186
Определение чувствительности бактерий к антибиотикам 187
Основы рациональной антибиотикотерапии 187
Противовирусные средства 188
Антисептические и дезинфицирующие вещества 190
ГЛАВА 9. УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ. 192
Инфекционный процесс и инфекционная болезнь 193
Стадии и уровни инфекционного процесса 194
Понятие об инфекционной болезни 196
Свойства микробов – возбудителей инфекционного процесса 196
Свойства патогенных микробов 197
Факторы патогенности микробов 202
Токсины бактерий 206
Генетическая регуляция факторов патогенности 215
Влияние факторов окружающей среды на реактивность организма. Роль реактивности макроорганизма в возникновении и развитии инфекционного процесса 217
Влияние биологических и социальных факторов окружающей среды на реактивность макроорганизма 221
Характерные особенности инфекционных болезней 224
Формы инфекционного процесса 228
Особенности формирования патогенности у вирусов. Формы взаимодействия вирусов с клеткой. Особенности вирусных инфекций 230
9.1. Понятие об эпидемическом процессе 237
Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней 240
Понятие о конвенционных (карантинных) и особо опасных инфекциях 242
9.2. История становления противочумной службы Узбекистана и её вклад в борьбу с карантинными и особо опасными инфекциями 243

ЧАСТЬ II. УЧЕНИЕ ОБ ИММУНИТЕТЕ

ГЛАВА 10. ВВЕДЕНИЕ В ИММУНОЛОГИЮ 252
Развитие иммунологии в Узбекистане 256
Иммунная система человека 262
Основные формы иммунитета 282
Особенности местного иммунитета 289
Факторы неспецифической защиты организма 300
Биологические эффекты комплемента на организм 310
ГЛАВА 11. АНТИГЕНЫ И ИММУННАЯ СИСТЕМА ЧЕЛОВЕКА. 319

Свойства антигенов ... 319
Антигенность ... 319
Иммуногенность ... 321
Специфичность ... 324
Антигены организма человека ... 327
Антигены гистосовместимости ... 329
Опухолевые антигены ... 330
Антигены микробов ... 331
ГЛАВА 12. ПРИРОДА АНТИТЕЛ ... 334
Классы и подклассы иммуноглобулинов ... 341
Свойства антител ... 347
Динамика антителопродукции ... 348
Теории образования антител ... 350
ГЛАВА 13. ИММУНОДЕФИЦИТЫ (ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ) ... 352
Первичные иммунодефициты ... 352
Недостаточность системы фагоцитоза ... 353
Болезни системы комлемента ... 353
Вторичные или приобретенные иммунодефициты ... 355
Аутоиммунные заболевания ... 356
Аллергические болезни ... 359
ГЛАВА 14. ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА ... 367
Иммунодиагностические методы ... 375
Реакции антиген-антитело ... 376
Иммунологические методы с использованием меченных антител или антигенов. ... 383
ГЛАВА 15. ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ ... 387
Иммунобиологические препараты на основе специфических антител. ... 397

ЧАСТЬ III. **СПЕЦИАЛЬНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ**

ГЛАВА 16. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
Организация микробиологической и иммунологической лабораторий ... 405
Оснащение микробиологической и иммунологической лабораторий ... 407
Правила работы в микробиологической лаборатории ... 412
Принципы микробиологической диагностики инфекционных болезней ... 413
Методы микробиологической диагностики бактериальных инфекций ... 416
Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций ... 420
Особенности микробиологической диагностики микозов ... 421
Особенности микробиологической диагностики протозойных инфекций ... 422
Принципы иммунологической диагностики болезней человека ... 422
ГЛАВА 17. ЧАСТНАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ
17. 1. Кокки ... 425
Аэробные грамположительные кокки ... 426
СЕМЕЙСТВО MICROCOCCACEAE ... 427
Стафилококки (род Staphylococcus). Общая характеристика. ... 427
Госпитальная стафилококковая инфекция ... 430
Семейство Streptococcaceae ... 433
Стрептококки (род Streptococcus). Общая характеристика ... 433
ЭНТЕРОКОККИ (РОД ENTEROCOCCUS) ... 446
Аэрококки (род Aerococcus), лейконостоки (род Leuconostoc), педиококки (род Pediococcus) и лактококки (род Lactococcus) ... 447
АЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ КОККИ
Нейссерии (род Neisseria) ... 449
Менингококки ... 450

Гонококки 455
Общая патология гонореи 457
Гонорея как смешанная инфекция 461
Экстрагенитальная гонорея 462
Диссеминированная гонорейная инфекция 464
АНАЭРОБНЫЕ КОККИ
Анаэробные грамположительные кокки 467
Анаэробные грамотрицательные кокки 468
Вейлонеллы (род Veillonella) 468
17.2. Палочки грамотрицательные факультативно-анаэробные 469
Энтеробактерии (семейство Enterobacteriaceae) 469
Эшерихии (род Escherichia) 471
Клебсиеллы (род Klebsiella) 474
Шигеллы (род Shigella) 475
Сальмонеллы (род Salmonella) 478
Возбудители брюшного тифа и паратифов (S.Typhi, S.Paratyphi B, S. Paratyphi A) 481
Сальмонеллез (S. Typhimurium, S. Enteritidis, S. Choleraesuis) 482
Протеи (род Proteus) 484
Возбудитель чумы (Y. pestis) 485
Энтеропатогенные иерсинии 489
1. Возбудитель псевдотуберкулеза (Y. pseudotuberculosis) 489
2. Возбудитель кишечного иерсиниоза (Y. enterocolitica) 491
Вибрионы (семейство Vibrionaceae) 492
Вибрионы холеры (род Vibrio) 492
Возбудитель холеры (Vibrio cholerae) 492
Вибрионы парагемолитические (род Vibrio) 496
Представители родов Aeromonas, Plesiomonas 496
СЕМЕЙСТВО PASTEURELLACEAE
Гемофильные бактерии (род Haemophilus). 499
Haemophilus influenzae биовар aegyptius 503
Haemophilus ducreyi 504
Другие виды бактерий рода Haemophilus 505
Пастереллы (род Pasteurella) 506
ДРУГИЕ РОДЫ
Возбудитель донованоза (род Calymmatobacterium) 507
Эйкенеллы (род Eikenella) 507
17.3. Палочки грамотрицательные аэробные
Бордетеллы (род Bordetella) 508
Патогенез коклюша 512
Серологические методы 516
Bordetella bronchiseptica. Bordetella avium 516
Бруцеллы (род Brucella) 517
Франциселлы (род Francisella) 522
Легионеллы (род Leogionella) 525
Бартонеллы (род Bartonella) 530
Аэробные неферментирующие грамотрицательные палочки 531
Псевдомонады (род Pseudomonas) 532
Буркхольдерии (род Burkholderia) 535
Кингеллы (род Kingella) 537
Ацинетобактер (род Acinetobacter) 540
17.4. Палочки грамотрицательные анаэробные 540
Бактероиды (род Bacteroides) 541
Порфиромонады (род Porphyromonas) 542
Лептотрихии (род Leptotrichia) 543
Фузобактерии (род Fusobacterium) 544

Селеномонады (род Selenomonas) 544
17. 5. Палочки спорообразующие грамположительные
Сибиреязвенные бациллы (род Bacillus) 549
Микробиологическая диагностика. 552
Спорообразующие бактерии рода Clostridium 553
Клостридии столбняка (Clostridium tetani) 554
Клостридии ботулизма (Clostridium botulinum) 558
Клостридии газовой гангрены 561
Clostridium perfringens 562
Clostridium novyi 564
Clostridium histolyticum 565
Clostridium septicum 566
Clostridium sporogenes 568
Clostridium sordellii 568
Clostridium fallax 568
Clostridium bifermentans 569
Клостридии диффициле (Clostridium difficile) 571
17.6. Палочки грамположительные правильной формы
Лактобациллы (род Lactobacillus) 572
Листерии (род Listeria) 573
17.7. Палочки грамположительные неправильной формы, ветвящиеся бактерии
Коринебактерии (род Corynebacterium) 575
Возбудитель дифтерии (Corynebacterium diphtheriae) 575
Коринеформные бактерии 583
Микобактерии (сем. Mycobacteriaceae) 585
Возбудители туберкулеза (Mycobacterium tuberculosis и др.) 586
Возбудитель лепры (Mycobacterium leprae) 594
Возбудители микобактериозов 599
Актиномицеты (род Actynomyces) 602
Нокардии (род Nocardia) 604
БИФИДОБАКТЕРИИ, ЭУБАКТЕРИИ, ПРОПИОНИБАКТЕРИИ, ГАРДНЕРЕЛЛЫ, МОБИЛУНКУСЫ
Бифидобактерии (род Bifidobacterium) 608
Эубактерии (род Eubacterium) 608
Гарднереллы (род Gardnerella). Введение 609
Гарднереллез верхних половых путей. 612
Мобилункусы (род Mobiluncus) 619
17. 8. Спирохеты и другие спиральные, изогнутые бактерии 620
Трепонемы (род Treponema) 620
Возбудитель сифилиса (T. pallidum) 621
Клинические проявления сифилиса 624
Другие патогенные трепонемы и вызываемые ими заболевания 631
Боррелии (род Borrelia) 631
Возбудители болезни Лайма (B. burgdorferi, B. garini, B. afzelii) 632
Возбудители возвратных тифов (B. recurrentis, B. duttoni, B. persica) 633
Лептоспиры (род Leptospira) 634
Кампилобактерии (род Campylobacter) 636
Хеликобактерии (род Helicobacter) 637
Спириллы (род Spirillum) 638
17. 9. Риккетсии (семейство Rickettsiaceae) 639
Риккетсии группы сыпного тифа 644
Возбудитель эндемического (крысиного) сыпного тифа (R. typhi) 646
Возбудитель тифа кошачьих блох (R. felis) 647
Риккетсий группы клещевых риккетсиозов. Возбудитель Североазиатского риккетсиоза 647

Возбудитель марсельской лихорадки (R. conori) 648
Возбудитель везикулезного риккетсиоза (R. akari) 649
Возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых гор (R. ricketsii) 650
Ориенции (возбудители лихорадки цуцугамуши) 650
Эрлихии (возбудители эрлихиозов) 651
17. 10. Коксиеллы. Возбудитель лихорадки Ку (Coxiella burnetii) 654
17. 11. Хламидий (семейство Chlamydiaceae) 656
Возбудители пневмонии, бронхита (C. pneumoniae) 662
Возбудители орнитоза (C. psittaci) 664
17. 12. Микоплазмы 665
17. 13. Общая характеристика бактериальных зоонозных инфекций 671
ГЛАВА 18. ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ 674
18. 1 История развития вирусологии в Узбекистане 674
18. 2. РНК-содержащие вирусы. Пикорнавирусы (семейство Picornaviridae) 677
Энтеровирусы 678
Вирусы полиомиелита 680
Вирусы Коксаки А и В 685
Вирусы группы ECHO 685
Риновирусы 686
Вирусы ящура 686
Вирус гепатита А 686
Реовирусы (Семейство Reoviridae) 688
Ротавирусы (род Rotavirus) 689
Ротавирусная инфекция 690
Клинические аспекты ротавирусной инфекции 691
Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго 696
Тогавирусы (семейство Togaviridae) 697
Вирусы рода Alphavirus 698
Вирус лихорадки Синдбис 700
Вирус лихорадки леса Семлики. 700
Вирус лихорадок Чикунгунья и О Ньонг-Ньонг 701
Вирусы энцефаломиелитов лошадей 701
Вирус краснухи 703
Флавивирусы (семейство Flaviviridae) 706
Вирусы рода Flavivirus 706
Вирус желтой лихорадки 709
Вирус клещевого энцефалита 710
Вирус омской геморрагической лихорадки 713
Вирус болезни леса Киассанур 715
Вирус лихорадки денге 716
Вирус японского энцефалита 718
Вирус лихорадки Западного Нила 720
Ортомиксовирусы (вирусы гриппа) 721
История 722
Структура и свойства 722
Международная система кодировки вирусов гриппа 724
Антигенная изменчивость вирусов гриппа 724
Как происходит заражение гриппом 725
Разброс аэрозольных частиц при чихании 725
Симптомы 728
Клиническая диагностика 730
Осложнения и последствия гриппа 731
Госпитализация и смертность при гриппе 732
Статистика заболевания гриппом в России 733

Эпидемиология 733
Парамиксовирусы (семейство Paramyxoviridae) 736
Вирусы парагриппа 737
Вирус эпидемического паротита 738
Вирус кори и ПСПЭ 739
Респираторно-синцитиальный вирус 741
Рабдовирусы (семейство Rhabdoviridae) 742
Вирус бешенства 742
Вирус везикулярного стоматита 745
Филовирусы (семейство Filoviridae) 745
История открытия и случаи заболеваний 746
Симптомы заболевания у людей (на примере вируса Эбола) 749
Строение вируса и его генома 750
Вирусные белки. 751
Ретровирусы (семейство Retroviridae) 753
Вирус иммунодефицита человека 753
Строение и жизненный цикл вируса СПИДа 755
Этапы заражения клетки вирусом СПИДа 758
Аренавирусы (семейство Arenaviridae) 766
Вирусы лимфоцитарного хориоменингита, Ласса, Хунин, Мачупо и др. 767
Калицивирусы (семейство Caliciviridae) 768
Вирус гепатита Е 768
18.3. ДНК-содержащие вирусы. Парвовирусы (семейство Parvoviridae) 769
Паповавирусы (семейство Papovaviridae) 770
Папилломавирусы человека 771
Полиомавирусы человека 772
Аденовирусы (семейство Adenoviridae) 772
Гепаднавирусы (семейство Hepadnaviridae, вирус гепатита В). 774
Герпесвирусы (семейство Herpesviridae) 778
Вирусы простого герпеса 780
Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса 783
Вирус Эпштейна – Барр 784
Вирус цитомегалии 786
Поксвирусы (семейство Poxviridae) 787
Другие поксвирусы, поражающие человека 793
Цирциновирусы (семейство Circinoviridae – TTV) 794
18.4. Медленные вирусные инфекции и прионные болезни 794
18. 5. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций 797
18. 6. Возбудители вирусных острых кишечных инфекций 802
18. 7. Возбудители парентеральных вирусных гепатитов В, D, C, G 802
Вирус гепатита D 802
Вирус гепатита С 802
Вирус гепатита G 803
18. 8. Онкогенные вирусы 803
РНК-содержащие онкогенные вирусы 804
Вирусы Т-клеточного лейкоза человека 806
ДНК-содержащие онкогенные вирусы 806
ГЛАВА 19. ЧАСТНАЯ МИКОЛОГИЯ 809
19.1. Возбудители поверхностных микозов 809
Возбудитель разноцветного лишая. (Malassezia furfur) 809
Возбудитель черного лишая (Exophiala werneckii) 810
Возбудитель черной пьедры (Piedraia hortae) 810
Возбудитель белой пьедры (Trichosporon beigelii) 811
19. 2. Возбудители эпидермофитии 811

Возбудители микроспории (род Microsporum) 815
Возбудители трихофитии (род Trichophyton) 815
Возбудитель фавуса (Trichophyton schoenleinii) 815
Возбудитель эпидермофитии паховой (Epidermophyton floccosum) 816
Возбудитель эпидермофитии стоп (Trichophyton interdigitale) 816
Возбудитель руброфитии (Trichophyton rubrum) 816
19. 3. Возбудители подкожных или субкутанных микозов 816
Возбудитель споротрихоза. (Sporothrix schenckii) 817
Возбудители хромобластомикоза 818
Возбудители феогифомикоза 818
Возбудители мицетомы 819
19. 4. Возбудители системных или глубоких микозов 819
Возбудитель бластомикоза (Blastomyces dermatitidis) 821
Возбудитель кокцидиоидоза (Coccidioides immitis) 822
Возбудитель паракокцидиоидоза (Paracoccidioides brasiliensis) 824
Возбудитель криптококкоза (Cryptococcus neoformans) 825
Возбудители адиаспиромикоза (Emmonsia crescens, E. parva) 827
19. 5. Возбудители оппортунистических микозов 828
Возбудители кандидоза (род Candida) 829
Возбудители зигомикоза 830
Возбудители аспергиллеза (род Aspergillus) 831
Возбудители пенициллиоза (род Penicillium) 832
Возбудители фузариоза (род Fusarium) 833
Возбудитель пневмоцистоза (Pneumocystis carinii) 834
19.6. Возбудители микотоксикозов 834
19. 7. Неклассифицированные патогенные грибы 837
ГЛАВА 20. ЧАСТНАЯ ПРОТОЗООЛОГИЯ 838
Саркодовые (амебы) 838
Возбудитель амебиаза (Entamoeba histolytica) 839
Свободноживущие патогенные амебы 841
Жгутиконосцы 842
Лейшмании (род Leischmania) 842
Трипаносомы (род Tripanosoma) 844
Лямблии, или гиардии (род Lamblia, или Giardia) 846
Трихомонады (род Trichomonas) 847
Споровики 848
Плазмодии малярии (род Plasmodium) 848
Токсоплазмы (род Toxoplasma) 851
Саркоцисты (род Sarcocystis) 853
Изоспоры (род Isospora) 854
Криптоспоридии (род Cryptosporidium) 854
Циклоспоры (род Cyclospord) 856
Бабезий (род Babesia) 857
Ресничные 858
Балантидии (род Balantidium) 858
Микроспоридии (тип Microspord) 859
Бластоцисты (род Blastocystis) 860
ГЛАВА 21. КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ 861
Понятие о внутрибольничной инфекции 861
Понятие о клинической микробиологии 862
Этиология ВБИ 862
Эпидемиология ВБИ 864
Патогенез ВБИ 864
Клиника ВБИ 865

Микробиологическая диагностика ВБИ 866
Правила забора, хранения и транспортировки материала 867
Обобщенная (типовая) схема выделения возбудителей оппортунистических инфекций 869
Критерии этиологической значимости выделенной чистой культуры 870
Диагностика бактериемии и сепсиса 872
21. 11. Диагностика инфекций мочевыводящих путей 874
Диагностика инфекций нижних дыхательных путей 877
Диагностика инфекций верхних дыхательных путей 880
Диагностика менингитов 880
Диагностика воспалительных заболеваний женских половых органов 881
Диагностика острых кишечных инфекций и пищевых отравлений 883
Диагностика раневой инфекции 885
Диагностика воспалений глаз и ушей 886
Микрофлора полости рта и ее роль в патологии человека 888
Роль микроорганизмов при заболеваниях челюстно-лицевой области 890
ЛИТЕРАТУРА 894

ПРЕДИСЛОВИЕ

С приобретением независимости Узбекистан выбрал путь свободного развития и приступил к созданию нового общества, нового государства, опирающиеся на демократические принципы, основы рыночной экономики.

Основным направлением деятельности органов и учреждений, здравоохранения на современном этапе является выполнение задач возложенных Указом Президента Республики Узбекистан от 10 ноября 1998 г №УП-2107 «О государственной программе реформирования системы здравоохранения Республики Узбекистан», директивными документами Правительства и самой жизнью в деле охраны здоровья населения. Реализация основных направлений в развитии здравоохранения требует от организаторов здравоохранения успешное использование накопленного опыта, новых знаний по совершенствованию планирования и управления здравоохранением, умелого использования экономических механизмов, изыскания резервов и организации условий по экономическому стимулированию медицинских учреждений.

Новая модель финансирования и управления здравоохранением предъявляет новые требования к медицинским работникам, вводит их в принципиально новую систему отношений, определяющие юридические, экономические, организационные, социально-психологические основы профессиональной деятельности.

Прежде чем приступить к изучению той или иной науки, каждый будущий специалист должен убедиться в том, что эти знания действительно необходимы для его успешной деятельности.

Для чего нужно будущему врачу изучать микробиологию, вирусологию и иммунологию? Во первых, чтобы узнать о природе так называемых заразных болезней, о том, какие микроорганизмы и каким образом их вызывают. Во вторых, для овладения современными методами их диагностики, эффективными способами профилактики и лечения. Все эти вопросы, безусловно, имеют огромное прикладное значение. Наконец, изучение иммунологии даёт возможность познать, какими мощными естественными механизмами самозащиты и самоисцеления обладает наш организм, с помощью которых, главным образом, поддерживается на протяжении всей жизни состояние здоровья и осуществляется противостояние болезням.

Микробиология, вирусология и иммунология относятся к базовым дисциплинам, знание которых необходима каждому врачу, каждому медицинскому работнику, так как эти науки решают или способствуют решению важныхаспектов клинической, медико-профилактической и теоретической медицины.

Общество перешло в XXI век своего развития. В наше время без знания микробиологии, иммунологии и вирусологии уже невозможно решение таких важных проблем медицины, как снижение инфекционных болезней, искоренение внутрибольничных заболеваний, вызванных условно–патогенными микроорганизмами, лечение и профилактика аллергических и иммунологических проявлений, прогресс в диагностике и лечении онколо-

гических болезней, решение проблем трансплантации органов и тканей, репродукции в акушерстве и гинекологии и многих задач в хирургии и других клинических дисциплинах, а также санитарно-гигиенических и экономических вопросов. Следует заметить и иметь ввиду, что около 70% всех регистрируемых заболеваний приходится на инфекционные, а в патогенезе многих неинфекционных болезней, таких как : злокачественные новообразования, атеросклероз, психические, нервные, аутоиммунные и другие, непосредственную или косвенную роль играют микробы. Решение проблем вышеуказанных патологий, разумеется, почти невозможно без знаний микробиологических аспектов их этиологий, патогенеза, профилактики и терапии.

По видимому, одним из главных достижений современной медицины, как биологической науки, является бурное развитие иммунологии. Сначала возникнув в недрах инфектологии, она создала необходимый базис для формирования фундаментальной дисциплины, изучающей вопросы регуляции не только иммунологического гомеостаза, но и гомеостаза вообще. Выявились тесные связи иммунной системы, а точнее, функциональное единство с нервной, эндокринной, и другими системами, участие в процессе оплодотворения и беременности, различных типах метаболизма, в регламентации продолжительной жизни индивида и т.д. В последние несколько десятков лет был установлен факт развития иммунных расстройств параметров от уровня функциональной нормы, что является причиной или следствием различных патологических реакций, но в любом случае фактором утяжеления, хронизации его. Устранение подобных нарушений повышает эффективность традиционного лечения, способствует выздоровлению или достижению продолжительности ремиссии заболевания. Это привело к созданию принципиально нового класса лекарственных средств (иммуннокорректоров), организации сети лабораторий клинической иммунологии, организация научно – исследовательского института иммунологии при АН РУз. Следует признать, что в этих достижениях по совершенствованию иммунологической науки, наряду с другими учёными, особый вклад внесён заслуженным деятелем науки Руз, доктором медицинских наук, профессором Гариб Феруз Юсуповичем.

Микробиология в настоящее время по праву может считаться одной из основных дисциплин биологии, поскольку без знания особенностей микроорганизмов нельзя понять всего многообразия жизни на Земле, условия её появления и эволюции.

Возникновение и быстрое развитие биотехнологии, приобретающей всё большое значение в народном хозяйстве, базируется, прежде всего, на использовании микроорганизмов как продуцентов множества полезных веществ, как то: кормового белка, многих ферментов, антибиотиков, стероидных препаратов, аминокислот, витаминов и др. Возможности микро- организмов в этом отношении чрезвычайно велики. На использовании микроорганизмов основаны методы генетической инженерии, позволяющие создавать новые штаммы, обладающие полезными свойствами и образующие ряд важных веществ.

Поскольку микробиология, вирусология и иммунология лежат на стыке клинических, медико-профилактических и теоретических дисциплин, преподавание их студентам медицинских ВУЗов ведётся на всех факультетах. В связи с чем, составлены, утверждённые МинВУЗом и Минздравом РУЗ, программы по преподаванию микробиологии, вирусологии, иммунологии. Эти программы разработаны с учётом профиля, специфики и объёма знаний необходимого студентам каждого факультета.

Нельзя не отметить, что все эти программы базируются на достижениях мировой микробиологической науки, но они особенно близки с программами по медицинской микробиологии Российской Федерации. Видимо, это неслучайно, так как студенты медицинских ВУЗов Узбекистана широко используют учебники подготовленные ведущими микробиологами России.

В настоящее время, среди огромного арсенала учебной литературы, изданных в России, особой популярностью пользуются учебники:

1. Учебник «Микробиология» (для фармацевтических факультетов и медвузов). /А.А. Воробьёв, А.С. Быков, Е.Н. Машков, А.М. Рыбаков, С.А. Дратвин, Н.Г. Ожерельева – Москва, Медицина, 2003 г./
2. Учебник «Микробиология и иммунология» для сестринского факультета. /под редакцией А.А. Воробьёва, Москва, Медицина, 1999 г./
3. Атлас по «Микробиологии и иммунологии» /под редакцией А.А. Воробьёва и А.С. Быкова, Издательство Диамформ, МИА, 2003 г/
4. Учебник «Медицинская микробиология» /под редакцией В.И. Покровского, Издательство Геотар, Мед-2001г/
5. Учебное пособие «Медицинская микробиология, вирусология и иммунология» / А.Б. Борисов, М. МИА, 2001 г./
6. «Медицинская и санитарная микробиология» А.А. Воробьёва, Ю.С. Кривошеина, В.П. Широбокова, М. Изд «Академия», 2003 г.
7. Учебник «Медицинская микробиология, вирусология и иммунология» /под редакцией А.А. Воробьёва, Москва, МИА, 2004 г./

Учитывая, что микробиология, вирусология и иммунология, так же как и другие науки, стремительно развивается, появляются новые дополнения к таксономии микроорганизмов, а объём знаний удваивается через каждые 5-10 лет, для преподавания этих дисциплин на современном научном уровне больше всего отвечает учебник «Медицинская микробиология, вирусология и иммунология» под редакцией одного из ведущих учёных России, имя которого известно во многих странах мира, академика международных академий, академика РАМН, РАМТН, заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, А.А. Воробьёва.

С учетом вышеизложенного, вполне уместно отметить, что в создании данного учебника приняли участие из числа ведущих ученых микробиологов академик РАМН Воробьев Анатолий Андреевич и академик РАМТ //Миронов Андрей Юрьевич. Таким образом, этот учебник, представляет из себя совместное издание узбекских и российских ученых, который значительно поднял качество и содержание данного учебного издания и по существу отвечает международным стандартам.

Уже сейчас мы, преподаватели медицинских ВУЗов Узбекистана, с удовлетворением отмечаем возросшую ответственность студентов, желание и стремление получить от занятия с педагогами, работы с больными максимум знаний, умений и навыков. Это в высшей степени положительная тенденция, которую следует всемерно поддерживать и развивать. Правы те, кто понимает простую, но глубокую мысль: неуверенность в себе обесценивает знания, а самоуверенность делает опасным незнание.

В 1998 году Указом Президента Узбекистана о реформировании системы здравоохранения утверждена программа подготовки специалистов с высшим образованием по специальности ВОП. В этом документе определены все необходимые навыки и объём знаний, позволяющие врачу общей практики полноценно выполнять свои профессиональные обязанности.

Всё это учитывали авторы учебника при подготовке данного издания. Именно для будущего врача общей практики создано это учебное издание.

ГЛАВА 1. ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ

Мир микробов и его роль в жизни человека

Наша планета так же, как, по-видимому, и вся Вселенная, состоит из неживой и живой природы, которые находятся в единстве и многообразных формах существования. Живая природа, по Вернадскому, составляет биосферу (от «био» и «сфера»), включающей всех представителей растительного, животного мира и человека, а также результаты и продукты их жизнедеятельности.

По существу, биосфера – это оболочка Земли, состав, структура и энергетика которой обусловлены прошлой и современной деятельностью живых организмов; биосфера охватывает часть атмосферы, гидросферу и верхнюю часть литосферы.

Живые организмы оказывают существенное влияние на газовый состав атмосферы (кислород, азот, углекислый газ), природные воды, известняки, некоторые полезные ископаемые (уголь, нефть), осуществляют круговорот органических и неорганических веществ, выполняют санитарные функции на планете, влияют на климатические условия и другие экологические параметры, в которых существует все живое, в том числе человек.

Все живые существа, обитающие на Земле, можно разделить условно на две большие группы: макромир и микромир. К макромиру относятся все живые существа (растения, животные, насекомые, человек и т.д.), видимые невооруженным глазом, а к микромиру– представители живого мира, находящиеся за пределами разрешающей способности нашего глаза, т.е. которые можно увидеть лишь с помощью оптических или других приборов. Иными словами, деление представителей живой природы на макро- и микромир чисто условно, так как основано на размерах, воспринимаемых или не воспринимаемых органом зрения человека. Размеры отдельных представителей микромира колеблются от 0,01 – 0,4 мкм или 10–400 нм.

Представители мира микробов

Микромир весьма многообразен и многочислен и включает представителей как растительного, так и животного происхождения. К нему относятся бактерии, грибы, простейшие и вирусы. Всех их можно объединить единым термином – микробы. Этот термин ввел французский ученый Седдило в конце XIX в. Молекулярно-биологическая организация, структура, биологические свойства, экология, роль в живой и неживой природе отдельных представителей микробов, т.е. бактерий, грибов, вирусов и простейших, существенно различаются. Их классификация, таксономия будут представлены в гл. 2. Здесь же отметим, что к микробам относятся: одноклеточные и многоклеточные микроорганизмы, имеющие ядро (эукариоты – от греч. karyon – орех, ядро ореха); доядерные микроорганизмы, не имеющие оформленного ядра (прокариоты); сложноустроенные частицы – вирусы, представляющие собой комплекс нуклеиновых кислот, белков, ферментов; инфекционные макромолекулы (дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК) кислоты, инфекционные белки – прионы). Таким образом, по молекулярно-биологической организации микробы существенно различаются: одни из них представляют собой

молекулы (ДНК, РНК, прионы) или сложные частицы (вирусы), не способные к самостоятельному существованию, другие – сложно-устроенные организмы, имеющие биологические системы, необходимые для проявления жизнедеятельности и обеспечивающие автономное существование (бактерии, грибы, простейшие).

Сложность молекулярно-биологической организации, биологические особенности представителей микромира обусловлены объемом, т.е. строением и составом, их генома. Так, геном бактерий и грибов включает до 5000 генов, вирусов – до 100 генов, а простейших – примерно 5000–10 000 генов.

Распространенность микробов

Микробы чрезвычайно широко распространены. Они обитают в почве, воде, атмосфере (даже в космосе), а также в организме человека, животных, растений. Видовой состав их очень разнообразен. Например, только бактерий насчитывается более 100 000 видов, грибов – до 250 000 видов. В организме каждого человека обитает до 10^{13-14} только бактерий, не считая грибов, вирусов и простейших, т.е. на каждую клетку организма человека приходится более чем одна бактерийная клетка. Если сложить число бактерий, обитающих в проживающей на Земле человеческой популяции, то мы получим огромную цифру – порядка 10^{25} бактерий. Микробы, населяющие организм каждого человека, составляют его микроэкологию, играющую большую роль как в обеспечении нормальной жизнедеятельности организма, так и в патологии человека. Огромное число микробов, обитающих в окружающей среде (почва, вода, атмосфера, жилые помещения, пищевые продукты и т.д.), а их количество огромно, составляют микроэкологию, которая также влияет на биологические и природные процессы на планете, прежде всего на санитарное благополучие той среды, в которой обитает человек. Подсчитано, что общая биомасса микробов даже превышает биомассу растений и животных.

Между микробами и остальной живой и неживой природой существует взаимосвязь – биоциноз (от bio и греч. koinos – общий), который означает совокупность растений, животных, микробов, населяющих определенный участок суши или водоема. В таких биоценозах обычно обитают виды микробов, которые адаптировались к существующим условиям, определяемым конкретным составом и свойствами растительного и животного мира. Так, одни микробы (бактерии, грибы) находят оптимальные условия для жизнедеятельности в почве (почвенные микроорганизмы), другие – в водоемах (микроорганизмы морей, океанов, рек и озер), третьи – в атмосфере и в космосе.

Биоценотические взаимоотношения существуют и для тех микробов, которые местом своего обитания избрали организм человека, те или иные виды животных и растений. Так, вирусы могут существовать только в клетках человека, животных, растений или в клетках бактерий. Поэтому все вирусы подразделяют на вирусы человека, вирусы животных, растений или вирусы бактерий.

Такое же подразделение применимо и к бактериям, грибам и простейшим, так как одни из них обитают преимущественно в организме человека, другие – в организме животных, третьи – в растениях.

Роль микробов в патологии человека

Взаимоотношение между организмом и микробами может иметь различный характер, т.е. носить форму паразитизма, когда микроб, существуя за счет организма, наносит ему ущерб; или форму симбиоза, выгодного как для организма, так и микроба, т.е. комменса-

лизма. В соответствии с этим, это сожительство может носить положительный или отрицательный характер. Поэтому все микробы подразделяют на патогенные (от греч. patos – болезнь), или болезнетворные, т.е. способные вызвать инфекционное заболевание; условно-патогенные, т.е. которые могут вызвать болезни при определенных условиях; сапрофиты (от греч. sapros– гнилой и phyton – растение), т.е. неболезнетворные (непатогенные) микробы, не вызывающие заболеваний у человека.

Среди огромного числа микробов, патогенных для человека, т.е. вызывающих инфекционные болезни, насчитывается порядка 3500 видов, из которых около 1000 видов являются вирусами- Если учесть, что человек подвержен примерно 10 000 болезней, т.е. самостоятельным нозологическим формам, то на долю инфекционных болезней приходится около одной трети всех заболеваний, которыми страдает человек. Однако на эту одну треть нозоформ приходится примерно 70% всех случаев болезней, регистрируемых у человека.

Микробиология – наука о микробах

Существование мира микробов явилось причиной появления специальной науки микробиологии, основная цель которой – изучение микробов. Разнообразие мира микробов обусловило дифференциацию микробиологии на ряд разделов и направлений (см. таблицу). Так, выделились медицинская микробиология, изучающая микробов (бактерий, грибов, вирусов, простейших), патогенных для человека; ветеринарная микробиология, изучающая соответственно микробов, патогенных для животных; сельскохозяйственная микробиология, изучающая микробов – вредителей растений; морская микробиология, изучающая микробов – обитателей морей, океанов и других водоемов; наконец, в последнее время выделилась космическая микробиология, изучающая представителей микромира, населяющих космическое пространство. Оформилась также техническая микробиология, которая явилась основой биотехнологии, использующей микробов для получения разнообразных продуктов, необходимых для жизни людей (вакцины, диагностикумы, ферменты, сахара, нуклеиновые кислоты и т.д.).

Структура микробиологии

МИКРОБИОЛОГИЯ	
ОБЩАЯ	**ЧАСТНАЯ**
Анатомия (структура микробов) Физиология микробов Биохимия микробов Генетика микробов Эволюция микробов Экология микробов	Медицинская Бактериология Вирусология Микология Протозоология Санитарная микробиология Клиническая микробиология Ветеринарная Сельскохозяйственная Морская Космическая Техническая (биотехнология)

Каждое из этих направлений микробиологии дифференцируется в соответствии с целями, задачами и особенностями изучаемого микромира.

В медицинских Высших учебных заведениях преподается медицинская микробиология, которая, как и всякая наука, делится на общую (по методам и уровню исследования) и на частную (по объекту исследования). Общая медицинская микробиология подразделяется на анатомию (строение), физиологию, биохимию, генетику, экологию и эволюцию микробов, а частная – на бактериологию, вирусологию, микологию, протозоологию.

В последнее время в качестве самостоятельных дисциплин выделились экологическая микробиология, изучающая роль микробов в жизни человека и взаимодействие их с человеком, и клиническая микробиология, разрабатывающая и внедряющая методы и способы микробиологической диагностики, профилактики и специфического лечения в клиниках инфекционных и неинфекционных болезней.

Большое значение имеет точное и всеобъемлющее определение микробиологии как науки. Л. Пастер, в свое время, науку о микробах предлагал назвать «микробией», однако, современное название «микробиология» было предложено французским ученым Дюкло. Сущность микробиологии исторически менялась. Так, В.Л. Омелянский (1915) микробиологию определил как «науку о мельчайших существах – микробах, видимых и изучаемых при помощи микроскопа», В.М. Аристовский и соавт. (1948) – как «самостоятельную биологическую дисциплину, предметом изучения которой является мир мельчайших живых организмов.... доступных исследованию только при помощи микроскопа». В учебнике М.Н. Лебедевой (1960) микробиология определяется как «наука, изучающая жизнь и развитие мельчайших организмов – микроорганизмов в их единстве со средой обитания». В учебнике К.Д. Пяткина (1971) микробиология формулируется как «наука о мельчайших невидимых невооруженным глазом организмах, названных микробами».

Общим недостатком приведенных выше определений является то, что в них представители мира микробов квалифицируются как организмы, в то время как вирусы, которые изучает микробиология, не являются организмами; далее сказано, что микробы изучаются только при помощи микроскопа, тогда как для их изучения применяются самые разнообразные методы молекулярной биологии, биохимии, генетики, иммунологии и других наук. В определениях также не отражена проблема экологии микробов.

Нами (А.А. Воробьев и др., 1994; 1998) микробиология формулируется как «наука о строении, жизнедеятельности и экологии микробов – мельчайших форм жизни растительного и животного происхождения, не видимых невооруженным глазом».

Медицинская микробиология изучает биологические свойства возбудителей инфекционных болезней, т.е. их строение (анатомию), физиологию (условия роста и размножения, обмен веществ, потребности в питании и т.д.), генетику (строение генома, наследственность и изменчивость, генетические факторы, определяющие свойства микробов, и т.д.), этиологию и патогенез вызываемых микробами инфекционных болезней; экологические взаимоотношения, складывающиеся между миром микробов и человеком. В практическом плане микробиология изучает и разрабатывает методы специфической диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней как в инфекционных, так и неинфекционных клиниках. С помощью микробиологических методов проводятся эпидемиологические и санитарно-гигиенические наблюдения и исследования.

Микробиология, как это видно из таблицы, является весьма разветвленной наукой, имеющей связи со многими другими биологическими и медицинскими науками, прежде всего клиническими дисциплинами (инфекционные болезни, хирургия, внутренние болезни, акушерство и гинекология, заболевания мочеполовой системы и др.), медико-профи-

лактическими дисциплинами (эпидемиология, гигиена, экология), а также фундаментальными науками (молекулярная биология, генетика, иммунология, биохимия).

Особенно тесно микробиология связана с иммунологией, которая зародилась в недрах микробиологии.

Иммунология – сущность и задачи

Иммунология относится к числу важнейших общебиологических и медицинских дисциплин, решающих проблемы диагностики, профилактики и лечения как инфекционных, так и неинфекционных болезней, в основе которых лежат нарушения иммунной системы. Сущность иммунологии заключается в изучении механизмов и способов защиты организма от генетически чужеродных веществ – антигенов (от греч. anti – против, genes – род) с целью поддержания и сохранения гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма, а также антигенной индивидуальности каждого организма и вида в целом. Функции иммунной системы, т.е. защиту организма от генетически чужеродных веществ, выполняет лимфатическая система, ее клетки – Т- и В-лимфоциты и фагоцитирующие клетки, а также ряд факторов специфического и неспецифического иммунитета (антитела, комплемент, интерферон – ИФН и др.), которые работают в тесном содружестве, кооперативном взаимодействии. Основной механизм действия иммунной системы сводится к распознаванию «чужого» и «своего» и уничтожении, нейтрализации деструкции и т.д. «чужого». Этим «чужим», т.е. генетически чужеродным веществом, могут быть как экзогенно поступающие в организм антигены (микробного, растительного, животного происхождения, химически синтезированные вещества), так и эндогенно образующиеся антигены (аутоантигены, антигены опухолей, продукты молекулярных и клеточных мутаций и т.д.). Следовательно, иммунная система защищает организм не только от бактерий, вирусов и других микробов, от антигенов растительного и животного происхождения, но и от своих собственных антигенов. Детально о механизмах, реакциях, факторах и процессах в иммунной системе рассказывается в гл. 10. Здесь лишь отметим, что без иммунологии в наши дни невозможно решение многих важных медицинских проблем, таких как борьба с инфекционными болезнями, аллергией, пересадка органов и тканей, диагностика и лечение онкологических болезней, иммунологических конфликтов между матерью и плодом, профилактика и лечение врожденных и приобретенных иммунодефицитов, генотерапия и генопрофилактика многих болезней, связанных с поражением иммунной системы.

Важные задачи, стоящие перед иммунологией, являются стимулом для быстрого развития этой науки.

Связь микробиологии с иммунологией

С открытием микробов и установлением их этиологической роли в возникновении инфекционных болезней, исследователи начали искать пути предупреждения и лечения болезней, вызываемых микробами. Изучались способы уничтожения микробов в окружающей среде (дезинфекция), пресечение путей передачи инфекционного начала, ранней диагностики инфекций, установление роли факторов патогенности и вирулентности бактерий и вирусов в развитии заболевания, патогенеза инфекционного процесса, средств антимикробной терапии и профилактики, проблемы иммунопрофилактики инфекционных болезней. Фундаментальные исследования патогенности, антигенных свойств, изменчивости, штаммовых различий, чувствительности к химиопрепаратам и антибиотикам возбудителей инфекционных болезней позволили разработать эффективные противомикроб-

ные препараты (химиопрепараты, антибиотики, дезинфектанты), создать многочисленные профилактические и терапевтические иммунобиологические препараты (вакцины, сывороточные препараты, иммуномодуляторы), которые являются основными и довольно эффективными средствами, позволившими снизить инфекционную заболеваемость людей, и даже ликвидировать некоторые инфекции.

История развития микробиологии и иммунологии

Микробы появились на нашей планете раньше, чем животные и человек. Доказано, что патогенные микробы, вызывавшие инфекционные болезни человека, существовали и в древние времена. Об этом свидетельствует обнаружение антигенов болезнетворных бактерий, например, возбудителя чумы, а также следы специфических поражений (туберкулез костей) в останках древних захоронений (мумиях). Уже до открытия микробов люди догадывались о существовании каких-то внешних специфических факторов, вызывающих болезни. Следовательно, можно сказать, что микробиология возникла еще до нашей эры и прошла длительный путь развития. В соответствии с уровнем знаний о микробах, с появлением новых принципиальных открытий и методов, а также формированием новых направлений историю микробиологии можно разбить на пять периодов: 1) эвристический; 2) морфологический; 3) физиологический; 4) иммунологический; 5) молекулярно-генетический.

Эвристический период

Этот период начинается с момента, когда Гиппократ (III–IV в. до н. э.) высказал догадку, предположение (эвристика – догадка, домысел) о том, что болезни, передающиеся от человека к человеку, вызываются какими-то невидимыми, неживыми веществами, образующимися в гнилых болотистых местах. Эти вещества он назвал «миазмами». Нужно сказать, что в древности, еще до открытия микробов, не зная об их существовании, люди пользовались плодами деятельности микробов – виноделием, пивоварением, сыроделием, выпечкой хлеба и т.д.

Только в XV–XVI вв. итальянский врач и поэт Джералимо Фракасторо (1476–1553) обосновал мнение о том, что вызывают болезни «живые контагии», которые передают болезни через воздух или через предметы, что эти невидимые существа живут в окружающей среде и что для борьбы с болезнями, вызываемыми «живыми контагиями» необходима изоляция больного, уничтожение контагий, окуривание можжевельником и т.д. Кстати, Фракасторо за эти его работы считают основоположником эпидемиологии.

Таким образом, примерно за два тысячелетия ученые прошли путь от догадок и предположений к убеждению, что болезни человека вызываются какими-то невидимыми живыми существами.

Морфологический период

Этот период начинается с конца XVII – начала XVIII в., когда голландский естествоиспытатель Антоний ван Левенгук (1632–1723) открыл бактерии. А. Левенгук родился и умер в маленьком голландском городке Делфте. Продавец сукна, он в свободное от работы время увлекался модной тогда в Голландии шлифовкой стекол и конструированием линз для микроскопов. Созданный им микроскоп увеличивал предметы в 150–300 раз. Рассматривая все подряд (воду, налет с зубов, испражнения, кровь, сперму и др.), Левен-

гук обнаружил множество живых «зверюшек», которых он назвал «анималькулюсы». Систематически делая зарисовки и описания «анималькулюсов», он направлял длинные письма с результатами своих наблюдений в Лондонское королевское научное общество. Эти письма сначала печатались в научных журналах, а потом, в 1695 г., были изданы на латинском языке отдельной большой книгой под названием «Тайны природы, открытые Антоний ван Левенгуком при помощи микроскопов». Конечно, наблюдения Левенгука были наивны и примитивны, однако, зарисованные им формы микроорганизмов были удивительно правдивы. Таким образом, Левенгук открыл и увидел мир микробов; и это положило начало так называемому морфологическому периоду в развитии микробиологии, который продолжается и до наших дней. Первым из россиян, кто увидел микробов, был Петр Великий, посетивший Левенгука в Голландии; он же впервые привез микроскоп в Россию, а первым исследователем микробов был врач М. М. Тереховский (1740–1796). Кстати, он отвергал теорию о самозарождении жизни.



Антоний ван Левенгук

После открытия Левенгука началось победное шествие микробиологии. Открывались все новые бактерии, грибы, простейшие, а в конце XIX в. были открыты вирусы. Однако, длительное время не ясна была роль микробов в природе и в патологии человека. Чтобы доказать этиологическую роль микробов в патологии человека, велись исследования на животных, а также героические опыты по самозаражению. Следует отметить смелые опыты русского эпидемиолога Данилы Самойловича (1724–1810), который заразил себя отделяемым бубона больного человека чумой, в результате чего заболел, но, к счастью, остался жив. Исторически известен ряд таких же героических опытов по самозаражению материалами или культурами соответствующих возбудителей, взятыми от больного холерой (Петенкофер, И.И. Мечников, Д. К. Заболотный, И.В. Савченко, Н.Ф. Гамалея), сыпным тифом (Г.Н. Минх, О.О. Мочутковский), чумой (В.П. Смирнов), вирусом полиомиелита (М.Н. Чумаков), вирусом гепатита А (М.С. Балоян) и др.

Таким образом, уже в XVIII в. в микробиологии зародилась деонтология (наука о долге врача), которую исповедовали и исповедуют многие выдающиеся микробиологи. Можно было бы привести еще много примеров и имен самоотверженности и самопожертвования во имя установления достоверных фактов о патогенности бактерий и вирусов, путей и условий инфицирования, безопасности вакцинных препаратов и т.д.

Открытие все новых возбудителей инфекционных болезней продолжалось в течение XVIII–XX столетий и продолжается в наше время. Конец XIX в. ознаменовался открытием вирусов. В 1892 г. русский ботаник Д. И. Ивановский (1864–1920) открыл новый мир микробов – царство вирусов (от лат. virus – яд). Наличие мельчайших частиц, проходящих через бактериальные фильтры и вызывающих специфические поражения, Д. И. Ивановский обнаружил при изучении мозаичной болезни табака. Затем были открыты многие вирусы, поражающие человека, животных, растения и бактерий. В первой половине XX в. оформилась самостоятельная дисциплина – вирусология, занимающаяся изучением вирусов.



Д. И. Ивановский

Весь мир в 1992 г. отметил 100-летие со дня открытия вирусов Д. И. Ивановским. Этот микробиолог-исследователь закончил

жизнь в безвестности и нищете, а в 1 920 г., в период врангелевщины в Крыму, умер при неизвестных обстоятельствах.

Открытие и появление новых видов бактерий, вирусов, грибов, простейших, а также изменение патогенных свойств уже известных микробов вполне закономерно, так как, с одной стороны, совершенствуются методы микробиологии по их выявлению, индикации и идентификации, а с другой – представители микромира эволюционируют в соответствии с общими законами биологии и генетики. Только за последние 20–30 лет открыто новых или выявлено измененных вариантов известных уже микробов порядка трех десятков. Все они объединены в группу эмерджентных, т.е. опасных непредсказуемых инфекций. Так, открыты вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусы геморрагических лихорадок (Марбург, Ласса, Эбола и др.), патогенные бактерии, вызывающие болезнь легионеров, лихорадку Лайма, Корона-вирусы, вызывающие атипичную пневмонию и др. Многие бактерии и вирусы в результате генетических трансформаций приобрели иные свойства, стали патогенными для человека (вирус оспы обезьян, хеликобактер пилори, вызывающий язвы желудка и двенадцатиперстной кишки и др.). Получили эпидемическое распространение парентеральные гепатиты, туберкулез, хламидиоз. Некоторые представители микробов вообще исчезли с нашей планеты. Так, благодаря глобальной массовой вакцинации полностью исчезла натуральная оспа, исчезла, свирепствовавшая среди людей в средние века, болезнь потница, ставится задача ликвидации полиомиелита и других инфекций.

В будущем человека также ожидает появление новых или измененных возбудителей инфекционных болезней. Примером может служить все возрастающая роль в патологии человека вирусов Т-клеточного лейкоза (HTLV-I, HTLV-II), вирусов гепатита, хламидий, прионов и др.

Физиологический период

С момента обнаружения микробов, естественно, возник вопрос не только об их роли в патологии человека, но и об их устройстве, биологических свойствах, процессах жизнедеятельности, экологии и т.д.

Поэтому с середины XIX в. началось интенсивное изучение физиологии бактерий. Этот период, который начинался с XIX в. и продолжается до наших дней, условно был назван физиологическим периодом в развитии микробиологии.



Луи Пастера

Большую роль в этот период сыграли работы выдающегося французского ученого Луи Пастера (1822–1895). Будучи химиком по образованию, обладая широкой эрудицией, талантом экспериментатора, целеустремленностью и мудростью организатора науки, Л.Пастер сделал ряд принципиальных основополагающих открытий во многих областях науки, что позволило ему стать основоположником ряда наук: микробиологии, биотехнологии, дезинфектологии, стереохимии.

Л.Пастер открыл: 1) природу брожения; 2) анаэробиоз; 3) опроверг бытовавшую в его времена теорию самозарождения; 4) обосновал принцип стерилизации; 5) разработал принцип вакцинации и способы получения вакцин.

В 26-летнем возрасте Л.Пастер защитил докторскую диссертацию «О мышьяковистых соединениях калия, натрия и аммиака», в которой он доказал, что при выращивании гри-

бов усваиваются лишь определенные стереоизомеры. Таким образом, Л.Пастер стал основоположником стереохимии.



Роберт Кох

До Пастера господствовала химическая теория брожения Либиха. Пастер сделал замечательное открытие, доказав, что брожение (молочнокислое, спиртовое, уксусное) – это биологическое явление, которое вызывается микробами, их ферментами, т.е. Пастер стал основоположником биотехнологии.

До Пастера господствовала теория самозарождения всего живого, т.е. считалось, что животные не только происходили друг от друга, но и возникают самопроизвольно (лягушки рождаются из ила, тараканы – из грязи и т.д.). Таким же образом, считалось, самозарождались и микробы. Пастер изящными опытами опроверг это положение. Он доказал, что если стерильный бульон оставить в открытой колбе, то он прорастет, но если стерильный бульон поместить в колбу, которая сообщается с воздухом через спиралью изогнутую стеклянную трубку, то бульон не прорастет, так как бактерии с частицами пыли из воздуха будут осаждаться на изогнутых частях спиральной трубки и не попадут в бульон.

Пастер доказал также, что некоторые бактерии не просто не переносят кислорода, но живут и размножаются именно только в бескислородной среде. Таким образом, было открыто явление анаэробиоза, а группа микробов получила название анаэробов.

Доказательство роли микробов в ферментативных процессах брожения, гниения, разложения белков и сахаров привело Пастера к решению ряда практических задач, в частности, к разработке способа борьбы с болезнями вина путем прогревания его при 50-60°С с целью уничтожения бактерий, вызывавших брожение. Этот способ, названный затем пастеризацией, широко используется в наши дни в пищевой промышленности, а также послужил основанием для разработки принципов асептики и дезинфекции.

Наконец, Пастер разработал принцип вакцинации и способ получения вакцин, о чем будет сказано ниже.

Значительный вклад в развитие микробиологии в этот период внес немецкий бактериолог Роберт Кох (1843–1910), который предложил окраску бактерий, микрофотосъемку, способ получения чистых культур, а также знаменитую триаду, получившую название триада Генле–Коха, по установлению этиологической роли микробов в инфекционном заболевании. Согласно этой триаде, для доказательства роли микроба в возникновении специфической болезни необходимо три условия: 1) чтобы микроб обнаруживался только у больного и не обнаруживался у здоровых людей и больных другими болезнями; 2) должна быть получена чистая культура микроба; 3) микроб должен вызвать аналогичное заболевание при заражении животных. Этот принцип до Коха выдвигал Генле; Кох его сформулировал и развил. В наше время триада Генле–Коха имеет относительное значение, так как установление этиологической роли микробов в инфекции не всегда укладывается в рамки триады: иногда трудно воспроизвести болезнь у животных, так как нет модели (например, ВИЧ-инфекция); нередко возбудитель обнаруживается у здоровых лиц (носительство).

Изучение биологических и физиологических свойств микроорганизмов, продолжавшееся с конца XIX в. и течение XX в. привело к познанию глубинных процессов жизнедеятельности бактерий, вирусов и простейших.

Иммунологический период

Этот период в развитии микробиологии связан прежде всего с именами французского ученого Л.Пастера, российского биолога И.И. Мечникова (1843–1916) и немецкого химика Пауля Эрлиха (1854–1915). Этих ученых с полным правом можно называть основоположниками иммунологии, так как Л.Пастер открыл и разработал принцип вакцинации, И.И. Мечников – фагоцитарную теорию, которая явилась основой клеточной иммунологии, и П.Эрлих высказал гипотезу об антителах и развил гуморальную теорию иммунитета.

Иммунологический период в развитии микробиологии начался со второй половины XIX в., когда перед исследователями встал вопрос о том, каким же образом можно защищаться от патогенных микробов, вызывающих инфекционные болезни.

Следует отметить, что более 200 лет назад английский врач Эдуард Дженнер (1749–1823) нашел способ создания невосприимчивости к возбудителю натуральной оспы человека, путем прививки человеку вируса коровьей оспы, т.е. содержимого пустул человека, больного коровьей оспой. Это было величайшее открытие, однако, оно носило эмпирический характер. И только в конце XIX в. Л.Пастер научно обосновал принцип вакцинации и способ получения вакцин. Л.Пастер показал, что ослабленный тем или иным способом (температурные воздействия, неблагоприятные условия среды для роста, пассажи через невосприимчивых животных) возбудитель холеры кур, бешенства, сибирской язвы, потерявший вирулентные патогенные свойства, сохраняет способность, при введении в организм, создавать специфическую невосприимчивость к возбудителю.

Пастер впервые получил из мозга больных бешенством собак, кроликов, подвергавшихся температурным воздействиям, живую аттени-урованную вакцину против бешенства, использовав для этого фиксированный вирус бешенства; проверил профилактические и лечебные свойства вакцины на пациентах, укушенных бешенными животными; создал прививочные пункты (получившие название «пастеровские станции») и распространил способ вакцинации на многие страны. Летом 1886 г. в Одессе и Перми начали работать созданные И.И. Мечниковым и его талантливым учеником Н.Ф. Гамалеей первые пастеровские станции.

Благодарное человечество за сделанные великим французом открытия на средства, собранные по международной подписке, в 1888 г. построило в Париже Пастеровский институт, который успешно работает и в наши дни. В частности, именно в Пастеровском институте в 1983 г. Люкс Монтанье открыл вирус иммунодефицита человека одновременно с американским ученым Робертом Галло. Среди пожертвователей на организацию института были и простые рабочие, и банкиры, и цари, и императоры различных стран. Один из щедрых взносов сделал русский царь. В Пастеровском институте работали такие выдающиеся ученые, как И. И. Мечников (26 лет был заместителем Л. Пастера), Э. Ру, А. Кальмет (создал вакцину БЦЖ), А. Лаверан (открыл плазмодия малярии), наш соотечественник А. М. Безредка (предложил метод десенсибилизации), Ж. Борде (иммунохимик), Р. Рамон (разработал метод получения анатоксинов), наши соотечественники Н. Ф. Гамалея (вакцинация против бешенства, принцип получения химических вакцин). С. Н. Виноградский (почвенная микробиология) и многие другие.

Огромный вклад в развитие иммунологии внес И. И. Мечников, который обосновал учение о фагоцитозе и фагоцитах, доказал, что фагоцитоз – явление универсальное, наблюдается у всех животных, включая простейших, и проявляется по отношению ко всем чужеродным веществам (бактерии, органические частицы и т.д.). Теория фагоцитоза заложила краеугольный камень клеточной теории иммунитета и процесса иммуногенеза в

целом с учетом клеточных и гуморальных факторов. За разработку теорий фагоцитоза И. И. Мечникову в 1908 г. присуждена Нобелевская премия. Л.Пастер на своем портрете, подаренном И. И. Мечникову, написал: «На память знаменитому Мечникову – творцу фагоцитарной теории».



И. И. Мечников

Оппонентом И. И. Мечникова в те времена был П. Эрлих, предложивший гуморальную теорию иммунитета. Он считал, что в процессах иммунитета играют роль только антитела. Однако, дальнейшее развитие иммунологии подтвердило правоту как И. И. Мечникова, так и П. Эрлиха о единстве клеточных и гуморальных факторов иммунитета. П. Эрлих, так же как И. И. Мечников, в 1908 г. был удостоен Нобелевской премии.

И. И. Мечников был разносторонним ученым. Он увлекался процессами старения, ролью нормальной микрофлоры человека, и его по праву считают родоначальником геронтологии и учения о дисбактериозах.

Наиболее богата открытиями в области иммунологии была первая половина и середина XX в. В это время были открыты основные формы реагирования иммунной системы и основные факторы иммунитета.

В 1900 г. Р. Кох открыл такую форму реагирования иммунной системы, как гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ); в 1902– 1905 гг. Ш. Рише, Ж. Портье и Г. П. Сахаров описали гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ); обе эти формы реагирования легли в основу учения об аллергии (К. Пирке, 1906). В 1950-х годах была открыта толерантность (терпимость, устойчивость) к антигенам (П. Медовар, М. Гашек), а также иммунологическая память (Ф. Бернет и др.)- Следует сказать, что явления, связанные с иммунологической памятью (быстрый эффект образования антител при повторном введении антигена), впервые обнаружил российский врач М. Райский уже в 1915 г. Многочисленные исследования в середине XX в. были посвящены изучению лимфоцитов, их роли в иммунитете, кооперативным взаимоотношениям между Т- и В-лимфоцитами и фагоцитирующими клетками, киллерная функция лимфоцитов и т.д.

В это же время была изучена структура иммуноглобулинов (Р. Портер и Д. Эдельман), открыты интерферон (А. Айзекс и Ж. Линдеман), интерлейкины (ИЛ) и другие иммуномодуляторы.

Иммунология в середине XX в. оформилась как самостоятельная наука, имеющая свои цели и задачи в области медицины, свою структуру и классификацию (гл. 10).

Молекулярно-генетический период

Развитие во второй половине XX в. молекулярной биологии, генетики, биотехнологии, генной и белковой инженерии, цитологии и других наук дало новый толчок в развитии микробиологии и иммунологии, особенно, молекулярных и генетических аспектов этих наук. В этот период была расшифрована молекулярная структура многих бактерий и вирусов, строение и состав их генома, структура антигенов и антител, факторов патогенности бактерий и вирусов, а также факторов иммунной защиты (комплемент, интерферон, иммуномодуляторы и др.). Большие успехи достигнуты в изучении иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоцитов, фагоцитов), их рецепторного аппарата, механизмов функционирования и взаимодействия между собой и с другими факторами иммунной защиты, явления апоптоза лимфоцитов, учения о стволовых дендритных клетках и т.д.

Расшифровка генов бактерий и вирусов, их синтез позволили искусственно синтезировать рекомбинантные ДНК и получать на их основе с помощью генетической инженерии рекомбинантные штаммы бактерий и вирусов, которые нашли широкое применение в биотехнологии для получения разнообразных биологически активных веществ (интерферонов, интерлейкинов, гормонов, антигенов, антител, противоопухолевых и других лекарственных средств, пищевых белков, сахаров, аминокислот и т.д.). Генная инженерия в области иммунологии позволила получать вакцинные и диагностические препараты (вакцина против гепатита В, ВИЧ-инфекции и др., диагностические препараты на основе моноклональных антител и др.). Успешно решается проблема создания синтетических вакцин на основе антигенов или их детерминант, конъюгированных с полимерными носителями и адъювантами, а также живых векторных вакцин, полученных генно-инженерным способом. Открыты и используются в инфекционной и неинфекционной патологии различные иммуномодуляторы эндогенного и экзогенного происхождения для коррекции иммунного статуса. Разрабатывается иммуногенетика, целью которой является генопрофилактика и генотерапия иммунодефи-цитов. Широкое применение в микробиологии нашла генодиагностика (полимеразная цепная реакция).

Большие успехи достигнуты в изучении системы гистосовместимости (HLA-системы), что позволило сделать значительный шаг в трансплантологии при решении проблемы преодоления иммунологической несовместимости при пересадках органов и тканей, а также в проблеме несовместимости матери и плода в акушерстве и гинекологии.

Большую эволюцию претерпела химио- и антибиотикопрофилактика и терапия инфекционных болезней. Создано, в том числе, новейшими методами биотехнологии, большое количество противовирусных и антибактериальных препаратов.

Достижения в микробиологии и иммунологии XX в. не только обеспечили успехи в борьбе с инфекционными болезнями, но и открыли новые пути и методы диагностики и терапии неинфекционных болезней, связанных с нарушениями в иммунной системе.

Вклад ученых России в развитии микробиологии и иммунологии

Отечественные ученые внесли существенный вклад в развитие микробиологии и иммунологии. Уже в XIX и начале XX в. они много сделали для выяснения этиологической роли микробов в возникновении инфекционных болезней, для изучения проблем невосприимчивости к инфекциям, создания иммунобиологических препаратов, снижения и ликвидации эпидемий и эпидемических болезней. Уместно упомянуть героические опыты по самозаражению для выяснения этиологической роли микробов, которые провели на себе Д. Самойлович, Г. И. Минх, О. О. Мочутковский, И. И. Мечников, Д. К. Заболотный, М. С Балоян и др.

Активное участие российские ученые приняли в становлении микробиологии и иммунологии как самостоятельных наук. И. И. Мечников явился одним из основоположников иммунологии. В лаборатории Луи Пастера работали многие русские микробиологи и иммунологи (И. И. Мечников, А. М. Безредка, И. Ф. Гамалея, Л. А. Тарасевич и др.); Д. И. Ивановский впервые открыл вирусы и стал основоположником вирусологии; Ф. А. Лещ, открывший амебиаз, является одним из авторов, заложивших основы протозоологии; Н. Г. Габричевский в 1896 г. организовал первый бактериологический институт в Москве (ныне Институт микробиологии и эпидемиологии им. И. Г. Габричевского), а в 1892 г. начал читать курс по бактериологии в Московском университете им. М. В. Ломоносова (ныне это кафедра микробиологии с вирусологией и иммунологией Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова); еще при жизни Пастера в ряде российских городов (Одесса, Пермь

и др.) были организованы пастеровские станции по борьбе с бешенством и российские ученые поддерживали непосредственную связь с Пастером. Отечественными учеными созданы многие диагностические, профилактические и лечебные иммунобиологические препараты, широко известные и применяемые не только в нашей стране, но и в других странах: живые вакцины против сибирской язвы (Н. Н. Гинзбург и соавт.), туляремии (Б. Я. Эльберт и Н. А. Гайский), полиомиелита (М. П. Чумаков и А. А. Смородинцев), кори (А. А. Смородинцев и др.), Ку-лихорадки (П. Ф. Здродовский), гриппа (А. А. Смородинцев), бруцеллеза (П. А. Вершилова); полианатоксины против столбняка, раневых инфекций и ботулизма (А. А. Воробьев, Г. В. Выгодчиков и соавт.); широко и фундаментально разрабатывались вакцины для массовых способов иммунизации – пероральные вакцины против полиомиелита (М. П. Чумаков), оспы, чумы, венесуэльского энцефаломиелита (А. А. Воробьев и сотр.), аэрозольная вакцина против чумы (В. А. Лебединский, В. И. Огарков и др.). В нашей стране производится до 1000 иммунобиологических препаратов.

Начиная с 1920-х годов в России (в СССР) создан ряд крупных институтов микробиологического и иммунологического профиля – Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, Институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского, Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова, Институт вирусных препаратов им. О.Г. Анджапаридзе, Институт гриппа – входящих в настоящее время в систему РАМН, а также десятки институтов вакцин и сывороток в различных городах России, в том числе, крупные институты в Перми, Санкт-Петербурге, Томске, Москве и Московской области (г. Электрогорск). Многие институты, занимающиеся проблемами микробиологии и иммунологии, созданы также в системе Министерства здравоохранения СССР (ныне РФ) и других ведомств. Среди них – Институт иммунологии (ныне Центр иммунологии) в Москве, Институт клинической иммунологии в г. Новосибирске, институты широкого профиля в системе Российского акционерного общества «Биопрепарат» (Центр прикладной микробиологии в пос. Оболенск Московской области, Центр вирусологии и молекулярной биологии в пос. Кольцово Новосибирской области и др.).

Активно участвуют в разработке фундаментальных проблем микробиологии и иммунологии институты Российской АН: Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина – Ю. А. Овчинникова, Институт микробиологии в Пущино и др.

В вышеназванных институтах разрабатываются фундаментальные и прикладные проблемы бактериологии, вирусологии, протозоологии; проблемы диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней, в том числе, новейшие проблемы биотехнологии, иммунологии, иммунобиотехнологии, генетики, генной инженерии. Исследования ведутся на современном методическом и техническом уровне.

Проблемами микробиологии и иммунологии занимаются многочисленные санитарно-эпидемиологические станции в различных регионах страны, а также клинические лаборатории при больницах, поликлиниках и стационарах.

Мощная лабораторно-производственная микробиологическая и иммунологическая база, обеспечивающая решение задач по диагностике, профилактике и лечению инфекционных болезней, потребовала подготовки большого числа специалистов в этой области. Для этого в России создана стройная система первичного обучения, повышения квалификации и специализации бактериологов, вирусологов, протозоологов, иммунологов через кафедры медицинских вузов, ординатуру, интернатуру и аспирантуру на факультетах постдипломной подготовки и в научно-исследовательских институтах.

Во второй половине XX в. в нашей стране появилась плеяда крупных ученых микробиологов и иммунологов, занявших ведущие позиции не только у себя в стране, но и в мире.



А.А. Воробьев

Среди них Л. А. Зильбер – основоположник иммуноонкологии; П. Ф. Здродовский – иммунолог и микробиолог, известный своими фундаментальными работами по физиологии иммунитета, а также в области риккетсиологии и по бруцеллезу; В. М. Жданов – крупнейший вирусолог, один из организаторов глобальной ликвидации натуральной оспы на планете, стоявший у истоков молекулярной вирусологии и генной инженерии; В. Д. Тимаков – известный своими трудами по L-формам бактерий, длительное время возглавлявший Президиум Академии медицинских наук СССР; М. П. Чумаков – иммунобиотехнология, вирусолог, организатор Института полиомиелита и вирусных энцефалитов (ныне институт носит имя М. П. Чумакова), автор многих противовирусных вакцин, в том числе пероральной вакцины против полиомиелита; А. А Смородинцев – автор гриппозной, паротитной, коревой и полиомиелитной вакцин; Г. В. Выгодчиков – крупный ученый в области стафилококковых инфекций; З. В. Ермольева– основоположник отечественной антибиотикотерапии.

Воробьев Анатолий Андреевич (1923-2005 г.) Во второй половине XX века в России появилось плеяда крупных ученых микробиологов и иммунологов, занявших ведущие позиции не только у себя в стране, но и в мире. Среди этих ученых особо хочется отметить академика РАМН, А.А. Воробьева. В последние годы научные интересы этого ученого были направлены на решение актуальных проблем клинической микробиологии и клинической иммунологии. Изучается иммунный статус и состояние нормофлоры при различных патологических состояниях, роль не клостридиальных анаэробов в патологи, разработка методов борьбы с дисбактериозами, создание штаммов эубиотиков, организация производства эубиотиков и др.

Наряду с решением практических задач, А.А. Воробьев много внимания уделял вопросам теории. Он внес большой вклад в теоретическое развитие иммунологии и микробиологии:

– Впервые обосновал и сформировал действие адъювантов и принципы конструирования адъювантных вакцин;

– Развил теорию анатоксинобразования;

– Разработал современные теории пероральной иммунизации;

– Выдвинул иммуногенетическую теорию образования злокачественных опухолей;

– Обосновал новый взгляд на роль аутоантител, на их природу и механизм образования и многое другое.

В настоящее время продуктивно работают над решением проблем микробиологии и иммунологии крупные ученые России: академик РАН и РАМН Р. В. Петров, академики РАМН В. И. Покровский, Д. К. Львов, Р. М. Хаитов, Б. Ф. Семенов, С. Г. Дроздов, С. М. Клименко, В. А. Лашкевич и др.

Вклад учёных Узбекистана в развитии микробиологии и иммунологии

Учёные Узбекистана внесли и вносят определённый вклад по борьбе с инфекционной заболеваемостью. Говоря об этом в историческом плане, нужно отметить что, одним из первых основоположников бактериологии является А.Д. Греков (1873-1957). В 1917 году ему удаётся на базе Ташкентского военного госпиталя открыть первую бактериологическую лабораторию. В 1918 г он добивается открытия научно-исследовательского институ-



П.Ф.Самсонов
(1892-1964)



Ю.А. Ахмеджанов
(1910-1974)



Ч.А. Абдиров
(1923-2002)

та по бактериологии, которая в последующем переименована в Среднеазиатский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток. В 1938 г А.Д. Греков впервые на базе института усовершенствования врачей организует кафедру микробиологии и до конца своих дней возглавляет её. В те годы научные исследования больше всего были посвящены изучению малярии, натуральной оспы, брюшного тифа и другим инфекционным болезням. Им впервые в городе Ташкенте была разработана технология выпуска и вакцинации против натуральной оспы.

Определённый весомый вклад внёс А.М. Исаев (1886-1944). В 1924 г. он организует открытие в городе Бухаре, Среднеазиатский научно-исследовательский институт тропических болезней, который в настоящее время преобразован в Самаркандский научно-исследовательский институт паразитологии. В те годы, широкое распространение в городе Бухаре и области нашло одна из паразитарных болезней «ришта». Одним из заслуг Л.М. Исаева является подробное изучение эпидемиологии этой болезни и разработка противоэпидемических мер по их ликвидации. Эти мероприятия не дали долго ждать и фактически за короткое время благодаря усилиям этого знаменитого учёного ришта была полностью ликвидирована. А.М. Исаев обладал огромной организаторской способностью. Наряду с мероприятиями по борьбе с риштой, ему принадлежит приоритет по борьбе с одной из распространенных тропических болезней того времени-малярией. И фактически, мы обязаны этому известному учёному микробиологу – ликвидацией малярии в Узбекистане.

Большой вклад в развитие микробиологии внёс Н. И. Ходукин (1896-1957). Его труды в основном были направлены на изучение эпидемиологии лейшманиозов. Он впервые доказал, что переносчиком лейшманиозов являются москиты. Основываясь на этом, им разработан комплекс противоэпидемиологических мероприятий, которые позволили существенно снизить заболеваемость населения лейшманиозом. Параллельно с работой по лейшманиозам Ходукин Н. И., внёс огромный вклад по борьбе с риккетсиозами. Так, им впервые установлено наличие в Узбекистане Ку-лихорадки, в последующем впервые разработана и получена вакцина против этой инфекции и тем самым, резко снизилась заболеваемость населения этим тяжёлым недугом.

Одним из известных микробиологов внёсший достойный вклад в развитие этой науки в Узбекистане является Павел Федорович Самсонов (1892-1964). В 1916 г. он окончил медицинский факультет Московского Университета. В 1937 г. ему присвоено учёное звание профессора. Он автор более 20 научных работ, которые посвящены бактериологии,



К.А.Зуфаров
(1925–2001)

эпидемиологии и профилактике бруцеллёза и туберкулёза. С 1939 года по 1964 он был бессменным руководителем кафедры микробиологии Ташкентского медицинского института.

Работы начатые профессором Самсоновым П.Ф., в последующем продолжили его ученики профессора: Ахмеджанов Ю.А., Закиров Н.А., Фолиянц А.В. Особый вклад в изучении особенностей возбудителя лепры и его профилактики в Узбекистане внес Академик АН Узбекистана Абдиров Ч.А.

В 1965 г. на должность ректора Ташкентского Государтсвенного медицинского института назначается молодой, талантливый ученый Комилжан Ахмеджанович Зуфаров.

С этого времени начинаются поистине революционные преобразования в институте по совершенствованию учебного процесса, учебно-методической работы и особенно в науке. За короткое время профессор Зуфаров К.А. фактически становится основоположником научной мысли морфологической школы, впервые в РУз получило развитие электронная микроскопия. Пользуясь большым авторитетом, владея мощным арсеналом морфологических тестов и обладая огромным талантом организатора и медицинского мышления во всех областях медицины – начиная медицинской биофизикой и кончая клинической микробиологией – в результате своих усилий, академику Зуфарову К.А. удается создать огромную школу медицинского мышления, которая явилась результатом подгатовки для РУз более 50 докторов и 200 кандидатов медицинских наук. На сегодняшний день, ученики академика Зуфаова К.А. трудятся в различных странах и вносят определенный вклад в развитие медицины.

В настоящее время продуктивно работают над решением проблем микробиологии и иммунологии крупные ученые Узбекистана, такие как: профессора Исхакова Х.И., Гариб Ф.Ю., Нуралиев Н.А., Баженов Л.Г., Арипова Т.У., Рахимов А.Х., Камолов М.Б., Ахтамов М.А., Мирзаева М.А., Рахимова И.В., Эшбоев Э.Х., Нурузова З.А. и др.

Зачем нужны знания микробиологии и иммунологии врачу

Микробиология и иммунология занимают в медицине промежуточное положение между фундаментальными, теоретическими и клиническими, а также медико-профилактическими дисциплинами. Они проникают буквально во все медицинские дисциплины: хирургию, терапию, онкологию, нервные болезни, урологию, офтальмологию, эндокринологию, эпидемиологию, педиатрию, стоматологию, инфекционные болезни, медико-профилактические науки, фармацевтические дисциплины и др. Трудно назвать какую-либо специальность, в которой не использовались бы методы микробиологии и иммунологии для диагностики, лечения и профилактики инфекционных и неинфекционных болезней. Поэтому врач любой специальности должен знать основы микробиологии и иммунологии, умело ими пользоваться в своей практической деятельности. Приведем несколько примеров, аргументирующих это положение.

Во-первых, инфекционные болезни, несмотря на развитие цивилизации, успехи науки и в первую очередь медицины, по своей распространенности вышли на первое место среди болезней человека. Около 70% всех регистрируемых больных – инфекционные больные, а это значит, что каждые два из трех обращающихся к врачу больных – инфекционные больные и врач должен своевременно и правильно поставить дифференциальный диагноз,

особенно в тех случаях, когда дело идет об особо опасных инфекциях. Кроме того, врач любого профиля в любой неинфекционной клинике обязательно имеет дело с так называемыми внутрибольничными (оппортунистическими, госпитальными) инфекциями, вызываемыми условно-патогенными микробами, что требует от него знаний диагностики, профилактики и лечения этих болезней.

Во-вторых, многие соматические болезни, хирургические вмешательства, лекарственные воздействия и т.д. приводят к нарушению нормофлоры человека, ведут к дисбактериозам, влияют на иммунный статус, поэтому врач должен знать, уметь анализировать эти состояния и учитывать при проведении лечения основного заболевания.

В-третьих, среди населения широко распространены аллергические болезни (ими страдает чуть ли не одна треть людей), иммунопатологические состояния, болезни, в основе которых лежат иммунодефициты, поэтому врачи-клиницисты, профпатологи, врачи медико-профилактического профиля должны знать и эту патологию.

В-четвертых, в диагностике, профилактике и лечении онкологических болезней важное место занимают иммуномодуляторы (интерлейкины, интерфероны и др.), адаптогены, иммунологические методы исследования.

В-пятых, многие и довольно тяжелые болезни возникают в результате иммунологического конфликта между матерью и плодом на всех этапах репродукции, следовательно, педиатры, гинекологи, акушеры должны быть хорошо подготовлены по проблемам иммунологии репродукции.

В-шестых, трансплантология достигла больших успехов в технике проведения операций по пересадке органов и тканей. Однако, ее результаты часто бывают негативными вследствие отторжения трансплантата, из-за иммунологической несовместимости реципиента и донора. Следовательно, врачи-трансплантологи должны знать проблемы иммунотрансплантологии, как преодолевать и бороться с явлениями иммунологической несовместимости.

В-седьмых, население планеты живет в определенной экологической среде, обусловленной климатическими, социальными, профессиональными и другими явлениями. Они воздействуют не только на организм человека, но и на микрофлору, распространенную как в природе, так и населяющую организм человека. Следовательно, врачи медико-профилактического профиля должны знать проблемы экологической и санитарной микробиологии.

В-восьмых, в арсенале врачей имеется большая группа иммунобиологических препаратов (вакцины, иммуноглобулины, иммуномодуляторы, диагностикумы), а также противомикробных препаратов (антибиотики, химиопрепараты), с которыми должен быть знаком врач любой специальности.

Выше перечислены не все сферы медицины, в которых микробиология и иммунология играют большую роль и оказывают помощь в постановке диагноза, в профилактике и лечении болезней. Однако, и те примеры, которые приведены, красноречиво говорят о том, что знание микробиологии (бактериология, вирусология, микология, протозоология) и иммунологии необходимо каждому врачу, каждому медицинскому работнику независимо от профиля его работы.

ГЛАВА 2. КЛАССИФИКАЦИЯ И МОРФОЛОГИЯ МИКРОБОВ

Систематика и номенклатура микробов

Микробы или микроорганизмы (бактерии, грибы, простейшие, вирусы), систематизированы по их сходству, различиям и взаимоотношениям между собой. Этим занимается специальная наука – систематика микроорганизмов. Систематика включает три части: классификацию, таксономию и идентификацию. В основу таксономии (от греч. taxis – расположение, порядок) микроорганизмов положены их морфологические, физиологические, биохимические и молекулярно-биологические свойства. Различают следующие таксономические категории: царство, подцарство, отдел, класс, порядок, семейство, род, вид, подвид и др. В рамках той или иной таксономической категории выделяют таксоны – группы организмов, объединенные по определенным однородным свойствам. Названия микроорганизмов регламентируются Международным кодексом номенклатуры (зоологической, ботанической, номенклатуры бактерий, вирусов).

Микроорганизмы представлены доклеточными формами (вирусы – царство Vira) и клеточными формами (бактерии, архебактерии, грибы и простейшие). По новому высшему уровню в иерархии классификации среди клеточных форм жизни различают 3 домена (или «империи»): «Bacteria», «Archaea» и «Eukarya»:

– домен «Bacteria» – прокариоты, представленные настоящими бактериями (эубактериями);

– домен «Archaea» – прокариоты, представленные архебактериями;

– домен «Eukarya» – эукариоты, клетки которых имеют ядро с ядерной оболочкой и ядрышком, а цитоплазма состоит из высокоорганизованных органелл – митохондрий, аппарата Гольджи и др. Домен «Eukarya» включает: царство Fungi (грибы); царство животных Animalia (включает простейшие – подцарство Protozoa); царство растений Plantae.

Домены включают царства, типы, классы, порядки, семейства, роды, виды. Одной из основных таксономических категорий является вид (species). Вид – это совокупность особей, объединенных по близким свойствам, но отличающихся от других представителей рода.

Совокупность однородных микроорганизмов, выделенных на питательной среде, характеризующихся сходными морфологическими, тинкториальными (отношение к красителям), культуральными, биохимическими и антигенными свойствами, называется чистой культурой.

Чистая культура микроорганизмов, выделенных из определенного источника и отличающихся от других представителей вида, называется штаммом. Штамм – более узкое понятие, чем вид или подвид. Близким к понятию штамма является понятие клона. Клон представляет собой совокупность потомков, выращенных из единственной микробной клетки.

Для обозначения некоторых совокупностей микроорганизмов, отличающихся по тем или иным свойствам, употребляется суффикс var (разновидность) вместо ранее применявшегося type. Поэтому микроорганизмы в зависимости от характера различий обозначают как морфовары (отличие по морфологии), резистентовары (отличие по устойчивости, например, к антибиотикам), серовары (отличие по антигенам), фаговары (отличие по чувствительности к бактериофагам), биовары (отличие по биологическим свойствам), хемовары (отличие по биохимическим свойствам) и т.д.

Для идентификации и типирования бактерий используют фенотипические, генотипические и филогенетические показатели (сущность их описана в последующих главах).

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ: окраска по Граму, морфологические и культуральные свойства, биохимические реакции, хромогенные ферментативные реакции, использование источников углевода, антибиотикограмма, бактериоцинотипирование, фаготипирование, антигенные свойства, химический состав клеточной стенки (пептидогликан, миколовая кислота и др.), а также белков и липидов клетки.

ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ: соотношение G+C, гибридизация ДНК, молекулярное зондирование, плазмидный анализ, полиморфизм длины фрагментов рестрикции ДНК, риботипирование.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ: анализ рРНК-последовательности, РНК-РНК-гибридизация, амплификация полиморфной ДНК с использованием производных праймеров, секвенирование 16S и 23S рРНК.

Классификация и морфология бактерий

Классификация бактерий. Решением Международного кодекса для бактерий рекомендованы следующие таксономические категории: класс, отдел, порядок, семейство, род, вид. Название вида соответствует бинарной номенклатуре, т.е. состоит из двух слов. Например, возбудитель сифилиса пишется как Treponema pallidum. Первое слово – название рода и пишется с прописной буквы, второе слово обозначает вид и пишется со строчной буквы. При повторном упоминании вида родовое название сокращается до начальной буквы, например: T. pallidum.

Бактерии относятся к прокариотам, т.е. доядерным организмам, поскольку у них имеется примитивное ядро без оболочки, ядрышка, гистонов, а в цитоплазме отсутствуют высокоорганизованные органеллы (митохондрии, аппарат Гольджи, лизосомы и др.).

В старом Руководстве Берджи по систематической бактериологии бактерии делили по особенностям клеточной стенки бактерий на 4 отдела: Gracilicutes – эубактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные; Firmicutes – эубактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительные; Tenericutes – эубактерии без клеточной стенки; Mendosicutes – архебактерии с дефектной клеточной стенкой.

Каждый отдел был разделен на секции или группы, по окраске по Граму, форме клеток, потребности в кислороде, подвижности, особенностям метаболизма и питания.

Согласно 2-му изданию (2001 г.) Руководства Берджи, бактерии делят на 2 домена: «Bacteria» и «Archaea» (табл. 2.1).

Таблица 2.1.

Характеристика доменов «Bacteria» и «Archaea»

Домен «Bacteria» (эубактерии)	Домен «Archaea» (архебактерии)
В домене «Bacteria» можно выделить следующие бактерии: 1) бактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные*; 2) бактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительные**; 3) бактерии без клеточной стенки (класс Mollicutes – микоплазмы)	Архебактерии не содержат пептидогликан в клеточной стенке. Они имеют особые рибосомы и рибосомные РНК (рРНК). Термин «архебактерии» появился в 1977 г. Это одна из древних форм жизни, на что указывает приставка «архе». Среди них нет возбудителей инфекций

*Среди тонкостенных грамотрицательных эубактерий различают:
– сферические формы, или кокки (гонококки, менингококки, вейлонеллы);
– извитые формы – спирохеты и спириллы;
– палочковидные формы, включая риккетсии.
** К толстостенным грамположительным эубактериям относят:
– сферические формы или кокки (стафилококки, стрептококки, пневмококки);
– палочковидные формы, а также актиномицеты (ветвящиеся, нитевидные бактерии), коринебактерии (булавовидные бактерии), микобактерии и бифидобактерии (рис. 2.1).

Морфология и классификация микробов

ТОНКОСТЕННЫЕ, ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ		ТОЛСТОСТЕННЫЕ, ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ	
Менингококки		Пневмококки	
Гоногококки		Стрептококки	
Вейлонеллы		Стафилококки	
Палочки		Палочки	
Вибрионы		Бациллы*	
Кампилобактерии, Хеликобактерии		Клостридии*	
Спириллы		Коринебактерии	
Спирохеты		Микобактерии	
Риккетсии		Бифидобактерии	
Хламидии		Актиномицеты	

Рис. 2.1. Формы грамотрицательных и грамположительный бактерий (эубактерий).

Большинство грамотрицательных бактерий объединены в тип протеобактериий, основанный на сходстве по рибосомной РНК («Proteobacteria» – по имени греческого бога Протеуса, принимавшего разнообразные облики). Они появились от общего фотосинтетического предка.

Грамположительные бактерии, согласно изученным последовательностям рибосомной РНК, являются отдельной филогенетической группой с двумя большими подотделами – с высоким и низким соотношением G+C (генетическое сходство). Как и протеобактерии, эта группа метаболически разнообразная.

В домен «Bacteria» входят 22 типа, из которых медицинское значение имеют следующие:

Тип Proteobacteria

Класс Alphaproteobacteria. Роды: Rickettsia, Orientia, Ehrlichia, Bartonella, Brucella

Класс Betaproteobacteria. Роды: Burkholderia, Alcaligenes, Bordetella, Neisseria, Kingella, Spirillum

Класс Gammaproteobacteria. Роды: Francisella, Legionella, Coxiella, Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Vibrio, Enterobacter, Callimatobacterium, Citrobacter, Edwardsiella, Erwinia, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Shigella, Yersinia, Pasteurella

Класс Deltaproteobacteria. Род: Bilophila

Класс Epsilonproteobacteria. Роды: Campylobacter, Helicobacter, Wolinella

Тип Firmicutes (главным образом грамполо-жительные)

Класс Clostridia. Роды: Clostridium, Sarcina, Peptostreptococcus, Eubacterium, Peptococcus, Veillonella (грамотрицательные)

Класс Mollicutes. Роды: Mycoplasma, Ureaplasma

Класс Bacilli. Роды: Bacillus, Sporosarcina, Listeria, Staphylococcus, Gemella, Lactobacillus, Pediococcus, Aerococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Lactococcus

Тип Actinobacteria

Класс Actinobacteria. Роды: Actinomyces, Arcanobacterium, Mobiluncus, Micrococcus, Rothia, Stomatococcus, Corynebacterium, Mycobacterium, Nocardia, Propionibacterium, Bifidobacterium, Gardnerella

Тип Clamydiae

Класс Clamydiae. Роды: Clamydia, Clamydophila

Тип Spirochaetes

Класс Spirochaetes. Роды: Spirochaeta, Borrelia, Treponema, Leptospira

Тип Bacteroidetes

Класс Bacteroidetes. Роды: Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella

Класс Flavobacteria. Роды: Flavobacterium

Подразделение бактерий по особенностям строения клеточной стенки связано с возможной вариабельностью их окраски в тот или иной цвет по методу Грама. Согласно этому методу, предложенному в 1884 г. датским ученым Х. Грамом, в зависимости от результатов окраски, бактерии делятся на грамположительные, окрашиваемые в сине-фиолетовый цвет и грамотрицательные, красящиеся в красный цвет. Однако, оказалось, что бактерии с так называемым грамположительным типом клеточной стенки (более толстой, чем у грамотрицательных бактерий), например, бактерии рода Mobiluncus и некоторые спорообразующие бактерии, вместо обычной грамположительной окраски имеют грамотрицательную окраску. Поэтому для таксономии бактерий большую значимость, чем окраска по Граму, имеют особенности строения и химического состава клеточных стенок.

Формы бактерий

Различают несколько основных форм бактерий (см. рис. 2.1) – кокковидные, палочковидные, извитые и ветвящиеся, нитевидные формы бактерий.

Сферические формы или кокки – шаровидные бактерии размером 0,5–1,0 мкм, которые по взаимному расположению делятся на микрококки, диплококки, стрептококки, тетракокки, сарцины и стафилококки.

– **Микрококки** (от греч. micros – малый) – отдельно расположенные клетки.

– **Диплококки** (от греч. diplos – двойной) или парные кокки, располагаются парами (пневмококк, гонококк, менингококк), так как клетки после деления не расходятся. Пневмококк (возбудитель пневмонии) имеет с противоположных сторон ланцетовидную форму, а гонококк (возбудитель гонореи) и менингококк (возбудитель эпидемического менингита) имеют форму кофейных зерен, обращенных вогнутой поверхностью друг к другу.

– **Стрептококки** (от греч. streptos – цепочка) – клетки округлой или вытянутой формы, составляющие цепочку вследствие деления клеток в одной плоскости и сохранения связи между ними в месте деления.

– **Сарцины** (от лат. sarcina – связка, тюк) располагаются в виде пакетов из 8 и более кокков, так как они образуются при делении клетки в трех взаимно перпендикулярных плоскостях.

– **Стафилококки** (от греч. staphyle – виноградная гроздь) – кокки, расположенные в виде грозди винограда в результате деления в разных плоскостях.

Палочковидные бактерии различаются по размерам, форме концов клетки и взаимному расположению клеток. Длина клеток варьирует от 1,0 до 10 мкм, толщина – от 0,5 до 2,0 мкм. Палочки могут быть правильной (кишечная палочка и др.) и неправильной (коринебактерии и др.) формы, в том числе, ветвящиеся, например, у актиномицетов. К наиболее мелким палочковидным бактериям относятся риккетсии.

Концы палочек могут быть как бы обрезанными (сибиреязвенная бацилла), закругленными (кишечная палочка), заостренными (фузобактерии) или в виде утолщения. В последнем случае, палочка похожа на булаву (коринебактерии дифтерии).

Слегка изогнутые палочки называются вибрионами (холерный вибрион). Большинство палочковидных бактерий располагается беспорядочно, так как после деления клетки расходятся. Если после деления клетки остаются связанными общими фрагментами клеточной стенки и не расходятся, то они располагаются под углом друг к другу (коринебактерии дифтерии) или образуют цепочку (сибиреязвенная бацилла).

Извитые формы – спиралевидные бактерии, например, спириллы, имеющие вид штопорообразно извитых клеток. К патогенным спириллам относится возбудитель содоку (болезнь укуса крыс). К извитым также относятся кампилобактерии и хеликобактерии, имеющие изгибы, как у крыла летящей чайки; близки к ним и такие бактерии, как спирохеты.

Спирохеты – тонкие, длинные, извитые (спиралевидной формы) бактерии, отличающиеся от спирилл подвижностью, обусловленной сгибательными изменениями клеток. Спирохеты состоят из наружной мембраны (клеточной стенки), окружающий протоплазматический цилиндр с цитоплазматической мембраной и аксиальной нитью (аксистиль). Аксиальная нить находится под наружной мембраной клеточной стенки (в периплазме) и как бы закручивается вокруг протоплазматического цилиндра спирохеты, придавая ей винтообразную форму (первичные завитки спирохет). Аксиальная нить состоит из периплазматических фибрилл – аналогов жгутиков бактерий и представляет собой сократительный белок флагеллин. Фибриллы прикреплены к концам клетки (рис. 2.2) и направлены навстречу друг другу. Другой конец фибрилл свободен. Число и расположение фибрилл варьируют у разных видов. Фибриллы участвуют в передвижении спирохет, придавая клеткам вращательное, сгибательное и поступательное движение. При этом спирохеты образуют петли, завитки, изгибы, которые названы вторичными завитками. Спирохеты плохо воспринимают красители. Обычно их окрашивают по Романовскому-Гимзе или серебрением. В живом виде спирохеты исследуют с помощью фазово-контрастной или темнопольной микроскопии.

Спирохеты представлены 3 родами, патогенными для человека: Treponema, Borrelia, Leptospira.

Трепонемы (род Treponema) имеют вид тонких штопорообразно закрученных нитей с 8–12 равномерными мелкими завитками. Вокруг протопласта трепонем расположены 3-4 фибриллы (жгутики). В цитоплазме имеются цитоплазматические филаменты. Патогенными представителями являются T. pallidum – возбудитель сифилиса, T. pertenue – возбудитель тропической болезни – фрамбезии. Имеются и сапрофиты – обитатели полости рта человека, ила водоемов.

Боррелии (род Borrelia), в отличие от трепонем, более длинные, имеют по 3–8 крупных завитков и 7–20 фибрилл. К ним относятся возбудитель возвратного тифа (B recurrentis) и возбудители болезни Лайма (B. burgdorferi и др.).

Лептоспиры (род Leptospira) имеют завитки неглубокие и частые – в виде закрученной веревки. Концы этих спирохет изогнуты наподобие крючков с утолщениями на концах. Образуя вторичные завитки, они приобретают вид букв S или C; имеют 2 осевые нити (жгутики). Патогенный представитель L. interrogans вызывает лептоспироз при попадании в организм с водой или пищей, приводя к развитию кровоизлияний и желтухи.

Риккетсии – мелкие, грамотрицательные палочковидные бактерии (0,3–2,0 мкм), облигатные (обязательные) внутриклеточные паразиты. Размножаются бинарным делением в цитоплазме, а некоторые – в ядре инфицированных клеток. Обитают в членистоногих (вшах, блохах, клещах) которые являются их хозяевами или переносчиками. Свое название риккетсии получили по имени Х. Т. Риккетса – американского ученого, впервые описавшего одного из возбудителей (пятнистая лихорадка Скалистых гор). Форма и размер риккетсии могут меняться (клетки неправильной формы, нитевидные) в зависимости от условий роста. Структура риккетсий не отличается от таковой грамотрицательных бактерий.

Риккетсии обладают независимым от клетки хозяина метаболизмом, однако, возможно, они получают от клетки хозяина макроэргические соединения для своего размножения. В мазках и тканях их окрашивают по Романовскому – Гимзе, по Маккиавелло– Здродовскому (риккетсии красного цвета, а инфицированные клетки – синего).

У человека риккетсии вызывают эпидемический сыпной тиф (Rickettsia prowazekii), клещевой риккетсиоз (R. sibirica), пятнистую лихорадку Скалистых гор (R. rickettsii) и другие риккетсиозы.

Хламидии – относятся к облигатным внутриклеточным кокковидным грамотрицательным (иногда грамвариабельным) бактериям. Хламидии размножаются только в живых клетках: их рассматривают как энергетических паразитов; они не синтезируют аденозинтрифосфат (АТФ) и гуанозинтрифосфат (ГТФ). Вне клеток хламидии имеют сферическую форму (0,3 мкм), метаболически неактивны и называются элементарными тельцами. В клеточной стенке элементарных телец имеется главный белок наружной мембраны и цистеиннасыщенный белок. Геном хламидий содержит в 4 раза меньше генетической информации, чем геном кишечной палочки.

Элементарные тельца попадают в эпителиальную клетку путем эндоцитоза с формированием внутриклеточной вакуоли. Внутри клеток они увеличиваются и превращаются в делящиеся ретикулярные тельца, образуя скопления в вакуолях (включения). Из ретикулярных телец образуются элементарные тельца, которые выходят из клеток путем экзоцитоза или лизиса клетки. Вышедшие из клетки элементарные тельца вступают в новый цикл, инфицируя другие клетки. У человека хламидии вызывают поражения глаз (трахома, конъюнктивит), уро-генитального тракта, легких и др.

Актиномицеты – ветвящиеся, нитевидные или палочковидные грамположительные бактерии. Свое название (от греч. actis – луч, mykes – гриб) они получили в связи с образованием в пораженных тканях друз – гранул из плотно переплетенных нитей в виде лучей, отходящих от центра и заканчивающихся колбовидными утолщениями. Актиномицеты, как и грибы, образуют мицелий – нитевидные переплетающиеся клетки (гифы). Они формируют субстратный мицелий, образующийся в результате врастания клеток в питательную среду и воздушный, растущий на поверхности среды. Актиномицеты могут делиться путем фрагментации мицелия на клетки, похожие на палочковидные и кокковидные бактерии. На воздушных гифах актиномицетов образуются споры, служащие для размножения. Споры актиномицетов обычно не термостойки.

Общую филогенетическую ветвь с актиномицетами образуют так называемые нокардиоподобные (нокардиоформные) актиномицеты – собирательная группа палочковидных, неправильной формы бактерий. Их отдельные представители образуют ветвящиеся формы. К ним относят бактерии родов Corynebacterium, Mycobacterium, Nocardia и др. Нокардиоподобные актиномицеты отличаются наличием в клеточной стенке сахаров арабинозы, галактозы, а также миколовых кислот и больших количеств жирных кислот. Миколовые кислоты и липиды клеточных стенок обуславливают кислотоустойчивость бактерий, в частности, микобактерий туберкулеза и лепры (при окраске по Цилю–Нельсену они имеют красный цвет, а некислотоустойчивые бактерии и элементы ткани, мокроты – синий цвет).

Патогенные актиномицеты вызывают актиномикоз, нокардии – нокардиоз, микобактерии – туберкулез и лепру, коринебактерии – дифтерию. Сапрофитные формы актиномицетов и нокардиеподобных актиномицетов широко распространены в почве, многие из них являются продуцентами антибиотиков.

Микоплазмы – мелкие бактерии (0,15–1,0 мкм), окруженные только цитоплазматической мембраной. Они относятся к классу Mollicutes, содержат стеролы. Из-за отсутствия клеточной стенки микоплазмы осмотически чувствительны. Имеют разнообразную форму: кокковидную, нитевидную, колбовидную. Эти формы видны при фазово–контрастной микроскопии чистых культур микоплазм. На плотной питательной среде микоплазмы образуют колонии, напоминающие яичницу-глазунью: центральная непрозрачная часть, погруженная в среду и просвечивающая периферия в виде круга.

Микоплазмы вызывают у человека атипичную пневмонию (Mycoplasma pneumoniae) и поражения мочеполового тракта (M. hominis и др.). Микоплазмы вызывают заболевания не только у животных, но и у растений. Достаточно широко распространены и непатогенные представители.

Структура бактериальной клетки

Структура бактерий хорошо изучена с помощью электронной микроскопии целых клеток и их ультратонких срезов, а также других методов. Бактериальную клетку окружает оболочка, состоящая из клеточной стенки и цитоплазматической мембраны. Под оболочкой находится протоплазма, состоящая из цитоплазмы с включениями и ядра, называемого нуклеоидом. Имеются дополнительные структуры: капсула, микрокапсула, слизь, жгу-



Рис. 2.2. Строение бактериальной клетки.

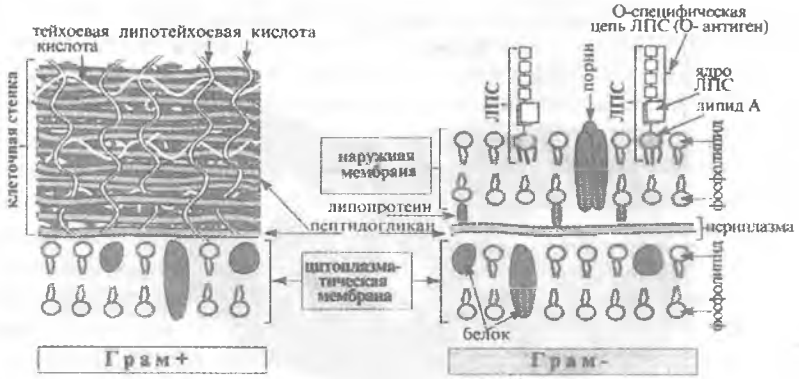


Рис. 2.3. Строение оболочек грамположительных (грам+) и грамотрицательных (грам –) бактерий.



Рис. 2.4. Электронограмма ультратонкого среза клетки грамположительной бактерий Listeria monocytogenes.

тики, пили (рис. 2.2). Некоторые бактерии в неблагоприятных условиях способны образовывать споры.

Клеточная стенка – прочная, упругая структура, придающая бактерии определенную форму и вместе с подлежащей цитоплазматической мембраной «сдерживающая» высокое осмотическое давление в бактериальной клетке. Она участвует в процессе деления клетки и транспорте метаболитов, имеет рецепторы для бактериофагов, бактериоцинов и различных веществ. Наиболее толстая клеточная стенка у грамположительных бактерий (рис. 2.3 и 2.4). Так, если толщина клеточной стенки грамотрицательных бактерий около 15–20 нм, то у грамположительных она может достигать 50 нм и более.

В клеточной стенке грамположительных батерий содержится небольшое количество полисахаридов, липидов, белков. Основным компонентом клеточной стенки этих бактерий является многослойный пептидогликан (муреин, мукопептид), составляющий 40–90% массы клеточной стенки. С пептидогликаном клеточной стенки грамположительных бактерий ковалентно связаны тейхоевые кислоты (от греч. teichos – стенка), молекулы которых представляют собой цепи из 8–50 остатков глицерола и рибитола, соединенных фосфатными мостиками. Форму и прочность бактериям придает



Рис. 2.5. Электронограмма ультратонкого среза клетки грамотрицательной бактерий Brucella melitensis.

жесткая волокнистая структура многослойного, с поперечными пептидными сшивками пептидогликана.

Пептидогликан представлен параллельно расположенными молекулами гликана, состоящего из повторяющихся остатков N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных гликозидной связью. Эти связи разрывает лизоцим, являющийся ацетилмурамидазой. Гликановые молекулы соединены через N-ацетилмурамовую кислоту поперечной пептидной связью из четырех аминокислот (тетрапептида). Отсюда и название этого полимера – пептидогликан.

Основу пептидной связи пептидогликана грамотрицательных бактерий составляют тетрапептиды, состоящие из чередующихся L- и D-аминокислот, например: L-аланин – D-глутаминовая кислота – мезо-диаминопимелиновая кислота – D-аланин. У E. coli (грамотрицательная бактерия) пептидные цепи соединены друг с другом через D-аланин одной цепи и мезо-диаминопимелиновую кислоту – другой. Состав и строение пептидной части пептидогликана грамотрицательных бактерий стабильны в отличие от пептидогликана грамположительных бактерий, аминокислоты которого могут отличаться по составу и последовательности. Тетрапептиды пептидогликана у грамположительных бактерий соединены друг с другом полипептидными цепочками из 5 остатков глицина (пентаглицина). Вместо мезо-диаминопимелиновой кислоты они часто содержат лизин.

Элементы гликана (ацетилглюкозамин и ацетилмурамовая кислота) и аминокислоты тетрапептида (мезо-диаминопимелиновая и D-глутаминовая кислоты, D-аланин) являются отличительной особенностью бактерий, поскольку отсутствуют у животных и человека.

Способность грамположительных бактерий при окраске по Граму удерживать генциановый фиолетовый в комплексе с йодом (сине-фиолетовая окраска бактерий) связана со свойством многослойного пептидогликана взаимодействовать с красителем. Кроме этого, последующая обработка мазка бактерий спиртом вызывает суживание пор в пептидогликане и тем самым, задерживает краситель в клеточной стенке. Грамотрицательные

бактерии после воздействия спиртом утрачивают краситель, что обусловлено меньшим количеством пептидогликана (5–10% массы клеточной стенки); они обесцвечиваются спиртом и при обработке фуксином или сафранином приобретают красный цвет.

В состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий входит наружная мембрана, связанная посредством липопротеина с подлежащим слоем пептидогликана (рис. 2.3 и 2.5). Наружная мембрана при электронной микроскопии ультратонких срезов бактерий имеет вид волнообразной трехслойной структуры, сходной с внутренней мембраной, которую называют цитоплазматической. Основным компонентом этих мембран является бимолекулярный (двойной) слой липидов.

Наружная мембрана является мозаичной структурой, представленной липополисахаридами, фосфолипидами и белками. Внутренний слой ее представлен фосфолипидами, а в наружном слое расположен липополисахарид (ЛПС). Таким образом, наружная мембрана асимметрична. ЛПС наружной мембраны состоит из трех фрагментов:

- липида А – консервативной структуры, практически одинаковой у грамотрицательных бактерий;

– ядра или стержневой, коровой части (лат. core – ядро), относительно консервативной олигосахаридной структуры;

– высоковариабельной О-специфической цепи полисахарида, образованной повторяющимися идентичными олигосахаридными последовательностями.

ЛПС «заякорен» в наружной мембране липидом А, обуславливающим токсичность ЛПС и отождествляемым поэтому с эндотоксином. Разрушение бактерий антибиотиками приводит к освобождению большого количества эндотоксина, что может вызвать у больного эндотоксический шок. От липида А отходит ядро или стержневая часть ЛПС. Наиболее постоянной частью ядра ЛПС является кетодезоксиоктоновая кислота (3-деокси-D-манно-2-октулосоновая кислота). О-специфическая цепь, отходящая от стержневой части молекулы ЛПС, обусловливает серогруппу, серовар (разновидность бактерий, выявляемая с помощью иммунной сыворотки) определенного штамма бактерий. Таким образом, с понятием ЛПС связаны представления об О-антигене, по которому можно дифференцировать бактерии. Генетические изменения могут привести к дефектам, «укорочению» ЛПС бактерий и к появлению в результате этого «шероховатых» колоний R-форм.

Белки матрикса наружной мембраны пронизывают ее таким образом, что молекулы белка, называемые поринами окаймляют гидрофильные поры, через которые проходят вода и мелкие гидрофильные молекулы с относительной массой до 700 Да.

Между наружной и цитоплазматической мембраной находится периплазматическое пространство, или периплазма, содержащая ферменты (протеазы, липазы, фосфатазы, нуклеазы, бета-лактамазы), а также компоненты транспортных систем.

При нарушении синтеза клеточной стенки бактерий под влиянием лизоцима, пенициллина, защитных факторов организма и других соединений образуются клетки с измененной (часто шаровидной) формой: протопласты – бактерии, полностью лишенные клеточной стенки; сферопласты – бактерии с частично сохранившейся клеточной стенкой. После удаления ингибитора клеточной стенки такие измененные бактерии могут реверсировать, т.е. приобретать полноценную клеточную стенку и восстанавливать исходную форму.

Бактерии сферо- или протопластного типа, утратившие способность к синтезу пептидогликана под влиянием антибиотиков или других факторов и способные размножаться, называются L-формами (от названия Института им. Д. Листера, где они впервые были изучены). L-формы могут возникать и в результате мутаций. Они представляют собой осмотически чувствительные, шаровидные, колбовидные клетки различной величины, в том числе и проходящие через бактериальные фильтры. Некоторые L-формы (нестабиль-

ные) при удалении фактора, приведшего к изменениям бактерий, могут реверсировать, «возвращаясь» в исходную бактериальную клетку. L-формы могут образовывать многие возбудители инфекционных болезней.

Цитоплазматическая мембрана при электронной микроскопии ультратонких срезов представляет собой трехслойную мембрану (2 темных слоя толщиной по 2,5 нм каждый разделены светлым – промежуточным). По структуре (см. рис. 2.4 и 2.5) она похожа на плазмалемму клеток животных и состоит из двойного слоя липидов, главным образом фосфолипидов, с внедренными поверхностными, а также интегральными белками, как бы пронизывающими насквозь структуру мембраны. Некоторые из них являются пермеазами, участвующими в транспорте веществ.

Цитоплазматическая мембрана является динамической структурой с подвижными компонентами, поэтому ее представляют как мобильную текучую структуру. Она окружает наружную часть цитоплазмы бактерий и участвует в регуляции осмотического давления, транспорте веществ и энергетическом метаболизме клетки (за счет ферментов цепи переноса электронов, аденозинтрифосфатазы и др.).

При избыточном росте (по сравнению с ростом клеточной стенки) цитоплазматическая мембрана образует инвагинаты – впячивания в виде сложно закрученных мембранных структур, называемые мезосомами. Менее сложно закрученные структуры называются внутрицитоплазматическими мембранами. Роль мезосом и внутрицитоплазматических мембран до конца не выяснена. Предполагают даже, что они являются артефактом, возникающим после приготовления (фиксации) препарата для электронной микроскопии. Тем не менее считают, что производные цитоплазматической мембраны участвуют в делении клетки, обеспечивая энергией синтез клеточной стенки, принимают участие в секреции веществ, спорообразовании, т.е. в процессах с высокой затратой энергии.

Цитоплазма занимает основной обьем бактериальной клетки и состоит из растворимых белков, рибонуклеиновых кислот, включений и многочисленных мелких гранул – рибосом, ответственных за синтез (трансляцию) белков.

Рибосомы бактерий имеют размер около 20 нм и коэффициент седиментации 70S, в отличие от 80S-рибосом, характерных для эукариотических клеток. Поэтому некоторые антибиотики, связываясь с рибосомами бактерий, подавляют синтез бактериального белка, не влияя на синтез белка эукариотических клеток. Рибосомы бактерий могут диссоциировать на две субъединицы – 50S и 30S. Рибосомные РНК (рРНК) – консервативные элементы бактерий («молекулярные часы» эволюции). 16S рРНК входит в состав малой субъединицы рибосом, а 23S рРНК – в состав большой субъединицы рибосом. Изучение I6S рРНК является основой геносистематики, позволяя оценить степень родства организмов.

В цитоплазме имеются различные включения в виде гранул гликогена, полисахаридов, бета-оксимасляной кислоты и полифосфатов (волютин). Они накапливаются при избытке питательных веществ в окружающей среде и выполняют роль запасных веществ для питания и энергетических потребностей.

Волютин обладает сродством к основным красителям и легко выявляется с помощью специальных методов окраски (например, по Нейссеру) в виде метахроматических гранул. Толуидиновым синим или метиленовым голубым волютин окрашивается в красно-фиолетовый цвет, а цитоплазма бактерии – в синий. Характерное расположение гранул волютина выявляется у дифтерийной палочки в виде интенсивно прокрашивающихся полюсов клетки. Метахроматическое окрашивание волютина связано с высоким содержанием полимеризованного неорганического полифосфата. При электронной микроскопии они имеют вид электронно-плотных гранул размером 0,1-1,0 мкм.

Нуклеоид – эквивалент ядра у бактерий. Он расположен в центральной зоне бактерий в виде двунитевой ДНК, замкнутой в кольцо и плотно уложенной наподобие клубка. Ядро бактерий, в отличие от эукариот, не имеет ядерной оболочки, ядрышка и основных белков (гистонов). Обычно в бактериальной клетке содержится одна хромосома, представленная замкнутой в кольцо молекулой ДНК. При нарушении деления в ней может находиться 4 и более хромосом. Нуклеоид выявляется в световом микроскопе после окраски специфическими для ДНК методами: по Фельгену или по Романовскому–Гимзе. На электронограммах ультратонких срезов бактерий нуклеоид имеет вид светлых зон с фибриллярными, нитевидными структурами ДНК, связанной определенными участками с цитоплазматической мембраной или мезосомой, участвующими в репликации хромосомы (см. рис. 2.4 и 2.5).

Кроме нуклеоида, представленного одной хромосомой, в бактериальной клетке имеются внехромосомные факторы наследственности – плазмиды, представляющие собой ковалентно замкнутые кольца ДНК.



Рис. 2.6. Электронограмма кишечной палочки. Виды: жгутики; многочисленные, расположенные вокруг клетки, тонкие ворсинки (пили); половая ворсинка (F-пили), на которой адсорбированы «мужские» сферические бактериофаги.

Капсула, микрокапсула, слизь. Капсула – слизистая структура толщиной более 0,2 мкм, прочно связанная с клеточной стенкой бактерий и имеющая четко очерченные внешние границы. Капсула различима в мазках-отпечатках из патологического материала. В чистых культурах бактерий капсула образуется реже. Она выявляется при специальных методах окраски мазка по Бурри – Гинсу, создающих негативное контрастирование веществ капсулы: тушь создает темный фон вокруг капсулы.

Капсула состоит из полисахаридов (экзополисахаридов), иногда из полипептидов; например, у сибиреязвенной бациллы она состоит из полимеров D-глутаминовой кислоты. Капсула гидрофильна, включает большое количество воды. Она препятствует фагоцитозу бактерий. Капсула антигенна; антитела против капсулы вызывают ее увеличение (реакция набухания капсулы).

Многие бактерии образуют микрокапсулу – слизистое образование толщиной менее 0,2 мкм, выявляемое лишь при электронной микроскопии. От капсулы следует отличать слизь – мукоидные экзополисахариды, не имеющие четких внешних границ. Слизь растворима в воде.

Мукоидные экзополисахариды характерны для мукоидных штаммов синегнойной палочки, часто встречающихся в мокроте больных с кистозным фиброзом. Бактериальные экзополисахариды участвуют в адгезии (прилипании к субстратам); их еще называют гликокаликсом. Кроме синтеза экзополисахаридов бактериями, существует и другой механизм их образования: путем действия внеклеточных ферментов бактерий на дисахариды. В результате этого образуются декстраны и леваны.

Капсула и слизь предохраняют бактерии от повреждений, высыхания, так как, являясь гидрофильными, хорошо связывают воду, препятствуют действию защитных факторов макроорганизма и бактериофагов.

Жгутики бактерий определяют подвижность бактериальной клетки. Жгутики представляют собой тонкие нити, берущие начало от цитоплазматической мембраны, имеют большую длину, чем сама клетка (рис. 2.6). Толщина жгутиков 12–20 нм, длина 3–15 мкм.



Рис. 2.7. Электронограмма ультратонкого среза столбнячной палочки (Clostridium tetani) в процессе спорообразования. В вегетативной клетке столбнячной палочки формируется терминальная спора с многослойной оболочкой.

Они состоят из 3 частей: спиралевидной нити, крюка и базального тельца, содержащего стержень со специальными дисками (1 пара дисков – у грамположительных и 2 пары – у грамотрицательных бактерий). Дисками жгутики прикреплены к цитоплазматической мембране и клеточной стенке. При этом создается эффект электромотора со стержнем – ротором, вращающим жгутик. В качестве источника энергии используется разность протонных потенциалов на цитоплазматической мембране. Механизм вращения обеспечивает протонная АТФ-синтетаза. Скорость вращения жгутика может достигать 100 об/с. При наличии у бактерии нескольких жгутиков они начинают синхронно вращаться, сплетаясь в единый пучок, образующий своеобразный пропеллер.

Жгутики состоят из белка – флагеллина (от. flagellum – жгутик), являющегося антигеном – так называемый Н-антиген. Субъединицы флагеллина закручены в виде спирали.

Число жгутиков у бактерий различных видов варьирует от одного (монотрих) у холерного вибриона, до десятка и сотен жгутиков, отходящих по периметру бактерии (перитрих), у кишечной палочки, протея и др. Лофотрихи имеют пучок жгутиков на одном из концов клетки. Амфитрихи имеют по одному жгутику или пучку жгутиков на противоположных концах клетки.

Жгутики выявляют с помощью электронной микроскопии препаратов, напыленных тяжелыми металлами или в световом микроскопе после обработки специальными методами, основанными на протравливании и адсорбции различных веществ, приводящих к увеличению толщины жгутиков (например, после серебрения).

Ворсинки или пили (фимбрии) – нитевидные образования (рис. 2.6), более тонкие и короткие (3-10 нм х 0,3-10 мкм), чем жгутики. Пили отходят от поверхности клетки и состоят из белка пилина. Они обладают антигенной активностью. Различают пили, ответственные за адгезию, т.е. за прикрепление бактерий к поражаемой клетке, а также пили, ответственные за питание, водно-солевой обмен и половые (F-пили) или конъюгационные пили.

Обычно пили многочисленны – несколько сотен на клетку. Однако, половых пилей обычно бывает 1–3 на клетку: они образуются так называемыми «мужскими» клетками-донорами, содержащими трансмиссивные плазмиды (F-, R-, Col-плазмиды). Отличительной особенностью половых пилей является их взаимодействие с особыми «мужскими» сферическими бактериофагами, которые интенсивно адсорбируются на половых пилях (рис. 2.6).

Споры – своеобразная форма покоящихся бактерий с грамположительным типом строения клеточной стенки (рис. 2.7).

Споры образуются при неблагоприятных условиях существования бактерий (высушивание, дефицит питательных веществ и др.). Внутри бактериальной клетки образуется одна спора (эндоспора). Образование спор способствует сохранению вида и не является способом размножения, как у грибов.

Спорообразующие бактерии рода Bacillus, у которых размер споры не превышает диаметр клетки, называются бациллами. Спорообразующие бактерии, у которых размер споры превышает диаметр клетки, отчего они принимают форму веретена, называются клостридиями, например, бактерии рода Clostridium (лат. Clostridium – веретено). Споры кислотоустойчивы, поэтому окрашиваются по методу Ауески или по методу Циля–Нельсена в красный, а вегетативная клетка – в синий.

Спорообразование, форма и расположение спор в клетке (вегетативной) являются видовым свойством бактерий, что позволяет отличать их друг от друга. Форма спор может быть овальной, шаровидной; расположение в клетке – терминальное, т.е. на конце палочки (у возбудителя столбняка), субтерминальное – ближе к концу палочки (у возбудителей ботулизма, газовой гангрены) и центральное (у сибиреязвенной бациллы).

Процесс спорообразования (споруляция) проходит ряд стадий, в течение которых часть цитоплазмы и хромосома бактериальной вегетативной клетки отделяются, окружаясь врастающей цитоплазматической мембраной, – образуется проспора. Проспору окружают две цитоплазматические мембраны, между которыми формируется толстый измененный пептидогликановый слой кортекса (коры). Изнутри он соприкасается с клеточной стенкой споры, а снаружи – с внутренней оболочкой споры. Наружная оболочка споры образована вегетативной клеткой. Споры некоторых бактерий имеют дополнительный покров – экзоспориум. Таким образом, формируется многослойная плохо проницаемая оболочка. Спорообразование сопровождается интенсивным потреблением проспорой, а затем и формирующейся оболочкой споры дипиколиновой кислоты и ионов кальция. Спора приобретает термоустойчивость, которую связывают с наличием в ней дипиколината кальция.

Спора долго может сохраняться из-за наличия многослойной оболочки, дипиколината кальция, низкого содержания воды и вялых процессов метаболизма. В почве, например, возбудители сибирской язвы и столбняка могут сохраняться десятки лет.

В благоприятных условиях споры прорастают, проходя три последовательные стадии: активацию, инициацию, вырастание. При этом из одной споры образуется одна бактерия. Активация – это готовность, к прорастанию. При температуре 60–80°С спора активируется для прорастания. Инициация прорастания длится несколько минут. Стадия вырастания характеризуется быстрым ростом, сопровождающимся разрушением оболочки и выходом проростка.

2.1. Строение и классификация грибов

Грибы относятся к царству Fungi (Mycetes, Mycota). Это многоклеточные или одноклеточные нефотосинтезирующие (бесхлорофильные) микроорганизмы с клеточной стенкой. Являются эукариотами, т.е. относятся к домену «Eukarya». Широко распространены в природе, особенно в почве.

Грибы имеют ядро с ядерной оболочкой, цитоплазму с органеллами, цитоплазматическую мембрану и многослойную, ригидную клеточную стенку, состоящую из нескольких типов полисахаридов (маннанов, глюканов, целлюлозы, хитина), а также белка, ли-

пидов и др. Некоторые грибы образуют капсулу. Цитоплазматическая мембрана содержит гликопротеины, фосфолипиды и эргостеролы (в отличие от холестерина – главного стерола тканей млекопитающих). Грибы являются грамположительными микробами, вегетативные клетки – некислотоустойчивые. Тело гриба называется талломом.

Различают два основных типа грибов: гифальный и дрожжевой.

Гифальные (плесневые) грибы образуют ветвящиеся тонкие нити (гифы), сплетающиеся в грибницу или мицелий (плесень). Толщина гиф колеблется от 2 до 100 мкм. Гифы, врастающие в питательный субстрат, называются вегетативными гифами (отвечают за питание гриба), а растущие над поверхностью субстрата – воздушными или репродуктивными гифами (отвечают за бесполое размножение). Гифы низших грибов не имеют перегородок. Они представлены многоядерными клетками и называются ценоцитными (от греч. Koenos – единый, общий). Гифы высших грибов разделены перегородками или септами с отверстиями.

Дрожжевые грибы (дрожжи) в основном, имеют вид отдельных овальных клеток. Дрожжи – одноклеточные грибы, которые по типу полового размножения распределены среди высших грибов – аскомицет и базидиомицет. При бесполом размножении дрожжи образуют почки или делятся, что приводит к одноклеточному росту. Могут образовывать псевдогифы и ложный мицелий (псевдомицелий), состоящие из цепочек удлиненных клеток в виде «сарделек». Грибы, аналогичные дрожжам, но не имеющие полового способа размножения, называют дрожжеподобными. Они размножаются только бесполым способом – почкованием или делением. В медицинской литературе понятие «дрожжеподобные грибы» часто идентифицируют с понятием «дрожжи».

Многие грибы характеризуются диморфизмом – способностью к гифальному (мицелиальному) или дрожжеподобному росту, в зависимости от условий культивирования. Например, в инфицированном организме они растут в виде дрожжеподобных клеток (дрожжевая фаза), а на питательных средах образуют гифы и мицелий. Такая реакция связана с температурным фактором: при комнатной температуре образуется мицелий, а при 37°С (при температуре тела человека) – дрожжеподобные клетки.

Размножение грибов происходит половым и бесполым (вегетативным) способами: половое размножение грибов происходит с образованием гамет, половых спор и других половых форм. Половые формы называются телеоморфами. Бесполое размножение грибов происходит с образованием соответствующих форм, называемых анаморфами. Такое размножение происходит почкованием, фрагментацией гиф и бесполыми спорами.

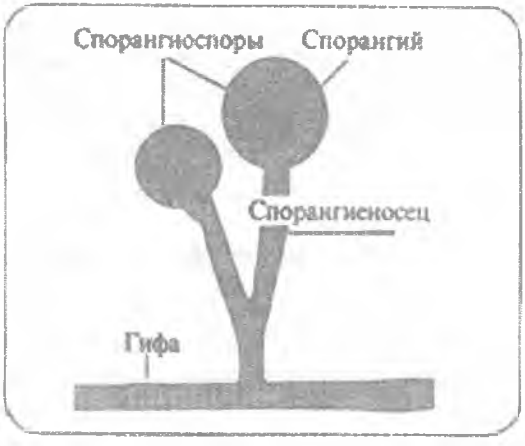


Рис. 2.8. Грибы Mucor



Рис. 2.9. Грибы рода Aspergillus

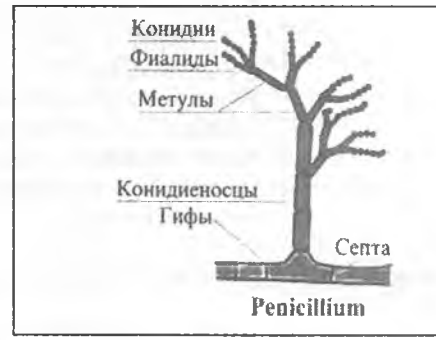


Рис. 2.10. Грибы рода Penicillium

Эндогенные споры (спорангиоспоры) созревают внутри округлой структуры – спорангия (рис. 2.8). Экзогенные споры (конидии) формируются на кончиках плодоносящих гиф, так называемых «конидиеносцах» (рис. 2.9 и 2.10).

Основные типы конидий – артроконидии (артроспоры) или таллоконидии (старое название – оидии, таллоспоры) – образуются путем равномерного септирования и расчленения гиф; бластоконидии образуются в результате почкования. Одноклеточные небольшие конидии называются микроконидиями. Многоклеточные большие конидии называются макроконидиями. К бесполым формам грибов относят также хламидоконидии или хламидоспоры (толстостенные крупные покоящиеся клетки или комплекс мелких клеток), и склероции (твердая *масса клеток с оболочкой) – покоящиеся органы грибов, способствующие их выживанию в неблагоприятных условиях.

Среди грибов, имеющих медицинское значение (табл. 2.2), выделяют 3 типа – Phylum (или отдела), имеющие половой способ размножения (так называемые, совершенные грибы): зигомицеты (Zygomycota), аскомицеты (Ascomycota) и базидиомицеты (Basidiomycota). Кроме того, выделяют условный тип/группу грибов – дейтеромицеты (тип Deiteromycota), у которых имеется только бесполый способ размножения (так называемые несовершенные грибы).

Зигомицеты относятся к низшим грибам. Они включают виды родов Мисог и др. Распространены в почве, воздухе и способны вызывать зигомикоз (мукоромикоз) легких, головного мозга и других органов человека и животных. Половое размножение у зигомицетов осуществляется путем образования зигоспор. При бесполом размножении этих грибов на плодоносящей гифе, споратиеносце, образуется спорангий – шаровидное утолщение с оболочкой, содержащее многочисленные спорангиоспоры (рис. 2.8).

Таблица 2. 2.

Основные группы грибов, имеющих медицинское значение*

Таксоны	Основные роды	Болезни людей
Зигомицеты (тип Zygomycota)	Rhizopus. Mucor, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella. Sacsenaea Basidiobolus. Conidiobolus	Зигомикоз
Аскомицеты (тип Ascomycota)	Дрожжи: Saccharomyces. Pichia (телеоморфы некоторых Candida spp.)	Многочисленные микозы

	Arthroderma (телеоморфы видов Trichophyton и Microsporum) Телеоморфы некоторых Aspergillus и Penicillium spp. Pseudallescheria boydii (телеоморфа Scedosporium apiospermum) Nectria, Gibberella (телеоморфы многих видов грибов рода Fusarium) Pneumocystis carinii	Дерматомикозы Аспергиллез, пенициллоз Мицетома, гиалогифомикоз Кератоз, гиалогифомикоз Пневмония
Базидиомицеты (тип Basidiomycota)	Amanita, Agaricus Дрожжи: Filobasidiella (телеоморфы Cryptococcus neoformans)	Отравление ядовитыми грибами Криптококкоз
Дейтеромицеты (формальная группа Deiteromycota)	Несовершенные дрожжи: Candida, Cryptococcus, Trichosporon, Malassezia Epidermophyton, Coccidioides, Paracoccidioides, Sporothrix, Aspergillus Phialophora. Fonsecaea. Exophiala. Wangiella, Cladophialophora, Bipolaris, Exserohilum Phoma	Многочисленные микозы Многочисленные микозы Хромобластмикоз, мицетома, феогифомикоз Феогифомикоз

** Не имеют медицинского значения следующие низшие грибы: хитридиомицеты (тип Chytridiomycota) или водные грибы, ведущие сапрофитический образ жизни или поражающие водоросли; оомицеты – организмы, родственные водорослям, паразиты высших растений (оомицеты теперь относят к царству Stramenopila, типу Oomycota).*

К высшим совершенным грибам относятся аскомицеты и базидиомицеты. К высшим несовершенным грибам относятся дейтеромицеты.

Аскомицеты (сумчатые грибы) имеют септированный мицелий (за исключением одноклеточных дрожжей). Свое название они получили от основного органа плодоношения – сумки или аска, содержащего 4 или 8 гаплоидных половых спор (аскоспор). К аскомицетам относятся отдельные представители (телеоморфы) родов Aspergillus, Penicillium и др.

Большинство грибов родов Aspergillus, Penicillium являются анаморфами, т.е. размножаются только бесполым путем и должны быть отнесены по этому признаку, к несовершенным грибам. Они отличаются особенностями формирования плодоносящих гиф (рис. 2.9 и 2.10). У грибов рода Aspergillus (плесневая плесень) на концах плодоносящих гиф, конидиеносцах, имеются утолщения – стеригмы, фиалиды, на которых образуются цепочки спор – конидии. Некоторые виды аспергилл могут вызывать аспергиллезы и афлатоксикозы. Плодоносящая гифа у грибов рода Penicillium (кистевик) напоминает кисточку, так как из нее (на конидиеносце) образуются утолщения, разветвляющиеся на более мелкие структуры – стеригмы, фиалиды, на которых находятся цепочки конидий. Пенициллы могут вызывать заболевания – пенициллиозы.

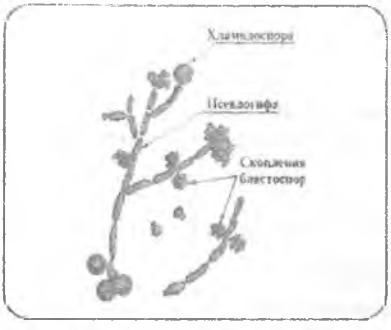


Рис 2.11. Грибы Candida albicans

Представителями аскомицетов являются также дрожжи – одноклеточные грибы, утратившие способность к образованию истинного мицелия. Дрожжи имеют овальную форму, диаметр 3–15 мкм. Они размножаются почкованием, бинарным делением (делятся на две равные клетки) или половым путем с образованием аскоспор. Заболевания, вызываемые некоторыми видами дрожжей, получили название дрожжевых микозов.

К аскомицетам относится и возбудитель эрготизма (спорынья Claviceps purpurea), паразитирующий на злаках. Многие виды аскомицетов являются продуцентами антибиотиков, используются в биотехнологии.

Базидиомицеты – шляпочные грибы с септированным мицелием. Они образуют половые споры – базидиоспоры путем отшнуровывания от базидия – концевой клетки мицелия, гомологичной аску.

Дейтеромицеты (другие названия: несовершенные грибы, Fungi imperfecti, анаморфные грибы, конидиальные грибы) являются условным, (формальным) типом грибов, который объединяет грибы, не имеющие полового способа размножения. Слово «формальный» означает, что потенциально эти грибы могут иметь половой способ размножения; при установлении последнего факта грибы переносят в один из известных типов – Ascomycota или Basidiomycota и присваивают им название телеоморфной формы. Дейтеромицеты образуют септированный мицелий, размножаются только бесполым путем, а именно в результате формирования неполовых спор – конидий. Недавно вместо термина «дейтеромицеты» предложен термин «митоспоровые грибы» – грибы, размножающиеся неполовыми спорами, т.е. путем митоза.

К дейтеромицетам относятся несовершенные дрожжи (дрожжеподобные грибы), например, некоторые грибы рода Candida, поражающие кожу, слизистые оболочки и внутренние органы (кандидоз). Они имеют овальную форму (рис. 2.11), диаметр 2–5 мкм, делятся почкованием, образуют псевдогифы (псевдомицелий) в виде цепочек из удлиненных клеток и септированные гифы. Эти грибы называются дрожжеподобными, в отличие от истинных дрожжей, которые относятся к аскомицетам, образующим аскоспоры. Для Candida albicans характерно образование хламидоспор.

2.2. Строение и классификация простейших

Простейшие – эукариотические одноклеточные микроорганизмы, составляющие подцарство Protozoa (от греч. protos – первый, zoon – животное) в царстве животных – Animalia. Являются эукариотами, т.е. относятся к домену «Eukarya». Простейшие имеют ядро с ядерной оболочкой и ядрышком, их цитоплазма состоит из эндоплазматического ретикулума, митохондрий, лизосом, многочисленных рибосом и др.

Размеры простейших колеблются в среднем от 2 до 100 мкм. Снаружи они окружены мембраной (пелликулой) – аналогом цитоплазматической мембраны клеток животных.

Простейшие имеют органы движения (жгутики, реснички, псевдоподии), питания (пищеварительные вакуоли) и выделения (сократительные вакуоли). Жгутики отходят от блефаропласта. Они состоят из 9 пар периферических, 2 пар центральных микротрубочек и оболочки. Некоторые простейшие имеют опорные фибриллы. Простейшие могут питаться в результате фагоцитоза или образования особых структур. Размножаются бесполым путем – двойным делением или множественным делением (шизогония), а некоторые и половым путем (спорогония). При неблагоприятных условиях многие из них образуют цисты – покоящиеся стадии, устойчивые к изменению температуры, влажности и др. При окраске по Романовскому–Гимзе ядро простейших имеет красный, а цитоплазма – синий цвет.



Рис. 2.12 Формы Entamoeba histolytica

Простейшие представлены 7 типами, из которых четыре типа (Sarcomastigophora, Apicomplexa, Ciliophora. Microspora) включают возбудителей заболеваний у человека. Ряд микроорганизмов не имеет четкого таксономического положения. Например, пневмоцисты и бластоцисты обладают признаками как простейших, так и грибов.

Тип Sarcomastigophora состоит из подтипов Sarcodina и Mastigophora. К подтипу Sarcodina (саркодовые) относятся дизентерийная амеба – Entamoeba histolytica (см. рис. 2.12) – возбудитель амебиаза человека, свободноживущие амебы (родов неглерия, акантамеба и др.) и непатогенные амебы (кишечная амеба и др.). Эти простейшие передвигаются путем образования псевдоподий, с помощью которых происходят захват и погружение в цитоплазму клеток, питательных веществ. Половой путь размножения у амеб отсутствует. При неблагоприятных условиях они образуют цисту.

Подтип Mastigophora (жгутиконосцы) включает патогенных представителей, например: трипаносомы – возбудителей африканского трипаносомоза (сонной болезни) и болезни Шагаса; лейшмании – возбудителей кожной и висцеральной форм лейшманиозов; влагалищную трихомонаду – возбудителя трихомоноза; лямблию – возбудителя лямблиоза. Эти простейшие характеризуются наличием жгутиков, например, у лейшмании – один жгутик (см. рис. 2.13, а), у трихомонад – 4 свободных жгутика и 1 жгутик, соединенный с короткой ундулирующей мембраной (см. рис. 2.14).

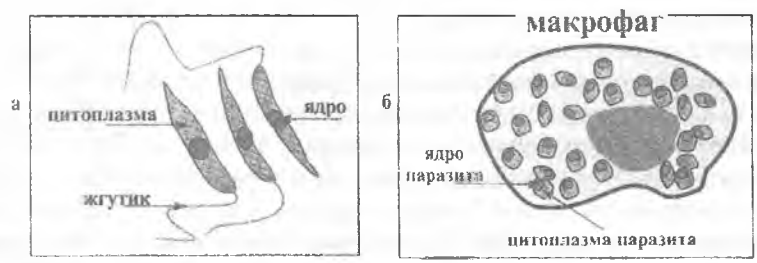


Рис. 2.13, а, б. Схема строения лейшманий:
а – жгутиковая форма (промастигота); *б* – безжгутиковая форма в макрофаге (амастигота).

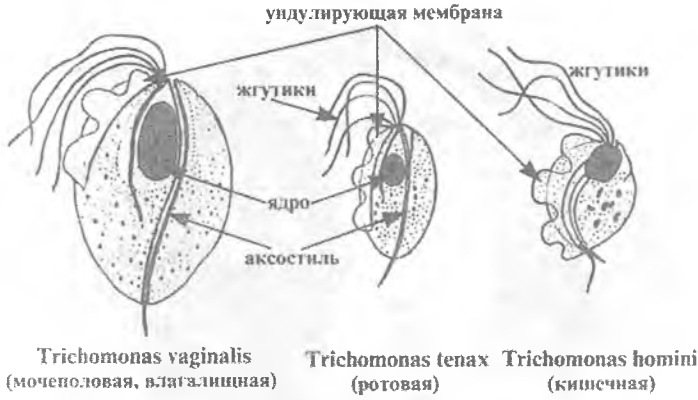


Рис. 2.14. Схема строения трихоманад.

Тип Apicomplexa. В классе Sporozoa (споровики) патогенными представителями являются плазмодии малярии (см. рис. 2.15), токсоплазмы, саркоцисты, изоспоры, криптоспоридии (см. рис. 2.16), циклоспоры, бабезии (см. рис. 2.17). Паразиты имеют апикальный комплекс, который позволяет им проникнуть в клетку хозяина для последующего внутриклеточного паразитизма. Каждый из этих представителей имеет сложное строение и свои особенности жизненного цикла. Так, например, жизненный цикл возбудителя малярии характеризуется чередованием полового размножения (в организме комаров Anopheles) и бесполого (в клетках тканей и эритроцитах человека, где они размножаются путем множественного деления). Токсоплазмы имеют форму полулуний. Человек заражается ими от животных, возбудитель может передаваться через плаценту, поражая центральную нервную систему (ЦНС) и глаза плода.

Тип Ciliophora. Патогенным представителем ресничных является Balantidium coli – возбудитель балантидиаза, поражающий толстую кишку человека. Балантидии подвижны, имеют многочисленные реснички, более тонкие и короткие, чем жгутики (см. рис. 2.18).

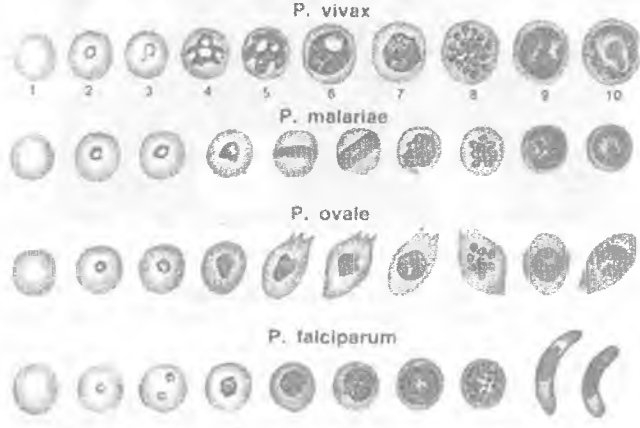


Рис. 2.15. Кровяные формы возбудителей малярии:
1 – нормальные эритроциты; *2* – кольцевидные трофозоиты; *3-6* – трофозоиты разного возраста; *7* – шизонты; 8 – морулы; *9* – гамонты женские; *10* – гамонты мужские

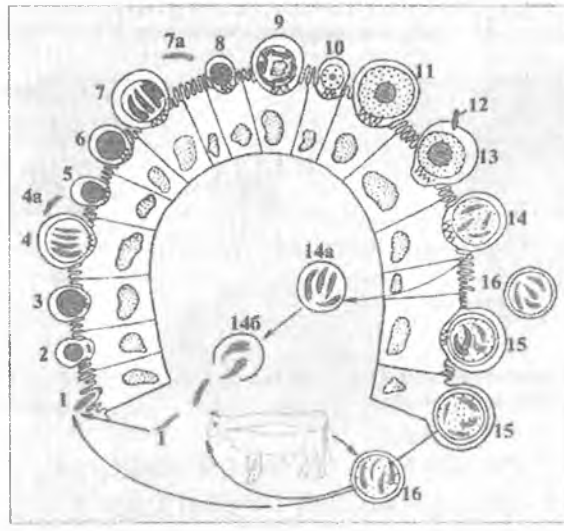


Рис. 2.16. Бесполое размножение токсогогазм в организме человека или другого промежуточного хозяина: 1 – проникновение в клетку хозяина *(2)* паразита в виде эндозоита, цистозоита или спорозоита (спорозоиты выходят из созревшей ооцисты, содержащей две спороцисты со спорозоитами); *3* – скопление эндозоитов в паразитарной вакуоле; *4* – выход эндозоитов из клетки хозяина; 5 – цистозоиты во внутриклеточной цисте; *6* – цистозоиты во внеклеточной цисте.

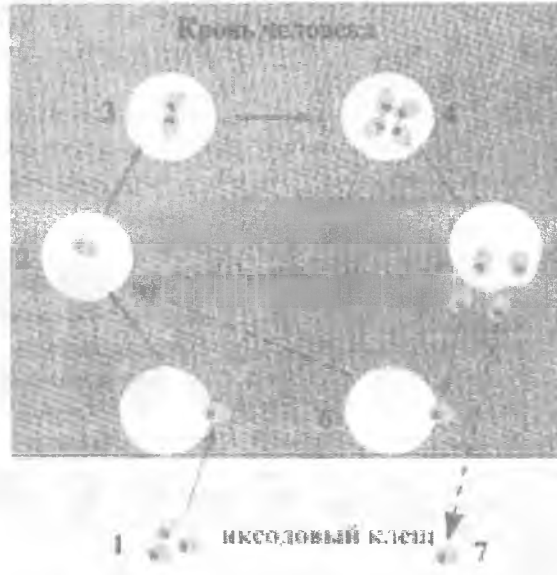


Рис. 2.17. Схема жизненного цикла бабезии: *1* – внедрение мерозоита в эритроцит после укуса клеща; *2* – мерозоит в эритроците: *3* – бинарные бесполые деления паразита: *4* - образование в эритроците тетрад паразита; *5* – лизис эритроцитов и выход мерозоитов; *6* – внедрение мерозоита в эритроцит и повторение цикла развития: 7 – передача клещу мерозоитов из крови человека.



Рис. 2.18. Схема строения вегетативной формы и цисты Balantidium coli.

Тип Microspora включает микроспоридии – маленькие (0,5–10 мкм) облигатные внутриклеточные паразиты, широко распространенные среди животных и вызывающие у ослабленных людей диарею и гнойно-воспалительные заболевания. Эти паразиты имеют особые споры с инфекционным материалом – спороплазмой.

2.3. Строение и классификация вирусов

Вирусы относятся к царству Vira. Это мельчайшие микробы («фильтрующиеся агенты»), не имеющие клеточного строения, белоксинтезирующей системы, содержащие один тип нуклеиновой кислоты (только ДНК или РНК). Вирусы, являясь облигатными внутриклеточными паразитами, размножаются в цитоплазме или ядре клетки. Они являются автономными генетическими структурами и отличаются особым, разобщенным (дизъюнктивным) способом размножения (репродукции): в клетке отдельно синтезируются нуклеиновые кислоты вирусов и их белки, затем происходит их сборка в вирусные частицы. Сформированная вирусная частица называется вирионом.

Морфологию и структуру вирусов изучают с помощью электронной микроскопии, так как их размеры малы и сравнимы с толщиной оболочки бактерий. Форма вирионов может быть различной (рис. 2.19): палочковидной (вирус табачной мозаики), пулевидной (вирус бешенства), сферической (вирусы полиомиелита, ВИЧ), нитевидной (филовирусы), в виде сперматозоида (многие бактериофаги – см. гл. 3). Размеры вирусов определяют с помощью электронной микроскопии, методом ультрафильтрации через фильтры с известным диаметром пор, методом ультрацентрифугирования. Наиболее мелкими вирусами являются парвовирусы (18 нм) и вирус полиомиелита (около 20 нм), наиболее крупным – вирус натуральной оспы (около 350 нм).

Различают ДНК- и РНК-содержащие вирусы. Они обычно гаплоидны, т.е. имеют один набор генов. Исключением являются ретровирусы, имеющие диплоидный геном. Геном вирусов содержит от шести до нескольких сотен генов и представлен различными видами нуклеиновых кислот: двунитевыми, однонитевыми, линейными, кольцевыми, фрагментированными.

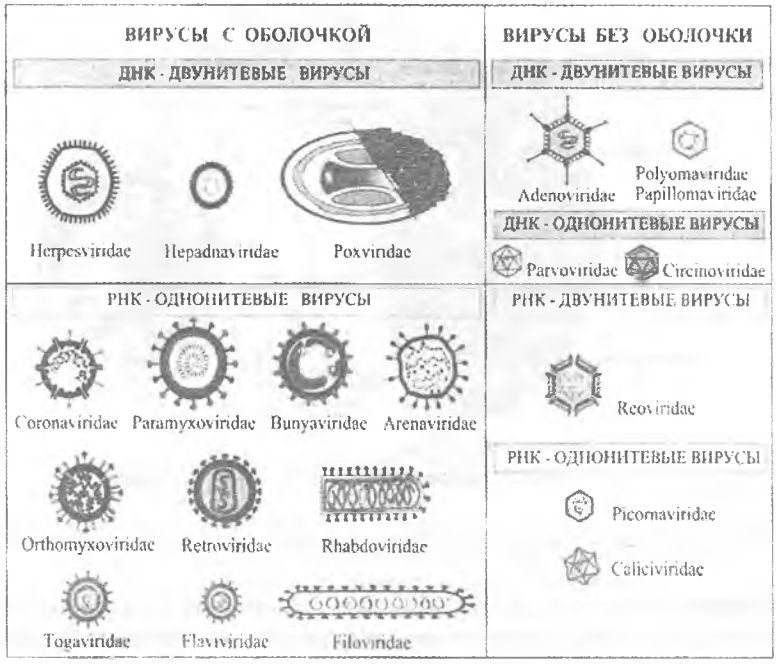


Рис 2.19 Классификация и морфология вирусов.

Среди РНК-содержащих вирусов различают вирусы с положительным (плюс-нить РНК) геномом. Плюс-нить РНК этих вирусов выполняет наследственную (геномную) функцию и функцию информационной РНК (иРНК).

Имеются также РНК-содержащие вирусы с отрицательным (минус-нить РНК) геномом. Минус-нить РНК этих вирусов выполняет только наследственную функцию.

Геном вирусов способен включаться в геном клетки в виде провируса, проявляя себя генетическим паразитом клетки. Нуклеиновые кислоты некоторых вирусов, например, вирусов герпеса могут находиться в цитоплазме инфицированных клеток, напоминая плазмиды.

Различают простоустроенные вирусы (например, вирусы полиомиелита, гепатита А) и сложноустроенные вирусы (например, вирусы кори, гриппа, герпеса, коронавирусы).

У простоустроенных вирусов (рис. 2.20, а и б) нуклеиновая кислота связана с белковой оболочкой, называемой капсидом (от лат. capsa – футляр). Капсид состоит из повторяющихся морфологических субъединиц– капсомеров. Нуклеиновая кислота и капсид взаимодействуют друг с другом и вместе называются нуклеокапсидом.

У сложноустроенных вирусов (рис. 2.21, а и б) капсид окружен липопротеиновой оболочкой – суперкапсидом или пеплосом. Оболочка вируса является производной структурой от мембран вирус-инфицированной клетки. На оболочке вируса расположены гликопротеиновые «шипы» или «щипики» (пепломеры или суперкапсидные белки). Под оболочкой некоторых вирусов находится М-белок.

Таким образом, простоустроенные вирусы состоят из нуклеиновой кислоты и капсида. Сложноустроенные вирусы состоят из нуклеиновой кислоты, капсида и липопротеиновой оболочки.

Вирионы имеют спиральный, икосаэдрический (кубический) или сложный тип симметрии капсида (нуклеокапсида). Спиральный тип симметрии обусловлен винтообразной

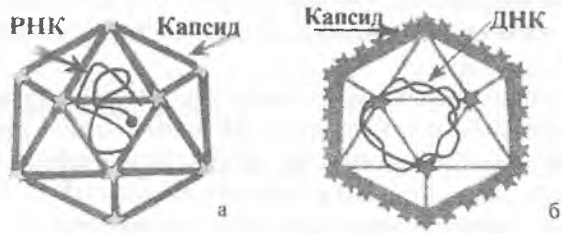


Рис. 2.20. Простоустроенные вирусы (без оболочки):
а – схема строения вируса гепатита А (вирус имеет однонитевую плюс-РНК);
б – схема строения папилломавируса (вирус имеет двунитевую кольцевую ДНК).

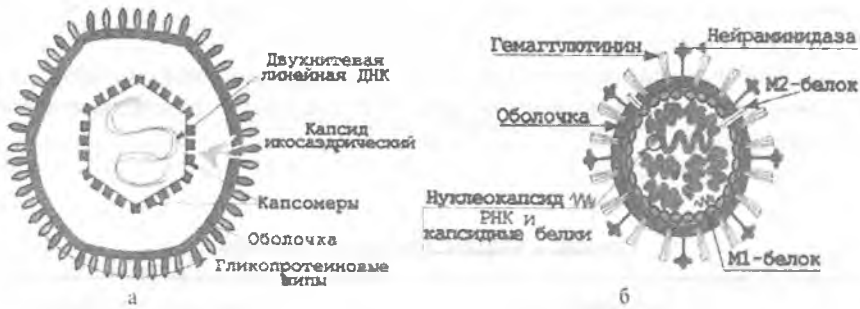


Рис. 2.21. Сложноустроенные вирусы (с оболочкой):
а – схема строения вируса герпеса (вирус с линейной двунитевой ДНК);
б – схема строения вируса гриппа (вирус с однонитевой минус-РНК из 8 фрагментов).

структурой нуклеокапсида (например, у вирусов гриппа, коронавирусов). Икосаэдрический тип симметрии обусловлен образованием изометрически полого тела из капсида, содержащего вирусную нуклеиновую кислоту (например, у вируса герпеса).

Капсид и оболочка (суперкапсид) защищают вирионы от воздействия окружающей среды, обуславливают избирательное взаимодействие (адсорбцию) с определенными клетками, а также антигенные и иммуногенные свойства вирионов.

Внутренние структуры вирусов называют сердцевиной. У аденовирусов сердцевина состоит из гистоноподобных белков, связанных с ДНК, у реовирусов – из белков внутреннего капсида.

В вирусологии используют следующие таксономические категории: семейство (название оканчивается на viridae), подсемейство (название оканчивается на virinae), род (название оканчивается на virus). Однако, названия родов и особенно подсемейств даны не для всех вирусов. Вид вируса не получил биноминального названия, как у бактерий.

В основу классификации вирусов положены следующие категории: тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК), ее структура, количество нитей (одна или две), особенности воспроизводства вирусного генома (табл. 2.3), размер и морфология вирионов, количество капсомеров и тип симметрии нуклеокапсида, наличие оболочки (суперкапсида), чувствительность к эфиру и дезоксихолату, место размножения в клетке, антигенные свойства и др.

Вирусы поражают позвоночных и беспозвоночных животных, а также бактерии и растения. Являясь основными возбудителями инфекционных заболеваний человека, они также участвуют в процессах канцерогенеза, могут передаваться различными путями, в том

числе, через плаценту (вирусы краснухи, цитомегалии и др.), поражая плод человека. Они могут приводить и к постинфекционным осложнениям – развитию миокардитов, панкреатитов, иммунодефицитов и др.

Кроме обычных (канонических) вирусов известны инфекционные молекулы, которые не являются вирусами и называются прионами. Прионы – термин, предложенный С. Прузинером, представляет собой анаграмму английских слов «инфекционная белковая частица». Клеточная форма нормального прионового протеина (PrPC) имеется в организме млекопитающих, в том числе человека и выполняет ряд регуляторных функций. Его кодирует PrP-ген, расположенный в коротком плече 20-й хромосомы человека. При прионных болезнях в виде трансмиссивных губкообразных энцефалопатий (болезнь Крейтцфельда–Якоба, куру и др.) прионный протеин приобретает другую, инфекционную форму, обозначаемую как PrPSc (Sc – от scrapie – скрепи, прионной инфекции овец и коз). Этот инфекционный прионовый протеин имеет вид фибрилл и отличается от нормального прионного протеина третичной или четвертичной структурой.

Другими необычными агентами, близкими к вирусам, являются вироиды – небольшие молекулы кольцевой, суперспирализованной РНК, не содержащие белка и вызывающие заболевания растений.

Таблица 2. 3.

Основные вирусы человека и животных

Семейство	Представители	Вызываемые болезни
	Группа I: ДНК (двунитевые)-вирусы	
Poxviridae Herpesviridae	Вирус натуральной оспы Вирусы простого герпеса Вирус ветряной оспы – опоясывающего герпеса; Цитомегаловирус Вирус Эпштейна–Барр и др.	Натуральная оспа Герпес, энцефалит и другие Ветряная оспа, опоясывающий герпес Цитомегалия Инфекционный мононуклеоз
Adenoviridae	Аденовирусы человека	Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) и др.
Polyomaviridae	Полиомавирусы человека	Лейкоэнцефалопатия
Papillomaviridae	Папилломавирусы человека	Бородавки (папилломы), рак
	Группа II: ДНК (однонитевые)-вирусы	
Parvoviridae Circinoviridae	Парвовирус человека B19 TT-вирус	Инфекционная эритема и др. Гепатит TT
	Группа III: РНК (двунитевые)-вирусы	
Reoviridae	Вирусы: Кемерово. Ротавирусы человека	Кемеровская лихорадка; Гастроэнтерит
	Группа IV: РНК (плюс-однонитевые)-вирусы	
Picornaviridae	Вирусы: полиомиелита, Вирус гепатита А и др.	Полиомиелит Гепатит А
Caliciviridae	Вирусы гастроэнтерита	Гастроэнтерит

Гепатит Е-подобные вирусы	Вирус гепатита Е	Гепатит Е
Astroviridae	Астровирус человека 1	Гастроэнтерит
Coronaviridae	Коронавирус человека, вирус SARS	ОРВИ, SARS
Flaviviridae	Вирусы: желтой лихорадки, Японского энцефалита, денге, клещевого энцефалита и др. Вирус гепатита С	Желтая лихорадка; Японский энцефалит; Лихорадка денге; Клещевой энцефалит Гепатит С
Неклассифицированные вирусы	Вирус гепатита G	Гепатит G
Togaviridae	Вирус краснухи и др.	Краснуха
Группа V: РНК (минус-однонитевые)-вирусы		
Filoviridae	Вирусы Марбург, Эбола	Африканские геморрагические лихорадки
Paramyxoviridae	Вирусы: кори, парагриппа, эпидемического паротита	Корь, подострый склерозирующий панэнцефалит (ПСПЭ), парагрипп Эпидемический паротит
Rhabdoviridae	Вирусы бешенства и др.	Бешенство
Orthomyxoviridae	Influenzavirus типы A, B, C	Грипп
Bunyviridae	Вирусы геморрагической лихорадки Крым-Конго, геморрагической лихорадки с почечным синдромом и др.	Крым-Конго геморрагическая лихорадка, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом
Deltavirus	Вирус гепатита D	Гепатит D
Arenaviridae	Вирус лимфоцитарного хориоменингита и др.	Лимфоцитарный хориоменингит
Группа VI: РНК-вирусы (обратно транскрибирующиеся)		
Retroviridae	ВИЧ	ВИЧ-инфекция (СПИД)
Группа VII: ДНК-вирусы (обратно транскрибирующиеся)		
Hepadnaviridae	Вирус гепатита В	Гепатит В
Субвирусные агенты: прионы	Прионы	Прионные болезни

ГЛАВА 3. ФИЗИОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ

Жизнь любого организма сводится к тому, чтобы в соответствии с имеющимся у него объемом генома, полностью воспроизвести самого себя и реализовать свои функции, т.е. обусловить индивидуальное развитие (жизнь) и произвести потомство. Это оказывается возможным потому, что в основе жизни каждого организма лежит непрерывное взаимодействие трех потоков информации: одного – из внешней среды и еще двух потоков генетической информации: по горизонтали, он обеспечивает индивидуальное развитие организма и реализацию его жизненных функций и другого – по вертикали, который обеспечивает передачу потомству всех признаков родителей, т.е. наследственную непрерывность вида и самой жизни. Из этого вытекает следующее положение, которое, по-видимому, имеет общебиологическую закономерность – *поведение всех живых существ, как в интересах их индивидуального развития, так и ради сохранения вида, должно быть всегда адекватным имеющейся у них генетической информации и информации, воспринимаемой из внешней среды.* Отступление от этого закона может привести к гибели организма и вида. Единство организма с внешней средой заключается не только в том, что он получает из среды необходимые для себя источники энергии, питания, а также другую информацию, но и в том, что, в свою очередь, он также воздействует на среду, изменяет ее и этим постоянно меняет условия своего существования. Поэтому взаимосвязь организма с внешней средой должна быть постоянной и взаимовыгодной.

Чем больше объем генома, тем сложнее устроен организм, тем разнообразнее его собственная генетическая информация и та информация, которую он может воспринимать из окружающей среды и перерабатывать. Тем разнообразнее, сложнее и богаче проявляется его индивидуальная жизнь.

Бактерии воспринимают информацию из внешней среды в виде механических, физических и, главным образом, химических сигналов, поступающих через клеточную мембрану. Химическими сигналами для бактерий служат различные источники энергии, аминокислоты, основания, другие сложные химические вещества, ионы, вода, от которых зависит общая интенсивность всех биосинтетических процессов в клетке.

Механизмы питания бактерий

Большинство бактерий живет в среде, мало подходящей для того, чтобы поддерживать строгое соотношение воды, солей и органических веществ, без которого невозможна жизнь. Это обуславливает необходимость постоянного и тщательного регулирования обмена различными веществами, который происходит между клеткой и внешней средой и контролируется клеточной мембраной. Она проницаема для многих веществ, поток их идет в обоих направлениях (из клетки и в клетку), но структура мембраны такова, что она обладает избирательной и неравномерной проницаемостью, определяющей механизмы питания бактерий.

Питательные вещества из внешней среды поступают в бактериальную клетку с помощью трех основных механизмов: пассивной диффузии, облегченной диффузии и активного транспорта.

Разная длина стрелок указывает на сдвиг равновесия реакции в сторону более длинной стрелки. S и s обозначают соответственно высокую и низкую концентрация растворенных вещества; © – белок переносчик (пермеза); R – белок HPr; R-ф – фосфо-HPr; ф – фосфатная группа.

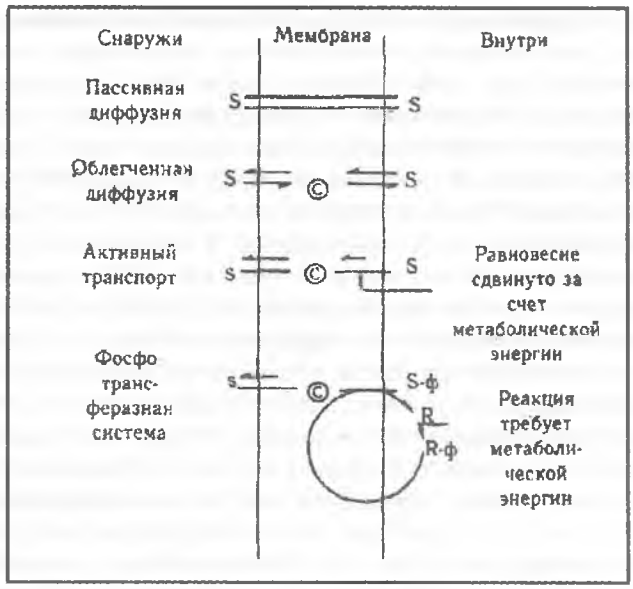


Рис. 3.1. Бактериальные транспортные системы.

Пассивная диффузия осуществляется за счет различного содержания питательных веществ в среде и в клетке и происходит в направлении от большей концентрации к меньшей, т.е. по градиенту концентрации. Когда концентрация вещества по ту и другую сторону мембраны уравнивается, пассивная диффузия прекращается. Ее скорость зависит от величины градиента, но она имеет определенный предел. Таким путем, в клетку проникает (и покидает ее) вода вместе с растворенными в ней различными мелкими молекулами, способными проходить через мелкие поры мембраны. Для пассивной диффузии характерно отсутствие субстратной специфичности и она не требует затраты энергии.

Облегченная диффузия характеризуется выраженной субстратной специфичностью и протекает при обязательном участии специфических белков, локализованных в мембране: синтез некоторых из них индуцируется соответствующими субстратами. Эти белки, получившие название пермеаз (от *англ.* permeate – проникать, проходить сквозь), обладают субстратной специфичностью. Они распознают и связывают молекулу субстрата на внешней стороне мембраны и обеспечивают каким-то образом ее перенос через мембрану. На внутренней поверхности мембраны комплекс пермеаза субстрат диссоциирует, освободившаяся молекула субстрата включается в общий метаболизм клетки, а пермеаза повторяет очередной цикл переноса своего субстрата, который не способен проникать через мембрану путем простой диффузии. Главное свойство пермеаз -способность проходить через мембрану как с присоединенной молекулой субстрата, так и без нее. Однако, облегченная диффузия происходит только по градиенту концентрации, но не против него, поэтому она не требует затраты энергии. Пермеазы, присоединившись к субстрату, повышают его способность проникать через мембрану. Облегченная диффузия протекает со значительно более высокой скоростью, чем пассивная. Ее скорость подчиняется закону Михаэлиса-Ментен и при достижении равновесия концентрация субстрата, доставляемого посредством облегченной диффузии, на внутренней и внешней поверхностях мембраны становится одинаковой.

Активный транспорт. С помощью механизмов активного транспорта растворенные вещества могут поступать в клетку против градиента концентрации, поэтому активный

транспорт требует от клетки затраты энергии. У бактерий этот механизм питания является преобладающим. С его помощью они обеспечивают такие концентрации растворенных питательных веществ внутри клетки, которые могут во много раз превышать их концентрации во внешней среде и обеспечивают им высокие скорости метаболизма даже при низкой концентрации химических веществ в окружающей среде. У многих бактерий, в особенности грамотрицательных, в активном транспорте принимают участие особые связывающие белки, не идентичные пермеазам и не входящие в структуру мембраны, а локализованные в периплазматическом пространстве. У связывающих белков отсутствует каталитическая активность, но они обладают очень высоким сродством к определенным питательным веществам – к различным аминокислотам, сахарам, неорганическим ионам. Выделено и изучено более 100 различных связывающих белков, которые образуют прочные комплексы со своими субстратами и необходимы для их активного переноса через мембрану. Связывающие белки функционируют только в комплексе со специфическими пермеазами, осуществляющими активный перенос субстрата через мембрану. Метаболическая энергия, необходимая для этого, используется для снижения сродства пермеазы к своему субстрату на внутренней поверхности мембраны по сравнению с ее сродством к нему на внешней стороне мембраны. В результате этих превращений, происходит изменение скорости выхода субстрата наружу, она становится во много раз меньше скорости его поступления в клетку. При этом механизме активного транспорта через мембрану в клетку поступают против градиента концентрации химически неизмененные питательные вещества. У бактерий, вместе с тем, существуют и такие транспортные системы, которые переводят питательные вещества в химически измененную форму, не способную проникать через мембрану. К их числу относится фосфотрансферазная система, широко распространенная среди бактерий. С помощью этой системы транспортируются многие сахара и их производные, в процессе переноса они фосфорилируются и поступают в клетку в виде сахарофосфатов. Поскольку мембрана для последних непроницаема, сахарофосфаты остаются внутри клетки.

Фосфотрансферазная система состоит из двух неспецифических компонентов: ферментов I и НРг и набора субстрат-специфических белков, связанных с мембраной и обозначенных как ферменты II. Фермент I обеспечивает перенос богатой энергией фосфатной группы от фосфоенолпирувата на гистидиновый остаток фермента НРг, который превращается в фосфо-НРг. Последний является общим донором фосфорильной группы для всех субстратов, переносимых фосфотрансферазной системой. Фосфорилирование же их осуществляется субстрат-специфическими белками из группы ферментов II, которые выполняют также и функции пермеаз. У мутантных бактерий, лишенных фермента I или белка НРг, ферменты II осуществляют облегченную диффузию своих субстратов.

Транспортные системы в жизни клетки выполняют две основные функции:

1) Поддерживают на высоком уровне внутриклеточные концентрации всех субстратов, необходимых для осуществления важнейших биохимических реакций с максимальными скоростями даже при низких концентрациях этих химических веществ во внешней среде;

2) регулируют внутриклеточное осмотическое давление, поддерживают оптимальную для метаболической активности концентрацию растворённых веществ (небольших молекул и ионов).

Секреция продуктов жизнедеятельности бактериальной клеткой

Бактерии синтезируют и секретируют во внешнюю среду различные продукты своей жизнедеятельности, в том числе белки, главным образом, ферменты и токсины, с помощью которых они оптимизируют свое существование. Например, благодаря секреции ферментов они расщепляют сложные органические соединения и делают их более доступными для питания. Для патогенных бактерий секреция ферментов и токсинов служит мощным средством, благодаря которому они только и могут обеспечивать свое существование и размножение в организме животного и подавлять его защитные механизмы. Секреция белков бактериями осуществляется с помощью различных систем и механизмов. При этом следует различать секрецию белков в периплазматическое пространство через ЦМ и секрецию белков непосредственно в культуральную среду (экскрецию или экспорт белков). У грамотрицательных бактерий большинство белков секретируется в периплазматическое пространство в виде белков-предшественников, содержащих в своей структуре особый сигнальный «лидерный» пептид из 15-40 аминокислотных остатков. Именно он обеспечивает перенос белка-предшественника через ЦМ, после чего и отрезается от него с помощью сигнальной (лидерной) пептидазы.

Существует несколько моделей, объясняющих механизм, посредством которого лидерный пептид обеспечивает секрецию белка-предшественника через ЦМ в периплазматическое пространство.

Модель прямого транспорта предполагает прямое вхождение лидерного пептида в липидный кислой мембраны с использованием свободной энергии мембраноассоциированных рибосом.

Сигнальная гипотеза предполагает, что в результате взаимодействия лидерного пептида непосредственно с особым рецептором мембраны образуется внутримембранный канал, через который и осуществляется секреция.

Существуют и другие, более сложные модели механизма переноса секретируемого белка через ЦМ. Возможно, что применительно к разным белкам и у разных групп бактерий действуют различные механизмы. Детальнее всего механизмы секреции изучены у *E. coli.* У нее обнаружены два пути секреции: see-зависимый и относительно see-независимый. Для обеспечения секреции белков в случае see-зависимого механизма требуется участие продуктов ряда see-генов: sec A, secY, secB, secD, secE и secF. Источниками энергии для переноса белков служат гидролиз АТФ и градиент концентрации протонов. Для процессинга (от *англ.* processing – обработка) белка после его перемещения (транслокации) достаточно, вероятно, активности только сигнальных пептидаз. У *E. coli* их обнаружено две: сигнальная пептидаза I (м. м. 36 кД, кодируется геном lepB) и сигнальная пептидаза II (м. м. 18 кД, кодируется геном iepA).

Второй механизм переноса – see-независимый – используется для переноса коротких полипептидов, однако, и в этом случае, на ранней стадии также участвует белок SecA.

Следовательно, механизмы и эффективность секреции белков через ЦМ в периплазматическое пространство зависят как от структуры сигнального пептида, так и от структуры зрелого белка.

Непосредственно в культуральную среду грамотрицательные бактерии экскретируют только некоторые белки, при этом в каждом случае, используются различные механизмы, которые также еще недостаточно изучены. Например, бактериоцины, кодируемые различными плазмидами, не содержат в своей структуре сигнальных пептидов. Для их секреции через ЦМ и наружную мембрану требуется специальный вспомогательный белок – рилизинг-белок. Система транспорта гемолизина HlyA, кодируемого генами H1y-плаз-

миды, состоит как минимум из двух вспомогательных белков HlyB и HlyD, которые образуют канал для непосредственного выхода гемолизина (важного фактора патогенности *E.* coli из цитоплазмы во внешнюю среду.

Способы питания

Углеродное питание

К числу важнейших химических элементов-органогенов, необходимых для синтеза органических соединений, относят: углерод, азот, водород и кислород. Свою потребность в водороде и кислороде бактерии удовлетворяют за счет воды. Сложнее обстоит дело с углеродным и азотным питанием. По способу углеродного питания бактерии делят на аутотрофы и гетеротрофы.

Аутотрофы (от *греч,* autos – сам, trophe – питание) – организмы, которые полностью удовлетворяют свои потребности в углероде за счет CO_2.

Гетеротрофы (от *греч.* heteros – другой, trophe – питание, т.е. «питаемые другими») – организмы, которые не могут удовлетворить свои потребности в углероде только за счет CO_2, а требуют для питания готовых органических соединений. В свою очередь, гетеротрофов подразделяют на сапрофитов (от *греч.* sapros – гнилой, phyton – растение), т.е. гетеротрофов, источником питания которых служат мертвые органические субстраты; и паразитов (от (*греч.* рага – при, sitos – пища), т.е. гетеротрофов, живущих за счет живых тканей животных и растений. Для превращения CO_2 в органические соединения требуется энергия: чтобы восстановить CO_2 в один моль гексозы требуется около 112 ккал. Существует два источника этой-энергии -фотосинтез и хемосинтез.

Хемосинтез

Русским ученым С. Н. Виноградским в 1880-1890 гг. было обнаружено, что некоторые грамотрицательные бактерии используют для своего роста энергию хемосинтеза, т.е. энергию, получаемую за счет окисления неорганических соединений. Такие организмы получили название хемоавтотрофов. Им было установлено, что хемоавтотрофы характеризуются двумя важнейшими особенностями.

1. Обладают высокой специфичностью в отношении неорганического источника энергии.
2. Очень часто они не только не способны использовать в качестве источников углерода и энергии органические вещества, но последние даже могут угнетать их рост.

К хемоавтотрофам относятся открытые С. Н. Виноградским нитрифицирующие бактерии, представленные двумя группами. Представители одной из них (роды *Nitrosomonas, Nitrosospira, Nitrosococcus, Nitrosoglobus)* окисляют NH_3 до азотистой кислоты:

$$2NH_3 + 3O_2 \text{ а } 2HNO_2 + 2H_2O + 158 \text{ ккал.}$$

Представители другой (роды *Nitrobacter, Nitrospira, Nitrococcus)* окисляют азотистую кислоту до азотной:

$$2HNO_2 + O_2 \text{ а } 2HNO_3 + 48 \text{ ккал.}$$

Выделяемая при хемосинтезе энергия используется нитрифицирующими бактериями для ассимиляции CO_2 и восстановления ее до глюкозы или других углеводов. Наиболее многочисленную и разнообразную группу хемосинтезирующих бактерий составляют водородные бактерии, осуществляющие реакцию:

$$6H_2 + 2O_2 + CO_2 = (CH_2O)_n + 5H_2O,$$

где (CH_2O) -условное обозначение синтезируемого углевода.

Но эти бактерии являются факультативными хемоавтотрофами, так как способны расти на средах, содержащих органические вещества. Некоторые строго анаэробные метанообразующие бактерии осуществляют хемосинтез по реакции:

$$4H_2 + CO_2 = CH_4 + 2H_2O.$$

К хемоавтотрофам, как показал С. Н. Виноградский, относятся нитчатые скользящие бактерии *Beggiatoa, Thiothrix* и другие аэробы, способные окислять сероводород и тиосульфат до серы и сульфата. Внутри таких клеток часто обнаруживается сера. К числу хемоавтотрофов относятся и некоторые виды железобактерий, в частности, рода *Gallionella,* которые в качестве минерального источника восстановленного железа используют осадок сульфида железа.

Таким образом, по способу углеродного питания все организмы можно разделить на три основные группы.

1. Фотолитотрофы (источник энергии – солнечный свет, доноры электронов – неорганические соединения).

2. Хемолитотрофы (источник энергии – окислительно- восстановительные реакции, доноры электронов – неорганические соединения).

3. Хемоорганотрофы (источник энергии – окислительно-восстановительные реакции, доноры электронов – органические соединения). Большинство патогенных бактерий относится к хемоорганотрофам.

Азотное питание

По способу азотного питания бактерии подразделяют на аминоавтотрофов и аминогетеротрофов. Аминоавтотрофы способны полностью удовлетворять свои потребности в азоте, необходимом для синтеза главным образом, белков и нуклеиновых кислот, с помощью атмосферного или минерального азота. Аминогетеротрофы нуждаются для своего питания в готовых органических азотистых соединениях: некоторых аминокислотах, основаниях, витаминах и других.

К числу **аминоавтотрофов** относятся азотфиксирующие бактерии, свободно живущие в почве и так называемые клубеньковые азотфиксирующие бактерии. Первый представитель азотфиксирующих бактерий – *Clostridium pasteurianum* (анаэроб) – был открыт в 1893 г. С. Н. Виноградским. В 1901 г. М. Бейеринк установил, что способностью, усваивать атмосферный азот обладают, также аэробные бактерии *Azotobacter,* занимающие по азотфиксирующей активности первое место (до 25 г азота на 1 кг использованного сахара), но менее распространенные в почве, чем С. *pasteurianum.* Азотфиксирующими свойствами обладают некоторые виды *Pseudomonas, Bacillus,* цианобактерий, а также пурпурные и зеленые серобактерии. Азотфиксирующие бактерии рода *Rhizobium* получили название клубеньковых потому, что они, размножаясь на корнях ряда бобовых растений, образуют выросты-клубеньки (рис. 3.2). Размножаясь в них, они превращаются из мелких палочек в разветвленные формы – бактероиды, которые наиболее интенсивно связывают молекулярный азот. Симбиоз клубеньковых бактерий с растениями взаимовыгоден, так как *Rhizobium* продуцируют ряд физиологически активных соединений, которые благоприятно влияют на бобовые растения. После разрушения клубеньков, клубеньковые бактерии живут в почве как сапрофиты.



Рис. 3.2. Рисунок Мальпиги изображающий корни бобового растения с корневыми клубеньками (1) и оболочкой семени (2), из которого развилось данное растение.

Вторая большая группа аминоавтотрофов представлена нитрифицирующими бактериями, которые используют для синтеза белков в качестве основных источников азота соли аммиака, азотистой и азотной кислот. Подсчитано, что на образование вновь вырастающих растений ежегодно требуется около 1,5 млрд тонн азота в форме, доступной растениям. Поэтому нельзя не отметить, что азотфиксирующим и нитрифицирующим бактериям принадлежит исключительно важная роль в обеспечении плодородия почвы.

Аминогетеротрофы для роста и размножения нуждаются в различных органических азотистых соединениях. Необходимо оговориться, что аминогетеротрофы представляют собой также неоднородную группу, так как многие из них нуждаются для роста лишь в определенных аминокислотах, как, например, *Francisella tutarensis*. Для ее роста требуется добавление к среде по крайней мере 10 аминокислот. В то же время, многие бактерии, синтезируя аминокислоты и основания из минеральных источников азота, нуждаются в тех витаминах (ростовых факторах), которые сами не способны синтезировать: биотин (Н), тиамин (В[), рибофлавин (B_2), пантотеновая кислота (B_3), холин (B_4), никотинамид (B_5), фолиевая кислота (B_9) и ее производные (Вц) и т.п. Наконец, есть патогенные бактерии, например, группа гемоглобинофильных организмов *(Haemophilus)*, которые для роста нуждаются в добавлении к питательной среде сложных веществ, содержащихся в крови: Х-факторов (гемин) и др. Кроме того, в результате различных мутаций аминогетеротрофные бактерии могут превращаться в мутанты, неспособные синтезировать тот или иной метаболит и поэтому нуждающиеся в нем. Такие мутанты получили название ауксотрофов *(от лат.* auxilium – помощь и *греч.* trophe -питание). Они во многом способствовали изучению особенностей биохимии бактерий.

Для нормальной жизнедеятельности бактерии, как другие организмы, обязательно нуждаются в ионах Na, K, Cr, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, а также в фосфоре и сере, которые поступают в клетку путем диффузии и активного транспорта. Все процессы обмена веществ представляют собой цепь взаимосвязанных во времени и пространстве саморегулируемых реакций. Каждая из них и их совокупные пути катализируются соответствующими ферментами.

Ферменты

Ферменты (от *греч.* fermentum – закваска) или энзимы –специфические белковые катализаторы, присутствующие во всех живых клетках. Их нет у плазмид, у некоторых вирусов. Ферменты снижают энергию активации, которая необходима для осуществления той или иной химической реакции. Они направляют ее обходным путем через промежуточные реакции, требующие значительно меньшей энергии активации. Под влиянием ферментов происходит перераспределение электронных плотностей и некоторая деформация молекул субстрата, наступающая при образовании промежуточного фермент-субстратного комплекса. Эта деформация приводит к ослаблению внутримолекулярных связей и следовательно, к понижению необходимой энергии активации, в результате чего, скорость ре-

акции возрастает. Открытию различных ферментов и изучению путей биохимических реакций, катализируемых ими, во многом способствовали работы с использованием в качестве объектов исследования бактерий, особенно ауксотрофов. У бактерий обнаружены все шесть классов ферментов:

1) оксидоредуктазы (катализируют окислительно-восстановительные реакции);

2) трансферазы (катализируют реакции переноса групп атомов);

3) гидролазы (катализируют гидролитическое расщепление различных соединений);

4) лиазы (катализируют реакции отщепления от субстрата той или иной химической группы негидролитическими путями с образованием двойной связи или наоборот, присоединение химической группы к двойным связям);

5) изомеразы (катализируют внутримолекулярные превращения);

6) лигазы или *синтетазы* (катализируют соединение двух молекул, сопряженное с расщеплением пирофосфатной связи в молекуле АТФ или аналогичного трифосфата).

Изучение ферментов, обнаруживаемых у бактерий, представляет большой интерес для микробиологической промышленности. Изучение особенностей обмена веществ патогенных бактерий необходимо прежде всего для понимания механизмов, с помощью которых они реализуют свою патогенность, т.е. для выяснения сущности патогенеза инфекционных заболеваний. Изучение биохимических свойств бактерий широко используется как для их систематики и классификации, так и для идентификации, т.е. для диагностики.

У бактерий обнаружены уникальные генетические механизмы контроля биосинтеза ферментов, они проявляются в виде феноменов индукции и репрессии. Индукция заключается в том, что синтез ферментов наступает только в присутствии специфических химических веществ, которые являются субстратом для данного фермента или аналогом этого субстрата. Например, синтез ферментов, участвующих в потреблении лактозы у *E. coli,* начинается (индуцируется) и происходит только при наличии в среде лактозы. Как только она исчезает, синтез этих ферментов прекращается.

Под эффектом репрессии понимают явление, при котором синтез фермента подавляется (репрессируется) под влиянием специфических химических соединений, почти всегда являющихся непосредственными продуктами (или аналогами продуктов) реакции, катализируемой этим ферментом. Например, синтез ферментов, участвующих в образовании метионина у *E. coli* прекращается, как только в среде накапливается избыток этой аминокислоты. Нетрудно увидеть, насколько совершенен такой механизм саморегуляции биохимических процессов.

В соответствии с этими особенностями генетического контроля, у бактерий различают три основные группы ферментов: *конститутивные,* синтез которых происходит в течение всего клеточного цикла; *индуцибельные,* синтез которых индуцируется соответствующим субстратом; и *репрессибельные,* синтез которых подавляется в результате избыточного накопления продукта реакции, катализируемой данным ферментом (ферментами).

Метаболизм

Биохимические процессы, протекающие в клетке, объединены одним словом **метаболизм** (от *греч.* metabole – превращение). Этот термин равнозначен понятию «обмен веществ и энергии». Различают две стороны метаболизма: анаболизм и катаболизм.

Анаболизм – совокупность биохимических реакций, осуществляющих синтез компонентов клетки, т.е. та сторона обмена веществ, которую называют конструктивным обменом.

Катаболизм – совокупность реакций, обеспечивающих клетку энергией, необходимой, в частности, и для реакций конструктивного обмена. Поэтому катаболизм определяют еще как энергетический обмен клетки.

В конструктивном обмене можно выделить две группы биосинтетических процессов: биосинтез мономеров (аминокислот, нуклеотидов, моносахаров, жирных кислот) и биосинтез полимеров (белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов и липидов). Для их синтеза необходимо около 70 различных мономеров-предшественников. Помимо них, клетка должна синтезировать ряд соединений, играющих каталитическую роль. Синтез любого мономера происходит (при наличии источников углерода и энергии) через цепь последовательных биохимических реакций, катализируемых специфическими белками-ферментами. В свою очередь, синтез всех биополимеров также требует участия специфических белков. Поэтому основу основ конструктивного обмена составляет биосинтез белков, который находится под контролем генетической системы организма.

Отношение бактерий к кислороду

Кислород, широко распространенный в природе, находится в свободном и связанном состоянии. В клетках он находится в связанном состоянии в составе воды и органических соединений. В атмосфере он присутствует в свободном состоянии в виде молекулярной формы, объемная доля которого составляет 21%.

По отношению к кислороду, а также по использованию его в процессах получения энергии микроорганизмы подразделяются на 3 группы: облигатные аэробы, облигатные анаэробы, факультативные анаэробы.

Облигатные аэробы.

Растут и размножаются только в присутствии кислорода. Используют кислород для получения энергии путем кислородного дыхания.

Энергию получают оксидативным метаболизмом, используя кислород как терминальный акцептор электронов в реакции, катализируемой *цитохромоксидазой.*

Облигатные аэробы подразделяются на *строгие аэробы,* которые растут при парциальном давлении атмосферы воздуха и *микроаэрофилы,* которые, используя кислород в процессах получения энергии, растут при его пониженном парциальном давлении.

Это связано с тем, что у микроаэрофилов имеются ферменты, которые инактивируются при контакте с сильными окислителями и активны только при низких значениях парциального давления кислорода, например, фермент гидрогеназа.

Облигатные анаэробы.

Не используют кислород для получения энергии.

Тип метаболизма у них – бродильный, за исключением метаболизма у двух видов бактерий: *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum,* которые относятся к хемолитотрофам и обладают сульфатным дыханием. Облигатные " анаэробы подразделяются на две группы: строгие анаэробы и аэротолерантные.

Строгие анаэробы характеризуются тем, что молекулярный кислород для них токсичен: он убивает микроорганизмы или ограничивает их рост.

Энергию строгие анаэробы получают маслянокислым брожением. К строгим анаэробам относятся, например, некоторые клостридии (*C. botulinum, C. tetani*), бактероиды.

Аэротолерантные микроорганизмы не используют кислород для получения энергии, но могут существовать в его атмосфере.

К этой группе относятся молочнокислые бактерии, получающие энергию гетероферментативным молочнокислым брожением.

Факультативные анаэробы.

Способны расти и размножаться как в присутствии кислорода, так и в его отсутствии. Они обладают смешанным типом метаболизма. Процесс получения энергии у них может происходить кислородным дыханием в присутствии кислорода, а в его отсутствии переключаться на брожение. Для этой группы бактерий характерно наличие анаэробного нитратного дыхания.

Различное физиологическое отношение микроорганизмов к кислороду связано с наличием у них ферментных систем, позволяющих существовать в атмосфере кислорода. Следует отметить, что в окислительных процессах, протекающих в атмосфере кислорода, при окислении флавопротеидов образуются токсические продукты: перекись водорода H_20_2 и закисный радикал кислорода 0_2 – соединение, имеющее неспаренный электрон. Эти соединения вызывают перекисное окисление ненасыщенных жирных кислот и окисление SH-групп белков.

Для нейтрализации токсичных форм кислорода микроорганизмы, способные существовать в его атмосфере, имеют защитные механизмы. У облигатных аэробов и факультативных анаэробов накоплению закисного радикала 0~ препятствует фермент *супероксиддисмутаза,* расщепляющая закисный радикал на перекись водорода и молекулярный кислород:

$$2O_2\text{»} + 2H^+ H_2O_2 + O_2\cdot$$

Перекись водорода у этих бактерий разлагается ферментом *каталазой* на воду и молекулярный кислород:

$$2H_2O_2 \text{ а } 2H_2O + O_2.$$

Аэротолерантные микроорганизмы не имеют супероксиддисмуиазы и ее функцию восполняет высокая концентрация ионов марганца, который, окисляясь под действием O_2, убирает тем самым супероксидный ион. Перекись водорода у этих микроорганизмов разрушается ферментом *пероксидазой* в катализируемых ею реакциях окисления органических веществ:

$$H_2A + H_2O_2 \text{ а } A + 2H_2O.$$

Строгие анаэробы не имеют ни каталазу, ни пероксидазу. Однако супероксиддисуматаза встречается у многих строгих анаэробов. И наличие этого фермента коррелирует с их устойчивостью к кислороду. Некоторые строгие анаэробы (роды *Bacteroides, Fusobacterium)* не выносят присутствия даже незначительного количества молекулярного кислорода, тогда как некоторые представители рода *Clostridium* могут находиться в атмосфере кислорода. Для культивирования строгих анаэробов создаются условия, позволяющие удалять атмосферный кислород: использование специальных приборов, анаэростатов и анаэробных боксов, добавление в питательные среды редуцирующих кислород веществ, например, тиогликолята натрия, использование поглотителей кислорода.

Рост и способы размножения бактерий

Под ростом бактериальной клетки понимают согласованное увеличение количества всех компонентов клетки. Рост клетки не беспределен. После достижения критических размеров клетка подвергается делению. Большинство бактерий делятся поперечным де-

лением надвое. У большинства грамположительных бактерий деление происходит путем синтеза поперечной перегородки, идущей от периферии к центру. Клетки большинства грамотрицательных бактерий делятся путем перетяжки.

Деление бактериальной клетки начинается спустя некоторое время от завершения цикла репликации хромосомы, которая у бактерий протекает по полуконсервативному механизму. Это означает, что каждая из двух нитей ДНК хромосомы служит матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепи ДНК. В процессе репликации бактериальной хромосомы участвует более 20 ферментов. Так как, нативная бактериальная ДНК двуспиральная, перед репликацией цепи родительской молекулы матричной цепи ДНК должны быть разделены. В этом процессе участвуют ферменты *хеликаза,* которая в энергопоглощаемой реакции расплетает двойную спираль и *топоизомераза (гираза),* которая предотвращает образование вторичных завитков. SSB-белок связывается с одноцепочной ДНК, предотвращая повторное скручивание в двойную спираль. В результате, образуется репликативная вилка (рис. 3.3). Синтез новых цепей ДНК осуществляется ферментом *ДНК-полимеразой.* ДНК-полимераза не способна инициировать новые цепи ДНК.

Особенностью функционирования ДНК-полимеразы является ее способность присоединять комплементарные матрице нуклеотиды к свободному 3'-концу растущей цепи. Поэтому для осуществления реакции полимеризации нуклеотидов на матрице родительской цепи полимеразе требуется затравка, праймер (primer – запал, англ.). Праймер представляет собой короткую нуклеотидную цепочку РНК, комплементарную матричной цепи, со свободным 3'-концом. Достраивание осуществляется присоединением к свободной гидроксильной группе 3'-конца затравки нового нуклеотида. Расплетенные цепи ДНК всегда содержат на 5'-конце несколько рибонуклеотидов, т.е. синтез ДНК начинается с синтеза **РНК. РНК**-затравку для синтеза ДНК образует специальный фермент ДНК-праймаза, способная инициировать синтез РНК по одноцепочной ДНК матрицы в отсутствие какой-либо затравки. После того как цепь ДНК начала синтезироваться, РНК-затравка удаляется, а удаляющиеся бреши застраиваются ДНК-полимеразой с высокой точностью. Так как цепи ДНК в дуплексе антипараллельны, то направление расплетания двойной цепи совпадает лишь с направлением синтеза ДНК на одной матрице, которая называется ведущей и на которой протекает непрерывный синтез ДНК. На комплементарной цепи ДНК синтезируется короткими фрагментами *Оказаки,* которые впоследствии сшиваются в одну ковалентно связанную непрерывную цепь ДНК-ДНК-лигазами.

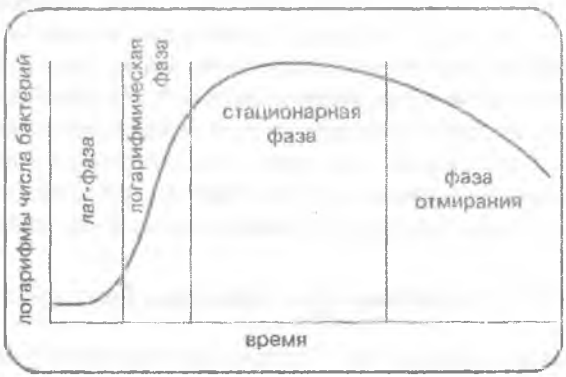


Рис. 3.3. Фазы размножения бактерий

Процесс репликации ДНК бактерии продолжается до тех пор, пока не удвоится вся ДНК. Репликация начинается в одной избранной области, называемой *origin* (origin – начало, англ.), имеющей определенную последовательность нуклеотидов. На origin может возникать одна или две репликативные вилки. Последовательность нуклеотидов на origin-* участке способствует необходимому для репликации ДНК расплетанию двойной спирали и служит местом «посадки» на ДНК комплекса ферментов, участвующих в репликации. Правильное распределение вновь синтезированных нитей ДНК по дочерним клеткам достигается у бактерий за счет прикрепления ДНК к мембране. Пространственная организация участка прикрепления и зоны роста мембраны, и клеточной стенки обеспечивает автоматическое растаскивание двух копий реплицированной ДНК по дочерним клеткам. Размножение бактерий бинарным делением приводит к росту числа бактериальных клеток в геометрической прогрессии.

При внесении бактерий в питательную среду они растут и размножаются до тех пор, пока содержание какого-нибудь из необходимых компонентов среды не достигнет минимума, после чего, рост и размножение прекращаются. Если на протяжении всего этого времени не прибавлять питательных веществ и не удалять конечных продуктов обмена, то получаем *статическую бактериальную культуру.* Статическая (периодическая) культура бактерий ведет себя как многоклеточный организм, с генетическим ограничением роста. Если построить график, по оси абсцисс которого отложить время, а по оси ординат – число клеток, то получим кривую, описывающую зависимость числа образующихся клеток от времени размножения, которая называется **кривой роста** (рис. 3.3).

Кривая роста бактерий в жидкой питательной среде. На этой кривой можно различить несколько фаз, сменяющих друг друга в определенной последовательности:

1. Начальная – лаг-фаза (англ. *lag* – отставать). Охватывает промежуток времени между инокуляцией (посевом бактерий) и началом размножения. Ее продолжительность составляет в среднем 2 – 5 ч и зависит от состава питательной среды, от возраста засеваемой культуры. Во время лаг-фазы происходит адаптация бактериальных клеток к новым условиям культивирования, идет синтез индуцибельных ферментов.

2. Экспоненциальная (логарифмическая) фаза. Характеризуется постоянной максимальной скоростью деления клеток. Эта скорость зависит от вида бактерий и питательной среды. Время удвоения клеток называется *временем генерации,* которое варьирует от вида бактериальной культуры: у бактерий рода *Pseudomonas* оно равняется 14 мин, а у *Mycobacterium* – 24 ч. Величина клеток и содержание белка в них во время экспоненциальной фазы остаются постоянными. Бактериальная культура в этой фазе состоит из стандартных клеток.

3. Стационарная фаза. Наступает тогда, когда число клеток перестает увеличиваться. Так как скорость роста зависит от концентрации питательных веществ, то при уменьшении содержания последних в питательной среде уменьшается и скорость роста. Снижение скорости роста происходит также из-за большой плотности бактериальных клеток, снижения парциального давления кислорода, накопления токсических продуктов обмена. Продолжительность стационарной фазы составляет несколько часов и зависит от вида бактерий и особенностей их культивирования.

4. Фаза отмирания. Наступает вследствие накопления кислых продуктов обмена или в результате автолиза под влиянием собственных ферментов. Продолжительность этой фазы колеблется от десятка часов до нескольких недель.

5. Постоянное нахождение бактериальной популяции в логарифмической фазе роста наблюдается в *непрерывной культуре,* что достигается постепенным дозированием поступления питательных веществ, контролем плотности бактериальной суспензии и удале-

нием метаболитов. Непрерывные бактериальные культуры используются в биотехнологических процессах.

Накопление бактериальной массы (числа бактерий) при культивировании зависит от многих факторов (качество питательных сред, посевная доза, температура выращивания, pH, наличие активирующих, рост добавок и др.).

На жидких питательных средах рост и размножение бактерий проявляются в виде диффузного помутнения, образования придонного осадка или поверхностной пленки. Особенностью размножения бактерий роста *Leptospira* на жидких средах является отсутствие видимых проявлений роста.

На плотных питательных средах бактерии образуют скопление клеток – *колонии* которые принято считать потомком одной клетки. Колонии различаются формой, размерами, поверхностью, прозрачностью, консистенцией и окраской. Колонии с гладкой блестящей поверхностью принято называть колониями в S-форме *(smooth* – гладкий, англ.). Колонии с матовой шероховатой поверхностью называют R-формами *(rough* – шероховатый, англ.).

Окраска колоний определяется способностью бактерий синтезировать пигменты.

Пигменты различаются по цвету, химическому составу и растворимости. Среди продуцируемых бактериями пигментов встречают:

– каротиноиды – жирорастворимые пигменты красного, желтого и оранжевого цветов. Они встречаются у представителей рода *Mycobacterium, Micrococcus;*

– пирроловые – к ним относится спирто-растворимый пигмент продигиозин, встречающийся у *Serratia marcescens;*

– фенозиновые – к этой группе относится водорастворимый пигмент *Pseudomonas aeruginose* пиоцианин, который, выделяясь в питательную среду, окрашивает ее;

– меланины – нерастворимые пигменты черного и коричневого цветов, встречающиеся у бактерий рода *Porphyromonas.*

Пигменты предохраняют бактериальную клетку от УФ-лучей, обезвреживают токсичные кислородные радикалы, обладают антибиотическими свойствами, принимают участие в реакциях, сопутствующих фотосинтезу в фототрофных бактериях.

Вид, форма, цвет и другие особенности колоний, а также характер роста на плотных питательных средах определяются как *культуральные* свойства бактерий и учитываются при их идентификации.

Помимо бинарного деления некоторые представители царства Procaryotae имеют иные способы размножения.

Актиномицеты могут размножаться путем фрагментации гифов. Представители семейства *Streptomycetaceae* размножаются спорами.

Микоплазмы являются полиморфными бактериями, что обусловлено особенностями их размножения. Помимо поперечного деления, если оно происходит синхронно с синтезом ДНК, микоплазмы могут размножаться почкованием. В этом случае, основной морфологической репродуцирующейся единицей являются элементарные тельца сферической или овоидной формы, размножающиеся фрагментацией и почкованием.

Хламидии не обладают способностью к бинарному делению. Они проходят через цикл развития, который предусматривает существование двух форм: внеклеточных инфекционных, малых размеров *элементарных телец,* не обладающих способностью к бинарному делению и внутриклеточного, метаболически активного, крупных размеров *ретикулярного тельца,* способного к бинарному делению. В результате бинарного деления ретикулярного тельца формируются дочерние элементарные тельца, которые выделяются из клетки.

Некоторые спирохеты, например, *Treponema pallidum,* способны образовывать в неблагоприятных условиях цисты, которые, распадаясь на зерна, дают потомство новым бактериальным клеткам.

Некультивируемые формы бактерий. Некоторые неспорообразующие бактерии способны переживать неблагоприятные для размножения условия окружающей среды, переходя в *некультивируемое состояние.* В этом состоянии бактериальные клетки сохраняют свою метаболическую активность, но не способны к непрерывному клеточному делению, необходимому для роста на жидких и плотных питательных средах. При смене условий существования, в частности, при попадании в организм человека или животных, клетки вновь приобретают способность к размножению и сохраняют свой патогенный потенциал. Переход в некультивируемое (покоящееся) состояние обеспечивает сохранение патогенных бактерий в межэпидемические и межэпизоотические периоды. При переходе в некультивируемую форму бактериальные клетки уменьшаются в размерах, приобретают сферическую форму, меняют вязкость ЦПМ. У них сохраняется транспорт электронов по дыхательной цепи и невысокий уровень метаболической активности. На переход в некультивируемую форму влияют температура, концентрация солей, свет, парциальное давление кислорода, содержание питательных веществ, а также метаболиты водорослей, находящихся в биоценозе с бактериями. Выявить наличие бактерий, находящихся в некультивируемой форме, можно с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) или применением красителей, меняющих окраску в окисленной и восстановленной форме. Возврат способности к размножению и росту находящихся в покоящейся форме клеток могут вызвать естественные факторы: простейшие, обитатели почв и водоемов, фитогормоны, выделяемые корневыми волосками растений.

Условия культивирования бактерий

Для культивирования бактерий необходимо соблюдать ряд условий.

1. ***Наличие полноценной питательной среды.*** Каждая питательная среда независимо от сложности состава и цели применения должна обладать водной основой, органическим источником углерода и энергии, определенным pH, осмотическим давлением.

2. ***Температура культивирования.*** *Температура* влияет на скорость размножения. К температуре бактерии относятся по-разному:

– *мезофилы* размножаются в диапазоне температур 20–40 °С. К мезофилам относится большинство болезнетворных для человека бактерий;

– *термофилы* растут в диапазоне температур 40–60 °С. К термофилам относятся актиномицеты, некоторые спороносные бациллы;

– *психрофилы* размножаются в диапазоне температур 0–20 °С.

3. ***Атмосфера культивирования.*** Для роста и размножения *строгих аэробов* необходим кислород. Аэробы хорошо растут на поверхности агара на чашках Петри или в тонком верхнем *слое* жидкой среды. Для обеспечения роста и размножения строгих аэробов в глубинных слоях жидкой *среды* необходимо диффузное распределение кислорода по всему объему питательной среды. Это достигается непрерывным перемешиванием или встряхиванием питательной среды, т.е. аэрированием. Аэрирование осуществляется на специальных аппаратах – встряхивателях.

Для культивирования *факультативных анаэробов* используют те же методы, так как в присутствии кислорода у них преобладает окислительный метаболизм над ферментацией, как наиболее энергетически выгодный.

Микроаэрофилы размножаются при пониженном парциальном давлении кислорода. Этого можно достичь повышением в атмосфере культивирования парциального давления $C0_2$ до концентрации 1–5% против 0,03% $C0_2$ в атмосфере воздуха. Для этих же целей используют специальные $C0_2$-инкубаторы или же посевы помещают в эксикаторы, в которых устанавливают горящую свечу.

Облигатные анаэробы для своего роста и размножения требуют исключения доступа кислорода воздуха. Это достигается следующими мерами:

– добавлением к питательным средам редуцирующих кислород веществ: тиогликолевой кислоты, аскорбиновой кислоты, цистеина, сульфидов;

– регенерацией от кислорода воздуха жидких питательных сред, путем их кипячения с последующим плотным закупориванием сосудов, в которые налиты среды, резиновыми пробками;

– использование поглотителей кислорода, щелочного пирогаллола и других, помещая их в герметически закрываемые емкости «газ-паки». Этот метод используется для культивирования *аэротолерантных* бактерий;

– механическим удалением кислорода воздуха с последующим заполнением емкости инертным газом (для этих целей используют анаэростаты и анаэробные боксы).

Для культивирования хемо- и фотоавтотрофных бактерий создается атмосфера, насыщенная CO_2.

4. ***Время культивирования.*** Зависит от времени генерации. Большинство бактерий культивируют для получения видимого роста в течение 18–48 ч. Для культивирования возбудителя коклюша требуется 5 суток, а для культивирования *M.`tuberculosis* – 3– 4 недели.

5. ***Освещение.*** Для выращивания фототрофных микроорганизмов необходим свет. Некоторые условно-патогенные микобактерии, в зависимости от освещенности, образуют пигмент, который используется при их идентификации.

Культивирование абсолютных внутриклеточных паразитов, бактерий, относящихся к родам *Rickettsia, Ehrlichia, Coxiella, Chlamydia* осуществляют на культурах клеток или в организме животных и членистоногих, а также в куриных эмбрионах (за исключением эрлихий). Куриные эмбрионы используют также для культивирования бактерий, обладающих высоким уровнем гетеротрофности, например: родов *Borrelia, Legionella.*

В промышленных условиях для получения биомассы бактерий или грибов с целью получения антибиотиков, вакцин, диагностических препаратов и пробиотиков культивирование осуществляется в аппаратах (ферментерах) различной вместимости при строгом соблюдении оптимальных параметров роста и размножения культур.

Особенности физиологии грибов и простейших

Грибы по типу питания – гетеротрофы, по отношению к кислороду – аэробы и факультативные анаэробы. Растут в широких диапазонах температур (оптимальная температура 25–30 °С), имеют половой и бесполый способы размножения. Поэтому грибы широко распространены в окружающей среде, особенно в почве. Грибы вместе с сине-зелеными водорослями образуют *симбиоз* в виде лишайника. В этом симбиозе грибы поглощают воду и растворимые в ней вещества, а сине-зеленые водоросли поставляют грибам органические соединения. Другой вид взаимоотношений – *микориза* – симбиоз грибов и корней высших растений.

Грибы культивируют в течение нескольких суток на сусле-агаре или жидком сусле, среде Сабуро, Чапека и др. Для этой цели можно использовать лабораторных животных.

Некоторые грибы обладают *диморфизмом,* т.е. способностью образовывать нитчатые и дрожжевые формы в зависимости от условий роста. Дрожжеподобные формы часто образуются *in vivo,* т.е. при инфицировании человека грибами.

Простейшие имеют органы движения (жгутики, реснички, псевдоподии), питания (пищеварительные вакуоли) и выделения (сократительные вакуоли). По типу питания они могут быть гетеротрофами или аутотрофами. Размножаются бесполым и половым путями. Некоторые простейшие имеют сложный жизненный цикл, сопровождающийся сменой форм развития, полового и бесполого размножения, образуют цисты.

Многие простейшие (дизентерийная амеба, лямблии, трихомонады, лейшмании, балантидии) могут расти на питательных средах, содержащих нативные белки и аминокислоты. Для их культивирования используются также культуры клеток (тканей), куриные эмбрионы и лабораторные животные.

Физиология вирусов

Вирусы – облигатные внутриклеточные паразиты, способные только к внутриклеточному размножению. В вирусинфицированной клетке возможно пребывание вирусов в различных состояниях:

- воспроизводство многочисленных новых вирионов;
- пребывание нуклеиновой кислоты вируса в интегрированном состоянии с хромосомой клетки (в виде провируса);
- существование в цитоплазме клетки в виде кольцевых нуклеиновых кислот, напоминающих плазмиды бактерий.

Поэтому диапазон нарушений, вызываемых вирусом, весьма широк: от выраженной продуктивной инфекции, завершающейся гибелью клетки, до продолжительного взаимодействия вируса с клеткой в виде латентной инфекции или злокачественной трансформации клетки.

Различают три типа взаимодействия вируса* с клеткой: продуктивный, абортивный и интегративный.

1. *Продуктивный тип* – завершается образованием нового поколения вирионов и гибелью (лизисом) зараженных клеток (цитолитическая форма). Некоторые вирусы выходят из клеток, не разрушая их (нецитолитическая форма).

2. *Абортивный тип* – не завершается образованием новых вирионов, поскольку инфекционный процесс в клетке прерывается на одном из этапов.

3. *Интегративный тип* или вирогения – характеризуется встраиванием (интеграцией) вирусной ДНК в виде провируса в хромосому клетки и их совместным сосуществованием (совместная репликация).

Репродукция вирусов

Продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой, т.е. *репродукция* вируса (лат. *re* – повторение, *productio* – производство), проходит в 6 стадий: 1) адсорбция вирионов на клетке; 2) проникновение вируса в клетку; 3) «раздевание» и высвобождение вирусного генома (депротеинизация вируса); 4) синтез вирусных компонентов; 5) формирование вирионов; 6) выход вирионов из клетки. У различных вирусов эти стадии отличаются (рис. 3.4–3.7).

Адсорбция вирусов. Первая стадия репродукции вирусов – адсорбция, т.е. прикрепление вириона к поверхности клетки. Она протекает в две фазы. Первая фаза – неспецифи-

ческая, обусловленная ионным притяжением между вирусом и клеткой, включая и другие механизмы. Вторая фаза адсорбции – высокоспецифическая, обусловленная гомологией, комплементарностью рецепторов чувствительных клеток и «узнающих» их белковых лигандов вирусов. Белки на поверхности вирусов, узнающие специфические клеточные рецепторы и взаимодействующие с ними, называются *прикрепительными* белками (в основном это гликопротеины) в составе липопротеиновой оболочки.

Специфические рецепторы клеток имеют различную природу, являясь белками, липидами, углеводными компонентами белков, липидов и др. Так, рецепторами для вируса гриппа является сиаловая кислота в составе гли-копротеинов и гликолипидов (ганглиозидов) клеток дыхательных путей. Вирусы бешенства адсорбируются на ацетилхолиновых рецепторах нервной ткани, а вирусы иммунодефицита человека – на CD4-рецепторах Т-хелперов, моноцитов и дендритных клеток. На одной клетке находится от десяти до ста тысяч специфических рецепторов, поэтому на ней могут адсорбироваться десятки и сотни вирионов.

Наличие специфических рецепторов лежит в основе избирательности поражения вирусами определенных клеток, тканей и органов. Это так называемый *тропизм* (греч. *tropos* – поворот, направление). Например, вирусы, репродуцирующиеся преимущественно в клетках печени, называются гепатотропными, в нервных клетках – нейротропными, в иммунокомпетентных клетках – иммунотропными и т.д.

Проникновение вирусов в клетку. Вирусы проникают в клетку путем рецептор-зависимого эндоцитоза (виропексиса) или слияния оболочки вируса с клеточной мембраной или же в результате сочетания этих механизмов.

1. *Рецептор-зависимый эндоцитоз* происходит в результате захватывания и поглощения вириона клеткой: клеточная мембрана с прикрепленным вирионом впячивается с об-

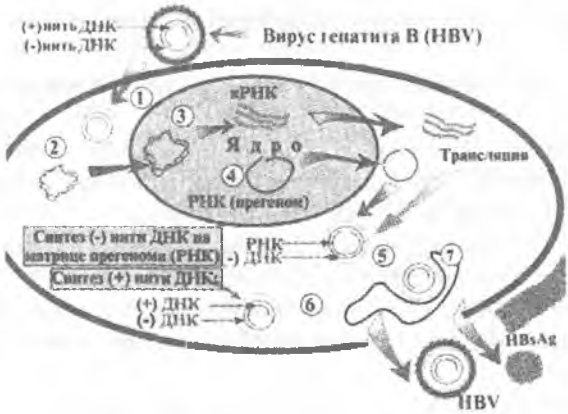


Рис. 3.4. Схема репродукции вируса гепатита В. После проникновения в клетку сердцевины вируса *(1)* неполная нить ДНК-генома достраивается; формируется полная двунитевая кольцевая ДНК *(2)* и созревший геном *(3)* попадает в ядро клетки. Здесь клеточная ДНК-зависимая РНК-полимераза синтезирует разные иРНК для синтеза вирусных белков и РНК-прегеном *(4)*, который является матрицей для репликации генома вируса. Информационные РНК перемещаются в цитоплазму и транслируются с образованием белков вируса. Белки сердцевины вируса собираются вокруг прегенома. Под действием РНК-зависимой ДНК-полимеразы вируса на матрице прегенома синтезируется минус-нить ДНК *(5)*, на матрице которой затем синтезируется плюс-нить ДНК *(6)*. Оболочка вириона образуется на HBs-содержащих мембранах эндоплазматической сети или аппарата Гольджи *(7)*. Вирион выходит из клетки экзоцитозом.

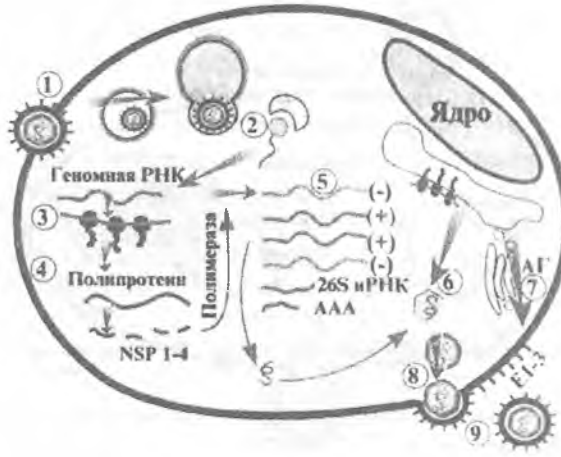


Рис. 3.5. Схема репродукции плюс-однонитевых РНК-содержащих вирусов (представитель семейства тогавирусов). Вирус *(1)* попадает в клетку рецептор-опосредованным эндоцитозом. Вирусный геном (плюс-РНК) попадает в цитоплазму *(2)*, где, как иРНК, связывается с рибосомами *(3)*: транслируется полипротеин *(4)*, расщепляющийся на 4 неструктурных белка (NSP 1-4), включая РНК-зависимую РНК-полимеразу. Эта полимераза транскрибирует геномную плюс-РНК в минус-нить РНК (матрицу), на которой *(5)* синтезируются копии РНК двух размеров: полная плюс-нить 498-геномной РНК; неполная нить 26S иРНК, кодирующая С-белок капсида *(6)* и гликопротеины оболочки Е1-3, которые синтезируются на рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума, затем включаются в мембрану и гликозилируются. Белки оболочки дополнительно гликозилируются в аппарате Гольджи *(7)* и встраиваются в плазмалемму. С-белок образует с геномной РНК нуклеокапсид *(8)*, который вместе с модифицированной плазмолеммой (оболочкой вириона) выходит из клетки почкованием *(9)*.

разованием внутриклеточной вакуоли (эндосомы), содержащей вирус. За счет АТФ-зависимого «протонного» насоса содержимое эндосомы закисляется, что приводит к слиянию липопротеиновой оболочки сложно организованного вируса с мембраной эндосомы и выходу вирусного нуклеокапсида в цитозоль клетки. Эндосомы объединяются с лизосомами, которые разрушают оставшиеся вирусные компоненты. Процесс выхода безоболочечных (просто организованных) вирусов из эндосомы в цитозоль остается малоизученным.

2. *Слияние оболочки вириона с клеточной мембраной* характерно только для некоторых оболочечных вирусов (парамиксовирусов, ретровирусов, герпесвирусов), в составе которых имеются *белки слияния*. Происходит точечное взаимодействие вирусного белка, слияния с липидами клеточной мембраны, в результате чего, вирусная липопротеиновая оболочка интегрирует с клеточной мембраной, а внутренний компонент вируса попадает в цитозоль клетки.

«Раздевание» (депротеинизация) вирусов

В результате депротеинизации удаляются поверхностные структуры вируса и высвобождается его внутренний компонент, способный вызывать инфекционный процесс. Первые этапы «раздевания» вируса начинаются в процессе его проникновения в клетку путем слияния вирусных и клеточных мембран или же при выходе вируса из эндосомы в цито-

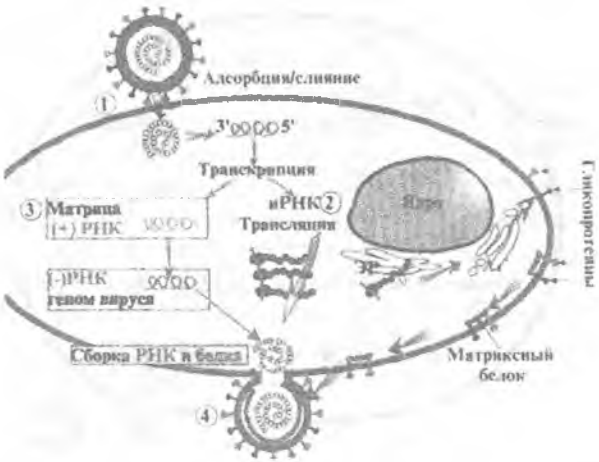


Рис. 3.6. Схема репродукции минус-однонитевых РНК-содержащих вирусов (парамиксовирусов). Вирус связывается гликопротеинами оболочки с поверхностью клетки и сливается с плазмолеммой *(1)*. С геномной минус-нити РНК вируса транскрибируются неполные плюс-нити РНК, являющиеся иРНК для отдельных белков, и полная плюс-нить РНК – матрица *(3)* для синтеза минус-геномной РНК вируса. Нуклеокапсид связывается с матриксным М-белком и гликопротеин-модифицированной плазмолеммой. Выход вирионов – почкованием *(4)*.

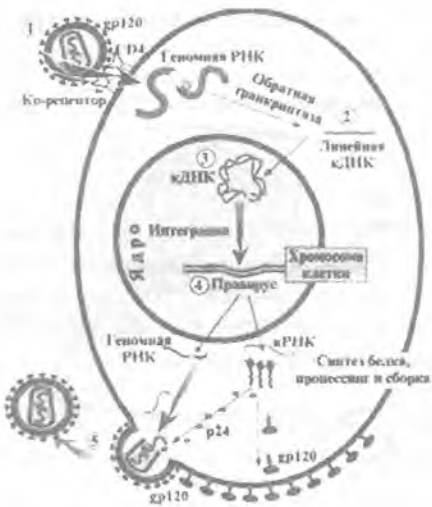


Рис. 3.7. Схема репродукции вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Вирус *(1)* связывается гликопротеином gp 20 с рецептором CD4 Т-хелперов, макрофагов, дендритных и микроглиальных клеток. Участвуют и другие ко-рецепторы клеток. После слияния оболочки ВИЧ с плазмолеммой клетки в цитоплазме освобождается геномная РНК и обратная транскриптаза вируса, которая на матрице геномной РНК синтезирует комплементарную минус-нить ДНК (линейная кДНК). С последней *(2)* копируется плюс-нить с образованием двойной кольцевой кДНК *(3)*. Комплементарная ДНК интегрирует с хромосомной ДНК клетки. Рекомбинантная ДНК-провирус служит основой синтеза геномной РНК вируса и иРНК, которые обеспечивают синтез компонентов вируса и сборку вирионов. Вирионы выходят из кетки почкованием *(5)*: сердцевина вируса «одевается» в модифицированную плазмолемму клетки.

золь. Последующие этапы «раздевания» вируса тесно взаимосвязаны с их внутриклеточным транспортом к местам депротеинизации. Для разных вирусов существуют свои специализированные участки «раздевания» в клетке: для пикорнавирусов – в цитоплазме с участием лизосом, аппарата Гольджи; для герпесвирусов – околоядерное пространство или поры ядерной мембраны; для аденовирусов – сначала структуры цитоплазмы, а затем ядро клетки. Конечными продуктами «раздевания» могут быть нуклеиновая кислота, нуклеопротеин (нуклеокапсид) или сердцевина вириона. Так, конечным продуктом «раздевания» пикорнавирусов является нуклеиновая кислота, ковалентно связанная с одним из внутренних белков. А у многих оболочечных РНК-содержащих вирусов конечными продуктами «раздевания» могут быть нуклеокапсиды или сердцевины, которые не только не препятствуют экспрессии вирусного генома, а более того, защищают его от клеточных протеаз и регулируют последующие биосинтетические процессы.

Синтез вирусных компонентов. Следующей стадией репродукции является синтез белков и нуклеиновых кислот вируса, который разобщен во времени и пространстве. Синтез осуществляется в разных частях клетки, поэтому такой способ размножения вирусов называется *дизъюнктивным* (от лат. *disjunctus* – разобщенный).

Синтез вирусных белков. В зараженной клетке вирусный геном кодирует синтез двух групп белков: неструктурных белков, обслуживающих внутриклеточную репродукцию вируса на разных его этапах; структурных белков, которые входят в состав вириона (геномные, связанные с геномом вируса, капсидные и суперкапсидные белки). К *неструктурным белкам* относятся: 1) ферменты синтеза РНК или ДНК (РНК- или ДНК-полимеразы), обеспечивающие транскрипцию и репликацию вирусного генома; 2) белки-регуляторы; 3) предшественники вирусных белков, отличающиеся своей нестабильностью в результате быстрого нарезания на структурные белки; 4) ферменты, модифицирующие вирусные белки, например, протеиназы и протеинкиназы.

Синтез белков в клетке осуществляется в соответствии с хорошо известными процессами *транскрипции* (от лат. *transcriptio* – переписывание) путем «переписывания» генетической информации с нуклеиновой кислоты в нуклео-тидную последовательность информационной РНК (иРНК) и *трансляции* (от лат. *translatio* – передача) – считывания иРНК на рибосомах с образованием белков. Передача наследственной информации в отношении синтеза иРНК у разных групп вирусов неодинакова.

– а ДНК-содержащие вирусы реализуют генетическую информацию так же, как и клеточный геном, по схеме:

геномная **ДНК вируса** → транскрипция **иРНК** → трансляция **белка вируса.**

Причем ДНК-содержащие вирусы используют для этого процесса клеточную полимеразу (вирусы, геномы которых транскрибируются в ядре клетки – аденовирусы, паповавирусы, герпесвирусы) или собственную РНК-полимеразу (вирусы, геномы которых транскрибируются в цитоплазме, например, поксвирусы).

– Плюс-нитевые РНК-содержащие вирусы (например. пикорнавирусы, флавивирусы, тогавирусы) имеют геном, выполняющий функцию и РНК; он распознается и транслируется рибосомами. Синтез белков у этих вирусов осуществляется без акта транскрипции по схеме:

геномная **РНК вируса** → трансляция **белка вируса.**

– Геном минус-однонитевых РНК-содержащих вирусов (ортомиксовирусов, парамиксовирусов, рабдовирусов) и двунитевых (реовирусов) служит матрицей, с которой транскрибируется и РНК, при участии РНК-полимеразы, связанной с нуклеиновой кислотой вируса. Синтез белка у них происходит по схеме:

геномная **РНК вируса** → транскрипция **иРНК** → трансляция **белка вируса.**

– Ретровирусы (вирусы иммунодефицита человека, онкогенные ретровирусы) имеют уникальный путь передачи генетической информации. Геном ретровирусов состоит из двух идентичных молекул РНК, т.е. является диплоидным. В составе ретровирусов есть особый вирусоспецифический фермент – обратная транскриптаза или ревертаза, с помощью которой осуществляется процесс обратной транскрипции, т.е. на матрице геномной РНК синтезируется комплементарная однонитевая ДНК (кДНК). Комплементарная нить ДНК копируется с образованием двунитевой комплементарной ДНК, которая интегрирует в клеточный геном и в его составе транскрибируется в иРНК с помощью клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы. Синтез белков для этих вирусов осуществляется по схеме:

геномная **РНК вируса** → комплементарная ДНК → транскрипция **иРНК** → трансляция **белка вируса.**

Репликация вирусных геномов, т.е. синтез вирусных нуклеиновых кислот, приводит к накоплению в клетке копий исходных вирусных геномов, которые используются при сборке вирионов. Способ репликации генома зависит от типа нуклеиновой кислоты вируса, наличия вирусоспецифических или клеточных полимераз, а также от способности вирусов индуцировать образование полимераз в клетке. Механизм репликации отличается у вирусов, имеющих: 1) двунитевую ДНК; 2) однонитевую ДНК; 3) плюс-однонитевую РНК; 4) минус-одноните-вую*РНК; 5) двунитевую РНК; 6) идентичные плюс-нитевые РНК (ретровирусы).

1. Двунитевые ДНК-вирусы. Репликация двунитевых вирусных ДНК происходит обычным полуконсервативным механизмом: после расплетения нитей ДНК к ним комплементарно достраиваются новые нити. Каждая вновь синтезированная молекула ДНК состоит из одной родительской и одной вновь синтезированной нити. К этим вирусам относится большая группа вирусов, которые содержат двунитевую ДНК в линейной (например, герпесвирусы, аденовирусы и поксвирусы) или в кольцевой форме, как папилломавирусы. У всех вирусов, кроме поксвирусов, транскрипция вирусного генома происходит в ядре.

Уникальный механизм репликации характерен для гепаднавирусов (вируса гепатита В). Геном гепаднавирусов представлен дву-нитевой кольцевой ДНК, одна нить которой короче (неполная плюс-нить) другой нити. Первоначально достраивается (рис. 4.7). Затем полная двунитевая ДНК с помощью клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы транскрибируется с образованием небольших молекул иРНК и полной однонитевой плюс-РНК. Последняя называется прегеномной РНК; она является матрицей для репликации генома вируса. Синтезированные иРНК участвуют в процессе трансляции белков, в том числе, вирусной РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы). С помощью этого фермента мигрирующая в цитоплазму прегеномная РНК обратно транскрибируется в минус-нить ДНК, которая, в свою очередь, служит матрицей для синтеза плюс-нити ДНК. Этот процесс заканчивается образованием двунитевой ДНК, содержащей неполную плюс-нить ДНК.

2. *Однонитевые ДНК-вирусы.* Единственными представителями однонитевых ДНК-вирусов являются парвовирусы. Парвовирусы используют клеточные ДНК-полимеразы для создания двунитевого вирусного генома, так называемой репликативной формы последнего. При этом на исходной вирусной ДНК (плюс-нить) комплементарно синтезируется минус-нить ДНК, служащая матрицей для синтеза плюс-нити ДНК нового вириона. Параллельно синтезируется иРНК, происходит трансляция вирусных пептидов.

3. *Плюс-однонитевые РНК-вирусы.* Эти вирусы включают большую группу вирусов – пикорнавирусы, флавивирусы, тогавирусы (рис. 3.8), у которых геномная плюс-нить РНК выполняет функцию иРНК. Например, РНК полиовирусов после проникновения в клетку связывается с рибосомами, работая как и РНК, и на ее основе синтезируется большой полипептид, который расщепляется на фрагменты: РНК-зависимую РНК-полимеразу, вирусные протеазы и капсидные белки. Полимераза на основе геномной плюс-нити РНК синтезирует минус-нить РНК; формируется временно двойная РНК, названная промежуточным репликативным звеном. Это промежуточное репликативное звено состоит из полной плюс-нити РНК и многочисленных частично завершенных минус-нитей. Когда образованы все минус-нити, они используются как шаблоны для синтеза новых плюс-нитей РНК. Этот механизм используется как для размножения геномной РНК вируса, так и для синтеза большого количества вирусных белков.

4. *Минус-однонитевые РНК-вирусы.* Минус – однонитевые РНК-вирусы (рабдовирусы, парамиксовирусы, ортомиксовирусы) имеют в своем составе РНК-зависимую РНК-полимеразу. Проникшая в клетку геномная минус-нить РНК трансформируется вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой в неполные и полные плюс-нити РНК. Неполные копии выполняют роль иРНК для синтеза вирусных белков. Полные копии являются матрицей (промежуточная стадия) для синтеза минус-нитей геномной РНК потомства (рис. 3.9).

5. *Двунитевые РНК-вирусы.* Механизм репликации этих вирусов (реовирусов и ротавирусов) сходен с репликацией минус-однонитевых РНК-вирусов. Отличие состоит в том, что образовавшиеся в процессе транскрипции плюс-нити функционируют не только как и РНК, но и участвуют в репликации: они являются матрицами для синтеза минус-нитей РНК. Последние в комплексе с плюс-нитями РНК образуют геномные двунитевые РНК вирионов. Репликация вирусных нуклеиновых кислот этих вирусов происходит в цитоплазме клеток.

6. *Ретровирусы* (плюс-нитевые диплоидные РНК-содержащие вирусы). Обратная транскриптаза ретровирусов синтезирует (на матрице РНК-вируса) минус-нить ДНК, с которой копируется плюс-нить ДНК с образованием двойной нити ДНК, замкнутой в кольцо. Далее двойная нить ДНК интегрирует с хромосомой клетки, образуя провирус. Многочисленные вирионные РНК образуются в результате транскрипции одной из нитей интегрированной ДНК при участии клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

Формирование вирусов. Вирионы формируются путем самосборки: составные части вириона транспортируются в места сборки вируса – участки ядра или цитоплазмы клетки. Соединение компонентов вириона обусловлено наличием гидрофобных, ионных, водородных связей и стерического соответствия.

Существуют следующие общие принципы сборки вирусов:

– Формирование вирусов – многоступенчатый процесс с образованием промежуточных форм, отличающихся от зрелых вирионов по составу полипептидов.

– Сборка простоустроенных вирусов заключается во взаимодействии вирусных нуклеиновых кислот с капсидными белками и в образовании нуклеокапсидов.

– У сложноустроенных вирусов сначала формируются нуклеокапсиды, которые взаимодействуют с модифицированными мембранами клеток (будущей липопротеиновой

оболочкой вируса). Причем сборка вирусов, реплицирующихся в ядре клетки, происходит с участием мембраны ядра, а сборка вирусов, репликация которых идет в цитоплазме, осуществляется с участием мембран эндоплазматической сети или плазматической мембраны, куда встраиваются гликопротеины и другие белки оболочки вируса.

– У ряда сложноустроенных вирусов минус-нитевых РНК-вирусов (ортомиксовирусов, парамиксовирусов) в сборку вовлекается так называемый матриксный белок (М-белок), который расположен под модифицированной клеточной мембраной. Обладая гидрофобными свойствами, он выполняет роль посредника между нуклеокапсидом и вирусной липопротеиновой оболочкой.

– Сложноустроенные вирусы в процессе формирования включают в свой состав некоторые компоненты клетки хозяина, например, липиды и углеводы.

Выход вирусов из клетки. Полный цикл репродукции вирусов завершается через 5–6 ч (вирус гриппа и др.) или через несколько суток (гепатовирусы, вирус кори и др.). Процесс репродукции вирусов заканчивается выходом их из клетки, который происходит взрывным путем или почкованием, экзоцитозом.

– ***Взрывной путь:*** из погибающей клетки одновременно выходит большое количество вирионов. По взрывному пути выходят из клетки просто устроенные вирусы, не имеющие липопротеиновой оболочки.

– ***Почкование, экзоцитоз*** присущи вирусам, имеющим липопротеиновую оболочку, которая является производной от клеточных мембран. Сначала образовавшийся нуклеокапсид или сердцевина вириона транспортируется к клеточным мембранам, в которые уже встроены вирусоспецифические белки. Затем в области контакта нуклеокапсида или сердцевины вириона с клеточной мембраной начинается выпячивание этих участков. Сформировавшаяся почка отделяется от клетки в виде сложноустроенного вируса. При этом клетка способна длительно сохранять жизнеспособность и продуцировать вирусное потомство.

Почкование вирусов, формирующихся в цитоплазме, может происходить либо через плазматическую мембрану (например, парамиксовирусы, тогавирусы), либо через мембраны эндоплазматической сети с последующим их выходом на поверхность клетки (например, буньявирусы).

Вирусы, формирующиеся в ядре клетки (например, герпесвирусы), почкуются в перинуклеарное пространство через модифицированную ядерную мембрану, приобретая, таким образом, липопротеиновую оболочку. Затем они транспортируются в составе цитоплазматических везикул на поверхность клетки.

Абортивный тип взаимодействия вирусов с клеткой

Этот тип взаимодействия не завершается образованием вирусного потомства и может возникать при следующих обстоятельствах:

1) заражение чувствительных клеток дефектными вирусами или дефектными вирионами;

2) заражение стандартным вирусом генетически резистентных к нему клеток;

3) заражение стандартным вирусом чувствительных клеток в непермиссивных (неразрешающих) условиях.

Различают дефектные вирусы и дефектные вирионы.

– *Дефектные вирусы* существуют как самостоятельные виды, которые репродуцируются лишь при наличии вируса-помощника (например, вирус гепатита D репродуцируется только в присутствии вируса гепатита B).

– *Дефектные вирионы* обычно лишены части генетического материала и могут накапливаться в популяции многих вирусов при множественном заражении клеток.

Абортивный тип взаимодействия чаще наблюдается при заражении нечувствительных клеток стандартным вирусом. Механизм генетически обусловленной резистентности клеток к вирусам широко варьирует. Он может быть связан: с отсутствием на плазматической мембране специфических рецепторов для вирусов; с неспособностью данного вида клеток инициировать трансляцию вирусной и РНК; с отсутствием специфических протеаз или нуклеаз, необходимых для синтеза вирусных макромолекул и т.д.

Абортивный тип взаимодействия может также возникать при изменении условий, в которых происходит репродукция вирусов: повышение температуры организма, изменение pH в очаге воспаления, введение в организм противовирусных препаратов и др. При устранении неразрешающих условий абортивный тип переходит в продуктивный тип взаимодействия вирусов с клеткой.

Интегративный тип взаимодействия вирусов с клеткой (вирогения)

Это взаимное сосуществование вируса и клетки в результате интеграции (встраивания) нуклеиновой кислоты вируса в хромосому клетки хозяина. При этом интегрированный геном вируса реплицируется и функционирует как составная часть генома клетки.

Интегративный тип взаимодействия характерен для умеренных ДНК-содержащих бактериофагов, онкогенных вирусов и некоторых инфекционных вирусов как ДНК-содержащих (например, вируса гепатита В), так и РНК-содержащих (например, вируса иммунодефицита человека). Для интеграции с геномом клетки необходимо наличие кольцевой формы двунитевой ДНК-вируса. Геном ДНК-содержащих вирусов в кольцевой форме прикрепляется к клеточной ДНК в месте гомологии нуклеотидных последовательностей и встраивается в определенный участок хромосомы при участии ряда ферментов (рестриктаз, эндонуклеаз, лигаз). У РНК-содержащих вирусов процесс интеграции более сложный. Он начинается с механизма обратной транскрипции, который заключается в синтезе комплементарной нити ДНК на матрице вирусной РНК с помощью вирусоспецифического фермента обратной транскриптазы (ревертазы). После образования двунитевой ДНК и замыкания ее в кольцо происходит интеграция ДНК-транскрипта в хромосому клетки. Встроенная в хромосому клетки ДНК вируса называется ***провирусом*** или провирусной ДНК. Провирус реплицируется в составе хромосомы и переходит в геном дочерних клеток, т.е. состояние вирогении наследуется. Однако, под влиянием некоторых физических или химических факторов провирус может исключаться из хромосомы клетки и переходить в автономное состояние с развитием продуктивного типа взаимодействия с клеткой.

Дополнительная генетическая информация провируса при вирогении сообщает клетке новые свойства, что может быть причиной онкогенной трансформации клеток и развития опухолей, а также развития аутоиммунных и хронических заболеваний. Сохранение вирусной информации в виде провируса в составе клеточного генома и передача ее потомству лежит в основе персистенции (лат. *persistentia* – упорство, постоянство) вирусов в организме и развития латентных (скрытых) вирусных инфекций.

Культивирование вирусов

Культивирование вирусов человека и животных проводят с целью лабораторной диагностики вирусных инфекций, для изучения патогенеза и иммунитета при вирусных инфекциях, а также для получения диагностических и вакцинных препаратов. Вирусы

культивируют на трех биологических моделях: в организме лабораторных животных, в развивающихся эмбрионах птиц (чаще на куриных эмбрионах) и культурах клеток (тканей).

Выращенные вирусы определяют с помощью методов индикации и идентификации. ***Индикация*** вирусов, т.е. обнаружение факта их репродукции основана на выявлении различных биологических свойств вирусов и особенностей их взаимодействия с чувствительными клетками. ***Идентификация*** (определение вида, типа) вирусов осуществляется, в основном, с помощью иммунологических реакций, основанных на взаимодействии антигенов вирусов и соответствующих им антител (см. «Реакции иммунитета»).

Лабораторных животных (взрослых или новорожденных белых мышей, хомяков, кроликов, обезьян и др.) заражают исследуемым вируссодержащим материалом различными способами (подкожно, внутримышечно, интраназально, интрацеребрально и т.д.) в зависимости от тропизма вирусов. Использование животных для культивирования вирусов в диагностических целях весьма ограничено из-за видовой невосприимчивости животных ко многим вирусам человека, контаминации животных посторонними микробами, а также по экономическим и этическим соображениям.

О репродукции вирусов в организме животных судят по развитию у них видимых клинических проявлений заболевания, патоморфологическим изменениям органов и тканей, а также на основании *реакции гемагглютинации* (РГА) с суспензией из органов, содержащих вирусы. РГА основана на способности многих вирусов вызывать склеивание (агглютинацию) эритроцитов человека, птиц и млекопитающих в результате взаимодействия вирусных белков (гемагглютининов) с рецепторами эритроцитов.

Куриные эмбрионы (5–12-дневные) заражают путем введения исследуемого материала в различные полости и ткани зародыша. Таким образом, можно культивировать вирусы гриппа, герпеса, натуральной оспы и др. Достоинствами модели являются: возможность накопления вирусов в больших количествах; отсутствие скрытых вирусных инфекций; доступность для любой лаборатории. О репродукции вирусов в куриных эмбрионах свидетельствуют: специфические поражения оболочек и тела эмбриона (оспины, кровоизлияния); гибель эмбриона; положительная РГА с вируссодержащей жидкостью, полученной из полостей зараженного зародыша.

Методику культивирования вирусов в развивающихся эмбрионах птиц используют при промышленном выращивании вирусов. Однако, многие вирусы не размножаются в эмбрионах птиц; почти неограниченные возможности для культивирования вирусов появились после открытия метода культур клеток.

Культуру клеток (тканей) наиболее часто применяют для культивирования вирусов. Метод культур клеток разработан в 50-х годах XX века Дж. Эндерсом и соавт., получившими за это открытие Нобелевскую премию. Клетки, полученные из различных органов и тканей человека, животных, птиц и других биологических объектов, размножают вне организма на искусственных питательных средах в специальной лабораторной посуде. Большое распространение получили культуры клеток из эмбриональных и опухолевых (злокачественно перерожденных) тканей, обладающих, по сравнению с нормальными клетками взрослого организма, более активной способностью к росту и размножению.

При выращивании культур клеток необходимо выполнение ряда условий:

1) соблюдение правил асептики; 2) использование лабораторной посуды из нейтрального стекла (пробирки, флаконы, матрасы) или специальных реакторов для получения биотехнологической продукции; 3) использование сложных по составу питательных сред (среда 199, Игла), содержащих минеральные соли, аминокислоты, витамины, глюкозу, сыворотку крови животных или человека, буферные растворы для поддержания стабильного

pH; 4) добавление антибиотиков к питательной среде для подавления роста посторонних микробов; 5) соблюдение оптимальной температуры (36–38,5 °С) роста клеток.

В зависимости от техники приготовления различают однослойные, суспензионные и органные культуры клеток:

– *Однослойные культуры клеток* – клетки способны прикрепляться и размножаться на поверхности химически нейтрального стекла лабораторной посуды в виде монослоя. Они получили наибольшее применение в вирусологии.

– *Суспензионные культуры клеток* – клетки размножаются во всем объеме питательной среды при постоянном ее перемешивании с помощью магнитной мешалки или во вращающемся барабане. Их используют для получения большого количества клеток, например, при промышленном получении вирусных вакцин.

– *Органные культуры* – цельные кусочки органов и тканей, сохраняющие исходную структуру вне организма (применяются ограниченно).

Культуры клеток в процессе их культивирования способны проходить десятки генераций. По числу жизнеспособных генераций культуры клеток подразделяют на: 1) первичные или первично-трипсинизированные; 2) перевиваемые или стабильные; 3) полуперевиваемые.

Первичные культуры способны размножаться только в первых генерациях, т.е. выдерживают не более 5 – 10 пассажей после выделения из тканей. В основе получения первичных культур лежит обработка кусочков тканей (эмбриональных, опухолевых или нормальных) протеолитическими ферментами, например, трипсином, который разрушает межклеточные связи в тканях и органах с образованием изолированных клеток.

Перевиваемые, или *стабильные,* культуры клеток способны размножаться в лабораторных условиях неопределенно длительный срок (десятки лет), т.е. выдерживают многочисленные пассажи. Их получают преимущественно из опухолевых или эмбриональных тканей, обладающих большой потенцией роста. Перевиваемые культуры клеток имеют преимущества перед первичными культурами. К ним относятся: продолжительность их культивирования, высокая скорость размножения опухолевых и эмбриональных клеток, меньшая трудоемкость, способность культур сохранять свои свойства в замороженном состоянии в течение многих лет, возможность использования международных линий культур во многих лабораториях мира. Однако, злокачественный характер клеток и соматические мутации, претерпеваемые нормальными клетками в процессе многочисленных генераций, ограничивают использование этого вида культур, в частности, невозможно их применение в производстве вирусных вакцин.

Полуперевиваемые культуры клеток имеют ограниченную продолжительность жизни и выдерживают 40–50 пассажей. Их обычно получают из диплоидных клеток эмбриона человека. В процессе пассажей эти культуры сохраняют диплоидный набор хромосом, характерный для соматических клеток исходной ткани и не претерпевают злокачественной трансформации. Поэтому полуперевиваемые культуры клеток могут быть использованы как в диагностике, так и в производстве вакцин.

Внедрение в вирусологию метода культур клеток позволило выделить и идентифицировать многочисленные ранее неизвестные вирусы, так как почти к каждому вирусу можно подобрать соответствующие чувствительные клетки, в которых он способен репродуцироваться. Метод дал возможность изучать взаимодействие вирусов с клеткой на молекулярном уровне, получать высококачественные вакцинные и диагностические препараты, проводить вирусологические исследования в стандартных условиях.

О репродукции вирусов в культуре клеток, зараженных вируссодержащим материалом, можно судить на основании следующих феноменов: *цитопатогенного действия* (ЦПД)

вирусов или *цитопатического эффекта,* образования внутриклеточных *включений',* образования *«бляшек»;* реакций *гемадсорбции* и *гемагглютинации; «цветной» реакции.*

ЦПД – патологические изменения морфологии клеток, вплоть до их гибели, возникающие в результате репродукции вирусов и наблюдаемые под микроскопом (рис. 3.8). В зависимости от особенностей репродуцирующихся вирусов ЦПД может отличаться. В одних случаях быстро вакуолизируется цитоплазма, разрушаются митохондрии, округляются и гибнут клетки, а в других – формируются гигантские многоядерные клетки (так называемые симпласты) или наблюдается явление клеточной пролиферации, которое в итоге заканчивается деструкцией клеток.

Таким образом, характер ЦПД позволяет использовать этот феномен не только для индикации вирусов, но и для их ориентировочной идентификации в культуре клеток.

Некоторые вирусы можно обнаружить и идентифицировать по внутриклеточным *включениям,* которые образуются в ядре или цитоплазме зараженных клеток (рис. 3.9). Часто включения представляют собой скопления вирусных частиц или отдельных компонентов вирусов, иногда могут содержать клеточный материал. Выявляют включения с помощью светового или люминесцентного микроскопа после окрашивания зараженных клеток соответственно анилиновыми красителями или флюорохромами. Включения могут отличаться по величине (от 0,2 до 25 мкм), форме (округлые или неправильные) и численности (одиночные и множественные). Характерные цитоплазматические включения формируются в клетках, инфицированных вирусом натуральной оспы (тельца Гварниери), бешенства (тельца Бабеша – Негри), а внутриядерные включения – при заражении аденовирусами или вирусами герпеса.

«Бляшки» или *«негативные колонии»* – представляют собой ограниченные участки разрушенных вирусами клеток в сплошном монослое культур клеток. Они видны невооруженным глазом в виде светлых пятен на фоне окрашенного монослоя живых клеток (рис. 3.10). Добавление агара в питательную среду ограничивает распространение вирусов по всему монослою после выхода их из разрушенной клетки и обеспечивает взаимодействие вирусов только с соседними клетками. Каждая «бляшка» образуется потомством одного вириона. Подсчитав количество «бляшек», можно определить концентрацию вирусов в исследуемом материале. Кроме того, «бляшки» разных групп вирусов отличаются по размеру, форме, срокам появления. Поэтому метод «бляшек» используют для дифференциации вирусов, а также для селекции штаммов и получения чистых линий вирусов.

В основе *реакции гемадсорбции лежит* способность культур клеток, инфицированных вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты. Целый ряд вирусов (гриппа, парагриппа и др.) обладают гемадсорбирующими свойствами, что позволяет использовать реакцию гемадсорбции для индикации этих вирусов даже при отсутствии выражен-

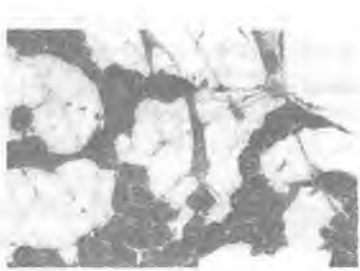


Рис. 3.8. Однослойная культура клеток, зараженная вирусом – ЦПД вируса.



Рис. 3.9. Цитоплазматические включения – тельца Гварниери.

ного ЦПД в культуре клеток. Механизмы реакции гемадсорбции и гемагглютинации сходны. Поэтому для обнаружения репродукции некоторых вирусов в культуре клеток можно использовать реакцию гемагглютинации с культуральной жидкостью, т.е. с питательной средой, содержащей размножившиеся вирусы.

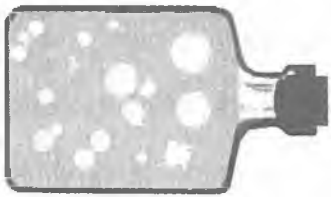


Рис. 3.10. Бляшкообразование в культуре клеток.

О репродукции вирусов в культуре клеток можно также судить по так называемой *«цветной» реакции*. Она регистрируется по изменению цвета индикатора, находящегося в питательной среде для культур клеток. Если вирусы не размножаются в культуре клеток, то живые клетки в процессе своего метаболизма выделяют кислые продукты, изменяющие pH среды и соответственно, цвета индикатора. При репродукции вирусов нормальный метаболизм клеток нарушается (клетки гибнут) и среда сохраняет первоначальный цвет индикатора.

Бактериофаги (вирусы бактерий)

Бактериофаги (от «бактерия» и греч. *phagos* – пожирающий) – вирусы бактерий, специфически проникающие в бактерии, паразитирующие в них вплоть до гибели (лизиса) бактериальной клетки. Впервые явление самопроизвольного лизиса сибиреязвенных бактерий наблюдал в 1898 г. один из основоположников отечественной микробиологии Н. Ф. Гамалея. В 1915 г. английский бактериолог Ф. Туорт описал способность фильтрата стафилококков растворять свежую культуру этих же бактерий. Однако, лишь французский ученый Ф. Д'Эрелль (1917 г.) правильно оценил это явление, выделяя фильтрующийся литический агент из испражнений больных дизентерией. Добавление литического агента (фильтрата испражнений) к мутной бульонной культуре дизентерийных бактерий, приводило к полному просветлению среды. Аналогичный эффект Ф. Д'Эрелль наблюдал и на плотных питательных средах, засеянных смесью литического агента с соответствующими бактериями. На фоне сплошного бактериального роста появлялись стерильные пятна круглой или неправильной формы – участки лизиса бактерий, названные «негативными колониями» или «бляшками».



Рис. 3.11 Взаимодействие бактериофага с оболочкой бактерии.

Ф. Д'Эрелль сделал заключение, что открытый им литический агент является вирусом бактерий, и назвал его «бактериофагом» -пожирателем бактерий.

Бактериофаги широко распространены: они выявлены у большинства бактерий а также у других микроорганизмов, например, у грибов. Поэтому бактериофаги в широком смысле слова часто называют просто *фагами.*

Бактериофаги принято обозначать буквами латинского, греческого или русского алфавита, часто с цифровым индексом, перед которыми стоит название вида бактерий (например, фаги *E. coli* Т2). Для обозначения группы родственных фагов используют родовые и видовые названия микробов, из которых выделены соответствующие фаги: колифаги, стафилофаги, актинофаги, микофаги и т.д.

Строение бактериофагов изучают с помощью электронной микроскопии образцов, контрастированных напылением металлов или фосфорно-вольфрамовой кислотой. В зависимости от формы и структурной организации фаги подразделяют на несколько морфологических типов: нитевидные; мелкие кубические (некоторые из них имеют аналоги отростков); фаги сперматозоидной формы, т.е. с кубической головкой и хвостовым отростком, имеющие сокращающийся или не сокращающийся чехол отростка. Размеры фагов колеблются от 20 до 800 нм (нитевидный тип).

Наиболее изучены крупные бактериофаги, имеющие форму сперматозоида и сокращающийся чехол отростка, например, колифаги Т2, Т4, Т6. Они состоят из головки икосаэдрического типа размером 65 – 100 нм и хвостового отростка длиной более 100 нм (рис. 3.11). Хвостовой отросток имеет внутри полый цилиндрический стержень, сообщающийся с головкой, а снаружи – чехол, способный к сокращению, наподобие мышцы. Чехол присоединен к воротничку, окружающему стержень около головки. На дистальном конце отростка имеется шестиугольная базальная пластинка с щипами, от которых отходят нитевидные структуры – *фибриллы.*

Бактериофаги содержат или ДНК, или РНК. Нуклеиновые кислоты фагов могут быть двунитевыми, однонитевыми, линейными, кольцевыми. Большинство фагов содержит двунитевую ДНК, замкнутую в кольцо.

У фагов, имеющих форму сперматозоида, одна молекула двунитевой суперспирализованной ДНК находится внутри головки и защищена капсидом. Капсид состоит из белковых молекул – идентичных полипептидных субъединиц, уложенных по икосаэдрическому (кубическому) типу симметрии. В состав головки также входит полипептид, состоящий из аспарагиновой, глутаминовой кислот и лизина. У некоторых фагов внутри головки находится внутренний гистоноподобный белок, обеспечивающий суперспирализацию ДНК. Сокращающийся чехол хвостового отростка образован также белковыми субъединицами, уложенными по спиральному типу симметрии, содержащими АТФ и ионы Ca^{2+}. У некоторых фагов (например, Т2) в дистальной части отростка содержится фермент лизоцим.

Антигенные свойства. Бактериофаги содержат группоспецифические и типоспецифические антигены, обладают иммуногенными свойствами, вызывая синтез специфических антител в организме. Антитела, взаимодействуя с бактериофагами, могут нейтрализовать их литическую активность против бактерий. По типоспецифическим антигенам фаги делят на серотипы.

Резистентность. По сравнению с вирусами человека бактериофаги более устойчивы к факторам окружающей среды. Инактивируются под действием температуры 65-70 °С, УФ-облучения в высоких дозах, ионизирующей радиации, формалина и кислот. Длительно сохраняются при низкой температуре и высушивании.

Взаимодействие фагов с бактериальной клеткой. Бактериофаги инфицируют строго определенные бактерии, взаимодействуя со специфическими рецепторами клетки. По спе-

цифичности взаимодействия различают следующие бактериофаги: *поливалентные,* взаимодействующие с родственными видами бактерий; *моновалентные,* взаимодействующие с бактериями определенного вида; *типовые,* взаимодействующие с отдельными типами (вариантами) бактерий данного вида.

Взаимодействие фагов с бактериями может протекать, как и у других вирусов, по продуктивному, абортивному и интегративному типам. При *продуктивном* типе взаимодействия образуется фаговое потомство, бактерии лизируются; при *абортивном* типе – фаговое потомство не образуется и бактерии сохраняют свою жизнедеятельность; при *интегративном* типе – геном фага встраивается в хромосому бактерии и сосуществует с ней. В зависимости от типа взаимодействия различают вирулентные и умеренные бактериофаги.

Вирулентные бактериофаги взаимодействуют с бактерией по продуктивному типу. Проникнув в бактерию, они репродуцируются с образованием 200 – 300 новых фаговых частиц и вызывают лизис бактерий. Взаимодействие бактериофага с бактерией напоминает взаимодействие вирусов человека с клеткой хозяина. Специфическая адсорбция фагов на бактериальной клетке происходит при наличии комплементарных рецепторов липопротеиновой или липополисахаридной природы в ее клеточной стенке. На бактериях, лишенных клеточной стенки (протопласты, сферопласты), бактериофаги не адсорбируются. Некоторые фаги в качестве рецепторов используют половые пили бактерий (см. рис. 3.13).

Фаги, имеющие хвостовой отросток, прикрепляются к бактериальной клетке свободным концом отростка (фибриллами, базальной пластинкой). Проникновение фаговой нуклеиновой кислоты в бактерию наиболее изучено у бактериофагов, имеющих отросток с сокращающимся чехлом (см. рис. 3.11). В результате активации АТФ чехол хвостового отростка сокращается и стержень с помощью лизоцима, растворяющего прилегающий фрагмент клеточной стенки, как бы просверливает оболочку клетки. При этом ДНК фага, содержащаяся в его головке, проходит в форме нити через канал хвостового стержня и инъецируется в клетку, а капсид фага остается снаружи бактерии.

Некоторые мелкие кубические фаги, способные адсорбироваться на половых пилях, вводят свою нуклеиновую кислоту через канал этих пилей. ДНК нитевидных фагов проходит в бактерию вместе с одним из капсидных белков.

Инъецированная внутрь бактерии нуклеиновая кислота подавляет биосинтез компонентов клетки, заставляя ее синтезировать нуклеиновую кислоту и белки фага. Эти процессы схожи с репродукцией вирусов человека. После образования компонентов фага происходит самосборка частиц: сначала пустотелые капсиды головок заполняются нуклеиновой кислотой, затем сформированные головки соединяются с хвостовыми отростками. В результате изменения внутриклеточного осмотического давления и действия фагового лизоцима происходит разрушение оболочки, лизис бактерии и выход фагов из нее. Весь литический цикл от адсорбции бактериофага на бактерии до его выхода из нее занимает 20-40 мин.

Умеренные бактериофаги в отличие от вирулентных взаимодействуют с чувствительными бактериями либо по продуктивному, либо по интегративному типу (рис. 3.12). Продуктивный цикл умеренного фага идет в той же последовательности, что и у вирулентных фагов и заканчивается лизисом клетки. При интегративном типе взаимодействия ДНК умеренного фага встраивается в хромосому бактерии, реплицируется синхронно с геномом размножающейся бактерии, не вызывая ее лизиса. ДНК бактериофага, встроенная в хромосому бактерии, называется *профагом,* а культура бактерий – *лизогенной.* Такое сосуществование бактерии и умеренного бактериофага называется *лизогенией* (от греч.

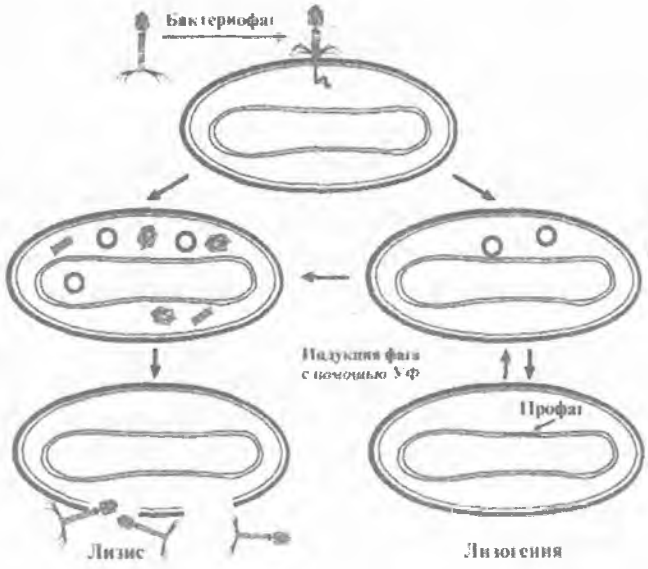


Рис. 3.12. Пути развития умеренного фага лямбда.

lysis – разложение, *genea* – происхождение). Профаг, ставший частью хромосомы бактерии, при ее размножении передается по наследству потомкам.

Каким образом нуклеиновая кислота присоединяется к бактериальной хромосоме?

После проникновения в бактерию ДНК умеренного фага приобретает форму кольца, а затем интегрирует по типу кроссинговера в строго определенную гомологичную область хромосомы клетки. Например, профаг лямбда всегда локализуется между галактозным и биотиновым локусом хромосомы кишечной палочки.

Итак, при лизогении образование фагового потомства не происходит. В основе «сдерживающего» механизма репродукции фагов лежит образование в бактерии специфического репрессора – низкомолекулярного белка, подавляющего транскрипцию фаговых генов. Биосинтез репрессора детерминируется генами профага. Наличием репрессора можно объяснить способность лизогенных бактерий приобретать иммунитет (невосприимчивость) к последующему заражению гомологичным или близкородственными фагами. Под иммунитетом в данном случае понимается такое состояние бактерии, при котором исключается процесс вегетативного размножения вышеуказанных фагов и лизис клетки. Однако,

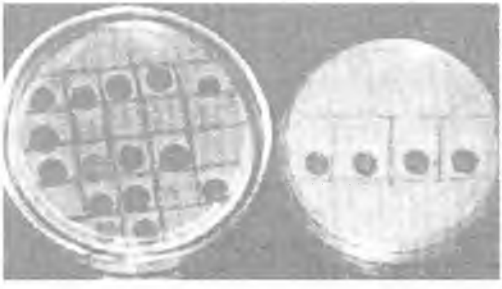


Рис. 3.13. Фаготипирование и титрование стафилококковых бактериофагов

термин «лизогения» отражает потенциальную возможность лизиса бактерии, содержащей профаг. Действительно, профаги некоторой части лизогенной культуры бактерий могут спонтанно (самопроизвольно) или направленно под действием ряда физических или химических факторов дерепрессироваться исключаться из хромосомы, переходить в вегетативное состояние. Этот процесс заканчивается продукцией фагов и лизисом бактерий. Частота спонтанного лизиса бактерий в лизогенных культурах невелика (10^{-2}, 10^{-6}), т.е. не захватывает все клетки, обладающие иммунитетом. Частоту лизиса бактерий можно значительно увеличить, воздействуя на лизогенную культуру *индуцирующими* агентами (УФ-лучи, ионизирующее излучение, перекисные соединения, митомицин С и др.). Сам же феномен воздействия, приводящий к инактивации репрессора, называется *индукцией* профага. Явление индукции используют в генной инженерии. Однако, спонтанный лизис лизогенных культур может нанести вред микробиологическому производству. Так, если микроорганизмы – продуценты биологически активных веществ оказываются лизогенными, существует опасность перехода фага в вегетативное состояние, что приведет к лизису производственного штамма этого микроба.

Геном профага может придавать бактерии новые, ранее отсутствовавшие у нее свойства. Этот феномен изменения свойств микроорганизмов под влиянием профага получил название *фаговой конверсии* (от лат. *conver-sio* – превращение). Конвертироваться могут морфологические, культуральные, биохимические, антигенные и другие свойства бактерий. Например, наличие профага в дифтерийной палочке обусловливает ее способность продуцировать дифтерийный экзотоксин. Умеренные фаги могут быть дефектными, т.е. неспособными образовывать зрелые фаговые частицы ни в естественных условиях, ни при индукции. Геном некоторых умеренных фагов (P1) может находиться в цитоплазме бактериальной клетки в так называемой плазмидной форме, не включаясь в ее хромосому. Такого рода умеренные фаги используют в качестве векторов в генной инженерии.

Практическое применение фагов. Бактериофаги используют в лабораторной диагностике инфекций при внутривидовой идентификации бактерий, т.е. определении фаговара (фаготипа). Для этого применяют метод *фаготипирования*, основанный на строгой специфичности действия фагов: на чашку с плотной питательной средой, засеянной «газоном» чистой культурой возбудителя, наносят капли различных диагностических типоспецифических фагов (рис. 3.13). Фаговар бактерии определяется тем типом фага, который вызвал ее лизис (образование стерильного пятна, «бляшки» или «негативной колонии», фага). Методику фаготипирования используют для выявления источника и путей распространения инфекции (эпидемиологическое маркирование). Выделение бактерий одного фаговара от разных больных указывает на общий источник их заражения.

По содержанию бактериофагов в объектах окружающей среды (например, в воде) можно судить о присутствии в них соответствующих патогенных бактерий. Подобные исследования проводят при эпидемиологическом анализе вспышек инфекционных болезней.

Фаги применяют также для лечения и профилактики ряда бактериальных инфекций. Производят брюшнотифозный, сальмонеллезный, дизентерийный, синегнойный, стафилококковый, стрептококковый фаги и комбинированные препараты (колипротейный, пиобактериофаги и др). Бактериофаги назначают по показаниям перорально, парентерально или местно в виде жидких, таблетированных форм, свечей или аэрозолей.

Бактериофаги широко применяют в генной инженерии в качестве векторов для получения рекомбинантных ДНК.

ГЛАВА 4. ЭКОЛОГИЯ МИКРОБОВ – МИКРОЭКОЛОГИЯ

Экология (от греч. *oikos* – дом, место обитания) микроорганизмов изучает взаимоотношения микроорганизмов друг с другом и с окружающей средой.

Микроорганизмы обнаруживаются в почве, воде, воздухе, на растениях, в организме человека и животных и даже в космосе.

Микроорганизмы – составная часть *биоценоза,* т.е. совокупности животных, растений и микроорганизмов, заселяющих *биотоп* – участок суши или водоема с однородными условиями жизни. Сообщество микроорганизмов, обитающих на определенных участках среды, называется *микробиоценозом.*

4.1. Распространение микробов в окружающей среде

Многочисленные микроорганизмы окружающей среды участвуют в процессах круговорота веществ в природе, уничтожают остатки погибших животных и растений, повышают плодородие почвы, поддерживают устойчивое равновесие в биосфере. В качестве нормальной микрофлоры они выполняют ряд полезных функций для организма человека.

Микрофлора почвы

Почва заселена разнообразными микроорганизмами, которые принимают участие в процессах почвообразования и самоочищения почвы, кругооборота в природе азота, углерода и других элементов. В почве обитают бактерии, грибы, лишайники (симбиоз грибов с цианобактериями) и простейшие. Численность бактерий в почве достигает 10 млрд клеток в 1 г. На поверхности почвы микроорганизмов относительно мало, так как на них губительно действуют УФ-лучи, высушивание и другие факторы.

Наибольшее число микроорганизмов содержится в верхнем слое почвы толщиной до 10 см. По мере углубления количество микроорганизмов уменьшается и на глубине 3–4 м они практически отсутствуют.

Состав микрофлоры почвы зависит от ее типа и состояния, состава растительности, температуры, влажности и т.д. Большинство почвенных микроорганизмов способны развиваться при нейтральном pH, высокой относительной влажности, температуре от 25 до 45 °С.

В почве живут азотфиксирующие бактерии, способные усваивать молекулярный азот (*Azotobacter, Azomonas, Mycobacterium* и др.). Азотфиксирующие разновидности цианобактерий или синезеленых водорослей, применяют для повышения плодородия рисовых полей.

Почва является местом обитания спорообразующих палочек родов *Bacillus* и *Clostridium.* Непатогенные бациллы (*Bac. megaterium, Bac. subtilis* и др.) наряду с псевдомонадами, протеем и некоторыми другими бактериями являются аммонифицирующими, составляя группу гнилостных бактерий, осуществляющих минерализацию органических веществ. Патогенные спорообразующие палочки (возбудители сибирской язвы, ботулизма, столбняка, газовой гангрены) способны длительно сохраняться, а некоторые даже размножаться в почве (***Clostridium*** *botulinum*).

Кишечные бактерии (сем. *Enterobacteriaceae*) – кишечная палочка, возбудители брюшного тифа, сальмонеллезов, дизентерии – могут попадать в почву с фекалиями. Однако, здесь отсутствуют условия для их размножения, и они постепенно отмирают. В чистых почвах кишечная палочка и протей встречаются редко; обнаружение их в значительных

количествах является показателем загрязнения почвы фекалиями человека и животных и свидетельствует об ее санитарно-эпидемиологическом неблагополучии (в плане передачи возбудителей кишечных инфекций).

В почве находятся также многочисленные грибы. Они участвуют в почвообразовательных процессах, превращениях соединении азота, выделяют биологически активные вещества, в том числе антибиотики и токсины. Токсинообразующие грибы, попадая в продукты питания человека, вызывают интоксикации – микотоксикозы и афлатоксикозы.

Количество простейших в почве колеблется от 500 до 500 000 на 1 г почвы. Питаясь бактериями и органическими остатками, простейшие вызывают изменения в составе органических веществ почвы.

Микрофлора воды

Микрофлора воды отражает микробный пейзаж почвы, так как микроорганизмы, в основном, попадают в воду с ее частичками. В воде формируются определенные биоценозы с преобладанием микроорганизмов, адаптировавшихся к условиям местонахождения, т.е. физико-химическим условиям, освещенности, степени растворимости кислорода и диоксида углерода, содержания органических и минеральных веществ и т.д.

В водах пресных водоемов обнаруживаются различные бактерии: палочковидные (псевдомонады, аэромонады и др.), кокковидные (микрококки) и извитые. Загрязнение воды органическими веществами сопровождается увеличением анаэробных и аэробных бактерий, а также грибов. Особенно много анаэробов в иле, на дне водоемов. Микрофлора воды выполняет роль активного фактора в процессе самоочищения ее от органических отходов, которые утилизируются микроорганизмами. Вместе с загрязненными ливневыми, талыми и сточными водами в озера и реки попадают представители нормальной микрофлоры человека и животных (кишечная палочка, цитробактер, энтеробактер, энтерококки, клостридии) и возбудители кишечных инфекций (брюшного тифа, паратифов, дизентерии, холеры, лептоспироза, энтеровирусных инфекций и др.). Таким образом, вода является фактором передачи возбудителей многих инфекционных заболеваний. Некоторые возбудители могут даже размножаться в воде (холерный вибрион, легионеллы).

Микрофлора воды океанов и морей также содержит различные микроорганизмы, в том числе, светящиеся и галофильные (солелюбивые), например, галофильные вибрионы, поражающие моллюсков и некоторые виды рыб, при употреблении которых в пищу развивается пищевая токсикоинфекция.

Вода артезианских скважин практически не содержит микроорганизмов, так как последние обычно задерживаются верхними слоями почвы.

Микрофлора воздуха

С микрофлорой почвы и воды взаимосвязана микрофлора воздуха. В воздух также попадают микроорганизмы из дыхательных путей и с каплями слюны человека и животных. Здесь обнаруживаются кокковидные и палочковидные бактерии, бациллы, клостридии, актиномицеты, грибы и вирусы. Солнечные лучи и другие факторы способствуют гибели микрофлоры воздуха. Большее количество микроорганизмов присутствует в воздухе крупных городов, меньшее – в воздухе сельской местности. Особенно мало микроорганизмов в воздухе над лесами, горами и морями. Много микроорганизмов содержится в воздухе закрытых помещений, микробная обсемененность которых зависит от условий

уборки помещения, уровня освещенности, количества людей в помещении, частоты проветривания и др.

С целью снижения микробной обсемененности воздуха проводят влажную уборку помещения в сочетании с вентиляцией и очисткой (фильтрацией) поступающего воздуха. Применяют также аэрозольную дезинфекцию и обработку помещений лампами ультрафиолетового излучения (например, в микробиологических лабораториях, операционных блоках и др.).

Микрофлора продуктов питания

Пищевые продукты могут обсеменяться различными микроорганизмами. В случае продуктов животного происхождения различают **первичное** (прижизненное) загрязнение собственной микрофлорой, присущей животному, и **вторичное,** возникающее в результате попадания микроорганизмов при забое животных, доении коров, отлове рыбы, при переработке и хранении продуктов.

Прижизненное обсеменение органов и тканей животного собственной микрофлорой и патогенными микроорганизмами происходит при заболевании животного, при травмах или неблагоприятных условиях их содержания, что способствует нарушению защитных барьеров организма и транслокации (переносу) микроорганизмов в обычно стерильные ткани и органы. В результате, на свежезабитых тушах животных выявляются стафилококки, энтерококки, кишечные палочки, протей, клостридии, сальмонеллы и др. Таким образом, происходит обсеменение мяса сальмонеллами и клостридиями и другими бактериями; попадание при маститах в молоко стафилококков и стрептококков.

В случае вторичного обсеменения микроорганизмами пищевых продуктов источником загрязнения являются объекты окружающей среды (почва, вода, транспорт и т.д.), а также люди – больные и бактерионосители. При низкой температуре хранения мяса и мясных продуктов даже в замороженном мясе могут преобладать микробы, способные к размножению в психрофильных условиях (псевдомонады, протей, аспергиллы, пенициллы и др.). Микробы, обитающие в мясе, вызывают его ослизнение (протей и др.); в нем развиваются процессы брожения и гниения, вызванные клостридиями, протеем, псевдомонадами и грибами.

Пищевые продукты, загрязненные микроорганизмами, могут обуславливать самые разнообразные пищевые токсикоинфекции и интоксикации, а также такие инфекционные болезни, как сибирская язва, бруцеллез, туберкулез и др.

Мясные блюда (студни, салаты из мяса, блюда из мясного фарша) могут явиться причиной заболеваний, связанных с размножившимися в них сальмонеллами, шигеллами, энтеропатогенными кишечными палочками, протеем, энтеротоксигенными штаммами стафилококков, энтерококками, *Closlridium perfringens* и *Bacillus cereus.*

Молоко и молочные продукты могут быть фактором передачи возбудителей бруцеллеза, туберкулеза и шигеллеза. Возможно также развитие пищевых отравлений в результате размножения в молочных продуктах сальмонелл, шигелл и стафилококков.

Яйца, яичный порошок и меланж при эндогенном первичном инфицировании сальмонеллами яиц, особенно утиных, являются причиной сальмонеллезной токсикоинфекции.

Рыба и рыбные продукты чаще оказываются загрязненными бактериями *Clostridium botulinum* и *Vibrio parahaemolylicus* – возбудителями пищевых токсикоинфекций. Эти заболевания наблюдаются и при употреблении рыбных продуктов, загрязненных большим количеством сальмонелл, протея, *Bacillus cereus, Closlridium perfringens.*

Овощи и фрукты обычно загрязняются и обсеменяются шигеллами, энтеропатогенными кишечными палочками, протеем, энтеропатогенными штаммами стафилококков. Соленые огурцы могут быть причиной токсикоинфекции, вызванной *Vibrio parahaemolyticus.*

Злаковые культуры, орехи в условиях повышенной влажности могут загрязняться грибами (аспергиллами, пенициллами, фузариум и др.), что служит причиной развития пищевых микотоксикозов.

Микрофлора растительного лекарственного сырья, фитопатогенные микробы

Растительное лекарственное сырье может обсеменяться микроорганизмами в процессе его получения: инфицирование происходит через воду, нестерильную аптечную посуду, воздух производственных помещений и руки персонала. Обсеменение происходит также за счет нормальной микрофлоры растений и фитопатогенных микроорганизмов – возбудителей заболеваний растений. Фитопатогенные микроорганизмы способны распространяться и заражать большое количество растений.

Микроорганизмы, развивающиеся в норме на поверхности растений, относятся к эпифитам (от греч. *epi* – над, *phyton* – растение). Они не наносят вреда, являются антагонистами некоторых фитопатогенных микроорганизмов, растут за счет обычных выделений растений и органических загрязнений поверхности растений. Эпифитная микрофлора препятствует проникновению фитопатогенных микроорганизмов в растительные ткани, усиливая тем самым иммунитет растений. Наибольшее количество эпифитной микрофлоры составляют грамотрицательные палочковидные бактерии *Erwinia herbicola* (новое название, предложенное в 1989 г. – *Pantoea agglomerans)*, образующие на мясопептонном агаре золотисто-желтые колонии. Эти бактерии являются антагонистами возбудителя мягкой гнили овощей. Обнаруживают в норме и другие бактерии – *Pseudomonas fluore-scens,* реже *Bacillus mesentericus* и небольшое количество грибов.

Микроорганизмы находятся не только на листьях, стеблях, но и на семенах растений. Нарушение поверхности растений и их семян способствует накоплению на них большого количества пыли и микроорганизмов. Состав микрофлоры растений зависит от вида, возраста растений, типа почвы и температуры окружающей среды. При повышении влажности численность эпифитных микроорганизмов возрастает, при понижении влажности – уменьшается.

В почве, около корней растений находится значительное количество микроорганизмов. Эта зона называется *ризосферой* (от греч. *rhiza* – корень, *sphaira* – шар). В ризосфере часто присутствуют неспорообразующие бактерии (псевдомонады, микобактерии и др.), встречаются также актиномицеты, спорообразующие бактерии и грибы. Микроорганизмы ризосферы переводят различные субстраты в соединения, доступные для растений, синтезируют биологически активные соединения (витамины, антибиотики и др.), вступают в симбиотические взаимоотношения с растениями, обладают антагонистическими свойствами против фитопатогенных бактерий.

Микроорганизмы поверхности корня растений (микрофлора ризопланы) в большей степени, чем ризосфера, представлены псевдомонадами. Симбиоз мицелия грибов с корнями высших растений называют *микоризой,* т.е. грибокорнем (от греч. *mykes* – гриб, *rhiza* – корень). Микориза улучшает рост растений.

Растения окультуренных почв в большей степени загрязнены микроорганизмами, чем растения лесов и лугов. Особенно много микроорганизмов содержится в нижней прикорневой части растений, что связано с попаданием микроорганизмов из почвы. В большом

количестве обнаруживаются микроорганизмы на растениях, растущих на полях орошения, свалках, вблизи складирования навоза, в местах выпаса скота. При этом растения могут загрязняться патогенными микроорганизмами и при неправильной заготовке могут служить хорошей питательной средой для размножения микроорганизмов. Одним из способов, препятствующих их росту на растениях, является процесс высушивания растений.

К фитопатогенным микроорганизмам относят бактерии, вирусы и грибы. Болезни, вызываемые бактериями называют *бактериозами.* Среди возбудителей бактериозов встречаются псевдомонады, микобактерии, эрвинии, коринебактерии, агробактерии и др. К бактериозам относятся различные виды гнилей, некрозы тканей, увядание растений, развитие опухолей и др.

Различают общие и местные бактериозы. Общие бактериозы вызывают гибель всего растения или его отдельных частей. Они могут проявляться на корнях (корневые гнили) или в сосудистой системе растений. Местные бактериозы ограничиваются поражением отдельных участков растений, проявляясь на паренхимных тканях.

Род *Erwinia* включает виды, вызывающие болезни типа ожога, увядания, мокрой или водянистой гнили, например: *E. amylovora* – возбудитель ожога яблонь и груш, *E. carotovora* – возбудитель мокрой бактериальной гнили.

К роду *Pseudomonas* относят различные виды, в частности вызывающие бактериальную пятнистость *(P. syringae* и др.), при этом на листьях образуются пятна разной окраски и размеров в зависимости от видов растений.

Бактерии рода *Xanthomonas* поражают листья, вызывая пятнистость; проникая в сосудистую систему растения, закупоривая ее элементы, они вызывают гибель растения. Так, возбудителем сосудистого бактериоза является *X. campestris.*

Некоторые представители рода *Corynebacterium* и другие представители группы грамположительных неспорообазующих палочек неправильной формы *(Curtobacterium flaccumfaciens, Clavibacter michihanensis* и др.) вызывают сосудистые и паренхиматозные заболевания растений. Гликопептиды этих бактерий повреждают клеточные мембраны сосудов, в результате чего, происходит закупорка сосудов и гибель растения.

Агробактерии (род *Agrobacterium)* способствуют развитию различных опухолей у растений. Образование опухолей вызывается онкогенной плазмидой, передающейся агробактериями в растительные клетки. Эти бактерии вызывают у растений образование опухолей (корончатый галл, корень волосяной, рак стеблей). После развития опухоли агробактерии в тканях обычно отсутствуют.

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

Вирусы, вызывающие болезни растений, делят на возбудителей мозаики и желтухи. При мозаичной болезни растений появляется мозаичная (пятнистая) расцветка пораженных листьев и плодов, растения отстают в росте. Желтуха проявляется карликовостью растений, измененными многочисленными боковыми побегами, цветками и т.д.

Грибы, поражающие растения, могут в случае приготовления из пораженного зерна продуктов питания вызывать пищевые отравления – микотоксикозы. Примером микотоксикоза является эрготизм – заболевание, возникающее при употреблении продуктов, приготовленных из зерна, зараженного спорыньей (гриб *Claviceps purpurea).* Гриб поражает в поле колоски злаковых: образуются склероции гриба, называемые рожками. В условиях повышенной влажности, низкой температуры на вегетирующих или скошенных растениях могут развиваться грибы родов *Fusarium, Penicillium, Aspeigillus* и др., вызывающие у людей микотоксикозы.

Для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами проводят следующие мероприятия: возделывание выносливых растений, очистку и обработку семян, обеззараживание почвы, удаление пораженных растений, уничтожение переносчиков возбудителей болезней, обитающих на растениях.

Микрофлора производственных, бытовых и медицинских объектов

Микроорганизмы различных производств (текстильные, биотехнологические, пищевые, металлообрабатывающие, химические предприятия и др.) составляют специфические многочисленные микробиоценозы, обнаруживаемые в сырье, полуфабрикатах, на изделиях, оборудовании, в воздухе и т.д.

Микрофлора бытовых объектов может быть представлена микроорганизмами почвы, воды, воздуха, растений, выделений человека и животных. В формировании микрофлоры объектов медицинских учреждений может принимать участие патогенная и условно-патогенная микрофлора, выделяемая от больных или медицинского персонала, а также микрофлора, привносимая с перевязочным или другими материалами, лекарственными препаратами и т.д.

Основными источниками контаминации патогенными и условно-патогенными микроорганизмами являются выделения человека. Некоторые возбудители (легионеллы, аэромонады, псевдомонады, клебсиеллы, протеи) размножаются в увлажненных участках (душевые, ванные, водосточные трубы, раковины и др.).

Роль микробов в круговороте веществ в природе

Органические соединения растительного и животного происхождения минерализуются микроорганизмами до углерода, азота, серы, фосфора, железа и других элементов.

Круговорот углерода. Активное участие в круговороте углерода принимают растения, водоросли и цианобактерии, фиксирующие $C0_2$ в процессе фотосинтеза, а также микроорганизмы, разлагающие органические вещества отмерших растений и животных с выделением $C0_2$. При аэробном разложении органических веществ образуются $C0_2$ и вода, а при анаэробном брожении – кислоты, спирты, $C0_2$. Так, при спиртовом брожении микроорганизмы (дрожжи и др.) расщепляют углеводы до этилового спирта и диоксида углерода. Молочнокислое брожение, вызываемое молочнокислыми бактериями, характеризуется выделением молочной, уксусной кислот и диоксида углерода. Процессы пропионовокислого (вызываемого пропионибактериями), маслянокислого, ацетонобутилового (вызываемых клостридиями) и других видов брожения сопровождаются образованием различных кислот и диоксида углерода.

Круговорот азота. Атмосферный азот связывает клубеньковые бактерии и свободноживущие микроорганизмы почвы. Органические соединения растительных, животных и микробных остатков подвергаются в почве минерализации микроорганизмами, превра-

щаясь в соединения аммония. Процесс образования аммиака при разрушении белка микроорганизмами получил название аммонификации или минерализации азота. Белок разрушают псевдомонады, протей, бациллы и клостридии. При аэробном распаде белков образуются аммиак, сульфаты, диоксид углерода и вода, при анаэробном – аммиак, амины, диоксид углерода, органические кислоты, индол, скатол, сероводород. Разложение мочевины, выделяющейся с мочой, осуществляют уробактерии, расщепляющие ее до аммиака, диоксида углерода и воды. Образующиеся аммонийные соли в результате ферментации бактериями органических соединений могут использоваться высшими зелеными растениями. Но наиболее усвояемыми для растений являются нитраты – азотнокислые соли. Эти соли образуются при распаде органических веществ в процессе окисления аммиака до азотистой, а затем азотной кислоты. Данный процесс называется *нитрификацией,* а микроорганизмы, его вызывающие, – *нитрифицирующими.* Нитрифицирующие бактерии выделил и описал русский ученый С. Н. Виноградский (1890–1892). Нитрификация проходит в две фазы: первую фазу осуществляют бактерии рода *Nitrosomonas* и др., при этом аммиак окисляется до азотистой кислоты, образуются нитриты; во второй фазе участвуют бактерии рода *Nitrobacter,* при этом азотистая кислота окисляется до азотной и превращается в нитраты.

Нитраты повышают плодородие почвы, однако, существует и обратный процесс: нитраты могут восстанавливаться в результате процесса *денитрификации* до выделения свободного азота, что обедняет его запас в виде солей в почве, приводя к снижению ее плодородия.

4.2. Микрофлора организма человека

Биология полости рта. Принципы классификация микробов

Вселенная состоит из живой материи. Наша планета Земля населена огромным количеством разнообразных живых существ, которые совместно с продуктами своей жизнедеятельности составляют биосферу. Представители живой природы, начиная от сложных организмов человека и млекопитающих животных и кончая простейшими формами жизни микробами, условно можно разделить на две большие группы. Макромир и микромир. К макромиру относятся все те представители живой материи, которых мы видим невооруженным глазом. Это все виды животных, птиц, растений, насекомых, гельминтов и т.д.

К микромиру относятся многочисленные микроорганизмы, а также более просто устроенные формы живой материи, такие как вирусы и прионы, которые невидимы невооруженным глазом, но которых можно наблюдать с помощью оптических приборов – микроскопов.

Единственное, что их всех объединяет, – микроскопические размеры. Однако, эти микроорганизмы существенным образом различаются друг от друга по многим признакам и прежде всего по уровню организации геномов, наличию и составу белоксинтезирующих систем и клеточной стенки.

В историческом плане существует очень много схем классификации микроорганизмов, однако, многие из них имеют лишь исторический интерес. Впервые научно-обоснованную классификацию микробов предложили Лиман и Нейман в 1896 году.

Согласно данной классификации все известные микроорганизмы были объединены в три группы:

– **Coccaceae** – шаровидные;
– **Bacteriaceae** – палочковидные;
– **Spirillaceae** – спирально-извитые;

Следует заметить, что это классификация не потеряла своего значения и сейчас, хотя можно отметить, что за 100 прошедших лет появилась еще одна группа микроорганизмов их называют нитевидные, да и при этом в этой группе нет патогенных видов, поэтому ей не придется особого значения.

Но наибольшее международное значение имеет классификация американского ученого Берги, первое издание которого было опубликовано в 1923 г. «Определитель бактерий Берги», за эти годы этот фундаментальный труд переиздан с дополнениями 9 раз, девятое издание вышло в 1997 году.

В соответствии с этой классификацией все известные живые существа делят на 4 царства: эукариоты, эубактерии, архебактерии, вирусы и плазмиды.

К прокариотам, объединяющим эубактерии и архебактерии, относятся бактерии, низшие водоросли, спирохеты, актиномицеты, риккетсии и им подобные бактерии, микоплазмы.

В связи с таким разнообразием, возникла необходимость определить главный критерий, который бы отличал живое от неживого.

Современное представление о жизни связано с понятием гена. Ген является единственным носителем и хранителем жизни. Таким образом, главное отличие живого от неживого наличие собственной генетической системы, которая обеспечивает наследственную непрерывность и эволюцию данного организма, т.е. его существование – жизнь. Все, что имеют свою генетическую систему должны рассматриваться как организмы.

Эукариоты имеют дифференцированное ядро, отграниченное от цитоплазмы ядерной мембраной. К эукариотам относятся все животные и растительные организмы, а также простейшие, дрожжи и нитчатые грибы. Эукариоты имеют рибосомы 80 S, клеточная стенка их не содержит пептидогликана, все они аэробы.

Прокариоты – это организмы, у которых еще нет оформленного ядра а есть лишь его предшественник-нуклеотид. Он представлен одной или несколькими хромосомами, которые состоят из ДНК и свободно располагаются в цитоплазме, не отграниченные от нее никакой мембраной. Кроме того, они имеют клеточную стенку содержащую пептидогликан, который отсутствует у эукариот. У прокариот нет митохондрии и хлоропластов. Среди них есть аэробные и анаэробные организмы.

Архебактерии – в 80-годы XX века при создании дендорограмм (древа жизни), было выявлено три высшие таксономические группы (домена): эубактерии, архебактерии и эукариоты.

При этом оказалось, что архебактерии отличаются от эубактерий и эукариот в такой же степени, в какой последние отличаются друг от друга. Основные отличия архебактерий от эубактерий? Химический состав жесткой клеточной стенки, иной по сравнению с эубактериями, она не содержит пептидогликана; у архебактерии особая химическая структура липоидов, иной компонентный состав РНК-полимераз; есть повторяющиеся последовательности в составе хромосомной ДНК; наличие нитронов в генах т.РНК и р.РНК; различие нитронов в химическом составе и строение рибосом.

Среди архебактерий выделяют:

Метаногены – организмы, являющиеся строгими анаэробами. Энергию для роста получают путем восстановления CO_2 до метана.

Галлофилы – аэробные бактерии, способные расти в насыщенном растворе NaCl (до 32%) нижняя пороговая концентрация NaCl=12-15%.

Термоацидофилы – характеризуются высокими оптимальными температурами (от $+75^0$ до $+90^0$) и низким значением ph (от ph 5-6 до ph 1-2) для своего роста.

Экстремальные условия существования архебактерий вероятнее всего указывают на то, что их предки возникли тогда, когда физические условия существенно отличались от современных. Патогенных для человека видов среди архебактерий не обнаружено.

Вирусы – относят организмы, у которых геном представлен либо ДНК, либо РНК; у них отсутствуют собственные системы биосинтеза белка и мобилизации энергии, поэтому они являются абсолютными внутриклеточными паразитами.

В природе, помимо вирусов, обнаружены другие очень мелкие загадочные инфекционные агенты с необычными свойствами к ним относятся вироиды и прионы.

Вироиды. Название «вироид» было предложено в 1971 году Т. Динором. Оно свидетельствует о том, что симптомы заболеваний, которые вызывают эти агенты у различных растений, похожи на симптомы заболеваний, вызываемых у них вирусами. Однако, вироиды отличаются от вирусов по следующим признакам:

- Вироиды в отличие от вирусов, не имеют белковой оболочки и состоят только из инфекционной молекулы РНК. Они не обладают антигенными свойствами, поэтому не могут быть обнаружены серологическими методами.
- Вироиды имеют очень малые размеры: длина молекулы РНК вироидов равна $1x10^{-6}$ мм, она состоит из 300-400 нуклеотидов.
- Вироиды – самые маленькие организмы, способные к размножению, известные в природе.
- Молекулы вироидов представляют собой одноцепочные пальцевые РНК. Такую пальцевую структуру имеет еще только один вирус – вирус дельта гепатита.
- Молекула РНК вироидов не кодирует собственных белков, поэтому их размножение может происходит либо аутокаталически, либо оно зависит от клетки-хозяина.

К настоящему времени обнаружено более 10 вироидов, однако, вопрос о природе, происхождении вироидов и с тем, каким способом они распространяются остается открытым.

Прионы. Еще более загадочную природу имеет группа особых инфекционных агентов белковой природы, получивших название прионов. Их считают возбудителями медленных летальных инфекций, характеризующихся поражением ЦНС человека и животных и объединенных в группу «подострых трансмиссивных губкообразных энцефалопатий». Она включает четыре болезни человека – куру, болезнь Критцфальдта-Якоба, синдром Герстманна-Штрейслера, амиотрофический лейкоспонгиоз – и четыре болезни животных: скрепи овец, губкообразную энцефалопатию коров (бешенство), трансмиссивную энцефалопатию норок и хроническую изнуряющую болезнь находящихся в неволе чернохвостового оленя и лосей.

Предполагается, что прионы – играют роль в этиологии шизофрении, миопатии и некоторых других заболеваний человека. Они представляют собой группу особых, не содержащих нуклеиновых кислот, низкомолекулярных белков с м.м.27-30 кД. С вирусами их объединяют малые размеры и неспособность размножаться на исскуственных питательных средах, длительная персистенция в культуре клеток, а также в организме больного человека и животного.

Вместе с тем, они существенным образом отличаются от вирусов: во первых, у них отсутствует собственный геном, следовательно, они не могут рассматриваться, в отличие от вирусов, как живые существа; во вторых, они не индуцируют никакого иммунного ответа, следовательно, возникает вопрос о степени их чужеродности для организма хозяина. В третьих, прионы обладают более высокой резистентностью, чем обычные вирусы

к действию высокой температуры, УФ облучению, ионизирующей радиации и к различным дезинфектантам; нечувствительны к интерферонам и не индуцируют их синтеза.

Предполагается, что патогенное действие прионов связано с тем, что они блокируют функции определенных генов, следствием чего является нарушение нормальных физиологических реакций и синтез каких то аномальных белков.

Электронномикроскопически прионы не идентифицированы. Поскольку белки сами по себе не способны размножаться, вопрос о механизме генетического контроля репродукции прионов, как и вопрос об истинной этиологической роли и факторах патогенности, остается открытым.

Таким образом, к микромиру относятся как сложно устроенные одноклеточные организмы (бактерии, грибы, простейшие), так и простейшие формы жизни (вирусы, прионы, инфекционные нуклеиновые кислоты) не являющиеся организмами в полном смысле этого слова.

В таблице № 4.1. приведены основные молекулярно-биологические характеристики микробов.

Таблица № 4. 1.

Мир микробов

№	Представители	Уровень организации	Размер мкм	Число генов	Распространение в природе
		Доклеточные			
1	Прионы (инфекционные белки)	Макромолекулы	0,1-0,3	1 (хозяина)	Только в живом организме (внутриклеточные паразиты)
2	Вироиды (ДНК, РНК)	Макромолекулы	1-100	До 100	
3	Вирусы	частицы	0,01-0,4	До 100	
		Клеточные			
4	Бактерии	Прокариоты	1-10	До 5000	
5	Грибы	Эукариоты	1-30	До 5000	
6	Простейшие	Эукариоты	10-50	До 1000	

Учебник по микробиологии – Воробьев А.А. Москва, 2004 г.

Из таблицы видно, что к микробам относятся клеточные и доклеточные формы, прокариоты и эукариоты, прионы, инфекционные нуклеиновые кислоты, вирусы, бактерии, грибы и простейшие.

Согласно последним данным на нашей планете обитает огромное количество микробов, исчисляемое астрономическими цифрами. Только бактерий, не считая грибов, вирусов, простейших, населяющих природу (почву, водоемы, атмосферу) и обитающих в организме человека, животных, птиц, растений и насекомых, насчитывается не менее 10^{30}, в организме каждого человека проживает не менее 10^{14} бактерии, а в популяции людей на планете их насчитывается около 10^{24}. Уже на основании только этих данных можно судить о той роли, которую играют микробы в жизни человека.

Согласно последней классификации Берги (1997 год), царство прокариот в зависимости от характера их клеточных стенок разделено на четыре большие группы или отдела:

1. **Gracilicutes** (тонкокожие) – к нему относятся все грамотрицательные бактерии.
2. **Firmicutes** (толстокожие) – к нему относятся главным образом грамположительные бактерии.
3. **Tenericutes** (нежнокожие) – к нему относятся организмы, не имеющие клеточную стенку – микоплазмы.
4. **Mendosicutes** – к нему относятся грамположительные и грамотри-цательные бактерии, которые хотя и имеют клеточную стенку, но не содержит пептидогликан, т.е. это архебактерии.

Классификация микрофлоры полости рта

Микробная флора полости рта – совокупность разнообразных бактерий, грибов, простейших и вирусов, способных вступать в симбионтные отношения с человеком как биологическим видом.

Доминирующее место, как по разнообразию обитающих в полости рта видов, так и по количеству, занимают бактерии. По данным различных исследователей, число видов бактерий в этой экологической нише организма человека составляет от 120 до 200. Количество бактерий полости рта по числу видов и по содержанию в единице материала конкурирует с желудочно-кишечным трактом. Содержание микроорганизмов в слюне (ротовой жидкости) составляет от 4 млн. до 5 млрд. в мл, в зубном налете (бляшке) – от 10 до 1000 млрд. в 1 грамме материала.

Для ориентировки в таком многоразном мире, необходимо знание строгих критериев, позволяющих дифференцировать, отличать разные виды микробов, многие из которых очень близки и похожи как по внешнему виду, так и по свойствам.

Современная систематика предлагает различные принципы классификации микрофлоры полости рта:

1 – морфологический
2 – биохимический
3 – хемотаксономический
4 – серологический
5 – генетический

Морфологический принцип является одним из важнейших в ориентировочной классификации этих микроорганизмов. В слюне, в протоках слюнных желез, на слизистой полости рта, в ротовой жидкости, в зубном налете представлены всевозможные морфологические формы бактерий: кокки, палочковидные и извитые (табл. 4.2).

Так, морфологию кокков имеют грамположительные бактерии полости рта: стрептококки и стафилококки, пептострептококки, а также грамотрицательные вейлонеллы. При дифференциации палочковидных форм большое значение имеет спорообразование.

Грамположительные палочки, не образующие спор, относят к группам актиномицетов, коринебактерий, лактобактерий, пропионибактерий и эубактерий. Спорообразущие палочки включают две группы – бациллы и клостридии.

Большим многообразием форм и видов отличаются грамположительные палочки полости рта: от коккобактерий и овоидов (например, некоторые бактероиды), до резко вытянутых, нитевидных форм бактерий (фузобактерии, лептотрихи). Вместе с тем, морфология, особенно палочковидных форм, весьма однообразна, что не позволяет дифференцировать по данному признаку даже такие далекие в филогенетическом отношении группы

как например, бактероиды и неферментирующие грамотрицательные бактерии или энтеробактерии и псевдомонады.

Поэтому вторым важнейшим принципом классификации и дифференциации бактерий полости рта является определение типа дыхания и аэротолерантности (резистентности к кислороду), наряду с другими биохимическими свойствами.

Известно, что важной чертой нормальной микрофлоры организма человека является способность размножаться при низком парциальном давлении кислорода. Эволюционно эти бактерии не приобрели (или утратили) способность продуцировать ферментные системы типа супероксиддисмутазы и пероксидазы, которые нейтрализуют токсические для клеток метоболиты кислорода: супероксиданион и перекись водорода. Это приводит к быстрой гибели таких бактерий в присутствии кислорода воздуха. Данная группа бактерий получила название строгих или облигатных анаэробов. Например, фузобактерии, бактероиды.

Часть представителей оральной флоры сохранили способность продуцировать данные ферменты, иногда каталазу, но для их хорошей вегетации необходимо наличие повышенной концентрации углекислого газа. Такие бактерии получили название микроаэрофильных. Они, как правило, аэротолерантны (то есть не погибают в присутствии кислорода, но для их развития в лабораторных условиях предпочтительно создание анаэробиоза с повышенным содержанием углекислого газа). Примером могут быть многочисленные оральные стрептококки, актиномицеты, многие представители лактобактерий и коринебактерий.

По данным разных исследователей, на долю облигатно-анаэробной и микроаэрофильный флоры полости рта приходится от 80 до 96 процентов микробного пейзажа. Оставшуюся часть составляют факультативно-анаэробные виды стафилококков, стрептококков, некоторые энтеробактерии, а также строго аэробные грамотрицательные диплококки рода нейссериа, гемофильные палочки, неферментирующие грамотрицательные бактерии: ацинетобактер, моракселла, бордетелла.

Сходство морфологических и биохимических свойств разных видов бактерий заставляет искать новые подходы к систематике и идентификации, которые рассматриваются в курсе обшей микробиологии. Однако, говоря о значительном удельном весе анаэробной флоры полости рта, необходимо подчеркнуть значение принципов хемотаксономии, когда таксономическое положение вида определяют с помощью методов газовой и газово-жидкостной хроматографии по профилю жирных кислот, липоидов, аминокислот. В настоящее время газовая хроматография получила широкое распространение при диагностике анаэробной инфекции.

В последние годы интенсивно разрабатываются принципы серологической таксономии анаэробной флоры (серотаксономия), которые основаны на определении соответствующих антигенов микробной клетки с помощью иммуноэлемтрофореза, иммуноферментного и радиоиммунного анализа. Получает также распространение и генетический анализ, в частности, полимеразоцепная реакция.

Использование современных принципов таксономии и методов идентификации позволяет точно определить систематическое положение представителей нормальной микрофлоры полости рта. В соответствии с общепризнанным во всем мире определителем бактерий Берджи (по имени американского микробиолога Bergu) оральная флора может быть отнесена к 11 из 16 существующих групп царства Procariotae.

1. Спирохеты – спиралевидные извитые грамотрицательные формы.
2. Спириллы и кампилобактерии – извитые грамотрицательные формы.
3. Грамотрицательные аэробные палочки и кокки: псевдомонады, нейссерии, бордетеллы.

4. Грамотрицательные факультативно-анаэробные палочки, преимущественно энтеробактерии и вибрионы.

5. Грамотрицательные анаэробные палочковидные бактерии. Особое значение в патологии полости рта играют бактероиды и фузобактерии, относящиеся к этой группе.

6. Грамотрицательные анаэробные кокки: вейлонеллы.

7. Микоплазмы.

8. Грамположительные кокки: облигатно- и факультативно-анаэробные. Относящиеся к этой группе пептострептококки, стрептококки и стафилококки играют важную роль в развитии воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области.

9. Грамположительные палочки, образующие эндоспоры. Включают факультативно- (бациллы) и облигатно-анаэробные виды (клостридии).

10. Грамположительные палочки не образующие эндоспоры: лактобактерии, бифидобактерии, пропионибактерии, эубактерии.

11. Грамположительные палочки с тенденцией к филаментации (образование ветвящихся цепочек и нитей): актиномицеты, коринебактерии.

Табл. 4.2.

Характеристика бактерий полости рта по морфологии и типу дыхания.

Морфология Тип дыхания	Кокки	Палочки Эндоспора +	Эндоспора -	Извитые
Облигатно-анаэробные	Грам +: пептострептококки Грам -: вейлонеллы	Грам +: клостридии	Грам -: пропионобактерии, эубактерии Грам -: бактероиды, фузобактерии	Грам -: буктерои-сукцино-вибрио, анаэробио-спириллы
Микроаэрофильные	Грам +: стрептококки групп «мутанс» и «сангвис»	Грам +: некоторые бациллы	Грам +: лактобактерии, актиномицеты Грам -: эйкенеллы	Грам -: кампило-бактерии вейлонеллы
Факультативно-анаэробные и аэробные	Грам +: стрептококки групп «энтерококк» и «пиогенес» стафилококки	Грам +: бациллы	Грам +: коринебактерии Грам -: энтеробактерии, псевдомонады	-
Облигатно-аэробные	Грам -: нейссерии	Грам +: некоторые бациллы	Грам -: гемофиллы, цитенобактер, моракселла	-

Характеристика факультативно-анаэробной микрофлоры полости рта

В организме человека в полости рта содержится наибольшее количество видов бактерий по сравнению с другими полостями, включая и желудочно-кишечный тракт. По данным разных авторов, количество видов бактерий, включая анаэробные, колеблется от 100 до 160. Это объясняется не только тем, что бактерии попадают в полость рта с воздухом, водой, пищей и т.д. – так называемые транзитные микроорганизмы, время пребывания которых в полости рта ограничено. Здесь речь идет о резидентной (постоянной) бактериальной флоре полости рта, образующей довольно сложную и стабильную экосистему. В нормальных условиях (не используются антисеп-тические пасты, антибиотики и другие лекарственные препараты) изменения в сложившейся экосистеме, по всей вероятности, происходят в зависимости от времени суток, года и т.д. и лишь в одном направлении, т.е. изменяется только количество представителей нескольких или большинства видов, однако, видовое представительство остается у конкретного индивидуума практически постоянным в течении если не всего жизненного цикла, то по крайней мере на протяжении длительного периода.

По нашему мнению, в этом отношении бактериальная флора ротовой полости подчиняется общим законам функционирования экосистем в живой природе. Не считая возможным подробнее остановиться на этом важном и во многих отношениях еще недостаточно или совершенно не изученном вопросе (отсюда непрекращающиеся попытки применять антисептические зубные пасты, элексиры и т.д.), ограничимся лишь несколькими замечаниями. Любая экосистема в природе формируется в зависимости от ряда факторов: почвенных, климатических, источников питания и т.д.

Таблица 4.3.

Микробная флора полости рта в норме

Микроорганизмы	В слюне		В зубодесневых карманах (частота обнаружения,%)
	Частота обнаружения	Количество в 1 мл.	
Группы А. ***Резидентная группа.*** *I. Аэробы и факультативные анаэробы:*			
Str. mutans	100	1,5 Ч 10^5	100
Str. salivarius	100	10^7	100
Str. mitis	100	10^6-10^8	100
Сапрофитные нейссерии	100	10^5-10^7	++
Лактобактерии	90	10^3-10^4	+
Стафилококки	80	10^3-10^4	++
Дифтероиды	80	Не определено	+
Гемофилы	60	« «	0
Пневмококки	60	« «	Не определено
Другие кокки	30	10^2-10^4	++
Сапрофитные микобактерии	++	Не определено	++
Тетракокки	++	« «	++
Дрожжеподобные грибы	50	10^2-10^3	+

Микоплазмы	50	10^2-10^3	Не определено
Простейшие:			
Entamoeba gingivalis	0	0	45
Trichomonas elongata	0	0	25
II. Облигатные анаэробы			
Вейлонеллы	100	10^6-10^8	100
Анаэробные стрептококки (пептострептококки)	100	Не определено	100
Бактероиды	100	« «	100
Фузобактерии	75	10^3-10^4	100
Нитевидные бактерии	100	10^3-10^4	100
Актиномицеты и анаэробные дифтероиды	100	Не определено	++
Спириллы и вибрионы	++	« «	++
Спирохеты (сапрофитные боррелии, трепонемы и лептоспиры)	±	« «	100
Группа Б.			
Непостоянная флора.			
I. Аэробы и факультативные анаэробы.			
Грамотрицательные палочки:			
Klebsiella	15	10-10^2	0
Escherichia	2	10-10^2	+
Aerobacter	3	10-10^2	0
Pseudomonas	±	Не определено	0
Proteus	±	« «	0
Alkaligenes	±	« «	0
Бациллы	±	« «	0
II. Облигатные анаэробы			
Клостридии:	±	« «	0
Clostridium putrificum	±	« «	0
Clostridium perfringens	±	« «	0

Примечание. *++ – обнаруживаются часто. + – не очень часто. ± – редко. 0 – не обнаруживаются.*

Экосистема резидентной микрофлоры не может не зависеть от конкретных физиологических особенностей организма хозяина в целом и особенно полости рта, таких, например, как особенности морфологии полости рта, природа слюны и интенсивность ее образования, характер питания, наличие вредных привычек, наследственность и т.д.

Из всех факторов, определяющих природу и состояние флоры полости рта, решающим является слюна. Важнейшими в этом отношении факторами слюны являются интенсивность ее образования, вязкость, содержание минеральных компонентов, ионная потенция, буферные свойства, pH, основные метаболиты, присутствие или отсутствие слюнных газов, органический состав (особенно аминокислоты, полисахариды, витамины, пурины, пиримидины), антибактериальные свойства (лизоцим, секреторные антитела, лейкоциты).

Следует отметить, что, кроме слюны, бактерии находятся в основным в трех зонах: 1) в зубных бляшках, на коронках зубов, а в случае кариеса – в кариозной полости; 2) в гингивальных бороздах; 3) на спинке языка, особенно в задних отделах. По данным разных авторов, количество бактерий в слюне колеблется от 43 млн. до 5,5 млрд. в 1 мл, т.е. в среднем 750 млн. в 1 мл. Микробная же концентрация в бляшках и десневой (гингивальной) борозде почти в 100 раз выше – примерно 200 млрд. клеток на 1 г. пробы (в которой около 80% воды). Тем не менее мы попытаемся остаивать точку зрения о ведущей регулирующей роли слюны в поддержании экосистемы данного индивидуума, пока же отметим, что по данным разных авторов, почти 30 микробных видов описаны как резиденты полости рта. Около половины резидентов являются факультативными и облигатно-анаэробными стрептококками, которые вялючают в свой состав Str. mutans, Str. salivarius, Str. mitis и пептострептококки. b – гемолитические стрептококки не являются составной частью резидентной флоры. Различные виды стрептококков занимают определенную нишу, например, наибольшее количество энтерококков было обнаружено на спинке языка и в гингивальной бороздке, Str. mutans обычно локализуются в бляшке на коронке.

Другая половина резидентной флоры состоит из вейлонелл (около 25%) и дифтероидов (около 25%). Стафилококки, лактобациллы, жгутиковые микроорганизмы, спирохеты, лептоспиры, фузобактерии, бактероиды, нейссерии, спиралевидные формы, дрожжи, другие грибы, простейшие находятся в полости рта в гораздо меньшем количестве. Хотя эти микроорганизмы постоянно присутствуют в полости рта, они никогда не бывают так широко представлены, как стрептококки, вейлонеллы или дифтероиды. Эти данные свидетельствуют о том, что необходимо различать главных и второстепенных представителей резидентной микрофлоры.

Возвращаясь к выдвинутому нами положению о ведущей роли слюны в создании и поддержании постоянства микробной экосистемы в полости рта, мы считаем целесообразным обратить внимание исследователей на следующие многократно подтвержденные данные: во время родов ребенок и, естественно, его рот инфицируются при прохождении через родовые пути матери, в которых, как правило, преобладают лактобациллы, коринебактерии, микрококки, анаэробные стрептококки, дрожжи, простейшие. В то же время результаты обследования младенцев 1-го года жизни показывают, что резидентная микрофлора ребенка представлена и другими видами и в других соотношениях. Следовательно, у ребенка уже после рождения складывается характерная только для него микробная экосистема, к которой генитальная флора матери не имеет существенного значения.

Следует обратить внимание на то, что уже с первых дней после рождения ребенок обладает высокой сементивностью, т.е. в его организме очень мало микробов, общих с микрофлорой полости рта взрослых и нет бактерий, входящих в состав пищи, кроме транзитных, иными словами: все те виды, для которых нет экологических ниш, быстро удаляются.

Необходимо отметить, что некоторая сементивность сохраняется и у взрослых, в частности, даже у мужа и жены не обязательна одинаковая микрофлора полости рта.

При выделении микроорганизмов из разных зон полости рта взрослых отмечено преобладание определенных видов на различных участках полости рта. Эти данные показывают, что некоторые виды имеют преимущество в определенных зонах полости рта и это может быть связано с особыми физиологическими условиями. Здесь мы подходим к вопросу о том, что наряду со слюной важную роль в распределении микроорганизмов играют и условия в полости рта, в частности, соотношение резидентов в конкретной области. Вариабельность бактериальной флоры полости рта уже отмечена при изучении проб, взятых из одних и тех же участков в разные месяцы у одних и тех же лиц. Количественные различия

ясно видны в пробах, полученных из различных областей от одного человека и из одних и тех же областей от разных людей. Хотя во всех областях имеются одинаковые микроорганизмы, в каждой преобладает какой-то один характерный для неё вид: Str. mutans – на поверхности зубов, Str. salivarius – на языке, с которого смывается слюной, где также обнаруживается в высоких концентрациях, B. melanogenius обнаруживают в наиболее высокой концентрации в гингивальной щели. В пробах, взятых из одного места от одного и того же человека, в разное время, определяются существенные различия в составе и количестве микробной флоры.

Бактерии, которые находятся в полости рта как резиденты, задерживаются в ней благодаря адгезии со структурами полости рта или другими микроорганизмами, либо в результате механической задержки. Адгезия может быть следствием синтеза микробом внеклеточных полимеров, таких как декстран Str. mutans, гиалуроновая кислота A. naeslundii. Определенный микроб синтезирует определенный полимер. Некоторые микробы могут осуществлять адгезию с помощью слюнных полимеров, например муцина. Однако, не все микроорганизмы способны агглютинировать полимеры. Другая возможность адгезии – специфическое взаимодействие между поверхностными слоями микроорганизмов различных видов. Природа такой адгезии и ее детерминанты неизвестны. Вполне возможно, что прикрепление микробов к твердым и мягким тканям полости рта может иметь тот же механизм, что и адгезия между самими микробами. Микроорганизмы, не обладающие адгезивными структурами, могут задерживаться в полости рта механически в промежутках между зубами, в гингивальной щели и т.д. например, малый аффинитет (адгезия) лактобактерий к поверхности зубов может свидетельствовать о том, что их присутствие в кариозных поражениях – это результат механической задержки.

Разумеется, на представительство и количество бактерий влияют и такие факторы, как возраст, пол и т.д. Природа и количество углеводов и протеинов, например, в конечном счете определяют, какие микробы будут «процветать», а какие – «вянуть». Употребление большого количества сахарозы приводит к увеличению количества бляшек и преобладанию в них Str. mutans и Str. salivarius. Субстратами питания микробной флоры могут быть аминокислоты и протеины слюны. Некоторые бактерии могут получать ряд метаболитов от других бактерий, например, муравьиная и молочная кислоты, продуцируемые бактериями, могут быть источником энергии для Veillonella alcalescens.

Состав микрофлоры полости рта зависит также от количества поступающих микробов, частоты их попадания, характера пищи и физико-химических условий в полости рта, природы заселяющих полость рта микроорганизмов и их взаимодействия в ассоциациях. Точный механизм этих ингибиторных воздействий пока не установлен.

Выраженное влияние на количественное, а в некоторой степени и видовое представительство микроорганизмов оказывают гигиенические мероприятия (прием фруктов, полоскание рта после еды и т.д.); при несоблюдении правил гигиены полости рта, резко увеличивается количество бактерий, особенно анаэробов и гнилостных бактерий.

Количество микроорганизмов в полости рта изменяется в течение суток, при этом ведущую роль играет продукция слюны, которая резко снижена в ночное время. Потеря зубов также приводит к уменьшению количества микробной флоры. Существуют также факторы, вызывающие временные или постоянные изменения содержания отдельных представителей флоры. Такими факторами являются: антибиотики, изменение диеты, физиологические воздействия, ликвидация всех кариозных поражений зубов и удаление разрушенных зубов. Каждый антибиотик воздействует на определенные группы микробов, в результате чего, возникает дисбактериоз. Диета с высоким содержанием белка способствует увеличению количества факультативных грамположительных палочек больше,

чем в 2 раза. Многие бактерии имеют определенные потребности в витаминах, поэтому изменение их содержания вызывает изменения состава микрофлоры. На состав и количество микрофлоры, несомненно, влияют и различные соматические заболевания, однако, этот вопрос еще недостаточно изучен. Например, C. albicans значительно чаще встречается у больных диабетом (80%), чем у здоровых (50%). Многие исследователи отмечают увеличение количества лактобацилл при возникновении кариеса и значительное уменьшение его после лечения. Показано, что Str. mutans, Str. salivarius, дрожжи, лактобациллы и спирохеты исчезают или количество их значительно уменьшается в «беззубный» период, а содержание Str. salivarius увеличивается. В течение первых 2 нед. после установления протезов сохраняется высокий уровень стрептококков, в то время как количество лактобацилл и дрожжей значительно уменьшается. Через 3-5 нед. содержание лактобацилл и дрожжей повышвется, а уровень стрептококков снижается до исходного. Количество стрептококков во все периоды жизни значительно не изменяется.

Следует отметит, что еще недостаточно изучен вопрос об изменениях функциональных групп бактерий полости рта. Уже в ранних работах было отмечено наличие в полости рта хромогенных, ацидогенных и протеолитических групп микробов, к которым впоследствии добавили и ацидофильную группу. Хромогены никогда не изучали достаточно подробно, хотя пигментные пятна являются важным проявлением кариеса зубов.

Ацидофильными называют группу микробов полости рта, которые растут на средах при pH 5,0. В таких условиях на агаре с томатным соком, например, вырастают лактобациллы, дрожжи, некоторые стрептококки и стафилококк. Особых различий между клетками ацидофильных и ацидогенных микробов не обнаружено. Стрептококки обычно считают не очень ацидофильными, но они являются важной ацидогенной группой микробов в полости рта, особенно благодаря тому, что продуцируют кислоту. Стрептококки и различные жгутиковые бактерии, которые тоже не считаются ацидофильными обнаружены в таких местах полости рта, где были и лактобациллы, включая глубокие поражения дентина. Более того, ацидофильные бактерии составляют небольшую часть популяции индигенов (постоянных обитателей) полости рта. В полости рта, в отсутствие кариозных поражений, лактобациллы и другие ацидофилы составляют 0,05% от общего количества жизнеспособных организмов. Когда же имеются кариозные поражения, количество лактобацилл возрастает более чем в 20 раз, других ацидофилов – более чем в 8 раз, тем не менее они составляют не более 0,5% от общей популяции индигенов.

Стрептококки, хотя и очень тесно связаны метаболически с лактобациллами, не являются облигатно ацидогенами. Многие из них продуцируют протеиназы которые могут утилизировать азотистые соединения иначе, чем путем гликолитического метаболизма, при этом образуются скорее щелочные, чем кислые продукты. Другим лимитирующим условием является способность утилизировать кислые промежуточные продукты. Молочная кислота является конечным продуктом метаболизма для гомоферментативных лактобацилл, в то время, как гетероферментативные лактобациллы и многие стрептококки способны довести гликолитические процесс до ди- и монокарбоновой стадии, когда образуются такие продукты, как этиловый спирт, ацетальдегид, уксусная, муравьиная кислота и углекислый газ. Такие факультативно-анаэробные бактерии, как микрококки и дифтероиды, аккумулируют кислоты приблизительно той же пропорции, как и кислород.

Таким образом, мы должны сделать заключение, что в естественных условиях в полости рта образование микробами кислот не обязательно соответствует тому, что мы получаем в пробирке.

Различные микробы продуцируют энзимы, которые действуют на одни вещества, но не действуют на другие, по-разному ведут себя в различных условиях. Некоторые из

бактериальных энзимов могут расщеплять протеины только одним путем, другие расщепляют их до пептидов и даже до аминокислот, третьи расщепляет только до аминокислот. Таким образом, протеолитические микроорганизмы можно разделить по тем связям, на которые действует их фермент, субстрат на которые они расщепляются. Так, например, разжижжение желатины, как наиболее общий признак протеолитичности в отношении оральных микробов, дает неадекватные результаты. В полости рта очень много микробов, которые разжижжают желатину, значительно меньше расщепляющих казеин, еще меньше расщепляющих коагулированный протеин яиц и очень мало способных лизировать декальцинированный дентин или эмаль. Существует мнение, что представители последней группы вызывают декальцинацию дентина при кариозных поражениях. В то же время считают, что любой известный оральный микроорганизм или комбинация микроорганизмов, способны атаковать зубной протеин, входящий в кальцифицированные элементы интактного дентина или эмали.

Микробы прикреплены друг к другу или к определенным структурам полости рта. Прикрепление это может осуществляться за счет экстрацеллюлярных полисахаридов. Аналогично некоторые субстанции микроорганизма, такие, как слюнные полимеры, агглютинируют некоторые штаммы микроорганизмов. Прикрепление одного микроба к другому может быть результатом аффинитета их поверхностей, например, слипание кокков с овоидными формами. Такой же механизм может обеспечивать прилипание микробов к зубам или другим структурам. Относительная способность микробов прикрепляться к поверхности на различных участках полости рта может служить одним из факторов, определяющих его экологическую нищу.

Анализируя данные литературы о составе микроэкологии полости рта, необходимо отметить, что противоречивые сведения, полученные разными авторами, объясняются не только различными методическими подходами, но имеют и объективную причину. В частности, при общем микроскопическом подсчете бактерий в оральных пробах особых затруднений не возникает, однако, они появляются, когда предпринимается попытка провести общий подсчет жизнеспособных (культивируемых) бактерий. Даже при использовании самых совершенных методов и питательных сред не удается выделить более 1/5 от общего количества микробов выявляемых микроскопическим методом. Очевидно, на один жизнеспособный микроб в полости рта, приходится четыре нежизнеспособных. Некоторые неудачи в выделении бактерий объясняются также неумением или невозможностью создать условия, при которых они размножаются в полости рта. Кроме того, не совсем ясно, из какого количества клеток развивается одна колония: цепочка из пяти кокков может дать одну колонию, и в то же время одна колония может вырасти из одной клетки. Количество жизнеспособных бактерий может значительно увеличиться, если подвергнуть пробу механической дезинтеграции, но это воздействие может привести к разрушению ряда клеток. Значительное снижение жизнеспособности клеток может произойти, если материал сеют не сразу, а выдерживают в консирвирующей среде. Более того, в полости рта много микроорганизмов, выделение которых очень затруднительно по чисто техническим причинам.

Так, для некоторых из них только в полости рта имеются подходящие условия для жизни и размножения. Некоторые из видов, составляющих определенную часть оральной флоры (фузобактерии, бактероиды, лактобациллы и жгутиковые формы), представлены в таких небольших количествах, что обычно теряются среди стрептококков, вейлонелл и дифтероидов, с которыми они обычно ассоциируют.

Необходимо также отметить, что несовершенство таксономии (классификации микроорганизмов) приводит к тому, что многие изолянты (отдельные представители микрофло-

ры), обнаруживаемые в полости рта, не могут быть идентифицированы. В связи с этим, некоторые исследователи при изучении микробной флоры ограничиваются микроскопическим определением формы, окраски, морфологии. Такой подход можно использовать при подсчете, но для дифференциации он не пригоден, поскольку при этом не выделяются жгутиковые формы, окраска по Граму вариабельна, дифтероиды не выявляются, нельзя отличить вибрионы от спирилл и дифференцировать небактериальные элементы материала и т.д.

Однако, несмотря на отмеченные методические и прочие трудности, с которыми встречаются исследователи при изучении оральной микрофлоры, можно констатировать: большинство данных свидетельствует о том, что независимо от числа и состояния обследуемых факультативные и анаэробные стрептококки, вейлонеллы, факультативные и анаэробные дифтероиды составляют около 80% всей микрофлоры полости рта. Факультативные стрептококки с вейлонеллами составляют большую часть флоры слюны, в которую они попадают, главным образом, со спинки языка. В бляшках и гингивальной щели количество дифтероидов и грамотрицательных палочек (бактероиды, фузобактерии, вибрионы) увеличивается.

Нейссерии постоянно присутствуют в полости рта, достигая 5-8% от видимого количества. Лактобациллы, стрептококки и жгутиковые формы обычно составляют около 1% общей флоры. Спирохеты характерны для гингивальной щели, где их количество составляет 1-5% от общего количества жизнеспособных особей. Кандида (дрожжи) и полиформы выявляют во рту примерно у половины взрослых, но в очень небольших количествах, микоплазмы могут быть обнаружены у всех взрослых, но их количество не установлено. Эти микроорганизмы выделяют из слюны, бляшек, зубного камня, получают из проб от здоровых людей и больных гингивитом, пародонтитом и кариесом.

Простейшие могут быть обнаружены в небольшом количестве у половины здоровых взрослых людей, хорошо чистящих зубы. Присутствие простейших в значительных количествах свидетельствует о недостаточной гигиене полости рта и наличие пародонтита.

Микрофлора кожи

Кожа человека – это оболочка, выполняющая пограничные функции между внутренними органами человека и внешним миром. Через эту хорошо оборудованную, с помощью природы, границу легально и контрабандно во внутрь организма и наружу, перемещаются миллионы «иммигрантов» и «интервентов», «нелегалов» и «шпионов», «инвесторов» и «колонизаторов» и т.д. и т.п.

Человеческий кожный покров площадью с банную простыню (1,5 – 2 м^2), выполняя эти пограничные функции, защищает организм от внешних воздействий (трения, влаги, растяжения, давления, ушибов), участвует в терморегуляции, обмене веществ, выделения, обеспечивает его осязательную и дыхательную функции, одним словом, он является важнейшим органом, определяющее здоровье человека. Кожа – это зеркало нашего здоровья, она с предательской быстротой выставляет на общее обозрение все наши болячки и недуги, сигнализируя нам и окружающим о неполадках в нашем организме.

Испытывая на себе воздействия загрязненной окружающей среды, нашествие миллиардов микробов и вирусов – снаружи, и выбросы из органов выделения токсинов и инородных частиц – изнутри, кожа регулирует соотношения губительного и целительного в человеческом организме.

Известно, что в норме на 1 см^2 кожи приходится менее $8 \cdot 10^3$ микроорганизмов и это количество не увеличивается в результате действия бактерецидных факторов. Например,

в поте кожи обнаружены иммуноглобулины класса А и G, трансферрин, лизоцим, органические кислоты и другие антимикробные вещества. Низкий уровень pH (5,5), низкая температура кожи также ограничивает размножение микроорганизмов. При этом доказано, что процесс самоочищения кожи усиливается на чисто вымытой коже. Более увлажненные участки кожи колонизируются наибольшим количеством микроорганизмов (10^6 на 1 $см^2$) например, в паховых складках, межпальцевых пространствах, подмышечных впадинах.

Вместе с тем, на коже в ее более глубоких слоях: волосяных мешочках, протоках сальных и потовых желез, приспособившись в процессе эволюции развиваются отдельные виды микроорганизмов. Так, исследования показали, что в коже анаэробов в 2-10 раз больше, чем аэробов. Кожу в норме колонизируют грамотрицательные бактерии: пропионобактерии, эпидермальные стафилококки и другие коагулазоотрицательные стафилококки, микрококки, пептострептококки, стрептококки, Dermabacter hominus, дрожеподобные грибы рода Pytorospurum, реже встречается транзиторная флора: Staph. aurues, Str. pyugenes и др. При ослаблении организма на коже возрастает количество граммотрицательных бактерий.

Издавно существует понятие, что грязные руки могут служить фактором заражения инфекционными болезнями, особенно кишечной группы. Видимо, не случайно, с этой точки зрения, нас с детства учат соблюдению личной гигиены. С медицинской точки зрения, вполне оправдано существование различных способов мытья и обработки рук перед оперативными вмешательствами.

Нормофлора ЖКТ
Микрофлора желудка

В желудке условия для размножения большинства микробов неблагоприятны вследствие кислой реакции желудочного сока и высокой активности ферментов. Микробиоценоз желудка в основном состоит из микрофлоры слюны: стрептококков, лактобацилл, микрококков, вейлонелл, бактероидов. После приема пищи количество микробов возрастает и может достигать 10^5-10^7 клеток в 1 мл. содержимого (главным образом, за счет анаэробных кокков, бифидобактерий, фузобактерий). Микрофлора самого желудка здорового человека бедна; сарцины, дрожжи, некоторые кислотоустойчивые бактерии; количество их не превышает 10^3 в 1 мл. Однако, при сдвиге pH в нейтральную сторону (свыше 5) в желудке появляются бактерии, характерные для последующих отделов ЖКТ: фекальные стрептококки, бактероиды, иногда – кишечные палочки, клебсиеллы описаны случаи выделения лактобацилл у здоровых взрослых в желудочном соке – иногда до 10^3 КОЕ/мл.

Микрофлора тонкой кишки

Микробиоценоз тонкой кишки на всем протяжении различен. В двенадцатиперстной и тощей кишках, несмотря на слабощелочную среду, обнаруживается небольшое число видов микробов: фекальные стрептококки, вейлонеллы, бифидобактерии, лактобацилы, клостридии, эубактерии, пептострептококки, иногда сарцины, грибы. Попадая с пищей, они колонизируют желудок и проксимальный отдел тонкой кишки. Количество микробов здесь обычно не превышает 10^2-10^3 клеток в 1 г содержимого. Описаны случаи, когда общее количество лактобацилл в содержимом тощей кишки доходило до 10^4 КОЕ/мл, а в подзвдошной кишке колебалось от 10^2 до 10^5 КОЕ/мл.

В дистальном отделе тонкой кишки некоторые виды из полостной микрофлоры переходят в мукозную микрофлору (пептококки, стафилококки), а ближе к баугиниевой заслонке появляются виды микробов, характерные для толстой кишки. Лишь непосредственно около илеоцекальной перегородки начинает формироваться относительно постоянная, типичная для толстой кишки микробная флора.

Микробиоценоз толстой кишки

Микрофлора толстой кишки представлена по сравнению с другим биотопами и по числу видов, и по количеству микробов – до 10^{12} клеток в 1г. содержимого. Здесь встречается от 400 до 500 видов бактерий. К нормальным обитателям толстой кишки относят: бактероиды, бифидобактерии, клостридии, фузобактерии, лактобациллы, эубактерии, пептококки, пропионибактерии спирохеты, вейллонеллы, а также энтеробактерии (в том числе, эшерихии), стафилококки, грибы и другие виды, которые составляют не более 4%. Такое обилие видов микрофлоры объясняется, преимущественно, поступлением в прямую кишку многокомпонентных органических веществ (крахмала, гликогена, раффинозы, лактулозы, сорбитола, ксилитола, мукополисахаридов, протеинов, пептидов); их расщепление до глюкозы и аминокислот происходит под действием бактериальных ферментов – полисахаридаз, гликозидаз, протеаз и пептидаз.

Различают 4 вида толстокишечной микрофлоры – с преобладанием бактероидов, бифидобактерий, лактобацилл и со смешанной флорой. К полостной П-флоре относятся многие виды энтеробактерий, фекальные стрептококки, эубактерии, клостриди и др. Состав М – микрофлоры толстой кишки изучен менее подробно. Общее количество мукозной флоры уступает полостной и составляет 10^6 клеток. Превалируют бифидобактерии, лактобактерии, пептококки.

Данные разных авторов и по видовому составу, и по количественному соотношению микробов не всегда совпадают, но все отмечают преобладание анаэробной флоры над аэробной. Так, при обследовании 50 здоровых людей из толстой кишки выделены микроорганизмы 12 родов и 13 видов, в том числе, четырех родов – *Bifidobacterium, Enterococcus, Escherihia* – в 100% рода *Staphylococcus* – в 96%, рода *Candida* – в 82%, *Clostridium* – в 72%, Pseudomonas – в 46%; реже выделялись бактерии родов *Citrobacter, Proteus, Klebsiella*; из видов чаще обнаруживались *E. coli* (96%), *S. epidermidis* (48%), P. *aeruginosa* – 46%, значительно реже – K. *ozaenae* и два вида энтеробактеров – *E. aergenes, E. cloacae,* также некоторые другие.

К облигатной микрофлоре содержимого толстой кишки относят бифидобактерии, бактероиды, лактобациллы, кишечные палочки и энтерококки – фекальные стрептококки.

Установлено, что при исследовании микрофлоры кишечника у здоровых людей в 91,7% случаев бифидобактерии обнаруживались в 10^9-10^{10} в 1г фекалий; в целом же облигатные анаэробы (бифидобактерии и бактероиды) составляли 90-95% общего количества выявленных микробов, а эшерихии, лактобациллы, молочнокислые стрептококки, энтерококки составляли в среднем 5-7%. Описано выделение лактобацилл из фекалий в количестве от 10^6 до 10^{10} КОЕ/г.

Выделяемые фекальные массы на 40% состоят из живых и мертвых микробных клеток. Из организма ежедневно выводятся около $5x10^{13}$ – $8x10^{14}$ микробных особей. При учащении дефекаций число микробных клеток понижается, при урежении – возрастает.

Физиологические функции нормальной микрофлоры ЖКТ

Микробиоценозы биотопов ЖКТ, сложившиеся в эволюции и постоянного формирующийся индивидуально для каждого человека микробиологический фенотип выполняют разнобразные функции:

регуляция состава кишечных газов;

морфокинетическое действие;

продукция энзимов, участвующих в метаболизме белков, углеводов, липидов и нуклеиновых кислот;

продукция биологически активных соединений (витамины, антибиотики, токсины, гормоны и т.д.);

участие в водно-солевом обмене;

участие в обеспечении колонизационной резистентности;

иммуногенная роль;

участие в рециркуляции желчных кислот, холестерина и других макро-молекул;

мутагенная /антимутагенная роль/;

детоксикация экзогенных и эндогенных субстратов и метаболитов;

источник эндогеной инфекции и хранилище микробных плазмидных и хромосомных генов.

Более изучены такие физиологические функции, как участие в пищеварении, синтез необходимых для организма витаминов и аминослот, обеспечение противомикробной защиты и сохранение гомеостаза.

Существенным аспектом деятельности микробиоценозов ЖКТ является их участие в процессе пищеварения, что достигается высокой ферментативной активностью многих микроорганизмов. Переваривание пищи с помощью микробов начинается в ротовой полости (см. выше) и продолжается на протяжении всего ЖКТ. Микрофлора ЖКТ влияет на морфологическую структуру слизистой оболчки кишечника и ее адсорбционную способность, расщепляет сложные органические вещества.

Известно, что физиологические функции клетки включают гидролиз компонентов пищи за счет ферментов, фиксированных на апикальной мембране и транспорт продуктов гидролиза (моносахаридов, аминокилот и т.д.) через эту мембрану. На апикальной поверхности каждой кишечной клетки находится около 3000-4000 микроворсинок, на 1 мм^2 поверхности кишечного эпителия имеется до 50-200 млн. микроворсинок; 1 кишечная клетка обеспечивает трофические потребности до 100 тыс. соматических клеток. Вклад микрофлоры в процессы гидролиза огромен, так как гликокаликс окутывает все микроворсинки, как «биопленка», а множество микробных микроколоний, входящих в него, постоянно осуществляет свои функции.

«Биопленка» состоит из клеточного муцина, бактериального экзополисахарида и заключенных внутри этого матрикса микроколоний бактерий. Так, кооперируются клетки кишечника и микроорганизмы с целью выполнения сложных функций пищеварения, обмена веществ и др.

Значительной функцией нормофлоры является участие в метаболизме азот-и углеродсодержащих соединений; в частности, процесс обмена мочевины в кишечнике происходит с участием микробных уреаз. Обмен липидов и нейтральных жиров, разложение жирных кислот и образование стеркобилиногена, копростерина и дезоксихолевой кислоты связаны с деятельностью бактерий кишечника. Микрофлора кишечника участвует в синтезе пальмитиновой кислоты. Процессы обмена белков также происходят с участием бактерий, способных разлагать белки до конечных продкутов, в образующиеся при этом ин-

дол, скатол, фенол усиливают перистальтику и создают благоприятные условия для существования многих видов микробов толстой кишки.

Кислоты и газы, образуемые в результате ферментативной деятельности кишечного микробиоценоза, влияют на обмен веществ, перистальтику кишечника, процессы всасывания и образования кала, способствуют поддержанию интракишечного уровня pH. Кроме того, микробы участвуют в детоксикации некоторых продуктов метаболизма, путем их биосорбции или трансформации в нетоксичные продукты. Доказано, что нормальная микрофлора, будучи «естественным биосорбентом», способна аккумулировать попадающие извне или образующиеся в макроорганизме токсические продукты с последующим их выведением в окружающую среду. Разрушая пищеварительные ферменты, стеролы и стероиды (в том числе, холестерин), деконьюгированные желчные кислоты, андрогены и эстрогены, микрофлора оказывает влияние на течение холестеринзависимых процессов, на уровень половых гормонов в крови.

Нормальная микрофлора ЖКТ играет определенную роль в синтезе витаминов и аминокислот. Известно, что микроорганизмы кишечника способны синтезировать до 9 витаминов: B_1, B_2, B_6, B_{12}, никотиновую и фолиевую кислоты, витамин К и др.

Этот биосинтез осуществляют лактобактерии, бифидобактерии, кишечная палочка и др. Например, витамин B_6 синтезируют разные микроорганизмы: лактобактерии, псевдомонады, кишечная палочка, протей, энтерококки. Установлено, что бифидобактерии продуцируют рибофлавин, тиамин, пиридоксин, никотиновую, пантотеновую, фолиевую кислоты, кобаламин.

Чрезвычайно важна роль микробиоценозов, как звена неспецифической и специфической защиты против патогенных и условно-патогенных микробов. Уничтожение микроорганизмов, контаминирующих ЖКТ, происходит разными путями:

М-микрофлора, занимая свою экологическую нишу, препятствует адгезии и колонизации вновь поступивших микробов, защищает целостность слизистых оболочек;

представители М- и П-микрофлоры вступают в антогонитические отношения с новыми видами микроорганизмов, воздействуя на них ферментами, бактериоцинами (колицинами, корицинами, стафилоцинами), а также кандидацинами;

в стенке кишечника, в ответ на попадание микробных атигенов, возникают защитные специфические и неспецифические реакции.

Продуцируемые тканевыми моноцитами слизистой оболочки лизоцим, комплемент, интерфероны относятся к неспецифическим факторам защиты, к которым также принадлежит и мощный клеточный барьер-фагоцитирующие клетки. Полиморфноядерные лейкоциты и макрофаги постоянно осуществляют фагоцитарные функции на слизистой оболочке ЖКТ. Их ответ однотипен и не зависит от вида микроба. При обильном микробном обсеменении количество нейтрофилов увеличивается, активируются их антимикробные системы. Следует признать, что неспецифическая резистентность играет ведущую роль в поддержании гомеостаза в желудочно-кишечном тракте, тем не менее, механизмы специфического иммунитета также оказывают влияние на микроэкологический баланс.

Специфическая иммунная защита кишечника реализуется с участием лимфоцитов. К лимфоидному аппарату пищеварительного тракта относятся лимфоциты миндалин, мезентериальных лимфатических узлов, пейеровых бляшек и стенки кишечника.

Внутриэпителиальные лимфоциты (преимущественно малые) находятся главным образом, в базальной зоне клеток (96%), куда они попадают с лимфой из мезентериальных лимфатических узлов, пейеровых бляшек, кровяного русла.

Т- и В- лимфоциты в кооперации с макрофагами преобразуют В- лимфоциты в плазматические клетки, способные продуцировать антитела. В стенке кишки идет активная диф-

ференциация иммунокомпетентных клеток. Микробные антигены, адсорбируясь из просвета кишечника, поступают через апикальную часть эпителиальных клеток и межклеточное пространство в собственную пластинку слизистой оболочки, где происходит образование антител. Большинство плазмоцитов кишечника (85%) синтезируют IgA, в этом процессе всегда участвуют эпителиальные клетки. Секреторные иммуноглобулины препятствуют размножению бактерий вблизи ворсинок, не оказывая влияния на облигатную микрофлору, обеспечивающую колонизационную резистентность кишечника.

Специфическая защита пищеварительного тракта обусловлена также присутствием во всех лимфоидных образованиях кишечника субпопуций Т-лимфоцитов, обладающих цитотоксическими свойствами и участвующих в формировании клеточного иммунного ответа.

Микробные ассоциации М-флоры в свою очередь способствуют выработке различных классов иммуноглобулинов, стимуляции иммунокомпетентных классов иммуноглобулинов, стимуляции иммунокомпетентных образований и клеток – пейеровых бляшек, интраэпителиальных лимфоцитов, лимфоцитов собственной пластинки, плазматических клеток, продуцирующих все классы иммуноглобулинов. Компоненты бифидо- и лактобактерий на основании экспериментальных данных рассматривают как потенциальные стимуляторы местного иммунитета кишечника.

При рассмотрении вопроса о последовательности появления иммунодефицита и нарушений микрофлоры считают, что «акцент следует сместить в сторону этиологической роли дисбиоза в развитии той или иной патологии».

Таким образом, совокупность всех факторов неспецифических воздействий М- и П-микрофлоры, защита целостности слизистой оболочки М- микрофлоры, препятствующей адгезии и колонизации посторонних микроорганизмов, обеспечивают микроэкологическое постоянство ЖКТ, находящееся в динамическом равновесии и поддерживающее гомеостаз.

Представляет интерес установление роли биотопа кишечника в формировании и течении различных форм патологии человека. При весьма актуальных бронхолегочных заболеваниях, в 92% случаев, выявлены глубокие изменения в структуре популяции кишечной палочки. Дисбиоз рассматривается как стартовая площадка, в частности, для бронхиальной астмы; кроме того, установлено влияние нарушений микробиоценоза кишечника на последующее течение этого заболевания.

Закономерный интерес вызывает состояние биоценоза кишечника пациентов у онкологов и гематологов. Выяснены некоторые патогенетические аспекты, в частности, биологический антагонизм некоторых представителей кишечной микрофлоры и опухолевых клеток, онкогенный потенциал нормофлоры реализующийся через нарушение метаболизма, например, при изменении характера питания. Практические трудности представляет ведение пациентов с дисбиозом после химиотерапевтического и лучевого лечения. Чрезмерный рост УПМ, в том числе, и вследствие внутрибольничного инфицирования, может привести к декомпенсации и генерализации процесса и требует неотложного лечения. Известен феномен «фебрильной нейтропении», встречающийся в стационарах указанного профиля и обусловленный кишечной и синегнойной палочками, клебсиеллами, а также кокками.

Изучается этиопатогенетическая роль нарушений биоценоза кишечника в возникновении обменных заболеваний, железодефицитной анемии, ревматической патологии и даже энцефаломиелополирадикулоневритов.

Резюмируя изложенное, необходимо подчеркнуть следующее.

ЖКТ здорового человека заселен многочисленными видами микробов, входящих в микробиоценозы, имеющие свои особенности для каждого биотопа. Более разнообразны

микробиоценозы ротовой полости и толстой кишки. Высокая кислотность позволяет желудку выполнять роль «дезинфекционного шлюза» и препятствует дальнейшему прохождению патогенных микробов.

Каждому человеку присущ свой микробиологический фенотип, который формируется под влиянием наследственной изменчивости. В процессе постоянного взаимодействия макро- и микроорганизма формируется уникальная экосистема, находящаяся в состоянии динамического равновесия. Наиболее существенную роль в ней играют облигатные и факультативные анаэробы: бифидобактерии, лактобактерии, энтеробактерии, энтерококки.

Нормальная микрофлора здорового человека обладает многоплановыми функциями: активно участвует в процессах пищеварения, в биосинтезе ферментов и аминокислот, осуществляет неспецифическую и специфическую защиту организма от патогенных и условно-патогенных микробов, поддерживает гомеостаз.

Нарушение микроэкологического равновесия в ЖКТ приводит к формированию дисбиоза, к развитию экзогенной или эндогенной инфекции.

Основные представители нормальной микрофлоры

Семейство бактероидов (*Bacteroidacea*) включает 3 рода; бактероиды (*Bacteroides*), фузобактерии (Fusobacterium), лептотрихии (*Leptotrichia*).

Бактероиды – *род полиморфных, аспорогенных, облигатноанаэробных фоновых для толстой кишки бактерий; более типична для них форма палочки с закругленными концами.* Известно около 40 видов, чаще выделяют B. fragilis, B. vulgatus, B. theraiotaomicron, B. melaninoges.

Бактероиды – наиболее многочисленные нормальные обитатели кишечника (в 1г фекалий содержится 10^{10}–10^{12} клеток), составляют от 24,8 до 43% всей микрофлоры. Их количество зависит от физиологического состояния организма и диеты: при стрессах, при употреблении в пищу продуктов животного происхождения число их может увеличиваться.

Бактероиды – антагонисты шигелл, сальмонелл, некоторых эшерихий. Они могут находиться в полостях, связанных с внешней средой, но у здорового человека отсутствуют в брюшной полости и стерильных внутренних органах.

При травмах, оперативных вмешательствах, инструментальных исследованиях, иммунодефиците, онкопатологии бактериоиды могут вызывать различные гнойно – воспалительные заболевания: перитонит, абсцессы, эндокардит, сепсис, а также пародонтоз, тонзиллит и другие эндогенные инфекции. При внутрибрюшинных инфекциях бактероиды выделяются в 60% случаев.

В последние годы появились сведения о возможном активном участии B. fragilis в возникновении и течении ряда воспалительных процессов – не только напрямую связанных с кишечником (перитонит, хронические язвенный колит и эшерихиоз), но и имеющих другую локализацию: синовиит, сальпингит, болезнь Рейтера, хронический тонзиллит. В остром периоде (или при обострении хронического заболевания) в РНГА выявлены соответствующие антитела в титре: 1:160 с достоверным повышением к 15-25 дням болезни и последующим снижением. В разгар заболевания в различных исследуемых материалах обнаружены капсульные формы. B. fragilis; капсулы обладали интенсивным свечением и значительной толщиной – они превышали диаметр клетки в 3-6 раз; в периоде реконвалесценции эти признаки регрессировали. При параллельном обследовании больных острой дизентерией, острым эшерихиозом, хроническим проктосигмоидитом и хроническим простатитом аналогичных изменений не выявлено, что позволяет считать B. fragilis в указанных случаях лишь пассивным ассоциантом.

Бактероиды вырабатывают бета-лактамазы-ферменты, разрывающие бета-лактамное кольцо пенициллинов и цефалосиоринов. Эффективным в отношении бактероидов является *метронидазол,* который действует как антибактериальные препарат и как иммунорегулятор.

Род ***фузобактерий*** семейства бактероидов – анаэробные аспорогенные толстые длинные палочки с заостренными концами. Это нормальные обитатели кишечного и респираторного трактов. Некоторые виды являются условно-патогенными и при иммунодефицитах могут вызвать вторичные гангренозные и гнойно – гангронозные процессы.

При ангине, герпетическом стоматите, гипотрофии у детей, при иммунодефицитных состояниях возможно развитие фузоспирохетоза – некротического воспалительного процесса на миндалинах, слизистой оболочке полости рта. Наиболее распространенная форма фузоспирохетоза – некротическая ангина Симановского-Плаута-Венсана вызывается симбиозом Fusobacterium spp. и Treponema vincentii. Возбудители чувствительны к пенициллинам и аминогликозидам.

Лептотрихии – род палочковидных анаэробных бактерий из семейства бактероидов – толстые длинные прямые или изогнутые палочки с заостренными концами, нередко объединенные в нити без ветвлений, L. buccalis обитает в полости рта, входит в состав зубного налета. Вместе с фузобактериями, вейлонеллами, пропионибактериями и актиномицетами (A. israelii, A. viscosus) участвуют в образовании поддесневого камня.

Бифидобактерии

Род *bifidobacterium* относится к семейству Actinomycetaceae. Бифидобактерии – облигатно-анаэробные аспорогенные палочки с раздвоенными концами и разветвлениями. Типичными представителями у детей являются виды: B. bifidum, B. breve, B. parvulorum, B. longum и др. (часто от одного человека выделяется несколько видов). У взрослых превалируют: B. longum, B. adolescentis и B. bifidum (75%, 56,3% и 29,9% соответственно), причем, у большинства они выделяются в монокультуре, реже – два и совсем редко – все три вида.

Бифидобактерии заселяют ЖКТ человека с первых дней жизни, а в составе нормальной микрофлоры здоровых взрослых людей доминируют постоянно, выделяются в 91,7% случаев. В кишечнике они обнаруживаются в разных количествах: в двенадцатиперстой кишке – до10^8 клеток в 1 мл, в дистальном отделе тонкой кишки –до10^8 клеток в 1 мл, а в разных отделах толстой кишки примерно одинаково – до 10^{10}-10^{11} клеток в 1 мл. Доказано, что для бифидобактерий адгезинами служат липотейхоевые кислоты, причем, для прилипания бифидофлоры к эпителиоцитам кишечника важное значение имеют гидрофобные взаимодействия.

Облигатные анаэробы (бифидобактерии и бактероиды) составляют до 90-97% от общего числа выделенных микробов.

Отсутствие или резкое снижение уровня бифидобактерий в кишечнике является одним из патогенетических факторов длительных кишечных дисфункций у детей и взрослых и одной из причин, осложняющих течение ряда заболеваний.

Некоторые авторы предлагают определять соотношение бифидобактерий и кишечных палочек, содержание которых составляет менее 5% от количества бифидобакетерий. С целью упрощения оценки микробного пейзажа рекомендуют ввести «**индекс стабильности микрофлоры**» – отношение суммарного количества бифидо- и лактобактерий к количественному показателю кишечной палочки; диагностировать дисбиоз предлагается при снижении индекса ниже 2,0.

Уровень лакто- и бифидобактерий в кишечнике может служить индикатором микроэкологического статуса организма. Выявлена корреляция между содержанием этих нормальных симбионтов в аутофлоре и резистентностью макроорганизма к инфекции. Бифидофлора является показателем здоровья и практически не обнаруживается в качестве этиологического фактора при воспалительных процессах.

Физиологическая роль бифидобактерий многопланова:

нормализация и стабилизация микробиоценоза, формирование колонизационной резистентности кишечника;

улучшение процессов всасывания и гидролиза жира, участие в белковом, липидном и минеральном обменах – бифидобактерии способствуют усвоению железа, кальция витамина D;

синтез аминокислот и белков, тиамина, рибофлавина, пиридоксина, витамина К, цианокобаламина, а также никотиновой, пантотеновой и фолиевой кислот, которые всасываются в кишечнике и используются макроорганизмом в метаболитических процессах;

поддержание неспецифической резистентности организма, стимуляция противоинфекционного иммунного ответа в кишечнике посредством индукции выработки секреторных иммуноглобулинов (в сочетании с замедлением их деградации), интерферона и лизоцима, а также усиления пролиферативной реакции клеток пейеровых бляшек в стенке кишки.

Механизм антагонистического действия бифидобактерий связан с тем, что они образуют уксусную и молочную кислоты, создают кислую среду в кишечнике и препятствуют размножению патогенной и гнилостной микрофлоры. С установлением высокого уровня бифидофлоры снижается число кишечных палочек с измененными ферментативными свойствами (лактозогенетативных, гемолитических), стафилококков с признаками патогенности, дрожжеподобных грибов.

Ведущая роль бифидобактерий в колонизационной резистентности кишечника, многообразие положительных функций и отсутствие патогенных свойств, послужили основанием для создания лечебного препарата – *бифидумбактерина,* который был разработан в Московском НИИ ЭМ в 1967г. Г.И. Гончаровой и А.М. Аяноц и до настоящего времени является одним из наиболее эффективных и перспективных препаратов для лечения дисбиозов кишечника, сопровождающих многие воспалительные заболевания у детей и взрослых.

Лактобактерии

Лактобактерии относятся к роду *Laktobacillus*, принадлежащему к семейству **Lactobacillaceae**. В литературе встречаются оба термина: «лактобактерии» и «лактобациллы». Это полиморфные аспорогенные палочки, факультативные анаэробы.

Род лактобацилл включает более 30 видов микроаэрофильных лактобактерий, отдельные из которых являются более строгими анаэробами. Наиболее типичные виды: *L.fermentum, L. plantarum, L. acidophilus, L. casei* (последний часто присутствует в слюне).

Лактобактерии колонизируют ЖКТ человека с первых дней жизни, когда у 75-100% детей они уже обнаруживаются в фекалиях (до 1 млрд. клеток в 1г) и затем сопутствуют человеку всю жизнь. В разных отделах пищеварительной системы они обнаруживаются в неодинаковых количествах: в ротовой полости и желудке – 10^2-10^3 клеток, в тощей кишке – 10^2-10^4 клеток, в фекалиях – 10^6-10^{11} клеток в 1 г. В нижних отделах лактофлора уступает строгим анаэробом – бактероидам и бифидобактериям.

Лактобактерии блокируют рецепторы клеток слизистой оболочки кишечника от адгезинов патогенных микробов, т.е. обеспечивают его колонизационную резистентность.

Они разлагают углеводы с образованием большого количества молочной кислоты, продуцируют лизоцим, лактоцидин, ацидофилин и другие вещества. Обладая антагонистической активностью, лактобактерии могут подавлять размножение синегнойной палочки, стафилококков, эшерихий, клебсиелл, протея, некоторых видов L-форм бактерий.

Лактобактерии обнарживаются в молочных продуктах, а также в мясе, зерне, фруктах, заквасках. До недавнего времени считалось, что они, в основном, способствуют развитию ***кариеса.***

Однако, в последние 10-20 лет появились данные о том, что несмотря на низкую патогенность, лактобактерии способны также вызывать и различные другие заболевания: ***гнойно-воспалительные процессы, эндокардиты, септицемии, менингиты, пневмонии*** и др.

Способность лактобацилл вызывать ***урологические инфекции*** обсуждается в течение длительного времени. Установлено, что у клинически здоровых женщин с различными сроками беременности в 16% случаев в моче обнаруживались лактобациллы, их концентрация не превышала 10^4-10^7 клеток в 1 мл. при наличии ряда предрасполагающих факторов (большие сроки беременности, мочекаменная болезнь) развивались локальные или генерализованные уроинфекции, для лечения которых эффективной оказалась комбинация ампициллина и гентамицина.

Ряд авторов считает, что лактобациллы играют важную роль в развитии септических эндокардитов. Наиболее частым возбудителем считают L. casei ss. Rhamnosus u L. plantarum. ***Септические эндокардиты,*** обусловленные лактобациллами, имеют типичное течение – с лихорадкой, артралгиями, а также с болями в области грудины и высыпаниями на коже конечностей и могут заканчиваться летально. Развитию эндокардитов способствуют дефекты и аномалии сосудов и клапанного аппарата сердца, беременность, злокачественные новообразования, заболевания крови и лимфоидной системы. Нередко, провоцирующим фактором развития септического эндокардита у таких больных, являются экстракции зубов и другие оперативные вмешательства.

Описан случай, когда *L.plantarum* вызвал эмпиему как осложнение атипично протекающей пневмонии. В качестве этиологического фактора пневмонии упоминают также L. brevis, L. lactis, L. fermentum .

В связи с тем, что лактобактерии способны вызывать различные воспалительные процессы, возникла необходиость изучения их чувствительности к антибиотикам. В результате исследований 431 штамма лактобацилл установлено, что они наиболее чувствительны к пенициллину и эритромицину, в меньшей мере – к рифампицину и левомицетину, наиболее устойчивы к полимиксину и гентамицину. Отмечен эффект и при сочетании бета-лактамных антибиотиков с аминогликозидами.

Приведенные данные свидетельствуют о способности лактобактерий вызывать различные воспалительные заболевания у больных с иммунодефицитами, измененным гормональным фоном, при злокачественных новообразованиях, болезнях крови и лимфоидной системы, а также при врожденных анатомических недостатках, затрудняющих нормальную функцию органов. Эти обстоятельства следует учитывать при назначении больным препаратов, содержащих лактобактерии.

Тем не менее, участие лактобактерий в физиологических процессах, обеспечивающих здоровье человека, многогранно и несомненно, заслуживает внимания врачей разных специальностей.

Энтеробактерии

Семейство *Enterobacteriaceae* (энтеробактерии, кишечные бактерии) – это палочковидные грамотрицательные факультативно-анаэробные бактерии, среди которых есть нормальные обитатели кишечника человека и животных, патогенные для них виды и свободноживущие сапрофиты.

К нормальной микрофлоре кишечника относятся бактерии родов: Escherichia, Proteus, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter и некоторые другие, которые обнаруживаются значительно реже. К самым распространенным относятся эшерихии.

Эшерихии

Это постоянные участники микробиоценозов кишечника здоровых людей. Они локализуются преимущественно в толстой кишке; входят в состав П-микрофлоры. Основной представитель – *E. coli* (кишечная палочка). Известно, что микробный пейзаж толстой кишки практически всегда формируется под влиянием многих факторов среды, однако, присутствие в составе кишечного микробиоценоза *E. coli* имеет жесткую генетическую детерминированность. Физиологическая роль *E. coli* весьма важна. Она участвует в синтезе витаминов и аминокислот, обеспечивает колонизационную резистентность кишечника, защищая слизистую оболочку от адгезии патогенных микробов. Кишечные палочки вызывают постоянное антигенное раздражение системы местного иммунитета, что приводит к продукции секреторных иммуноглобулинов. Эшерихии обладают перекрестными антигенами с патогенными бактериями, поэтому секреторные иммуноглобулины препятствуют колонизации патогенных энтеробактерий.

Антагонистическую активность эшерихий по отношению к другим представителям П-микрофлоры толстой кишки обеспечивают также колицины и микроцины. Это – антибиотикоподобные вещества, продукция которых кодируется Col- и М- плазмидами. Колицины эшерихий тормозят размножение энтеропатогенных эшерихий, вырабатывающих термолабильный и термостабильный энтеротоксины. Микроцины, которые чаще продуцируют *E.coli, реже – K. pneumoniae и P. mirabillis*, активные в отношении представителей всех родов энтеробактерий, ацинетобактерий, псевдомонад, грибов кандида и сахаромицет, а также стафилококков, стрептококков, микрококков.

При неблагоприятных условиях (иммунодефициты разной степени выраженности) кишечные палочки как условно – патогенные бактерии могут вызвать гнойно-воспалительные процессы различной локализации. Как эндогенные инфекции, возникают циститы, пиелиты, холециститы, а при выраженном иммунодефиците – колисепсис. Такие заболевания некоторые авторы называют ***коли-бактериозами***. Нагноение ран может развиться и по типу экзоинфекции, причем, вызывает ее кишечная палочка, нередко в ассоциации с другими микроорганизмами, повреждающие после гибели кишечных палочек.

Кроме условно – патогенных известны и патогенные кишечные палочки, которые вызывают различные формы острых кишечных инфекций (ОКИ) – эшерихиозы. Эндо-экзогенные инфекции, источником которых являются больные люди и бактерионосители, путь передачи – алиментарный. Патогенные эшерихии обладают набором различных факторов патогенности.

Несколько важных свойств энтеробактерий кодируют плазмиды. *Hly* – плазмиды детермируют образование гемолизинов, которые расслаивают мембраны, резко увеличивают проницаемость капилляров, что способствует отеку тканей. Плазмида *Col.* кодирует систему дополнительного транспорта железа в клетку, что увеличивает вирулентность

энтеробактерий. *Ent*-плазмиды обеспечивают образование энтеробактерий, являются способными к адгезии и наличию энтеротоксинов.

Адгезия возникает вследствие специфического взаимодействия адгезинов (лигандов) микроорганизма и комплементарных им рецепторов клетки хозяина. Адгезины фимбрий энтеробактерий обладают специфичностью «узнавания» клеточных рецепторов. Так, уропатогенные эшерихии, имеющие R-фимбрии, обеспечивают прикрепление к эпителиальным клеткам мочевыводящих путей. Энтеротоксигенные штаммы с помощью адгезинов прикрепляются к эпителию тонкой кишки и колонизируют ее.

Диарея и гиперкинезия развиваются вследствие влияния энтеротоксинов – термолабильного и термостабильного – на секрецию кишечного сока.

Среди возбудителей эшерихиозов различают энтеротоксигенные, энтероинвазивные, энтеропатогенные (умеренно инвазивные), а также энтероадгезивные и энтероаггрегативные кишечные палочки. Они имеют разную антигенную структуру и вызывают принципиально отличающиеся ОКИ.

Энтеротоксигенные *E.coli* 015, 0148 и др. вызывают у детей и взрослых холероподобные заболевания, патогенетической основой которых является острая изотоническая дегидратация. Внутрь энтероцита проникают лишь токсины; воспалительных изменений в кишечном эпителии не развивается.

Энтероинвазивные *E.coli* 0142, 0144 и др. адсорбируются на поверхности энтероцитов толстой кишки, проникают в них, размножаются и вызывают катарально-эрозивные изменения, клинически проявляющиеся дизентериеподобным синдромом.

Энтеропатогенные кишечные палочки (*E. coli* 026, 055, 0111) обладают умеренно выраженной инвазивностью и поражают преимущественно детей грудного возраста. Эшерихии колонизируют поверхность энтероцитов, вызывают отторжение микроворсинок, могут проникать в цитоплазму эпителия: при недостаточной макрофагальной защите возможна бактериемия.

В последнее время к этим традиционным типам эшерихий добавлены еще два – энтероадгезивный и энтерогеморрагический (адгезивный, в частности, 0157:Р7), вызывающий тяжелый гемолиз с возможным развитием гемолитико-уремического синдрома.

В патогенезе эшерихиозов определенную роль играют и эндотоксины, а также полисахариды К-антигена и белок Т., которые подавляют активность комплемента и фагоцитоз, угнетая опсонины.

Эшерихиям принадлежит существенная роль в развитии дисбиотических нарушений ЖКТ. При этом увеличивается их количество в составе П- и М- микрофлоры; они обнаруживаются в верхних отделах пищеварительной системы; появляются штаммы со сниженной ферментативной активностью, в частности, лактозонегативные кишечные палочки.

Протеи

Proteus – род палочковидных аспорогенных факультативно-анаэробных бактерий из семейства энтеробактерий. Отличается активной подвижностью. Включает 5 видов, из них наибольшее значение имеют: *P. vulgaris и P.mirabilis*. Широко распространены в воде, почве, продуктах на объектах внешней среды. Протеи участвуют в процессах гниения, размножаясь в органических субстратах; паразитируют в кишечнике человека и животных. Распространены госпитальные штаммы, способные вызвать внутрибольничные инфекции.

Протеи относительно устойчивы (более, чем эшерихии) к различным повреждающим факторам, фенола и других дезинфектантов.

Устойчивы ко многим антибиотикам, чувствительны к гентамицину и другим аминогликозидам, а также цефалоспоринам и налидиксовой кислоте.

Протеи – условно-патогенные бактерии. У здоровых людей в кишечнике они обнаруживаются в 16%, но их количество, сравнительно с другими представителями микробиоценоза, невелико – Ig0, 48±0,19 КОЕ/г. Описан существенно более высокий процент выделения протеев в относительно изолированном коллективе рыбаков плавучей базы: 87,4%, среди них *P. vulgaris* – 70,8%, P. mirabilis – 27,9%, P. morganii – 1,3%. Выделялись протеи преимущественно от личного состав производственной службы: матросов, обработчиков (65,5%), имеющих дело с переработкой рыбы. У прибывшего с берега пополнения выделение УПМ отмечалось значительно реже – 5,4 (по 2% *P. vulgaris* и P. morganii и по 1% *Citrobacter и Klebsiella*); трое из обследованных жаловались на дисфункцию кишечника (от них выделили *P. vulgaris* в 2 случаях и P. mirabilis – в1). Обсуждался вопрос о возможности формирования штаммов, способных вызвать заболевание, аналогичное внутрибольничной инфекции, в условиях изолированного коллектива.

При попадании больших доз протея в пищеварительный тракт возникает пищевая токсикоинфекция, протекающая как острый гастроэнтерит. Токсические свойства протеев связаны с липополисахаридами, которые высвобождаются после разрушения микробных клеток. У протея обнаружены некоторые факторы патогенности: гемолизины, протеолитические ферменты, гиалуронидаза. Выявлена способность оказывать токсическое действие на лейкоциты.

В общей заболеваемости ОКИ, вызванных УПМ, протей составляет значительную долю – 47,81±2,26%.

При иммунодефицитных состояниях может развиться эндогенная инфекция – ***гнойно-воспалительные заболевания мочевыводящей системы,*** возбудителями которых чаще бывают *P.mirabilis,* несколько реже – *P. vulgaris.* Эти заболевания могут возникнуть и как экзогенная инфекция, в результате заноса протея катетером или другими инструментами при урологических исследованиях.

Протеи вызывают патологические процессы разнообразной локализации и килинической картины. ***Основные формы:*** уроинфекции, ОКИ, в том числе, пищевые токсикоинфекции, инфекции желчевыводящих путей, гнойно-воспалительные заболевания кожи и подкожной клетчатки, хронические отиты, остеомиелиты, пневмонии, коньюктивиты. При большинстве заболеваний, протеи выделяются в ассоциации с другими представителями УПМ.

Клебсиеллы

Klebsiella – род палочковидных капсульных неподвижных аспорогенных факультативно-анаэробных бактерий из семейства энтеробактреий. Из всех видов клебсиелл в состав микробиоценоза кишечника здоровых людей может входить *K. pneumoniae* – 8% и *K. ozaenae* – 24%. Некоторые авторы отмечают преимущественное выделение из кишечника клебсиелл пневмонии. Клебсиеллы не только входят в состав кишечного биоценоза, но обнаруживаются на коже и слизистых оболчках респираторного тракта.

Благодаря капсуле, клебсиеллы устойчивы к действию факторов внешней среды, длительно сохраняются в почве, воде, на предметах в помещениях; в молочных продуктах выживают и размножаются при хранении в холодильнике и при комнатной температуре. Из них нередко формируются госпитальные штаммы, которые отягощают течение основного воспалительного процесса.

Клебсиеллы относятся к УПМ. Факторы патогенности клебсиелл изучены недостаточно. Их вирулентность связывают с капсульным полисахаридом, подавляющим фагоцитоз. Кроме того, клебсиеллы обладают токсическими свойствами, обусловленными эндотоксинами (липополисахаридом клеточной стенки). Клебсиелла пневмонии способна продуцировать энтеротоксин – термостабильный полипептид, который вызывает гиперсекрецию кишечного сока в просвет тонкой кишки. У ослабленных больных клебсиеллы могут вызвать ОКИ, гнойные послеродовые осложнения, инфекции мочеполовых и желчевыводящих путей, сепсис. *K. oxytoca* обнаруживают при инфекциях дыхательных путей, пиелонефрите.

Клебсиеллы устойчивы ко многим антибиотикам, в том числе, к пенициллинам, макролидам. Чувствительны они к гентамицину и другим аминогликозидам, а также к тетрациклину и левомицетину, но в последние годы нарастает число штаммов, резистентных к перечисленным антибиотикам.

Энтеробактеры

Род *Enterobacter* включает палочковидные перитрихиальные аспорогенные грамотрицательные факультативно – анаэробные бактерии, относящиеся к семейству *Enterobacteriaceae* (энтеробактерий). Род *Enterobacter* подразделяет на два вида: *E.aerogenes и E. cloacae.*

Энтеробактеры широко распространены в природе: обитают в кишечнике человека и животных, встречаются в почве, воде, пищевых продуктах. Бактерии рода энтеробактер находили у здоровых людей в 15-25% случаев. При изучении видового состава микробиоценоза толстой кишки у здоровых выяснилось, что *E. aerogenes* высевали в 20%, а *E. cloacae*-15 случаев, но в малых количествах, особенно последний.

Энтеробактеры относятся к УПМ. Они чувствительны к аминогликозидам, тетрациклинам. Энтеробактеры выделяются из патологического материала при кишечных, урогенитальных, респираторных, гнойно-воспалительных заболеваиях у больных с ослабленной защитой, но вопрос об этиологической значимости энтеробактеров, как и других представителей УПМ, должен решаться взвешенно.

Цитробактеры

Род *Citrobacter* относится к семейству *Enterobacteriaceae.*

Цитробактеры-это палочковидные бескапсульные аспорогенные факультативно – анаэробные перитрихиальные грамотрицательные бактерии. Этот род включает два вида: *C. freundii* и *C. intermedius* с вариантами «а» и «б», которые несколько различаются по биохимическим свойствам. Цитробактеры имеют специфические О- и Н- антигены, некоторые – и Vi – антигены.

Цитробактеры обитают в сточных водах, других объектах внешней среды. а также в фекалиях здоровых и больных ОКИ людей. Относятся к УПМ. В литературе приводятся данные об этиопатогенетической роли бакерий рода цитробактер при ряде острых и хронических заболеваний кишечника.

В кишечнике здоровых людей цитробактеры обнаруживали относительно редко: от 1,4% до 20% случаев.

В последние годы описано более широкое распространение цитрабактера у здоровых людей – в56,0% случаев в количестве lg1, 79±0,32 КОЕ/г (для сравнения у тех авторов: эшерихии обнаружены у 100% обследованных здоровых в количестве lg7,

82±0,24 КОЕ/г), причем, чаще высевались *C. freundii* – в 44% случаев, в количестве Ig1, 57±0,31 КОЕ/г.

Среди ОКИ, вызванных УПМ, отмечается нарастание выделения цитрабактера в последнее время: в 1996 г. этот вид бактерий у 13,21±1,61% больных был расценен, как возбудитель ОКИ.

По-видимому, вопрос о роли цитробактеров в микробиоценозе толстой кишки нуждается в дальнейшем изучении.

Стрептококки

Род *Streptococcus* относятся к семейству *Streptococcaceae* и включает 21 вид, различающиеся по экологическим признакам, физиологическим и биохимическим свойствам, патогенности для человека. Их подразделяют на:

пиогенные стрептококки – возбудители разнообразных гнойно – воспалительных заболеваний (это патогенные микробы – возбудители ангины, скарлатины, рожи, сепсиса, гнойных раневых инфекций и т.д.);

стрептококки пневмонии (пневмококки);

фекальные стрептококки (энтерококки) – нормальные обитатели кишечника, облигатные представители микробиоценоза толстой кишки.

Энтерококки высевают из фекалий здоровых людей в 80-100% случаев и в больших количествах: 10^5-10^7 клеток в 1г, при этом, чаще обнаруживают виды: *Str. faecalis, Str. faecium,* а также *Str. durans, Str. bovis* и др.

Энтерококки имеют круглую, овальную или ланцетовидную форму, располагаются парами, небольшими скоплениями, реже-короткими цепочками и одиночно; грамположительны, аспорогенны, факультативные анаэробы. Долго выживают в почве, в пищевых продуктах, в которых при комнатной температуре могут размножаться. Устойчивы к высушиванию, свету и низкой температуре. Чувствительны к ампициллину, цефалоспоринам, рифампицину, в меньшей степени – к левомицетину и эритромицину.

Фекальные стрептококки широко распространены в природе, являются одним из фоновых видов кишечника млекопитающих, птиц. Нередко обнаруживаются в составе нормальной микрофлоры кожи, промежности и половых путей, полости рта, носа, глотки.

Кишечные стрептококки относятся к УПМ и при ослаблении защиты организма могут вызывать заболевания мочеполовых органов, воспалительные заболевания кишечника, пищевые токсикоинфекции, гнойно-воспалительные заболевания. Способность размножаться в пищевых продуктах при комнатной температуре приводит к тому, что могут быть причиной развития пищевой токсикоинфекции. Гнойно-воспалительные заболевания различной локализации обычно протекают вяло, с тенденцией к хронизации и развитию смешанной инфекции – в ассоциации с кишечной палочкой, протеем, стафилококками. Из гноя, отделяемого из ран и других материалов от больных выделяются гемолитические варианты *Str. faecalis,* большинство из них имеют ферменты патогенности: коагулазу, гиалуронидазу, фибринолизин, протеиназу.

Помимо основных рассмотренных видов, существуют еще стрептококки полости рта – маловирулентные зеленящие, которые принимают активное участие в процессах, приводящих к поражениям твердых тканей зуба (кариес) и пародонта. В эту группу входят: *Streptococcus sanguis, Str. mutans, Str. mitis.* Они участвуют в микробной колонизации полости рта, в числе первых фиксируются на поверхности зубов (*Str. sanguis*) и на поверхности эпителиальных клеток (*Str. salivarius*), что связано с особенностями их адгезинов. К ним прикрепляются другие микробные клетки, не способные самостоятельно адсорби-

роваться на зубной эмали. Формируются микробные ассоциации, включающие разные виды аэробных и анаэробных бактерий, которые способствуют образованию зубных бляшек, зубного камня, развитию кариеса, пародонтита, одонтогенных воспалительных заболеваний надкостницы, кости, мягких тканей.

Ведущую роль в микробных ассоциациях играют неспорообразующие грамотрицательные анаэробы и патогенные стрептококки, но маловирулентные зеленящие стрептококки оказывают им «помощь» при колонизации полости рта, хотя и принадлежат к ее нормальной микрофлоре.

Стафилококки

Стафилококки относятся к семейству *Micrococcoceae* роду *Staphylococcus,* который включает 19 видов, но только часть из них экологически связана с организмом человека. Среди них: *S. aureus, S. epidermidis, S. saprophyticus.* Это – шаровидные неподвижные аспорогенные факультативно-анаэробные кокки. Все они относятся к УПМ, но золотистые стафилококки с большим набором факторов патогенности, чаще являются возбудителями различных заболеваний, эпидермальные стафилококки, имеющие меньше признаков патогенности, лишь иногда могут вызывать патологический процесс: очень редко возбудителями становятся сапрофитные стафилококки – только при выраженных иммунодефицитах, резком снижении неспецифической защиты организма.

Золотистые стафилококки способны выделять ряд токсинов и ферментов: а-токсин, лейкоцидин, плазмокогулазу, лецитиназу, гиалуронидазу, фибринолизин и др. Лейкоцидин губительно действует на фагоцитирующие клетки (полиморфноядерные лейкоциты, макрофаги). а-токсин гемолизирует эритроциты и обладает кардиоспатическим действием, может вызвать спазм коронарных сосудов и остановку сердца в систоле, а также способен поражать нервные клетки и нейроны, лизирует мембраны и лизосомы клеток, что приводит к освобождению лизосомальных ферментов. Плазмокоагулаза свертывает плазму; большие концентрации коагулазы приводят к понижению свертываемости периферической крови, нарушению гемодинамики, прогрессирующему кислородному голоданию таканей. Лецитиназа разрушает лецитин, входящий в состав оболочек клеток, вызывает лейкопению. Гиалуронидаза способствует распространению стафилококков в тканях. Фибринолизин растворяет фибрин, ограничивающий местный воспалительный очаг, что в итоге благоприятствует генерализации патологического процесса.

Некоторые штаммы золотистых стафилококков продуцируют энтеротоксины (A,B,C,D,E,F), с которыми связано возникновение пищевых токсикоинфекций. Стафилококковые энтеротоксины образуются при размножении энтеротоксигенных стафилококков в пищевых продуктах, в кишечике; они устойчивы к действию температуры, которая применяется при обработке пищи и к пищеварительным ферментам.

Золотистый стафилококк может вызвать:

локальные гнойно – воспалительные заболевания (фурункулы, флегмоны, маститы, инфицирование ожоговых, травматических и послеоперационных ран и т.п.);

заболевания внутренних органов (бронхиты, пневмонии, отиты, воспаление желчевыводящих и мочевых путей и др.);

пищевые токсикоинфекции;

сепсис, как результат генерализации процесса; эндокардит.

Эпидермальные стафилококки не продуцируют токсинов, имеют лишь некоторые ферменты патогенности. Это нормальные обитатели кожи и слизистых оболочек; иногда вызывают раневые и другие инфекции.

Сапрофитные стафилококки не образуют токсинов, не имеют ферментов патогенности, являются нормальными обитателями кожи и слизистых оболочек. Заболеваний, как правило, не вызывают, за исключением случаев, когда защитные силы организма резко ослаблены.

Стафилококки относятся к УПМ, являются частыми представителями микробиоценозов ЖКТ здоровых людей. В определенных условиях (преимущественно при иммунодефицитных состояниях), возможно развитие эндогенной инфекции. У лиц со сниженным уровнем защиты стафилококки вызывают наиболее тяжелые заболевания.

Стафилококки колонизируют слизистые оболочки ротовой полости, носа глотки, кишечника, а также кожу в первые дни жизни человека. Они входят в состав формирующей микрофлоры тела человека, вступают в симбиотические связи и остаются в микробиоценозе ЖКТ постоянно, немного уступая по частоте выделения и количеству в 1г содержимого (кала) лишь основным обитателям кишечника – бифидобактериям, бактероидам, лактобактериям, энтеробактериям и фекальным стрептококкам (энтерококкам).

Частота находок стафилококков в кишечнике, приводимая разными авторами, колеблется от 1,2-2,2% до 69%. Это можно объяснить неодинаковыми методиками исследования, разной трактовкой патогенности и меняющимися их классификациями в разные годы.

Еще сложнее обстоит вопрос с учетом количества выделенных клеток стафилококков. Одни авторы считают, что «среднее количество патогенных стафилококков в 1г кала здоровых людей невелико – 1g 2,8 КОЕ/г». Другие исследователи в последнее время дают разные средние значения количества стафилококков в 1 г по видам: золотистый –1g 1,49±0,42 КОЕ/г, эпидермальный – 1g 3,13±0,53 КОЕ/г, сапрофитный – 1g 2,17±0,46 КОЕ/г. Следует отметить, что в толстой кишке золотистых стафилококков находится в меньшем количестве по сравнению с двумя другими видами. Это соответствует и частоте выделения, проводимой теми же авторами для видов стафилококков: золотистый – 22%, эпидермальный –48%, сапрофитный-34%. Таким образом, основная масса стафилококков кишечника представлена непатогенными видами (эпидермальными, сапрофитными) и лишь1/5 часть всех стафилококков составляют микробы, потенциально готовые вызвать заболевания.

У здорового человека все стафилококки кишечника, входят в микробиоценоз, участвуют в ферментативной деятельности микробов, обеспечивают переваривание пищи, формирование кала и участвуют в защите организма от патогенных микробов, поступающих извне.

Клостридии

Clostridium – род палочковидных, перитрихиальных, спорообразующих, грамположительных анаэробных бактерий из семейства *Bacillaceae*. В род клостридий входит более 90 видов, большинство из которых относится к сапрофитам.

Различают клостридии:

возбудители процессов брожения;

вызывающие гниение, разлагающие углеводы и белки;

патогенные – возбудители клостридиозов людей и животных.

Большинство авторов находят клостридии в кале здоровых людей в 51-89% случаев, со средним содержанием в количестве 1g4,32±0,46 КОЕ/г. Из фекалий здорового человека выделяют в небольшом количестве *Cl. perfingens, Cl. sporogenes, Cl. putrificum.*

Долгое время *Cl. difficile* считали нормальным обитателем кишечика, в последние годы, его все чаще выделяют при воспалительных заболеваниях кишечника, иногда при анаэ-

робной раневой инфекции. Очевидно, этот микроорганизм является причиной антибиотик-ассоциированных диарей не менее чем в 30% случаев, а также подавляющего большинства (более 90%) случаев псевдомембранозного колита. Его патогенность обусловлена секретируемыми термолабильными токсинами А и В (энтеротоксином и цитотоксином), а также фактором небелковой природы, обладающим АДФ-рибозилтрансферазной активностью, которая выявляется у части штаммов и набором гидролитических ферментов. Несмотря на широкий диапозон клинических проявлений инфекции, вызванной *Cl. Difficile,* выявляют 3 основные формы заболевания: носительство, острую кишечную инфекцию и псевдомембранный колит.

Cl. difficile одними из первых колонизируют кишечник новорожденных (с частотой выявления до 90%), у детей старшего возраста носительство встречается в 14-50%, у взрослых – 3-6%.

Из анаэробов спорообразующих микроорганизмов клостридии чаще всего встречаются в кишечнике. Некоторые штаммы. *Cl. perfingens* способны процидуровать а-токсин с гемолитическими и некротическими свойствами. Попадая в пищевые продукты (консервы, молоко, рыба), клостридии размножаются и могут вызвать пищевую токсикоинфекцию.

Клостридии продуцируют многочисленные ферменты, способствующие распространению микробов в тканях – нейраминидазу, коллагеназу, ДНК-азы и пр. Отмечены случаи послеоперационных клостридиальных осложнений при операциях на органах брюшной полости, а также диареи, которые считают следствием заселения клостридиями, сохранившейся части желудка.

В нормальном кишечнике клостридии обитают постоянно, в составе микробиоценоза, участвуют в физиологических процессах, удаляются вместе с фекалиями из организма и загрязняют внешнюю среду – почву, окружающие предметы, могут попасть на кожу, в пищевые продукты и т.п.

Псевдомонады

Pseudomonas – род бактерий из семейства *Pseudomonadaceae,* имеют форму прямых или изогнутых палочек, аспорогенные подвижные грамотрицательные аэробы. Типовой представитель – P. a*eruginosa.* Образует два пигмента – диффундирующий в среду зеленый флюосрецеин и растворимый в воде и хлороформе пиоцианин. Относится к УПМ. Имеет фимбрии, обеспечивающие адгезию микробов на клетках организма; продуцирует ряд токсинов и ферментов, в том числе – экзотоксин А (основной фактор патогенности, обладающий цитотоксическим действием), гемолизины, лейкоцидин, ферменты: коагулазу, казеиназу, эластазу и др. Патогенность синегнойной палочки обусловлена также слизистым веществом капсулы, защищающим микробную палочку от фагоцитоза. Липосахарид клеток синегнойной палочки обладает пирогенностью и другими свойствами, характерными для эндотоксинов.

Синегнойная палочка продуцирует бактериоцины (пиоцины). Очень устойчива во внешней среде – к высушиванию, к действию многих дезинфицирующих средств, в их слабых растворах может размножаться, сохраняется в лекарствах, а камфору, салицилаты и нафлатин используют в метаболизме как источник углерода. Размножается в дистиллированной воде, многие штаммы устойчивы к хлорамину. Резистентна к большинству антибиотиков (особенно в присутствии ионов кальция и магния), чувствительна к карбенициллину, гентамицину (умеренно), к амикацину, цефсулодину.

Синегнойная палочка обитает в почве, воде, на растениях, что благоприятствует инфицированию людей. В кишечнике здорового человека синегнойная палочка обнаружи-

вается относительно редко и в небольших количествах. Однако, некоторые авторы высевали ее из кишечника здоровых людей в 46% случаев, в количестве 1g2,42±0,45 КОЕ/г. Большинство авторов сообщает о выделении синегнойной палочки от больных людей, с медицинского оборудования и предметов ухода, которые она контаминирует как возбудитель госпитальных (внутрибольничных) инфекций, вызывая различные гнойно-воспалительные процессы (при инфицировании ран и ожоговых поверхностей, мочевых путей и т.п.), нередко – в смешанных инфекциях.

Некоторые авторы считают, что доказано этиологическая значимость синегнойной палочки водного происхождения при отитах, сепсисе, ОКИ.

Пропионибактерии и эубактерии

Род *Propionibacterium* и род *Eubacterium* относят к семейству *Propionibacteriaceae.*

Пропионибактерии – полиморфные тонкие палочки с разветвлениями и утолщениями на концах, грамположительные аспорогенные неподвижные анаэробы. Некоторые штаммы толерантны к кислороду воздуха, но большинство штаммов лучше растет в анаэробных условиях. Их находят в фекалиях и на коже здоровых людей. Чаще выделяют *P. acnes* и *P. avidum.*

Пропионибактерии входят в состав нормальной микрофлоры ротовой полости, почти постоянно присутствуют в зубном налете, могут способствовать развитию кариеса и других стоматологических заболеваний. *P. acnes* в ассоциации с эпидермальным стафилококком вызывает появление угрей.

В кишечнике и дыхательных путях пропионибактерии могут обнаруживаться лишь в небольших количествах. Продуцируют пропионовую и уксусные кислоты. В большинстве случаев, устойчивы к метронидазолу. При определенных условиях ***могут вызвать воспалительные процессы:*** абсцессы мягких тканей, мозга, раневую инфекцию, иногда септицемию и др. Из клинического материала выделяют пропионибактерии либо в чистой культуре, либо (чаще) в ассоциации с другими бактериями.

Эубактерии имеют около 30 видов. В норме их находят в открытых полостях и в фекалиях. Эубактерии – это грамположительные аспорогенные вариабельные по морфологии палочковидные бактерии, облигатные анаэробы. Продуцируют в больших количествах масляную и в меньшей степени – уксусную и муравьиную кислоты. При определенных условиях эубактерии могут вызвать образование абсцессов мозга, прямой кишки; иногда выделяюся из крови при септицемии.

Пептококки и пептострептококки

Род P*eptococcus* и род *Peptostreptococcus* относят к семейству *Peptococcaceae.*

Пептококки – гармположительные сферической формы аспорогенные анаэробы. Клетки в препаратах располагаются поодиночке, парами, тетрадами или в виде скоплений. Некоторые виды обитают в кишечнике здоровых людей, в полости рта, носоглотки, мочеполовых путях. В ротовой полости входят в состав зубного налета. При кариесе, пульпите, пародонтите, абсцессах челюстно-лицевой области они чаще встречаются вместе с фузобактериями и спирохетами. Выделяются при воспитательных процессах: аппендиците, плеврите, послеродовой септицемии, тонзиллитах и др. Как правило, их высевают в ассоциациях с другими микробами. Представления о патогенности пептококков человека противоречивы.

Пептококки присутствуют в большей степени в полости рта и в меньшей в кишечнике человека и животных, могут обнаруживаться в воспаленном червеобразном отростке наряду с другими анаэробами.

Пептострептококки – грамположительные клетки сферической или овальной формы, располагающиеся парами и в виде цепочек различной длины. Анаэробы, аспорогенны. Чаще высеваются виды: *P. anaerobius, P. putridis.*Они обнаруживаются у здоровых людей в дыхательных путях, кишечнике, ротовой полости, женских половых органах. При определенных условиях могут вызывать абсцесс мозга, плеврит, аппендицит и др. В таких случаях, пептострептококки высеваются в ассоциациях с другими видами микробов, как возбудители смешанных инфекций. Они чувствительны к пенциллину, карбенициллину, левомицетину.

Вейллонеллы

Вейллонеллы относят к семейству *Viellinellaceae* роду *Viellonella*. Это аспорогенные грамотрицательные анаэробные кокки. Они являются относительно постоянными обитателями полости рта. В микрофлоре кишечника здорового человека обнаруживаются нечасто и содержание их в 1 г фекалий колеблется в пределах от 0 до 10^8; есть сведения, что в среднем, оно составляет 1g3,8-5,8.

Описаны два вида вейллонелл (из известных семи), которые чаще выделяются от здоровых людей: *V. parvula* и *V. alcalescens* (последняя размножается только в присутствии путресцина и кадаверина). С вейллонеллой парвула связывают воспаление толстой кишки; увеличение концентрации этой вейллонеллы в кишечнике наблюдают при циррозе печени и у новорожденных, для которых характерно недоразвитие печени.

Некоторые штаммы вейллонелл способны приобретать гемолитические свойства. Они чувствительны к бензилпенициллину, тетрациклинам, левомицетину, эритромицину, полимиксину В.

В ряде случаев при аппендиците, диарее они выделяются из очагов поражения и поэтому выделенные штаммы вейллонелл относят к условно-патогенным.

При абсцессах мягких тканей, раневых инфекциях, сепсисе вейллонеллы обычно высеваются в ассоциациях с другими микроорганизмами.

Грибы Кандида

Грибы *Candida* относятся к классу несовершенных грибов *Deuteromycetes* и составляют самостоятельный род, который насчитывает 186 видов, однако, лишь немногие (7-13) имеют существенное значение для медицинской микологии. К ним относятся: *C. albicans, C. tropicalis, C. pseudotropicalis, C. krusei, C. guilliermondii, C. parapsylosis* и др.

Грибы рода кандида – это одноклеточные относительно крупные микроорганизмы овальной, округлой, иногда – овально-вытянутой формы, образуют псевдомицелий (нити из удлиненных клеток), бластоспоры (клетки-почки, сидящие на перетяжках псевдомицелия), кадида альбиканс – хламидоспоры с плотной двойной оболочкой. Некоторые штаммы обладают факторами патогенности – адгезивной активностью обеспечивающей колонизационные свойства, углеводными компонентами клеточной стенки и т.п. Чаще этими признаками характеризуется вид кандида альбиканс. Экспрессия патогенности грибов зависит не только от вида, но прежде всего, от состояния макроорганизма. Второстепенная роль грибов и решающее значение состояния организма человека подтверждают принадлежность грибов кандида к УПМ.

В окружающей среде грибы кандида широко распространены. Первая встреча с ними часто происходит в первые часы и дни жизни ребенка, который может получить грибы от матери внутриутробно, при прохождении через родовые пути, позднее – со слизистой оболочки полости рта, с кожи соска при кормлении, с рук. Другим каналом инфицирования детей в родильных домах является их персонал, а также оборудование. В последние годы отмечается, что в 80% случаев контаминация грибами кандида происходит пре- или интранатально от матерей с измененным микробиоценозом родовых путей: в первые сутки – в 5%, к четвертому дню – в 46,2%, к концу месяца – в 54,5% и сохраняется в течение первого года жизни – до 10 – 14%.

Грибы могут попадать в организм человека и с предметов домашнего обихода, игрушек, посуды, а также с пищей. Чаще и в большей сепени контаминированы мороженое, творожные сырки, а также фрукты и фруктовые консервы. Высок процент находок грибов кандида у работников заводов по производству антибиотиков, у медицинского персонала лечебных учреждений, у рабочих гидролизно-дрожжевых заводов, где в качестве продуцентов кормового белка используются разные виды грибов кандида. Наиболее распространен повсеместно вид кандида альбиканс.

В микробиоценозах ЖКТ грибы кандида обнаруживаются нередко: на слизистой оболочке ротовой полости – от 5,7% до 52%, в фекалиях – от 3% до 80%. В последние годы идет явное нарастание частоты выделения грибов кандида. При дисбиозах, при ОКИ эти грибы выделяются чаще и в большом количестве – 10^4 клеток в 1г и выше.

Грибы кандида – типичные представители УПМ: попадая в ЖКТ здоровых людей, они уничтожаются, элиминируют, не задерживаясь в кишечнике или включаются в микробиоценоз ЖКТ, становясь представителями нормальной микрофлоры. У некоторых лиц формируется кандидоносительство, а у ослабленных больных может развиться кандидоз.

В последние годы в структуре микотических осложнений у ВИЧ – инфицированных кандидоз выявляется в 89% случаев; наиболее распространен кандидоз полости рта и пищевода. Отмечено также, что в 1991–1995 гг. микрофлора больных с различными соматическими заболеваниями, включая ВИЧ- инфекцию, и с иммунодефицитами отличалась большим родовым и видовым разнообразием, но 55% штаммов от общего количества составлял кандида альбиканс. За 13 лет возросло в 3 раза (с 8,9% в 1981 г. до 28% в 1994 г.) количество грибковых инфекций у больных в Онкологическом Научном Центре РАМН; при возникновении инфекций ЖКТ грибы выделялись у 28% больных, причем 51,2% штаммов относились к *C. albikans*.

Преобладющей формой микотических осложнений у больных острым лейкозом, гемобластозами стал кандидозный эзофагит, у больных ВИЧ-инфекцией – кандидоз орофарингеальной области. У больных гемобластозами описаны случаи кадидоза пищевода (средней и нижней части), когда нити псевдомицелия прорастали в стенки сосудов, грибы попадали в кровь, развивалась диссеминированная инфекция.

Введение в клиническую практику высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга привели к увеличению частоты системных и диссеминированных форм кандидоза у больных гемобластозами и повышению частоты летальных исходов, обусловленных системными микозами, до 14% – на фоне положительного эффекта в отношении основного заболевания. Отмечается, что прогресс медицинской науки и практики неизбежно приводит к увеличению заболеваемости висцеральными микозами у больных гемобластозами. Для лечения таких микозов успешно применяется низорал (кетоконазол), флюконазол (дифлюкан). Они считаются перспективными, как и другие препараты системного действия – имидазолы и триазолы. При недостаточной эффективности лечения кандидозной инфекции производными азолов, особенно при микст-инфекциях, реко-

мендуют применять полиеновые антибиотики – амфотерицин В, метаморфоцин. При лечении кандидоза ЖКТ используют таблетки низорала.

Завершая рассмотрение роли грибов кандида у здоровых людей, необходимо отметить следующее. Участие грибов в микробиоценозах ротовой полости и толстой кишки, как представителей нормальной флоры, возможно в случаях умеренного их распространения – менее 10^4 клеток в 1 мл содержимого. В результате применения антибиотиков, особенно широкого спектра действия, гормонов и влияния других неблагоприятных факторов динамическое равновесие в микробиоценозе нарушается: размножение некоторых видов бактерий затрудняется или подавляется, а грибы, заполняя экологическую нишу, усиленно размножаются и колонизируют разные отделы ЖКТ. Выделение грибов в количестве более 10^4 клеток в 1г фекалий свидетельствует о дисбиозе и должно настораживать в отношении возможного формирования кандидоза. Выделение грибов кандида из ротовой полости в количестве свыше 10^4 КОЕ/г также является признаком неблагополучия. Повторное выделение грибов кандида в том же или большем количестве, в совокупности с клиническими признаками, являются основанием для диагноза «кандидоз».

Таким образом, анализ литературы показывает, что почти все участники микробиоценоза ЖКТ относятся к условно-патогенным микроорганизмам и способны при определенных условиях вызывать заболевания. Это становится очевидным при рассмотрении данных литературы о свойствах основных представителей главной, сопутствующей и остаточной микрофлоры ЖКТ. Исключение составляют лишь бифидобактерии, которые, как правило, не вызывают патологических процессов, в то время, как все остальные представители нормальной микрофлоры ЖКТ, при определенных условиях могут стать возбудителями заболеваний.

Положение усугубляется тем, что в микробных ассоциациях ЖКТ может происходить обмен генетической информацией между разными видами в микробиоценозе, а также с новыми видами микроорганизмов, поступающих извне. Получив гены, кодирующие признаки патогенности (плазмиды, гены хромосом), микробы приобретают потенциальную возможность вызывать заболевания. Решающим звеном в этом взаимодействии всегда остается макроорганизм, состояние его неспецифической резистентности и специфической защиты. Различные отягощающие обстоятельства: отрицательное влияние экологических факторов, иммунодефициты, тяжелые заболевания (злокачественные новообразования, сахарный диабет и т.п.), нерациональное применение антибиотиков и других препаратов – могут привести к нарушению гармонических отношений в микробиоценозах и развитию дисбиозов. Создаются условия, при которых потенциальная способность микробов вызвать заболевание реализуется, а выполнение сложных физиологических функций, обеспечивающих жизненно важные для человека процессы, затрудняется или становится невозможным.

Микробная экология влагалища

Влагалище, вагинальная микрофлора и вагинальная среда, контролирующая микрофлору, образуют гармоничную экосистему. При этом микрофлора, в свою очередь, способна регулировать вагинальную среду. Под воздействием различных внешних раздражений, приводящих к изменениям физических и химических характеристик вагинальной среды (pH, температуры, гидратации, кислородного потенциала, уровней гормонов, количеств питательных субстратов и т.д.), в этой экосистеме могут происходить нарушения гармонии, которые оказывают существенное влияние на количественный и качественный состав микрофлоры влагалища. При исчезновении этих раздражений вагинальная микро-

флора, как правило, нормализуется. Состояние вагинальной микрофлоры зависит и от физиологического состояния эпителия влагалища. Таким образом, вагинальная микрофлора представляет собой не статическую, а изменяющуюся популяцию, в которой уровни определяемых типов микробов колеблются в пределах изменения условий в нише их обитания. Это динамическое состояние микрофлоры влагалища, не всегда учитывается при анализе результатов микробиологических исследований.

Вагинальная микрофлора включает в себя как микроорганизмы, формирующие нормальную микрофлору, так и случайно занесенные из окружающей среды непатогенные, условно-патогенные и патогенные бактерии. Эти транзиторные микробы, как правило, не способны к длительному пребыванию в генитальном тракте и не вызывают развития патологического синдрома до тех пор, пока неиммунные и иммунные защитные механизмы организма-хозяина включающие в себя и его нормальную вагинальную микрофлору, способны обеспечивать свою барьерную функцию, препятствующую избыточному размножению экзогенных микроорганизмов и внедрению их в слизистую оболочку стенки влагалища с последующей транслокацией в мочевыводящие пути, в цервикальный канал и другие органы и ткани.

В свою очередь, нормальная микрофлора влагалища подразделяется на следующие составные части: облигатную (резидентная, индигенная) и факультативную микрофлору. К облигатной микрофлоре относятся микроорганизмы, постоянно входящие в состав нормальной микрофлоры влагалища и играющие важную роль в метаболизме организма-хозяина, в защите его от возбудителей инфекционных заболеваний. Представители факультативной части микрофлоры достаточно часто, но не постоянно, встречаются у здоровых женщин. Среди бактерий, относящихся к обеим составным частям микрофлоры, возможны межвидовые замещения.

Вагинальная среда

Половые пути женщины представляют собой экологическую нишу, включающую в себя плоский эпителий внутренней поверхности стенки влагалища, цилиндрический эпителий шейки матки и вагинальный секрет, которые характеризуются определенными морфо-физиологическими и биохимическими особенностями, в связи с чем, каждый из этих биотопов заселен специфической популяцией микроорганизмов.

Вагинальный эпителий представляет собой многослойный плоский сквамозный эпителий, не содержащий желез, в котором делящиеся клетки базального слоя созревают в процессе их продвижения к просвету влагалища. Процессы физиологического созревания эпителиоцитов, их слущивания и толщина поверхностного слоя находятся под контролем гормонов яичников.

Вагинальный секрет включает в себя серозный транссудат, секрет желез слизистой оболочки канала шейки матки и бартолиновых желез, лейкоциты и клетки слущенного эпителия. Разнообразен и химический состав вагинального секрета, содержащего воду, неорганические соли, муцин, белки, углеводы, жирные кислоты, мочевину, лизоцим. Преобладающими компонентами протеинов являются альбумины и иммуноглобулины.

Существенные изменения морфо-физиологических и биохимических параметров во влагалище у девочек, женщин репродуктивного возраста (во время менструаций, беременности, в послеродовом и послеабортном периодах), в пре- и постменопаузальных периодах влияют качественный и количественный состав вагинальной микрофлоры. Влияние на вагинальную среду и, соответственно, на состояние микрофлоры влагалища также

оказывают и такие факторы, как климатические условия проживания женщин, их расовая принадлежность, уровень личной гигиены.

В норме влагалище у новорожденных девочек в первые часы жизни стерильно. Однако, уже к концу первых суток после рождения оно колонизируется аэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами. В последующем через несколько дней в вагинальной микрофлоре у новорожденных начинают преобладать лактобактерии. Это обусловлено тем, что эстрогены, полученные детьми трансплацентарно от матерей индуцируют накопление в вагинальном эпителии гликогена, являющегося субстратом роста для лактобактерии. В дополнение к этому гормоны стимулируют рецепторную активность вагинального эпителия по отношению к лактобактериям. Лактобактерии расщепляют гликоген с образованием молочной кислоты, что, в свою очередь, приводит к сдвигу pH в кислую сторону (до 4,4-4,6) и ограничению роста и размножения микроорганизмов, чувствительных к кислой среде. В этот период вагинальная микрофлора у новорожденных имеет сходство с микрофлорой влагалища у здоровых взрослых женщин.

Через три недели после рождения материнские эстрогены у новорожденных девочек полностью метаболизируются. Эпителий становится тонким «незрелым». Содержание гликогена в нем уменьшается, и в связи с этим, снижаются уровни органических кислот, продуцируемых бактериями, PH вагинальной среды повышается с 4,5 до 7,0. Нейтральные значения pH способствуют снижению окислительно-восстановительного потенциала, Уровни лактобактерий снижаются. В микрофлоре начинают доминировать строго анаэробные бактерии. Общее количество микроорганизмов во влагалище у девочек со 2-го месяца жизни значительно ниже, чем в период новорожденности, характеризующийся высоким уровнем содержания эстрогенов во влагалище.

В пубертатный период, с момента активации овариальной функции, в организме у девушек появляются эндогенные эстрогены, под влиянием которых, в клетках вагинального эпителия накапливается гликоген («эстроген-стимулированный эпителий»). На поверхности вагинальных эпителиоцитов повышается число рецепторных участков для адгезии лактобактерий. Увеличивается толщина эпителиального слоя. С этого момента, лактобактерии вновь становятся доминирующими микроорганизмами во влагалище и в последующем сохраняют это положение на протяжении всего репродуктивного периода у женщин. Метаболизм лактобактерий способствует стабильному сдвигу pH вагинальной среды в кислую сторону до 3,8-4,4. С другой стороны в вагинальной среде повышается окислительно-восстановительный потенциал, что создает менее благоприятные условия для роста и размножения строго анаэробных микроорганизмов. У здоровых женщин детородного возраста эстрогены воздействуют на вагинальном эпителии и фолликулярную или пролиферативную фазу менструального цикла, а прогестерон в лютеиновую или секреторную фазу. В связи с этим, вагинальная микрофлора может изменяться в различные фазы менструального цикла.

Наименьшее количество микроорганизмов определяется в период менструации. Частота высеваемости и количество строго анаэробных большинства аэробных представителей нормальной микрофлоры, выше в пролиферативную фазу, чем в секреторную. На 2-14 дни менструального цикла во влагалище аэробные бактерии преобладают над строго анаэробными микроорганизмами, а непосредственно перед менструацией, количество строго анаэробных микроорганизмов в 100 раз выше количества аэробных бактерий. В то же время, другие авторы показывают, что уровни аэробных микроорганизмов на протяжении всего менструального цикла не изменяются в отличие от строго анаэробных микробов. Уровень лактофлоры при этом, остается постоянным.

В течение беременности концентрация гликогена во влагалище у женщин увеличивается, что обеспечивает благоприятные условия для жизнедеятельности лактобактерий. Поэтому уровни лактобактерий значительно повышаются по сравнению с уровнями этих бактерий во влагалище у небеременных женщин. В то же время уменьшается количество бактероидов и других неспорообразующих строгих анаэробов, а также аэробных грамположительных кокковидных и грамотрицательных палочковидных бактерий. Эти изменения достигают пика в III триместре беременности.

Морфо-функцнональные, физиологические и биохимические изменения, в генитальном тракте во время беременности приводят к тому, что вагинальная микрофлора становится более однородной с выраженным доминированием лактобактерии, что снижает вероятность контаминации плода условно-патогенными микроорганизмами при его прохождении через родовые пути.

Последующие роды приводят к существенным изменениям качественного и количественного состава микрофлоры влагалища. Существенно увеличивается количество неспорообразующих грамотрицательных строгих анаэробов (преимущественно бактероидов), эшерихий и снижаются уровни лактобактерий и бифидобактерий. Нарушения нормальной вагинальной микрофлоры способствуют развитию таких инфекционных осложнений, как эндометрит.

Эти резко наступающие изменения микрофлоры родовых путей, возможно, связаны с травмой родового канала, контаминацией влагалища кишечной микрофлорой, выделением лохий, значительным снижением уровня эстрогенов. Однако, изменения микрофлоры в этих случаях, являются транзиторными, к 6-й недели послеродового периода вагинальная микрофлора восстанавливается до нормы.

Уместно отметить, что во всём мусульманском мире существует народный обычай, по которому в дом, где имеется роженица нельзя ходить в гости пока не пройдёт «чилла», в переводе «чилла» означает- рана (т.е. рана имеющаяся в родовых путях) и она составляет 40 дней. Из этого видно, народные обычаи мусульман фактически совпадают с известными к настоящему времени научными данными.

При наступлении менопаузы в генитальном тракте, существенно снижаются уровни эстрогена и гликогена. Понижается окислительно- восстановительный потенциал. Понижается количество лактобактерий и бифидобактерий, РН среды приобретает нейтральные значения. Обедняется качественный состав микрофлоры. Понижается общий уровень бактерий. Среди выявляющихся во влагалище микроорганизмов, преобладают облигатно-анаэробные бактерии.

Таким образом, к настоящему времени установлено, что существует ряд факторов женского организма, которые контролируют и корригируют состав нормальной вагинальной микрофлоры. Вагинальная среда воздействует на микрофлору, обеспечивая условия для возможного присутствия в определённых количествах различных типов микроорганизмов, выраженные гормонозависимые изменения вагинальной физиологии на протяжении жизни женщины, а так же ежемесячно циклические изменения качественного и количественного состава вагинальной микрофлоры.

Таблица 4.4

Физиологическое состояние влагалища у здоровых женщин на протяжении жизни

Возрастной период Показатели	**Беременность Новорожденность**	**Препубертатный**	**Постпубертатный**	**Постменопаузальный**
Уровень эстрогенов	+++ высокий	+ Низкий	+++ высокий	
Значение pH	Кислое	нейтральное	кислое	нейтральное
Окислительно-восстановительный потенциал	Повышен	Снижен	Повышен	Снижен
Содержание гликогена	Очень высокое ++++	Низкое +	Высокое +++	Низкое +
Облигатные анаэробы	Не преобладают	Преобладают	Не преобладают	Преобладают
Общее количество бактерий	Повышено	Понижено	Повышено	Понижено
Разнообразие микроорганизмов	Повышено	Понижено	Повышено	Понижено

Нормальная вагинальная микрофлора

Первое обширное исследование вагинальной микрофлоры у женщин было проведено Doderlein. Doderlein и его современники считали, что вагинальная микрофлора состоит только из грамположительных бацилл. Бациллы Додерляйна, известные сейчас, как члены рода лактобактерий, являются преобладающими микроорганизмами в нормальной постпубертатной вагинальной микрофлоре.

В тех случаях, когда исследователи выявляли гетерогенность вагинальной микрофлоры, они оценивали это состояние, как отклонение от нормы, рассматривая влагалище у этих женщин, как нездоровое. В течение последующих десятилетий во влагалище обнаруживали разнообразные микроорганизмы, включая дифтероиды, полиформные, аэробные грамположительные кокки и другие условно-патогенные микроорганизмы. Во всех проведенных исследованиях было показано, что лактобактерий присутствуют в норме в вагинальной микрофлоре практически у всех здоровых женщин, занимая при этом доминирующее положение. В 1973 году Gorbach и др. в своей работе четко определили, что анаэробные бактерии являются важной составной частью нормальной генитальной микрофлоры.

В настоящее время установлено, что вагинальная микрофлора включает в себя грамположительные и грамотрицательные аэробные, факультативно-анаэробные и облигатно-анаэробные микроорганизмы (Isenberg H.D. 1995).

Отделяемое влагалища в норме содержит 10^8- 10^{10} микроорганизмов в 1 мл, при этом аэробные бактерии составляют 10^5-10^8, анаэробные – 10^8-10^9 *КОЕ/мл (*КОЕ/мл.- колониеобразующих единиц в 1 мл исследуемого материала). Доминируют в микробном пейзаже влагалища и шейки матки лактобактерии (палочки Doderlein). H_2O_2 – продуцирующие лактобактерии преобладают во влагалище здоровых женщин репродуктивного возраста, составляя около 90-95% всех микроорганизмов. Они высеваются в 71-100% случаев и их количество достигает 10^6-10^9 КОЕ\мл. К микрофлоре Doderlein, кроме лактобактерий, относятся также бифидобактерии. У беременных бифидобактерии встречаются чаще и этот факт расценивается как реакция на отсутствие или угнетение лактобактерий.

К. грамположительным палочковидным бактериям, колонизирующим влагалище, помимо лактобактерий относятся *Bifidobacterium spp., Actinomyces spp., Propionibacterium spp., Eubacterium spp., Corynebacterium spp., GardnerelIa vaginalis, Mobiluncus spp.*

Грамположительные кокки – морфологическая группа бактерий, вторая по частоте встречаемости среди микроорганизмов, присутствующих в норме во влагалище. Каталазапозитивные, коагулазонегативные *Staphilococcus epidermidis* и новобиоцинрезистентные *Staphilococcus saprophiticus* были выделены у 62% здоровых женщин. *Micrococcus varians* (строгие анаэробы, *Streptococci spp.* и *enterococcus spp.* присутствуют у 30-40% клинически здоровых женщин.

Стрептококки, присутствующие в норме во влагалище здоровых женщин относятся к трем основным группам: стрептококки группы viridans («зеленящие» стрептококки, ? – гемолитические стрептококки), стрептококки серологической группы D (энтерококки).

Грамположительные анаэробные кокки выделяются из влагалища здоровых женщин на протяжении всех периодов жизни с частотой 30-80%. Группа *Peptostreptococcus spp.* включает в себя всех членов рода, ранее известных, как *Peptococcus (за* исключением *P. niger)* и все грамположительные анаэробные кокки, ранее идентифицированные как *Gqfftya anaerobia.* Наиболее часто выделяются *P. asaccharolyticus.* Они определяются в вагинальной среде у здоровых женщин в 80% случаев, другие пептострептококки выявляются только у 15-20% здоровых женщин.

Грамотрицательные строго анаэробные палочковидные бактерии, такие, как *Prevotella spp.. Porphyromonas spp., Bacteroides spp., Fusobacterium spp.* присутствуют во влагалище у 14-40% клинически здоровых женщин.

Наиболее часто выделяемыми из влагалища здоровых женщин являются *Prevotella melanmogemca* и *P. oralis.* Все эти микроорганизмы, а также упоминавшиеся выше *Gardnerella vaginalis, Mobiluncus spp.* имеют отношение к патогенезу бактериальных вагинозов. При развитии бактериальных вагинозов уровни микробных популяций вышеназванных таксономических групп микроорганизмов повышаются в 100-1000 раз по сравнению с нормой.

Энтеробактерии, индигенные для желудочно-кишечного тракта чело века, а также псевдомонады выделяются в норме из влагалища редко и в небольших количествах. *Escherichia coli* определяются у 9% здоровых взрослых женщин. Другие представители семейства *Enterobacteriaceae* такие как *Klebsiella spp., Citrobacter spp.. Enterobacter spp.* выделяются редко.

Грамотрицательные кокки: *Veilonllea spp. и Neisseria spp.* во влагалище у клинически здоровых женщин определятся редко.

Mycoplasma spp. и *Ureaplasma spp.* – мельчайшие из известных микробов, способных расти на питательных средах и обладающих неразвитой клеточной стенкой, также колонизируют влагалище у женщин. *Ureaplasma iirealiticiim* заселяют влагалище у 54% здоровых женщин, хотя вероятность их присутствия находится в прямой зависимости от сек-

суальной активности. *Mycoplasma hominis* выделяются из влагалища у здоровых женщин в 14% случаев, в то время как *Mycoplasma fermentans* определяются редко.

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* C. *albicans* , *C. tropicalis* и *Torulopsis glabrata* (ранее *Candida glabrata)* выявляются во влагалище у здоровых женщин в 15-20% случаев. *Candida albicans* наиболее характерный вид, определяемый у 80-90% женщин, колонизированных дрожжеподобными грибами рода *Candida.*

Результаты количественного анализа показывают, что в целом анаэробные микроорганизмы превалируют над аэробными и факультативно- анаэробными. Среди аэробных бактерий наиболее часто выявляются дифтероиды, стафилококки, стрептококки, а среди анаэробных – лактобактерии, бифидобактерии, пептострептококки, превотеллы и бактероиды.

Вагинальной микрофлоре присущи ферментативная, витаминообразующая, иммуностимулирующая и другие функции. Вследствие этого, рассматривается как индикатор нормального состояния клеточной стенки влагалища.

Защитные свойства эндогенной микрофлоры влагалища реализуются посредством следующих механизмов:

- блокирования рецепторов адгезии для посторонних микроорганизмов.
- конкуренции с последними за пищевые субстанции;
- стимуляции подвижности эпителия слизистых и процесса его обновления на поверхности ворсинок;
- продукции короткоцепочечных жирных кислот, перекисей, бактериоцинов, лизоцима и других антимикробных субстанций;
- детоксикации ксенобиотиков (в том числе, микробного происхождения) за счет их адсорбции или биотрансформации;
- индукции иммунного ответа по отношению к патогенным микроорганизмам;
- продукции стимуляторов иммуногенеза и активаторов фагоцитарной и ферментативной активности.

В целом, спектр бактериальных изолятов, выделенных из генитального тракта у женщин, чрезвычайно широк.

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА МИКРОБЫ

Физические, химические и биологические факторы окружающей среды оказывают различное воздействие на микроорганизмы: бактерицидное – приводящее к гибели клетки; бактериостатическое – подавляющее размножение микроорганизмов; мутагенное – изменяющее наследственные свойства микробов.

5.1. Влияние физических факторов

Влияние температуры. Представители различных групп микроорганизмов развиваются при определенных диапазонах температур. Бактерии, растущие при низкой температуре, называют психрофилами; при средней (около 37 °С) – мезофилами; при высокой – термофилами.

Психрофильные микроорганизмы растут при температуре от -10 до 40 °С; температурный оптимум колеблется от 15 до 40 °С, приближаясь к температурному оптимуму мезофильных бактерий. К психрофилам относится большая группа сапрофитов – обитателей почвы, морей, пресных водоемов и сточных вод (железобактерии, псевдомонады, светящиеся бактерии, бациллы). Некоторые психрофилы могут вызывать порчу продуктов питания на холоде. Способностью расти при низких температурах обладают и некоторые патогенные бактерии (возбудитель псевдотуберкулеза размножается при температуре 4 °С, а возбудитель чумы – в диапазоне от О до 40 °С при оптимуме роста 25 °С). В зависимости от температуры культивирования свойства бактерий меняются. Так, *Serratia marcescens* образует при температуре 20 – 25 °С большее количество красного пигмента (продигиозана), чем при температуре 37 °С. Возбудитель чумы, выращенный при 25 °С, вирулентнее, чем при 37 °С. Синтез полисахаридов, в том числе, капсульных, активизируется при более низких температурах культивирования.

Мезофилы растут в диапазоне температур от 10 до 47 °С, оптимум роста около 37 °С. Они включают в себя основную группу патогенных и условно-патогенных бактерий.

Термофильные бактерии развиваются при более высоких температурах (от 40 до 90 °С). На дне океана в горячих сульфидных водах живут бактерии, развивающиеся при температуре 250-300° С и давлении 265 атм. Термофилы обитают в горячих источниках, участвуют в процессах самонагревания навоза, зерна, сена. Наличие большого количества термофилов в почве свидетельствует о ее загрязненности навозом и компостом. Поскольку навоз наиболее богат термофилами, их рассматривают как показатель загрязненности почвы.

Температурный фактор учитывается при осуществлении стерилизации. Вегетативные формы бактерий погибают при температуре 60 °С в течение 20 – 30 мин., споры – в автоклаве при 120 °С в условиях пара под давлением.

Микроорганизмы хорошо переносят действие низких температур. Поэтому их можно долго хранить в замороженном состоянии, в том числе, при температуре жидкого азота (-173 °С).

Высушивание. Обезвоживание вызывает нарушение функций большинства микроорганизмов. Наиболее чувствительны к высушиванию возбудители гонореи, менингита,

холеры, брюшного тифа, дизентерии и другие патогенные микроорганизмы. Более устойчивыми являются микроорганизмы, защищенные слизью мокроты. Так, бактерии туберкулеза в мокроте выдерживают высушивание до 90 дней. Устойчивы к высушиванию некоторые капсуло- и слизеобразующие бактерии. Особой устойчивостью обладают споры бактерий. Например, споры возбудителя сибирской язвы могут сохраняться в почве столетиями.

Для продления жизнеспособности, при консервировании микроорганизмов, используют лиофилизацию – высушивание под вакуумом из замороженного состояния. Лиофилизированные культуры микроорганизмов и иммунобиологические препараты длительно (в течение нескольких лет) сохраняются, не изменяя своих первоначальных свойств.

Действие излучения. Ионизирующее излучение применяют для стерилизации одноразовой пластиковой микробиологической посуды, питательных сред, перевязочных материалов, лекарственных препаратов и др. Однако, имеются бактерии, устойчивые к действию ионизирующих излучений, например, *Micrococcus radiodurans* был выделен из ядерного реактора.

Неионизирующее излучение -- ультрафиолетовые и инфракрасные лучи солнечного света, а также, ионизирующее излучение – гамма-излучение радиоактивных веществ и электроны высоких энергий губительно действуют на микроорганизмы уже через короткий промежуток времени.

Ультрафиолетовые лучи, достигающие поверхности земли, имеют длину волны 290 нм. УФ-лучи применяют для обеззараживания воздуха и различных предметов в больницах, родильных домах, микробиологических лабораториях. С этой целью используют бактерицидные лампы ультрафиолетового излучения с длиной волны 200–400 нм.

Влияние химических веществ

Химические вещества могут оказывать различное действие на микроорганизмы: служить источниками питания; не оказывать какого-либо влияния; стимулировать или подавлять рост, вызывать гибель. Антимикробные химические вещества используются в качестве антисептических и дезинфицирующих средств, так как обладают бактерицидным, вирулицидным, фунгицидным действием и т.д.

Химические вещества, используемые для дезинфекции, относятся к различным группам, среди которых наиболее широко представлены хлор-, йод- и бромсодержащие соединения и окислители.

Влияние биологических факторов

Микроорганизмы находятся в различных взаимоотношениях друг с другом. Совместное существование двух различных организмов называется *симбиозом* (от греч. *simbiosis* – совместная жизнь). Различают несколько вариантов полезных взаимоотношений: метабиоз, мутуализм, комменсализм, сателлизм.

Метабиоз – взаимоотношение микроорганизмов, при котором один из них использует для своей жизнедеятельности продукты жизнедеятельности другого. Метабиоз характерен для почвенных нитрифицирующих бактерий, использующих для своего метаболизма аммиак – продукт жизнедеятельности аммонифицирующих почвенных бактерий.

Мутуализм – взаимовыгодные взаимоотношения разных организмов. Примером мутуалистического симбиоза являются лишайники – симбиоз гриба и сине-зеленой водорос-

ли. Получая от клеток водоросли органические вещества, гриб, в свою очередь, поставляет им минеральные соли и защищает от высыхания.

Комменсализм (от лат. *commensalis* – сотрапезник) – сожительство особей разных видов, при котором выгоду из симбиоза извлекает один вид, не причиняя другому вреда. Комменсалами являются бактерии – представители нормальной микрофлоры человека

Сателлизм – усиление роста одного вида микроорганизма под влиянием другого вида микроорганизма. Например, колонии дрожжей или сарцин, выделяя в питательную среду метаболиты, стимулируют рост вокруг них колоний других микроорганизмов. При совместном росте нескольких видов микроорганизмов могут активизироваться их физиологические функции и свойства, что приводит к более быстрому воздействию на субстрат.

Антагонистические взаимоотношения или антагонистический симбиоз, выражаются в виде неблагоприятного воздействия одного вида микроорганизма на другой, приводящего к повреждению и даже гибели последнего. Микроорганизмы-антагонисты распространены в почве, воде и в организме человека и животных. Хорошо известна антагонистическая активность против посторонней и гнилостной микрофлоры представителей нормальной микрофлоры толстого кишечника человека – бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки и др.

Механизм антагонистических взаимоотношений разнообразен. Распространенной формой антагонизма является образование антибиотиков – специфических продуктов обмена микроорганизмов, подавляющих развитие микроорганизмов других видов. Существуют и другие проявления антагонизма, например, большая скорость размножения, продукция *бактериоцинов,* в частности, *колицинов,* продукция органических кислот и других продуктов, изменяющих pH среды.

Антагонизм может развиваться в форме *конкуренции,* в основном, за счёт источника питания: интенсивно развиваясь и истощая питательную среду, микроорганизм-антагонист подавляет рост других микроорганизмов. При *хищничестве* микроорганизм, например, амеба кишечника, захватывает и переваривает бактерии кишечника. Наконец, такая форма антагонизма, когда микроорганизм использует другой организм как источник питания, называется *паразитизмом.* Примером паразитизма является взаимоотношение бактериофага и бактерии, а также взаимоотношение бделловибрионов (маленькие бактерии, паразиты обычных грамотрицательных бактерий).

5.2. Уничтожение микробов в окружающей среде

Для уничтожения микробов (бактерий, вирусов, грибов и простейших) на различных предметах и в материалах, используемых в медицине, в пищевой промышленности и в быту, применяют два способа: стерилизацию и дезинфекцию.

Стерилизация

Стерилизация (от лат. *sterilis* – бесплодный) предполагает полную инактивацию микробов в объектах, подвергающихся обработке.

Существует три основных метода стерилизации: тепловой, лучевой, химической.

Тепловая стерилизация основана на чувствительности микробов к высокой температуре. При 60 °С и наличии воды происходит денатурация белка, деградация нуклеиновых кислот, липидов, вследствие чего, вегетативные формы микробов погибают. Споры, содержащие очень большое количество воды в связанном состоянии и обладающие плотными оболочками, инактивируются при 160–170 °С.

Для тепловой стерилизации применяют, в основном, сухой жар и пар под давлением.

Стерилизацию сухим жаром осуществляют в воздушных стерилизаторах (прежнее название – «сухожаровые шкафы или печи Пастера»). Воздушный стерилизатор представляет собой металлический плотно закрывающийся шкаф, нагревающийся с помощью электричества и снабженный термометром. Обеззараживание материала в нем производят, как правило, при 160 °С в течение 120 мин. Однако, возможны и другие режимы: 200 °С – 30 мин, 180 °С – 40 мин.

Стерилизуют сухим жаром лабораторную посуду и другие изделия из стекла, инструменты, силиконовую резину, т.е. объекты, которые не теряют своих качеств при высокой температуре.

Большая часть стерилизуемых предметов не выдерживает подобной обработки и поэтому их обеззараживают в паровых стерилизаторах.

Обработка паром под давлением в паровых стерилизаторах (старое название – «автоклавы») является наиболее универсальным методом стерилизации.

Паровой стерилизатор (существует множество его модификаций) – металлический цилиндр с прочными стенками, герметически закрывающийся, состоящий из водопаровой и стерилизующей камер. Аппарат снабжен манометром, термометром и другими контрольно-измерительными приборами. В автоклаве создается повышенное давление, что приводит к увеличению температуры кипения (табл. 5.1).

Таблица 5.1

Зависимость температуры кипении от атмосферного давления

0,5 атм,	80 °С
1 атм	100 °С
2 атм	121 °С
3 атм	136 °С

Поскольку, кроме высокой температуры, на микробы оказывает воздействие и пар, споры погибают уже при 120 °С. Наиболее распространенный режим работы парового стерилизатора: 2 атм – 121 °С – 15 – 20 мин. Время стерилизации уменьшается при повышении атмосферного давления, а следовательно, и температуры кипения (136 °С – 5 мин). Микробы погибают за несколько секунд, но обработку материала производят в течение большего времени, так как, во-первых, высокая температура должна быть и внутри стерилизуемого материала и во-вторых, существует так называемое, поле безопасности (рассчитанное на небольшую неисправность автоклава).

Стерилизуют в автоклаве большую часть предметов: перевязочный материал, белье, коррозионно-устойчивые металлические инструменты, питательные среды, растворы, инфекционный материал и т.д.

Эффективность стерилизации в паровом стерилизаторе зависит от правильного выбора упаковки, соблюдения правил загрузки для свободного прохождения пара (например, перевязочный материал укладывают в камеру параллельно движению пара), плотности загрузки камеры и других факторов.

Одной из разновидностей тепловой стерилизации является дробная стерилизация, которую применяют для обработки материалов, не выдерживающих температуру выше 100 °С, например, для стерилизации питательных сред с углеводами, желатина. Их нагревают в водяной бане при 80°С в течение 30–60 мин., в результате чего, вегетативные формы

погибают. Процедуру повторяют три дня подряд, в промежутках между манипуляциями питательные среды выдерживают в термостате, что способствует прорастанию спор. Иногда эту процедуру производят в автоклаве при давлении 0,5 атм.

В настоящее время применяют еще один метод тепловой стерилизации, предназначенный специально для молока – ультравысокотемпературный (УВТ): молоко обрабатывают в течение нескольких секунд при 130 – 150 °С.

Тепловая стерилизация – наиболее надежный, экологически безопасный, дешевый и хорошо контролируемый метод. Однако, его невозможно применять тогда, когда предметы повреждаются от высокой температуры. В этих случаях прибегают к другим методам.

Химическая стерилизация предполагает использование токсичных газов: оксида этилена, смеси ОБ (смеси оксида этилена и бромистого метила в весовом соотношении 1:2,5) и формальдегида. Эти вещества являются ал-килирующими агентами, их способность в присутствии воды инактивировать активные группы в ферментах, других белках, ДНК и РНК приводит к гибели микроорганизмов.

Стерилизация газами осуществляется в присутствии пара при температуре от 18 до 80 °С в специальных камерах. В больницах используют формальдегид, в промышленных условиях – оксид этилена и смесь ОБ.

Перед химической стерилизацией все изделия, подлежащие обработке, должны быть высушены.

Этот вид стерилизации небезопасен для персонала, для окружающей среды и для пациентов, пользующихся простерилизованными предметами (большинство стерилизующих агентов остается на предметах).

Однако, существуют объекты, которые могут быть повреждены нагреванием, например, оптические приборы, радио- и электронная аппаратура, предметы из нетермостойких полимеров, питательные среды с белком и т. п., для которых пригодна только химическая стерилизация. Например, космические корабли и спутники, укомплектованные точной аппаратурой, для их деконтаминации обезвреживают газовой смесью (оксид этилена и бромистого метила).

В последнее время, в связи с широким распространением в медицинской практике изделий из термолабильных материалов, снабженных оптическими устройствами, например, эндоскопов, стали применять обезвреживание с помощью химических растворов. После очистки и дезинфекции прибор помещают на определенное время (от 45 до 60 мин.) в стерилизующий раствор, затем прибор должен быть отмыт стерильной водой. Для стерилизации и отмывки используют стерильные емкости с крышками. Простерилизованное и отмытое от стерилизующего раствора изделие высушивают стерильными салфетками и помещают в стерильную емкость. Все манипуляции проводят в асептических условиях и в стерильных перчатках. Хранят эти изделия не более 3 суток.

Лучевая стерилизация осуществляется либо с помощью гамма-излучения, либо с помощью ускоренных электронов.

Источником гамма-излучения, получаемого в специальных гамма-установках, являются радиоактивные изотопы, например, ^{60}Co, ^{137}Cs. Для получения электронного излучения применяют ускорители электронов (с высоким уровнем энергии – 5 – 10 MeV).

Гибель микробов под действием гамма-лучей и ускоренных электронов происходит, прежде всего, в результате повреждения нуклеиновых кислот. Причем, микробы более устойчивы к облучению, чем многоклеточные организмы.

Лучевая стерилизация является альтернативой газовой стерилизации в промышленных условиях, и применяют ее также в тех случаях, когда стерилизуемые предметы не выдерживают высокой температуры. Лучевая стерилизация позволяет обрабатывать сра-

зу большое количество предметов (например, одноразовых шприцев, систем для переливания крови). Благодаря возможности широкомасштабной стерилизации, применение этого метода вполне оправданно, несмотря на его экологическую опасность и неэкономичность.

Еще одним способом стерилизации является фильтрование. Фильтрование с помощью различных фильтров (керамических, асбестовых, стеклянных), а в особенности, мембранных ультрафильтров из коллоидных растворов нитроцеллюлозы или других веществ, позволяет освободить жидкости (сыворотку крови, лекарства) от бактерий, грибов, простейших и даже вирусов. Для ускорения процесса фильтрации обычно создают повышенное давление в емкости с фильтруемой жидкостью или пониженное давление в емкости с фильтратом.

В настоящее время, все более широкое применение находят современные методы стерилизации, созданные на основе новых технологий, с использованием плазмы, озона.

Микробиологический контроль объектов, подвергшихся стерилизации, в повседневной практике, не производится. Его заменяет косвенный контроль – контроль работы стерилизаторов, который осуществляется несколькими способами. Во-первых, персонал должен строго соблюдать и документировать установленный режим стерилизации, который обеспечивает гибель микробов. Во-вторых, косвенно о поддержании определенной температуры можно судить по изменению окраски химических индикаторов (либо индикаторных бумажек, либо порошков, жидкостей – бензойной кислоты, мочевины, запаянных в ампулы), которые помещают на поверхности и в глубине стерилизуемого объекта. В-третьих, должен регулярно проводиться технический контроль аппаратуры соответствующей службой. В-четвертых, три раза в год осуществляют биологический контроль, помещая внутрь стерилизуемых предметов биотесты, приготовленные из термоустойчивых бацилл Bac. stearothermophilus ВКМ-718.

Для проведения микробиологического контроля производят посев кусочков материала, смывов с предметов, подвергшихся стерилизации, на среды, позволяющие обнаружить аэробные и анаэробные бактерии, грибы (сахарный бульон, тиогликолевую среду, среду Сабуро). Отсутствие роста после 14 дней инкубации в термостате свидетельствует о стерильности предмета. Более тщательный контроль стерильности осуществляют в промышленных условиях, отбирая случайным методом некоторое количество образцов.

После процедуры стерилизации должна сохраняться стерильность, которую поддерживают с помощью упаковки: полимерной пленки, бумаги, фольги, биксов, металлических пеналов и др.

Существует общий стандарт для всех видов стерилизации, принятый Европейской Фармакопеей в 1983 г.: после завершения стерилизации на лечебном материале может оставаться некоторое количество жизнеспособных микроорганизмов – 1 из 10^6.

Дезинфекция

Дезинфекция (от франц. приставки *des,* обозначающей удаление, уничтожение инфекционного начала) – процедура, предусматривающая обработку загрязненного микробами предмета с целью их уничтожения до такой степени, чтобы они не смогли вызвать инфекцию при использовании данного предмета. Как правило, при дезинфекции погибает большая часть микробов (в том числе, все патогенные), однако, споры и некоторые резистентные вирусы могут остаться в жизнеспособном состоянии.

Стерилизация – лучший способ обеззараживания. Однако, если отсутствует возможность подвергнуть предмет стерилизации, проводится дезинфекция. Например, нельзя

простерилизовать бокс, в котором ведутся работы с заразным материалом, операционный стол, руки хирурга или оптиковолоконные микроскопы.

После дезинфекции, в отличие от стерилизации, нет необходимости защищать продезинфицированный материал от попадания микробов извне. До стерилизации предмет необходимо тщательно очистить от грязи, крови, химических веществ (в том числе, и лекарств) и вымыть, чтобы сократить количество микробов на нем. Дезинфекция нередко выполняется перед процедурой чистки для обеспечения безопасности медперсонала.

Различают три основных метода дезинфекции: тепловой, химический, УФ-облучение. Выбор того или иного метода также зависит от дезинфицируемого материала.

Тепловая дезинфекция. Очень эффективным является действие горячей воды и насыщенного пара. Рекомендуется следующее время воздействия: при 80 °С – 10 мин, при 85 °С – 3 мин, при 90 °С – 1 мин. При этом режиме погибают все вегетативные формы бактерий и большинство вирусов. Температура 100 °С в течение 5 мин. убивает все вегетативные формы бактерий и все вирусы.

При добавлении в воду 2% натрия гидрокарбоната ($NaHCO_3$) погибают и споры. Кроме того, добавление соды имеет дополнительные преимущества: сода растворяет белки и жиры, которые могут находиться на поверхности предмета, предупреждает коррозию инструментов и оседание на них кальция. Подобным образом, можно обрабатывать инструменты, иглы, шприцы и т.д.

Более удобным является применение автоматических моечных машин, в которых предметы сначала промываются в холодной воде, затем – в теплой с детергентом, далее – в чистой и, наконец, дезинфицируются в дистиллированной воде *при 90 °С.*

Обычные процессы стирки белья, приготовление пищи и кипячение питьевой воды являются примером использования дезинфекции в быту.

Для дезинфекции применяют также сухое тепло, например, прокаливание.

Тепловая дезинфекция – это единственный метод, который не вызывает загрязнения окружающей среды; кроме того, он является наиболее эффективным и дешевым.

Разновидностью тепловой дезинфекции является пастеризация – метод, созданный Л. Пастером и применяемый для обработки в основном молока, а также соков, вина и пива. При используемом обычно режиме – 60 – 70 °С в течение 20 – 30 мин. – погибает большинство вегетативных форм бактерий (особенно важно уничтожение бруцелл и *Mycobacterium bovis,* которые могут находиться в молоке), но сохраняется часть энтерококков, молочнокислых бактерий и споры. Поэтому пастеризованное молоко помещают на холод для предотвращения и прорастания спор и размножения бактерий.

Химическая дезинфекция проводится с помощью различных дезинфицирующих веществ. Дезинфектанты действуют, например, растворяя липиды клеточных оболочек (детергенты) или разрушая белки и нуклеиновые кислоты (денатураты, оксиданты). Активность каждого из дезинфектантов неодинакова для различных микроорганизмов и зависит от температуры, pH и прочих условий.

В качестве контрольных микроорганизмов для изучения действия дезинфектантов используют *S.* typhi и *S. aureus.*

Обеззараживанию с помощью данного метода подлежат, например, поверхность операционного стола, стены процедурного кабинета, кожа, некоторые инструменты – все то, что невозможно обработать теплом. Еще одним примером химической дезинфекции является хлорирование воды.

Использование большинства дезинфицирующих веществ опасно для медперсонала, они загрязняют окружающую среду, многие из них дорогостоящи.

Ультрафиолетовое облучение (лучи с длиной волны 200–400 нм) производится с *помощью специальных бактерицидных ламп* (настенных, потолочных, *передвижных и др.) для* обеззараживания воздуха, различных поверхностей в операционных, *перевязочных,* микробиологических лабораториях, предприятиях пищевой промышленности и т.д. Действие ультрафиолетовых лучей приводит к разрушению ДНК микробов в результате образования тиминовых димеров.

Очень незначительна роль механической дезинфекции: проветривания, вентиляции, обработки пылесосом и т. п.

Различают профилактическую дезинфекцию в эпидемическом очаге, которая осуществляется с целью предупреждения распространения различных болезней. При возникновении эпидемического очага проводят текущую (во время вспышки) и заключительную (после ее окончания) дезинфекцию; подобные процедуры проводятся, как в медицинских учреждениях, так и за их пределами.

Асептика и антисептика

Для профилактики внутрибольничных, и в особенности, хирургических инфекций применяют асептику и антисептику.

Асептика, основоположником которой является Д. Листер (1867), – это комплекс мер, направленных на предупреждение попадания возбудителя инфекции в рану, органы больного при операциях, лечебных и диагностических процедурах. Методы асептики применяют для борьбы с экзогенной инфекцией, источниками которой являются больные и бактерионосители.

Асептика включает: стерилизацию и сохранение стерильности инструментов, перевязочного материала, операционного белья, перчаток и всего, что приходит в соприкосновение с раной; дезинфекцию рук хирурга, операционного поля, аппаратуры, операционной и других помещений, применение специальной одежды, масок. К мерам асептики относится также планировка операционных (этаж, боксирование, вентиляция, кондиционирование воздуха и т. п.).

Методы асептики находят также применение в микробиологических производствах, на предприятиях пищевой промышленности.

Антисептика – совокупность мер, направленных на уничтожение микробов в ране, патологическом очаге или организме в целом, на предупреждение или ликвидацию воспалительного процесса. Первые элементы антисептики были предложены И. Земмельвейсом в 1847 г.

Антисептика включает различные методы: механические (удаление инфицированных некротизированных тканей, инородных тел и т.д.), физические (дренирование ран, введение тампонов, наложение гигроскопических повязок), химические (применение антисептиков), биологические (использование протеолитических ферментов для лизиса нежизнеспособных клеток, применение бактериофагов, антибиотиков). Обычно применяют комплекс этих методов.

5.3. Санитарная микробиология

Санитарная микробиология – раздел медицинской микробиологии, изучающий микроорганизмы, содержащиеся в окружающей среде и способные оказывать неблагоприятное воздействие на состояние здоровья человека. Она разрабатывает микробиологические показатели гигиенического нормирования, методы контроля за эффективностью обезза-

раживания объектов окружающей среды, а также выявляет в объектах окружающей среды патогенные, условно-патогенные и санитарно-показательные микроорганизмы.

Обнаружение *патогенных микроорганизмов* позволяет дать оценку эпидемиологической ситуации и принять соответствующие меры по борьбе и профилактике инфекционных заболеваний.

Условно-патогенные микроорганизмы способны вызывать гнойно-воспалительные процессы в ослабленном организме. Кроме того, они могут попадать в продукты питания, быстро размножаться с накоплением большого количества микробных клеток и их токсинов, вызывая у людей пищевые отравления микробной этиологии.

Санитарно-показательные микроорганизмы используют в основном для косвенного определения возможного присутствия в объектах окружающей среды патогенных микроорганизмов. Их наличие свидетельствует о загрязнении объекта выделениями человека и животных, так как они постоянно обитают в тех же органах, что и возбудители заболеваний и имеют общий путь выделения в окружающую среду. Например, возбудители кишечных инфекций имеют общий путь выделения (с фекалиями) с такими санитарно-показательными бактериями, как бактерии группы кишечной палочки – БГКП (в эту группу, кроме кишечной палочки, входят сходные по свойствам бактерии родов *Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella),* энтерококки, клостридии перфрингенс. Возбудители воздушно-капельных инфекций имеют общий путь выделения с бактериями (кокками), постоянно обитающими на слизистой оболочке верхних дыхательных путей, выделяющимися в окружающую среду (при кашле, чиханье, разговоре), поэтому в качестве санитарно-показательных бактерий для воздуха закрытых помещений предложены гемолитические стрептококки и золотистые стафилококки. Санитарно-показательные микроорганизмы должны отвечать следующим основным требованиям:

— должны обитать только в организме людей или животных и постоянно обнаруживаться в их выделениях;

— не должны размножаться или обитать в почве и воде;

— сроки их выживания и устойчивость к различным факторам после выделения из организма в окружающую среду должны быть равными или превышать таковые у патогенных микробов;

— их свойства должны быть типичными и легко выявляемыми для их дифференциации;

— методы их обнаружения и идентификации должны быть простыми, методически и экономически доступными;

— должны встречаться в окружающей среде в значительно больших количествах, чем патогенные микроорганизмы;

— в окружающей среде не должно быть близко сходных обитателей – микроорганизмов.

Кроме определения патогенных, условно-патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов, в практике санитарно-микробиологических исследований используется определение общего *микробного числа,* т.е. общего количества микроорганизмов в определенном объеме или определенной массе исследуемого материала (вода, почва, продукты питания, лекарственная форма и др.).

Микробиологический контроль почвы, воды, предметов обихода

Загрязненность почвы, воды, воздуха и других объектов определяется по общей микробной обсемененности и обнаружению *санитарно-показательных микроорганизмов* – индикаторов наличия выделений человека или животных. В воде регистрируют *кишечную палочку, БГКП (колиформные палочки), энтерококк, стафилококки;* в почве – *кишечную палочку, БГКП (колиформные палочки), клостридии перфрингенс, термофилы;* на предметах обихода – *БГКП (колиформные палочки), золотистый стафилококк, энтерококк.*

На основании количественного выявления этих санитарно-показательных бактерий вычисляются *индекс БГКП* ("число БГКП в 1 л воды), *перфрингенс-титр, титр энтерококка* и т.д. Так, например, титр энтерококка воды – это наименьшее количество воды, в котором определяется энтерококк.

К бактериям группы кишечной палочки относят грамотрицательные палочки, сбраживающие с образованием кислоты и газа лактозу или глюкозу при температуре 37°С в течение 24–48 ч. и не обладающие оксидазной активностью. Наиболее часто этот показатель применяют как индикатор фекального загрязнения воды. Другой сходный показатель фекального загрязнения – общие колиформные бактерии: грамотрицательные, оксида-заотрицательные палочки, ферментирующие лактозу или маннит (глюкозу) с образованием альдегида, кислоты и газа при температуре 37°С в течение 24 часов. Вместо последнего термина предлагается использовать термин «бактерии семейства Enterobacteriaceae», так как все бактерии этого семейства имеют индикаторное значение. К бактериям семейства Enterobacteriaceae относятся грамотрицательные, оксидазаотрицательные палочки, растущие на лактозосодержащих средах типа среды Эндо и ферментирующие глюкозу до кислоты и газа при температуре 37°С в течение 24 часов; *колиформные бактерии (палочки).*

При бактериальном загрязнении воды свыше допустимых норм следует провести дополнительное исследование на наличие бактерий -показателей свежего фекального загрязнения. К таким бактериям относят *термотолерантные колиформные бактерии, фекальные кишечные палочки,* ферментирующие лактозу до кислоты и газа при температуре 44 °С в течение 24 часов и не растущие на цитратной среде. О свежем фекальном загрязнении свидетельствует также выявление *энтерококка.* На давнее фекальное загрязнение указывают отсутствие БГКП и наличие определенного количества *клостридии перфрингенс,* т.е. наиболее устойчивых спорообразующих бактерий.

В соответствии с нормативными документами регламентируются следующие *нормативы микробиологических показателей питьевой воды при централизованном водоснабжении:*

1. **Общее микробное число воды** не должно превышать 100 микробов в 1 мл исследуемой воды;
2. **Общие колиформные бактерии** должны отсутствовать в 100 мл исследуемой воды;
3. **Термотолерантные колиформные бактерии** должны отсутстовать в 100 мл исследуемой воды;
4. **Колифаги** не должны определяться в 100 мл исследуемой воды (учет по бляшкообразующим единицам);
5. **Споры сульфитредуцирующих клостридий** не должны определяться в 20 мл исследуемой воды;
6. **Цисты лямблий** не должны определяться в 50 мл исследуемой воды.

Кроме того, загрязненность воды оценивается по обнаружению патогенных микробов с фекально-оральным механизмом передачи (энтеровирусы, энтеробактерии, холерные вибрионы и др.).

Оценка фекального загрязнения почвы и его давности проводится по индексу БГКП (количество БГКП в 1 г почвы), перфрингенс-титру (наименьшее количество почвы, в котором обнаруживается *Clostridium perfringens),* а иногда и по титру энтерококков. Параллельно определяется микробное число почвы. Загрязненность почвы навозом и компостом оценивается по титру термофилов – бактерий, вырастающих на мясо – пептонном агаре при 60 °С в течение 24 часов.

Существуют следующие *критерии оценки степени загрязнения почвы:*

1. **Титр БГКП и перфрингенс-титр** для сильно загрязненных почв – соответственно 0.009 и ниже, 0,00009 и ниже; для чистых почв – коли-титр 1,0 и выше, перфрингенс-титр – 0,01 и выше.

2. Количество термофилов (на 1 г почвы; культивирование при температуре 60°С): в чистых почвах – 100 – 1000, в загрязненных – 1000-10 000, а в сильно загрязненных – 100 000 – 400 000 колониеобразующих единиц (КОЕ).

Санитарный надзор за состоянием *объектов общественного питания, аптек, лечебных* и *детских учреждений* осуществляется исследованием смывов с рук персонала, посуды, поверхности столов, оборудования и др. Смыв высевают на различные питательные среды для определения микробной обсемененности, наличия БГКП, патогенных энтеробактерий, золотистого стафилококка, энтерококка, грибов рода *Candida*. Отдельно можно выявлять энтеровирусы.

Микробиологический контроль воздуха

Микробиологический контроль воздуха проводится с помощью методов естественной или принудительной седиментации микробов. Естественная седиментация (по методу Коха) проводится в течение 5–10 мин. путем осаждения микробов на поверхность твердой питательной среды в чашке Петри. Принудительная седиментация микробов осуществляется путем «посева» проб воздуха на питательные среды с помощью специальных приборов (импакторов, импинджеров, фильтров). *Импакторы* – приборы для принудительного осаждения микробов из воздуха на поверхность питательной среды (прибор Кротова, пробоотборник аэрозоля бактериологический и др.). *Импинджеры* – приборы, с помощью которых воздух проходит через жидкую питательную среду или изотонический раствор хлорида натрия.

Санитарно-гигиеническое состояние воздуха определяется по следующим микробиологическим показателям:

1. Общее количество микроорганизмов в 1 м^3 воздуха (так называемое общее микробное число, или обсемененность воздуха) – количество колоний микроорганизмов, выросших при посеве воздуха на питательном агаре в чашке Петри в течение 24 ч при 37 °С, выраженное в КОЕ;

2. Индекс санитарно-показательных микробов – количество золотистого стафилококка и гемолитических стрептококков в 1 м^3 воздуха. Эти бактерии являются представителями микрофлоры верхних дыхательных путей и имеют общий путь выделения с патогенными микроорганизмами, передающимися воздушно-капельным путем. Появление в воздухе спорообразующих бактерий – показатель загрязненности воздуха микроорганизмами почвы, а появление грамотрицательных бактерий – показатель возможного антисанитарного состояния.

Для оценки воздуха лечебных учреждений можно использовать данные из официально рекомендованных нормативных документов (табл. 5.2).

Микробиологический контроль продуктов питания

Санитарно-микробиологическое исследование продуктов питания проводится в плановом порядке и по эпидемиологическим показаниям. *В плановом порядке* проводятся исследования по следующим показателям:

1. Общее микробное число (обсеменение). *Определяют МАФАМ – мезофильные и факультативно анаэробные микроорганизмы, выросшие в виде видимых колоний на плотной питательной среде, после инкубации при* 37°С в течение 24 ч.

Таблица 5.2

Допустимые уровни бактериальной обсемененности воздуха в некоторых отделениях стационаров

Место отбора проб	Условия работы	Общее количество КОЕ в 1 м³ воздуха	Количество золотистого стафилококка в 1 м³ воздуха	Количество грамотрицательных бактерий в 1 м³ воздуха
Операционные (обеспеченные 10–20-кратным и более воздухообменом)	Подготовленные к работе	Не более 100	Не должно быть	
Реанимационные отделения (палаты)	Не более 1000	Не более 4	Не должно быть	
Процедурная	До начала работы	Не более 50	Не должно быть	
	Во время работы	Не более 2000	Не более 1 – 2	

2. Обнаружение санитарно-показательных бактерий в продуктах питания – *кишечной палочки, БГКП, энтерококка, золотистого стафилококка, бактерий группы протея, клостридий (сульфит-восстановителей).*

3. Обнаружение сальмонелл, например, при исследовании продуктов из мяса (наряду с другими показателями).

По эпидемиологическим показаниям продукты исследуют на наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов – возбудителей пищевых отравлений микробной этиологии.

Общее микробное обсеменение не определяют в кисломолочных продуктах – твороге, сметане, кефире и других, содержащих специфическую микрофлору (молочнокислые стрептококки, лактобактерии и др.). В этих продуктах исследуют молочнокислую микрофлору бактериоскопическим изучением мазков из них, окрашенных метиленовым синим. Отсутствие характерной молочнокислой микрофлоры и наличие посторонней микрофлоры (плесневые грибы, дрожжи и др.) указывают на неудовлетворительное приготовление, нарушение технологии или неправильное хранение продуктов. Исключение составляют кефир, кумыс, в которых при микроскопическом исследовании обязательно выявляются в поле зрения 2–5 дрожжевых клеток, поскольку эти продукты есть результат комбинированного брожения – молочнокислого и спиртового.

Некоторые ориентировочные микробиологические показатели приведены в табл. 5.3.

Консервированные продукты питания не должны содержать кишечную палочку, протей и патогенные микробы. При исследовании таких пищевых продуктов, как консервы овощные, рыбные, мясные, предусмотрено:

1. Обнаружение аэробных микроорганизмов.
2. Обнаружение анаэробных микроорганизмов.
3. Определение ботулинических экзотоксинов.

Микробиологический контроль лекарственных средств

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

Таблица 5.3

Ориентировочные микробиологические показатели некоторых продуктов

Продукт	Общее микробное число	Наличие БГКП (коли-титр)
Молоко, сливки,	75 000-150 000	Не менее 3
Сухое молоко	Не более 2500	Не допускается
Кефир	Не исследуется	Не менее 0,3
Полуфабрикаты из рубленого мяса (котлеты, шницели и др.)	Не более 1000	Не допускается
Жареная и печеная рыба	Не более 1000	Не должны быть в 10 г продукта

Лекарственные средства, не требующие стерилизации, обычно содержат микроорганизмы. Поэтому их испытывают на микробиологическую чистоту: проводят количественное определение жизнеспособных бактерий и грибов в 1 г или 1 мл препарата, а также выявляют микроорганизмы (бактерии семейства энтеробактерий, синегнойная палочка, золотистый стафилококк), которые не должны присутствовать в нестерильных лекарственных средствах. В 1 г или 1 мл лекарственного сырья для приема внутрь должно быть не более 1000 бактерий и 100 дрожжевых и плесневых грибов; должны отсутствовать кишечные палочки и сальмонеллы. В случаях местного применения (полость уха, носа, интравагинальное использование) количество микроорганизмов не должно превышать 100 (суммарно) микробных клеток на 1 г или 1 мл препарата при отсутствии энтеробактерий, синегнойной палочки и золотистого стафилококка. В таблетированных препаратах не должно быть патогенной микрофлоры, а общая обсемененность не должна превышать 10 тыс. микробных клеток на таблетку. Средства гигиены полости рта, зубные пасты и эликсиры, жевательные резинки не должны содержать синегнойную палочку, бактерии семейства Enterobactericeae, плесневые грибы и грибы рода Candida; микробное число должно быть не более 100 КОЕ/г.

ГЛАВА 6. ГЕНЕТИКА МИКРОБОВ

Генетика – наука, изучающая механизмы и закономерности наследственности и изменчивости организмов, методы управления этими процессами. Основы генетики заложены Г. Менделем (1822–1884), открывшим законы наследственности.

В последние годы зародилась новая отрасль генетики – гномика, изучающая не отдельные гены, а целые геномы. Достижения молекулярной биологии и генной инженерии дали человеку возможность читать генетические тексты – сначала вирусов, бактерий, дрожжевых грибков.

Сравнивая теперь геномы бактерий (известно уже более 20 геномов) с геномами дрожжей и нематоды, биологи-эволюционисты имеют уникальную возможность сравнивать не отдельные гены и даже не генные ансамбли, а целиком геномы – такой возможности в биологии еще десять лет назад просто не существовало, об этом только мечтали. В ближайшие месяцы, когда полученные огромные объемы информации начнут осваивать и осмысливать, следует ждать появления принципиально новых концепций в теории биологической эволюции. Знание всей структуры генома неизбежно сместит интересы исследователей к изучению роли разных генов в жизни клетки, а значит, к изучению белков – основных продуктов, информация о структуре которых записана в геноме. Поэтому на смену гномике структурной постепенно придет гномика функциональная, в которой главное место будут занимать белки, их каталитическая активность, регуляция их функций, взаимодействие с другими белками.

Если сейчас на знамени гномики написаны три буквы – ДНК, то уже через несколько лет к ним обязательно добавится новое ключевое слово «белок», так как общее число разных белков в клетках лишь немногим меньше, чем число генов. Сейчас гномика дала в руки исследователей способы определить, какая болезнь связана с каким геном. Раньше решение такой задачи считалось выдающимся успехом, об этом сообщали все научные журналы, это было редким событием, сенсацией. Сейчас гены, ответственные за ту или иную болезнь, находят буквально каждую неделю. Как только ген найден и его структура установлена, надо понять, как работает белок, кодированный этим геном. Затем, когда функция белка установлена, вырабатывается стратегия лечения болезни. Можно искать лекарство, которое будет восполнять функцию поврежденного белка или, наоборот, подавлять активность белка, если болезнь связана с его сверхпродукцией. Можно идти и по другому пути: ввести в клетки вместо поврежденного нормальный ген того же самого белка. Этот путь лечения называют генотерапией.

Строение и репликация генома бактерий

Генетика бактерий. Все признаки, характерные для бактерий данного вида, определяются свойствами полипептидов, входящих в структуру ферментов и других клеточных белков. Генетическая информация бактерий, как и любых других клеток, записана в виде специфичной последовательности нуклеотидов в ДНК (ДНК является матрицей, на которой синтезируется ее точная копия, и в клетках, образовавшихся после деления бактерии, находятся молекулы ДНК, одинаковые по последовательности нуклеотидов. ДНК выполняет также функцию шаблона для синтеза на ней информационной РНК, последовательность нуклеотидов которой определяет строение полипептида, синтезируемого на рибосомах. Сегмент ДНК, контролирующий синтез специфичного полипептида, называется геном. Большинство бактерий в качестве хромосомы имеют одну молекулу ДНК), в

которой содержится информация, достаточная для кодирования от 1000 до 3000 полипептидов, т. с. заключено от 1000 до 3000 генов.

Ученые расшифровали геном бактерии, которая вызывает заболевание чумы. Согласно сообщению газеты «Нью-Йорк таймс», английским биологам удалось расшифровать ДНК-код возбудителя этой страшной болезни, послужившей причиной по крайней мере, трех мировых эпидемий и унесшей жизни около 200 миллионов человек.

Результаты исследования позволили выделить гены, «ответственные» за определенные этапы жизненного цикла бактерии, которые и приводят к заражению чумой блох и крыс, которые до сих пор остаются главными переносчиками этой болезни.

Специалисты установили, что геном чумы состоит из четырех спиралей ДНК, большой кольцеобразной хромосомы и трех малых колец (плазмоцидов). Интересной особенностью генома является то, что он содержит 150 генов, находящихся как бы в состоянии «спячки». Ученые считают, что эти гены до мутации чумной бактерии отвечали за ее приспособляемость к жизни внутри кишечника, а затем, при переходе бактерий в кровь, были «законсервированы» – до лучших времен. Изучение этих генов позволит выяснить, что именно требуется бактериям для того, чтобы «зацепиться» в этой среде обитания. Это, в свою очередь, поможет, помимо чумы, бороться и с желудочно-кишечными заболеваниями.

Расшифровав геном чумы, исследователи продолжают свою работу над поиском наиболее «уязвимых мест» бактерии. Предполагается, что таковыми станут отдельные гены, отвечающие за ее протеиновую оболочку. «Теперь нам не нужно искать наугад, – говорит один из руководителей исследования, доктор Джулиан Паркер, – можно просто заходить в геном и выбирать подходящих кандидатов». Поскольку существующие противочумные вакцины часто приводят к нежелательным побочным эффектам, ученые надеются усовершенствовать их при помощи открытого генома.

Расшифрованные геномы

1995 г. – бактерия Hemophilus influenza
1996 г. – клетка дрожжей (6 тыс. генов, 12,5 Мб);
1998 г. – круглый червь Caenorhabditis elegans (19 тыс. генов, 97 Мб).

Репликация ДНК

Во время репликации каждая из цепей родительской ДНК служит матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепи. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы осуществляют сополимеризацию низкомолекулярных предшественников ДНК-дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (dATP, dGTP, dCTP и dTTP). Положение каждого последующего нуклеотида в строящейся цепи ДНК по правилам комплементарности однозначно определяется положением соответствующего нуклеотида матрицы.

При полимеризации дезоксирибонуклеозидтрифосфатов происходит освобождение молекул пирофосфата, который затем расщепляется неорганической пирофосфатазой, что делает реакцию полимеризации практически необратимой. Полимеризация нуклеотидов происходит только в одном направлении: от 5'-конца к 3'-концу строящейся цепи, и синтезированная молекула ДНК антипараллельна по отношению к ДНК-матрице. Репликация ДНК осуществляется по полуконсервативному механизму, то есть одна из цепей дочерних молекул ДНК является частью родительской молекулы ДНК, а другая является вновь синтезированной.

Бактерии размножаются бесполым путем: ДНК в их клетке реплицируется (удваивается), клетка делится надвое и каждая дочерняя клетка получает по одной копии родительской ДНК. Бактериальная ДНК может передаваться и между не делящимися клетками. При этом их слияния (как у эукариот) не происходит, число особей не увеличивается и обычно в другую клетку переносится лишь небольшая часть генома (полного набора генов), в отличие от «настоящего» полового процесса, при котором потомок получает по полному комплекту генов от каждого родителя.

Такой перенос ДНК может осуществляться тремя путями. При трансформации бактерия поглощает из окружающей среды «голую» ДНК, попавшую туда при разрушении других бактерий или сознательно «подсунутую» экспериментатором. Процесс называется трансформацией, поскольку на ранних стадиях его изучения основное внимание уделялось превращению (трансформации) таким путем безвредных организмов в вирулентные. Фрагменты ДНК могут также переноситься от бактерии к бактерии особыми вирусами – бактериофагами. Это называется трансдукцией. Известен также процесс, напоминающий оплодотворение и называемый конъюгацией: бактерии соединяются друг с другом временными трубчатыми выростами (копуляционными фимбриями), через которые ДНК переходит из «мужской» клетки в «женскую».

Иногда в бактерии присутствуют очень мелкие добавочные хромосомы – плазмиды, которые также могут переноситься от особи к особи. Если при этом плазмиды содержат гены, обусловливающие резистентность к антибиотикам, говорят об инфекционной резистентности. Она важна с медицинской точки зрения, поскольку может распространяться между различными видами и даже родами бактерий, в результате чего, вся бактериальная флора, скажем кишечника, становится устойчивой к действию определенных лекарственных препаратов.

Репликация линейных геномов

Кольцевые замкнутые геномы характерны для многих бактерий, их плазмид и некоторых вирусов. У большинства других организмов геном представлен линейными молекулами ДНК в составе одной или нескольких хромосом. Существует так называемая проблема отстающей цепи ДНК. Синтез отстающей цепи ДНК происходит в виде коротких фрагментов Оказаки , для инициации синтеза которых требуются РНК- затравки. После удаления затравки на конце одной из вновь синтезированных молекул ДНК образуется одноцепочная брешь, которая не может быть заполнена ДНК-полимеразой, поскольку она не функционирует в отсутствие праймера. Вследствие этого в каждом раунде репликации должно было бы происходить укорачивание хромосом с обоих концов, что приводило бы к потере генетической информации, закодированной в концевых фрагментах ДНК.

Кроме того, большие размеры молекул ДНК, заключенных в индивидуальные хромосомы, требуют специальной организации их реплицирующего аппарата.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОМА У БАКТЕРИЙ

Мутация у бактерий – один из механизмов наследственной изменчивости организмов, состоящий в изменении нуклеотидного состава генома, не связанного с рекомбинацией. Геномные и хромосомные мутации имеют меньшее значение у бактерий по сравнению с эукариотами, они заключаются в интеграции в хромосому и перемещении по ней транспо-

зонов интеграции и дезинтеграции плазмид. Генные мутации являются главным механизмом изменчивости бактерий, встречаются у всех видов бактерий, затрагивают все гены. Спонтанные мутации обусловлены ошибками репликации генома в процессе деления особей и в меньшей степени ошибками репарации поврежденного генома, а также действием свободных радикалов. Частота их постоянна и низка (10 «7-10"12), но в связи с коротким периодом генерации и множественностью популяции мутации этого типа многочисленны. Индуцированные мутации появляются в результате действия мутагенов, к которым относятся УФЛ, понизирующее излучение, химические вещества и др. Частота и спектр мутации регулируются бактериями. Гены-мутаторы и повышенная чувствительность к мутагенам отдельных участков ДНК учащают мутации, репарация повреждений и антимутагенез снижает частоту мутации. Эффект мутации может быть нейтрализован также обратной мутацией в гене, супрессорной мутацией в др. гене, фенотипической супрессией. Судьба мутантов определяется их жизнеспособностью и отбором. В селективной среде мутанты могут приобрести доминирующее положение в популяции, в неселективной среде они погибают или занимают низкочастотное положение. Многочисленные популяции бактерий обычно содержат большое количество самых разных мутантов, что определяет их выраженный полиморфизм.

МУТАЦИИ У БАКТЕРИЙ

Бактериальные гены подвержены мутациям, то есть в них возникают изменения в последовательности нуклеотидов, в результате замены одних нуклеотидов другими, добавки лишнего нуклеотида или потери некоторых из них. Мутациям подвержен любой бактериальный ген, а т. к. многие гены контролируют синтез жизненно необходимых соединений, такая мутация может оказаться для бактерии смертельной (летальной). Это связано с тем, что в отличие от клеток высших организмов, которые имеют двойной набор хромосом (диплоиды), бактерии в норме имеют лишь одну молекулу ДНК (гаплоиды). Поэтому каждая мутация бактерии проявляется из-за отсутствия в ней аналогичного, но не подвергшегося мутации (дикого) гена, деятельность которого маскирует мутацию. Первые описанные мутации бактерий касались изменения внешнего вида их колоний, отсутствия, пигмента, затем были найдены мутации, изменяющие чувствительность бактерии к бактериофагам, способность формировать капсулу, споры или жгутики, использовать определенные углеводы, синтезировать аминокислоты, а также мутации, изменяющие чувствительность бактерии к антибиотикам и другие. Мутации в бактериальной клетке могут возникать без каких-либо внешних воздействий (спонтанная мутация) с довольно постоянной скоростью, которая для разных типов варьирует от одной на 10^4 до 10^{10} клеточных делений. Эта скорость увеличивается при обработке бактерий некоторыми химическими веществами или под действием физических факторов, которые называют мутагенами. Если определенная мутация в данном гене дает бактерии преимущества для роста и размножения по сравнению с немутантной клеткой, то происходит отбор, в результате которого мутантные бактерии размножаются, а немутантные погибают. Селекция такого типа осуществляется в природе, в организме животного и человека. Например, мутантные бактерии, устойчивые к антибиотику, легко селекционируются, если в среде культивирования находится данный антибиотик. Это же может произойти в организме человека и животных при лечении их соответствующими антибиотиками. Мутации, приводящие к изменению поверхностных структур бактерий, в ряде случаев, делают их устойчивыми к действию защитных факторов организма. В то же время, известны мутации бактерий, приво-

дящие к изменению ее капсулы. Так, у пневмококка мутация в гене, который контролирует синтез фермента, необходимого для образования одного из компонентов, входящих в состав капсульного полисахарида, приводит к тому, что пневмококк не будет «одет» в капсулу. В результате пневмококк теряет болезнетворность, т. к. становится чувствительным к действию защитных механизмов организма, в частности, к фагоцитозу. Изучение мутаций у бактерий имеет практическое значение. Например, в результате мутации были получены бактерии, которые уже не могут вызвать заболевание, но способны создать в организме невосприимчивость к нему. Такие ослабленные бактерии применяют в качестве живых вакцин для профилактики туберкулеза, сибирской язвы и другие. Они безопасны, поскольку, у них исключена возможность обратных мутаций, приводящих к восстановлению болезнетворности. Важна для практики расшифровка механизма возникновения мутаций, придающих бактериям устойчивость к антибиотикам. Такие мутантные бактерии вызывают у человека заболевания, не поддающиеся лечению любым антибиотиком. Поэтому в лечебной практике нередко, прежде чем, назначить антибиотик, выделяют из организма больного бактерии и определяют, к какому из имеющихся антибиотиков они чувствительны. Генетические признаки у бактерий изменяются не только в результате мутационного процесса и последующего отбора мутантных клеток, дающих начало новой разновидности данной бактерии. Этот процесс происходит также путем переноса генов от одной бактерии к другой. Чаще такой перенос осуществляется между клетками одного и того же вида, но в ряде случаев, генетический материал может передаваться среди бактерий, относящихся к разным родам, например, от кишечной к дизентерийной палочке. Генетический материал от бактерии к бактерии переносится тремя способами.

1. Бактерия захватывает изолированную молекулу ДНК другой бактерии. Такие молекулы могут оказаться в среде (вне клетки) в результате растворения (лизиса) клеток или могут быть получены искусственным способом и добавлены в среду культивирования бактерий. Этот способ переноса генов называется трансформацией.

2. Бактериальные гены переносятся от бактерии к бактерии с помощью бактериофагов – так называется трансдукция.

3. ДНК мигрирует между клетками в процессе конъюгации, при которой бактерии контактируют своими пилями.

В результате между ними формируется мостик, через который ДНК одной клетки переносится в другую. При этом способе генетический материал переносится полярно, т.е. от донора к реципиенту, а не наоборот. Донорные свойства бактерий обусловлены присутствием в ней специализированной генетической структуры – F-фактора (фактора плодовитости, полового фактора). Клетки-доноры, способные к конъюгационной передаче генов, называются мужскими, а клетки-реципиенты, лишенные полового фактора, – женскими. Все три способа передачи генов у бактерий осуществляются в природе и наряду с мутациями играют важную роль в эволюции бактерий. Независимо от способа передачи генов от бактерии к бактерии фрагмент ДНК донора, попавший в клетку реципиента, встраивается в ее собственную кольцевую ДНК, в результате чего, формируется рекомбинантная ДНК, несущая основную часть генов реципиента и часть генов донора. Кроме гигантской кольцевой молекулы ДНК, являющейся эквивалентом хромосомы высших организмов, в цитоплазме бактерий обнаружены небольшие внехромосомные кольцевые молекулы ДНК. При делении бактерии они копируются и попадают в дочерние клетки. Эти структуры называются бактериальными плазмидами. В некоторых случаях, они включаются в состав бактериальной хромосомы; такие плазмиды называются эписомами. Плазмиды различаются по своим размерам, наиболее крупные содержат более 100 генов. В большинстве случаев, удаление плазмин из бактерии не оказывает заметного влияния

на ее жизнедеятельность. Плазмиды обнаружены у многих бактерий: у кишечной палочки, дизентерийных, тифозных и паратифозных бактерий, у капсульных бактерий и др. Некоторые плазмиды способны переноситься в бактерии, не имеющие плазмин. Этот перенос при конъюгации состоит из двух основных этапов: образования скрещивающихся пар клеток и собственно переноса генетического материала (ДНК) от донора к реципиенту. Перенос плазмиды контролируется более чем 20 генами, входящими в ее состав. Из клетки донора в клетку реципиента переносится одна из нитей двунитчатой молекулы ДНК плазмиды, которая немедленно достраивается и превращается в двуспиральную структуру, а затем замыкается в кольцо. Существуют и плазмиды, не способные самостоятельно транспортироваться от бактерии к бактерии. Тем не менее, они могут быть перенесены с помощью присутствующей в этой же клетке другой плазмиды, обладающей свойством полового фактора. Плазмиды могут переносить не только свои собственные гены, но и гены бактериальной хромосомы. Это происходит двумя способами: за счет стабильного включения плазмиды в хромосому или временной нестабильной ассоциации плазмиды с хромосомой. Многие плазмиды, попадая в бактериальную клетку, придают ей новые свойства. Так, известны плазмиды, которые превращают неболезнетворные разновидности кишечных палочек в болезнетворные. Это связано с тем, что в таких плазмидах имеются гены, контролирующие синтез ядовитых веществ (токсинов). Кроме того, есть плазмиды, придающие бактериям способность приживаться (колонизироваться) в организме человека или животного. Например, некоторые штаммы кишечной палочки, вызывающие нарушение функции желудочно-кишечного тракта – диарею, несут плазмиды, изменяющие поверхностные свойства бактерии таким образом, что она приобретает способность прикрепляться на поверхности эпителиальных клеток тонкой кишки. Часто в плазмине гены, контролирующие образование токсина, сочетаются с генами, определяющими способность бактерии приживаться в организме человека или животного. Такое сочетание в одной плазмине превращает кишечную палочку в возбудителя тяжелых инфекций. Число микробных видов, в которых плазмиды тем или иным способом влияют на болезнетворность, постепенно растет и включает золотистый стафилококк, холерный вибрион, возбудителя анаэробной инфекции (клостридии типа С) и разных представителей семейства кишечных бактерий. Свойство плазмид придавать бактериям устойчивость к действию антибиотиков и к ядам (R-плазмиды) обусловлено, чаще всего, наличием в них генов, контролирующих синтез ферментов, способных разрушать антибиотик. Например, устойчивость к антибиотикам пенициллинового ряда, вызванная плазмидой, связана с ферментом лактамазой, разрушающей лактамное кольцо в молекуле антибиотика. В отдельных плазминах могут быть гены, контролирующие устойчивость одновременно к нескольким лечебным препаратам, например, к пенициллину, канамицину, стрептомицину и тетрациклину. Такие плазмиды, как правило, переносятся в бесплазмидные бактерии. Это создает угрозу их широкого распространения в мире бактерий и среди болезнетворных, что ограничивает возможность использования антибиотиков с лечебной целью. Межклеточный перенос плазмин обусловлен тем, что многие из них являются половыми факторами, подобными упомянутому выше F-фактору бактерий. Изучение функции и структуры бактериальной хромосомы и плазмин завершилось открытием способности генов перемещаться из одного места генома, в другое или в геномы других бактерий («прыгающие» гены). Мобильность генов связана с наличием в геноме особых структур, называемых транспозонами (от слова транспозиция-перемещение). Последовательности нуклеотидов на флангах транспозонов определяют возможность такого перемещения. Между этими последовательностями находятся структурные гены, контролирующие синтез ряда белков, в том числе, разрушающих антибиотики, ферменты и другие. Это явление

объясняет многие стороны эволюции бактерий, а также феномены, имеющие важное практическое значение (лекарственная устойчивость, патогенность, появление новых антигенных признаков). Эти достижения науки привели к возникновению генетической инженерии и биотехнологии – совокупности промышленных методов, использующих микроорганизмы для производства ценных для народного хозяйства продуктов (ферментов, антибиотиков, гормонов и другие).

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИКИ ВИРУСОВ

Разнообразие вирусов. Все знают, что вирусы могут вызывать заболевания и что их размеры очень малы. Менее известно, как разнообразен мир этих мельчайших существ-иждивенцев, неспособных к самостоятельной жизни вне заражаемых ими клеток. Разнообразны состав, размеры и форма вирусов. Еще важнее, что у вирусов встречаются такие способы хранения и передачи генетической информации, которых больше нигде в природе не найти. В каком-то смысле генетические системы вирусов, богаче генетических систем других организмов. Поэтому вирусы – один из излюбленных объектов молекулярной биологии, изучающей фундаментальные принципы организации живого. Профилактика и лечение вирусных болезней также требуют учета разнообразия свойств и «повадок» вирусов.

СОСТАВ, РАЗМЕРЫ И ФОРМА

Схематически вирусы представляют собой наследственный материал, упрятанный в «скафандр» – защитную белковую оболочку, иногда содержащую также липидные и углеводные компоненты. В наследственном веществе – молекуле или нескольких молекулах РНК или ДНК – обязательно закодирована «минимальная потребительская корзина»: ферменты для копирования (репликации) этих вирусных нуклеиновых кислот, а также белки, входящие в состав вирусной частицы (вириона). Некоторые вирусы (в первую очередь, относительно крупные) производят и другие белки, делающие их жизнь как бы более комфортной, более приспособленной к различным условиям и неожиданностям.

Если у всех невирусных организмов наследственное вещество – это двуцепочные молекулы ДНК (цепочки которых комплементарны, то есть как бы зеркальны друг другу), то вирусы могут содержать не только ДНК, но и РНК, причем оба типа нуклеиновых кислот встречаются как в двуцепочной, так и в одноцепочной форме. Для каждого вируса характерна определенная форма нуклеиновой кислоты. Молекулы вирусных РНК и ДНК – неразветвленные (иногда кольцевые) полимеры, построенные из множества звеньев-нуклеотидов, в одной такой молекуле – от нескольких тысяч до нескольких сот тысяч нуклеотидов. Вирусные нуклеиновые кислоты представляют собой длинные нити, более гибкие в случае одноцепочных молекул и более упругие в случае двуцепочных. В растворе их форма напоминает рыхлый комок. Однако, в составе вириона РНК или ДНК более или менее компактно упакована и характер этой упаковки зависит от архитектуры вирусной частицы. Сама же эта архитектура определяется, в первую очередь, свойствами белков, из которых построены вирионы.

Существует несколько основных вариантов «внешности» вирионов (рис. 6.1). Вирусы, построенные только из нуклеиновой кислоты и белка, могут походить на жесткую палочкообразную или гибкую нитевидную спираль, на шар (точнее, правильный двадцатигранник или икосаэдр), а также на структуру, имеющую как бы головку и хвостовой

отросток и отдаленно напоминающую сперматозоид. Липиды, если присутствуют, образуют внешнюю мембрану, в которую включаются и некоторые вирусные белки (часто соединенные с углеводами) и такая липопротеидная оболочка обволакивает белковую «сердцевину» с «запечатанной» в ней нуклеиновой кислотой. В этих случаях, вирион может иметь шарообразную, пулевидную или кирпичеобразную форму, а может и не обладать какими-либо правильными очертаниями.

Размеры вирусных частиц также существенно варьируют. Наиболее «худые» нитевидные вирусы имеют диаметр около 10 нм, а их длина у самых протяженных достигает 2 мкм. Диаметр сферических вирионов колеблется от ~ 20 до 300 нм. Самые крупные из известных вирусов – родственники вируса оспы, их кирпичеобразные вирионы могут иметь длину до 450 нм и 260 нм в ширину и толщину. Объекты такой величины уже находятся на пороге разрешающей способности обычного (светового) микроскопа.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ В ПРИРОДЕ

Есть вирусы, размножающиеся в клетках животных (позвоночных и беспозвоночных), другие облюбовали растения, третьи (их называют бактериофагами или просто фагами) паразитируют в микробах. И хотя икосаэдрическая форма встречается у вирусов всех этих трех групп, все же есть некоторые предпочтения (рис. 6.1). Например, вирионы с головкой и хвостовым отростком характерны для фагов. Вирусы спиральной и нитчатой формы обычно паразитируют на растениях. Липопротеидная оболочка у вирусов животных встречается чаще, чем в других группах.

Особенности строения заражаемой клетки – один из факторов, от которых зависит форма вириона. Так, бактерии и растительные клетки помимо цитоплазматической мембраны окружены довольно плотными и прочными стенками. Преодолеть такую стенку – серьезная проблема. Многие фаги решают ее при помощи специального приспособления, несколько напоминающего шприц. Отсюда и излюбленная форма, в которой хвостовой отросток выполняет роль иглы. Вирусам растений пройти сквозь стенку часто помогают

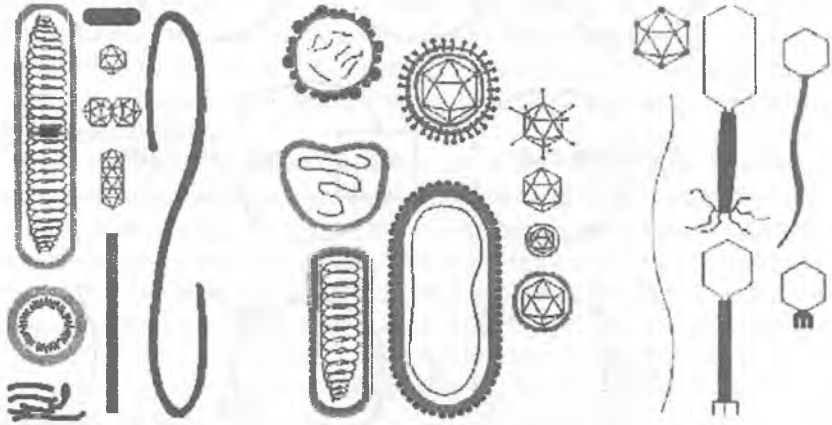


Рис. 6.1. Разнообразие форм и размеров вирусов. Схематическое изображение некоторых вирусов растений (а), животных (б) и бактериофагов (в)

механические повреждения, наносимые, например, насекомыми или сельскохозяйственными орудиями. Через такие клеточные «раны» могут проникать вирусы, не имеющие специальных приспособлений для заражения неповрежденных клеток.

ХРАНЕНИЕ И ПЕРЕДАЧА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

Как известно, синтез белков осуществляется в рибосомах, а последовательность аминокислот синтезируемых белков (клеточных и вирусных) задается молекулами матричных РНК (мРНК). При описании разнообразия способов хранения и передачи генетической информации у вирусов (рис. 6.2.) удобно обозначать молекулы мРНК как (+)РНК.

Есть обширная группа вирусов, генетический материал которых представляет собой как раз мРНК. Такие вирусы называют вирусами с позитивным (положительным) РНК-геномом (рис. 6.2, а). Сюда, например, относят вирусы полиомиелита и клещевого энцефалита, а из вирусов растений – вирус мозаики табака (ВТМ). Первое, что делает вирусная РНК, попав в клетку, – обеспечивает синтез вирусных белков. Лишь после этого начинается размножение самих молекул вирусной РНК, которое просто невозможно без предварительного образования соответствующего вирусного фермента. Невозможно потому, что до заражения клетки в ней не было фермента (ДНК-зависимой РНК-полимеразы), способного синтезировать молекулы РНК без участия ДНК. На заключительной стадии из накопившихся вирусных белков и РНК монтируются вирионы.

Геном другой группы вирусов представлен молекулами не мРНК, а их комплеметарной (зеркальной) копией, то есть молекулами (-)РНК (рис. 6.2, б). Среди таких вирусов с негативным РНК-геномом – вирусы гриппа, кори, бешенства, желтой карликовости картофеля и др. Казалось бы, такие вирусы просто не имеют права на существование. Действительно, инфекционный процесс не может начаться с синтеза белков: инструкций, за-

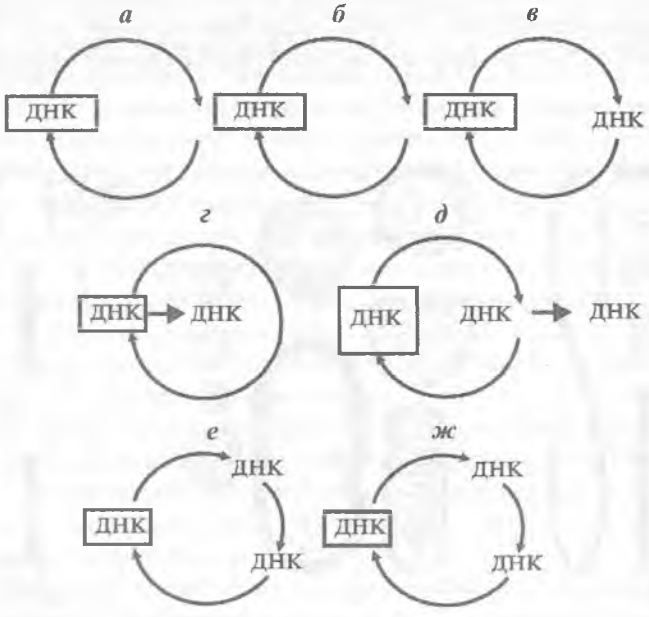


Рис. 6. 2. Основные стратегии репликации и выражения генетической информации у вирусов. В рамку заключена та форма нуклеиновой кислоты, которая присутствует в вирионе

писанных в зеркальной форме, рибосомы не понимают. Но и репликация вирусной РНК кажется невозможной, поскольку, как уже упоминалось, в клетке нет собственных ферментов, способных осуществить этот процесс. Вирусы с негативным РНК-геномом решают эту проблему так. Они вводят в заражаемую клетку свой геном не в «голом» (свободном от белков) виде, как поступают вирусы первой группы, а в виде более сложных структур, содержащих, в частности, ДНК-зависимую РНК-полимеразу. Этот вирусный фермент, синтезированный в предыдущем цикле размножения, упакован в вирионе в удобной для доставки в клетку форме. Инфекционный процесс начинается с того, что вирусный фермент копирует вирусный геном, образуя комплементарные молекулы РНК, то есть (+)РНК. Эти молекулы уже «находят общий язык» с рибосомами. Образуются вирусные белки, в том числе, и ДНК-зависимая РНК-полимераза, которая, с одной стороны, обеспечивает размножение вирусного генома в данной клетке, а с другой – «консервируется впрок» во вновь образующихся вирионах.

Есть вирусы (в том числе и вызывающие тяжелые болезни человека -геморрагические лихорадки), которые и по строению, и по многим другим свойствам – близнецы вирусов с негативной РНК, однако, в их геноме наряду с участками, соответствующими (-)РНК, есть последовательности позитивной полярности. Хотя цикл репродукции этих вирусов в некоторых деталях и отличается от такового у «классических» вирусов с негативной РНК, отличия не столь принципиальны, чтобы здесь на них останавливаться.

У третьей группы вирусов наследственная информация хранится в виде двуцепочной (или) РНК (рис. 6.2, в). Сюда, например, относятся ротавирусы, вызывающие расстройства кишечника. Размножение этих вирусов проходит по варианту, близкому к предыдущему. Вместе с вирусной РНК, в клетку попадает и вирусная ДНК-зависимая РНК-полимераза, которая обеспечивает синтез молекул (+)РНК. В свою очередь, (+) РНК выполняет две работы: обеспечивает производство вирусных белков в рибосомах и служит матрицей для синтеза новых (-)цепочек вирусной РНК-полимеразой. Цепочки (+) и (-)РНК, комплексируясь друг с другом, образуют двунитевой ( ) РНК-геном, который упаковывается в белковую оболочку. Новое поколение вирионов готово.

Четвертая группа – вирусы с двуцепочной ДНК (рис. 6.2, г). Здесь, например, возбудители герпеса и оспы. Хотя геном этих вирусов и можно условно изобразить как ( ) ДНК, во многих (но не во всех) случаях в каждой из двух цепочек ДНК имеются участки, соответствующие как позитивной, так и негативной полярности. В зараженной клетке фермент ДНК-зависимая РНК-полимераза считывает (транскрибирует) с генома этих вирусов молекулы мРНК (то есть (+)РНК), которые делают свою обычную работу – направляют синтез белков. Размножением вирусного ДНК-генома занимается фермент ДНК-зависимая ДНК-полимераза.

Поскольку геном клетки также представлен молекулами двуцепочных ДНК, то в ней еще до заражения имеются как ДНК-зависимая РНК-полимераза, так и ДНК-зависимая ДНК-полимераза. В некоторых случаях, производством вирусных мРНК и ДНК занимаются клеточные ферменты. Другие же вирусы (более сложные) это крайне ответственное дело никому не передоверяют и используют собственные ферменты. Бывает и так, что транскрипция и репликация вирусного генома -прерогатива «смешанных предприятий», эксплуатирующих как вирусных, так и клеточных «работников». Заканчивается инфекционный цикл «сборкой» «созревшего» генома в зашитую одежду и выходом вирионов «в свет». Следующая группа – вирусы с одноцепочным ДНК-геномом (рис. 6.2, д), который может быть представлен молекулами как позитивной, так и негативной полярности. Жертвами таких вирусов могут быть и животные, и растения, и микроорганизмы. Попав в клетку, вирусный геном сначала пре-

вращается в двуцепочную форму, это превращение обеспечивает клеточная ДНК-зависимая ДНК-полимераза.

Шестая группа – ретровирусы (рис. 6.2, е), – включающая, в частности, такую «знаменитость», как вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), и некоторые возбудители злокачественных новообразований. Геном этих вирусов, как и в первой из названных нами групп, -одноцепочная (+)РНК, но инфекционный процесс развивается по совершенно иному сценарию. В вирусном геноме закодирован необычный фермент (ревертаза), который обладает свойствами как ДНК-зависимой, так и ДНК-зависимой ДНК-полимеразы. Этот фермент попадает в заражаемую клетку вместе с вирусной РНК и обеспечивает синтез ее ДНК-копии сначала в одноцепочной форме [(-)ДНК], а затем и в двуцепочной [( )ДНК]. Далее события развиваются по обычному расписанию: синтез вирусных (+) РНК, синтез вирусных белков, формирование вирионов, выход из клетки.

Наконец, седьмая группа – ретроидные вирусы (рис. 6.2, ж), из которых наиболее известен вирус гепатита В. В состав этих вирусов входит двуцепочная ДНК, но реплицируется она иначе, чем у вирусов четвертой группы. Там вирусную ДНК копирует ДНК-зависимая ДНК-полимераза. Здесь же сначала с вирусной ДНК считывается (+) РНК (это делает клеточная ДНК-зависимая РНК-полимераза), которая затем служит матрицей для синтеза двух компонентов вириона: белков и ДНК. Синтез ДНК осуществляет вирусный фермент с активностью ревертазы по схеме, которая реализуется у ретровирусов.

Конкретные способы выражения генетической информации внутри упомянутых семи групп вирусов также могут существенно различаться. Например, синтез отдельных белков у некоторых вирусов направляют индивидуальные мРНК, а в других случаях, сначала образуется единый высокомолекулярный полипептид-предшественник, который в конечном счете «разрезается» на отдельные «зрелые» белки. Существуют несколько разных схем синтеза ДНК. Варьируют и другие важные процессы. Например, репликация генома одних вирусов происходит в клеточном ядре, в то время как другие всю свою внутриклеточную жизнь проводят в цитоплазме. К сожалению, рассматривать все это поразительное разнообразие в рамках краткого описания нет никакой возможности. Тем не менее, надеемся, что теперь читателю не покажется чрезмерно парадоксальным утверждение, что разница между двумя вирусами, например гепатита А (вирус с позитивным РНК-геномом) и гепатита В (ретроидный вирус), более фундаментальна, чем, скажем, разница между слоном и микробом.

Зная о таком разнообразии вирусов, мы уже не должны удивляться разнообразию болезней и симптомов, которые они вызывают. Однако, какой-либо корреляции между характером болезни, с одной стороны и формой или особенностями генетической системы вируса – с другой, не существует. Так, причиной гепатита (воспаления печени) могут быть самые разнообразные вирусы. Например, вирусы гепатита А, гепатита С и гепатита Е принадлежат к трем разным семействам позитивных РНК-вирусов (рис. 6.2, а), причем вирус гепатита С имеет липопротеидную оболочку, а у двух других вирусов она отсутствует. Вирус гепатита В – ретроидный вирус (рис. 6.2, ж), а генетическая система вируса гепатита дельта столь необычна, что она вообще не попала в нашу классификацию. Таким образом, вирусы, ничего общего между собой не имеющие, могут вызывать сходные заболевания.

Кроме того, сходные вирусы могут быть причиной самых различных болезней. Например, в списке заболеваний, вызываемых пикорнавирусами (представителями одного из семейств позитивных рибовирусов, вирионы которых похожи друг на друга как близнецы, а генетические системы практически идентичны), -полиомиелит, миокардит, диабет, конъюнктивит, простудные заболевания, ящур, гепатит и другие болезни.

Когда мы думаем о способах борьбы с вирусами как возбудителями болезней, нужно отдавать себе отчет в разнообразии устройства вирусов. Ясно, что к ним необходим индивидуальный подход. Панацеи тут просто не может быть. И поскольку нельзя привязать болезнетворное действие вирусов к таким важнейшим их особенностям, как форма, размеры и даже «стратегия» размножения, приходится углубленно изучать именно те свойства вирусов, которые непосредственно связаны с патогенностью. Но это уже другая тема.

Таким образом, и форма, и внутреннее содержание, «внешность» и «поведение» вирусов разнообразны и индивидуальны. Можно полагать, что особенности структуры и функции вирусов прямо или косвенно связаны с такими качествами, которые дают ему определенные преимущества. Уже упоминалось о приспособленности формы некоторых вирусов к заражению определенных хозяев. А как сказываются на «способностях» вирусов особенности их генетических систем? Сравним между собой вирусы с позитивным и негативным РНК-геномами. Первые устроены много проще и представляют собой по существу мРНК в изящной и надежной упаковке. Чтобы начать полноценный инфекционный процесс, нужна только эта РНК и больше ничего. Соответственно, РНК вирусов этой группы обычно инфекционна сама по себе. Заразив клетку, такие вирусы могут незамедлительно начать синтез собственных белков. Все это несомненные достоинства. Но, как у всякой простоты, есть здесь и оборотная сторона. В естественных условиях в заражаемую клетку часто попадает только одна-единственная вирусная частица. Ее РНК оказывается в окружении сильно превосходящих сил если не противника, то уж во всяком случае, серьезного конкурента в виде клеточных мРНК. Пробиться в такой тесноте к свободной рибосоме и приступить к исполнению своих обязанностей – задача для вирусной РНК отнюдь не из простых и часть молекул терпит фиаско. Для успешного решения этой задачи вирусу приходится прибегать к разным уловкам, серьезно повышающим конкурентоспособность его РНК. Вирусы с негативным РНК-геномом устроены сложнее. В вирионе упакована не просто РНК, а РНК вместе с ферментом, способным ее реплицировать. Сама же РНК кажется на первый взгляд какой-то дефектной, недаром ее называют негативной. Но за всей этой кажущейся нецелесообразностью – глубокий смысл. Действительно, внедрение в клетку вирусной РНК вместе с собственной РНК-полимеразой обеспечивает наработку множества молекул (+) РНК (в том числе, и мРНК), которые могут конкурировать с клеточными мРНК уже не только умением, но и просто числом. Таким образом, «потратившись» на сложность устройства вириона, можно «сэкономить» на устройстве мРНК. Конечно, это лишь весьма условные и схематические рассуждения. Тем не менее, они показывают, что в разных вирусных стратегиях и в разных свойствах вирусов – свои «изюминки».

Применение генетических методов в диагностике инфекционных болезней: метод молекулярной гибридизации, полимеразная цепная реакция

Почему происходит бум в области разработки диагностических методов основанных на выявлении нуклеиновых кислот вирусов и бактерий? Нуклеиновые кислоты – носители генетической информации определяют биологические свойства бактерий и вирусов. Вполне естественно, что различия, например, между различными штаммами бактерий связаны с различиями в строении их ДНК и РНК. Соответственно, методы, основанные на выявлении этих различий в строении нуклеиновых кислот, могут служить для индикации того или иного вида микроорганизмов в биологическом материале.

Каков механизм, обусловливающий специфичность этих методов? И в ПЦР и в молекулярной гибридизации основой является специфическое связывание искусственного фрагмента нуклеиновой кислоты с идентичным ему по строению участком нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) бактерии или вируса. В молекулярной гибридизации таким искусственным фрагментом является зонд, в ПЦР участвуют как минимум два таких фрагмента, именуемые праймерами (затравками). Молекулярная гибридизация по механизму довольно проста, собственно говоря, она мало чем отличается от ИФА, которую тоже относят к этой группе реакций. Если в пробе, сортированной на твердой подложке, присутствует идентичный (комплементарный) зонду участок ДНК, то зонд свяжется с ним и останется, после отмывки, в месте нанесения пробы. В связи с тем, что молекула зонда метится радиоактивным изотопом или ферментом как в ИФА, то после выявления этой метки, мы можем определить, в какой из проб исследуемого материала присутствует нуклеиновая кислота того или иного вируса. Полимеразная цепная реакция, она же реакция амплификации (amplification -усиление) немного сложнее. Специфичность реакции также определяется связыванием небольших синтетических фрагментов ДНК (праймеров) с комплементарными им участками ДНК изучаемого вируса. Там где эти праймеры прикрепились, запускается синтез новых небольших молекул ДНК строго определенной длинны. Длина молекулы определяется расстоянием между праймерами. На вновь синтезированную молекулу опять гибридизируются такие же праймеры, инициируя синтез новой молекулы, этот цикл повторяется 20-30 раз. Представим, что у нас в пробе всего одна молекула геномной ДНК вируса, которого мы хотим выявить. В связи с тем, что каждая молекула ДНК состоит из двух цепочек, то уже в первый цикл мы получим 4 молекулы ДНК, во втором цикле их уже будет 8, затем 16, 32 и т.д. После 20-30 циклов молекул будет столько, что мы их сможем обнаружить, используя метод электрофореза. Так как эти молекулы имеют одинаковую длину, они, даже если будут содержатся в пробе с большим количеством других молекул ДНК, образуют отдельную полосу на электрофореграмме.

Упомянутый выше механизм обеспечивает высокую специфичность реакции, ведь для того чтобы реакция прошла, два маленьких зонда – праймера не только должны специфически связаться с ДНК пробы, но они должны быть локализованы на строго определенном расстоянии друг от друга в строго определенной ориентации.

Недостатки. Прежде всего, следует говорить об интерпретации данных. Чем старее метод диагностики, тем больший массив информации по интерпретации результатов исследования и использованию их в практике, накоплен учеными и специалистами. Высокая чувствительность метода требует и высокой аккуратности в работе. Наиболее трудно разрешимая проблема – высокая специфичность – один ПЦР набор – одна инфекция. В этом плане, например, бактериологические методы исследований имеют неоспоримые преимущества.

Другая проблема, хотя и решаемая учеными, мы работаем с нуклеиновой кислотой, а не с живой системой, поэтому смоделировать чувствительность возбудителя инфекции к антибиотикам или его патогенность довольно сложно. Серологическая диагностика, нередко более чувствительна, т.к. даже крайне малое количество бактерий, локализованное в небольшом патологическом очажке, способно вызвать выработку специфических антител. ПЦР будет положительна только если в пробе будет содержатся ДНК этих бактерий. Иными словами, отсутствие реакции говорит только об отсутствии возбудителя в пробе патологического материала, это не значит, что возбудитель отсутствует в организме. Почему при всех недостатках количество тест-систем постоянно растет? Конструирование ПЦР или зонда основано на сложнейшем математическом аппарате. Основой для конструирования является изучение нуклеотидных последовательностей. Для работы не-

редко используют нуклеотидные последовательности уже полученные кем-то и размещенные в общедоступной базе данных. Современное программное обеспечение позволяет не только подобрать оптимальные зонды или праймеры, но и рассчитать параметры реакции, моделировать ее на компьютере с большим количеством разнообразного генетического материала. То есть для конструирования тест-системы достаточно компьютера и «Интернета». Все это немыслимо для разработки методов ИФА. Даже воплощение результатов конструирования в молекулах не требует такой высокой квалификации как при разработке ИФА. Ведь физико-химические свойства нуклеиновых кислот, мало отличаются у разных биологических объектов, соответственно и методы работы с ними не меняются. Для получения ИФА набора требуется выделение и очистка антигенов, для разных антигенов требуются различные методы и реакции. Стоимость оборудования и квалификация персонала для ИФА гораздо выше, чем для ПЦР. Поэтому мы, специалисты в области ПЦР диагностики довольно уверенно можем смотреть в завтрашний день. Допустим у Вас на птицефабрике ПЦР на Mycoplasma galiseptykum положительна, о чем это говорит? Конечно какой процент эмбрионов является носителем, какими патоморфологическими изменениями это сопровождается? Какой процент инфицированных цыплят в разные сроки жизни? Вся ли птица с характерными для микоплазмоза патологическими изменениями, имеет микоплазм и в каких органах, какой процент носительства? Есть ли связь между патологией и наличием положительной реакции? Из каких органов микоплазма после проведения антибиотикотерапии исчезает и какие антибиотики при этом наиболее эффективны и когда в антибиотикотерапии потребность может возникнуть опять? А как уровень титров антител препятствует носительству? Какой уровень титров антител к микоплазме галисептикум должен быть, чтобы препятствовать распространению микоплазм в организме птицы, защищают ли гистогематические барьеры микоплазм от вакцинации? И много других вопросов можно задать и решить с помощью методов генодиагностики. Но подчеркиваем, все эти вопросы решаются с использованием эпизоотологических подходов и самых разнообразных методов исследований от патологоанатомического вскрытия до ИФА.

Немного о будущем и настоящем. Прогресс в области генодиагностики идет как в экстенсивном (новые тест-системы), так и в интенсивном (новые методы) направлениях. Уже есть вложенная ПЦР, которая в несколько раз чувствительнее обычной. Есть модификация ПЦР, позволяющая определить нуклеотидную последовательность участка ДНК изучаемого инфекционного агента. Приобретает широкое распространение ГП и ПП-ПЦР, позволяющая различать штаммы, биовары и серотипы, генетическое родство различных изолятов. Становятся актуальными количественные ПЦР и молекулярная гибридизация, ПЦР в ИФА формате. Развитие молекулярной гибридизации тоже не стоит на месте. Гибридизация на гистосрезах позволяет анализировать взаимосвязь патологоанатомического процесса и локализации инфекционного агента, изучать патогенез инфекции, выяснять роль того или иного микроорганизма в патологическом процессе. FISH-метод молекулярной гибридизации дает возможность выявления на одном гистопрепарате 3-х разных инфекционных агентов.

При этом в последние годы появилось еще более перспективное направление -биотипы (ДНК чипы). Небольшая пластинка площадью от 1 до 3 см. позволяет протестировать пробу на наличие в ней нуклеиновых кислот от 1 -2 тысяч различных инфекционных агентов, дефектных генов геномной ДНК птицы и т.д. Следует упомянуть об упрощении методик и одновременном повышении квалификации персонала диагностических отделов птицефабрик. Так, например, некоторые методики молекулярной гибридизации вполне осуществимы на базе ИФА лабораторий. Уже сегодня есть методы выделения ДНК на бума-

ге не требующие центрифуг и примитивные в исполнении, сухие ПЦР наборы практически не требуют самостоятельного приготовления реакционных смесей, появились амплификаторы осуществляющие учет реакции и передающие данные в компьютер, есть полностью автоматизированные комплексы ПЦР диагностики. Таким образом, генодиагностике быть.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Применение метода молекулярной гибридизации (HPA – Hybrydyzation Protection Assay) позволяет идентифицировать микроорганизмы при помощи гибридизации генетического зонда (ДНК), меченного эфиром акридина, с комплементарными фрагментами рибосомальной РНК исследуемого микроорганизма. Выявление продукта гибридизации производится измерением хемилюминесценции на приборе LEADER 50i.

Преимущества метода

– Высокая специфичность
– Высокая чувствительность
– Выявление только живых микроорганизмов (рРНК)
– Сокращение времени ожидания результата до нескольких часов
– Возможность идентификации типичных палочек
– Быстрый и легкий в исполнении.

Типы тестов

– Тесты Accuprobe – специфические наборы для идентификации микроорганизмов прямо из культуральной среды в течение 1 часа. Этим методом можно идентифицировать микобактерии (комплекс M.tuberculosis, M.avium комплекс, M.avium, M.intracellulare, M.kansasii, M.gordonae), Грам(+) бактерий (стафилококки группы А, В, и S.aureus, S.pneumonia, Enterococcus, Listeria monocytogenes), Грам(-) бактерии (Campylobacter, Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae), грибы (Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum).

– Тесты Pace 2 – позволяют определить в течение 30 минут наличие Chlamydia trachomatis и Neisseria gonorrhoeae в исследуемых клинических пробах.

– Прямой тест Direct – для идентификации стрептококков группы А из клинических проб за 2ч. 30 мин.

– Тесты с амплификацией рРНК (Transcription Mediated Amplification – молекулярная гибридизация после амплификации рибосомальной РНК исследуемого микроорганизма) – позволяют идентифицировать генетические зонды для выявления наличия микроорганизмов в промышленной микробиологии.

L.monocytogenes	кат. 39500	Выявление L.monocytogenes	20 тестов
Mycoplasma Tissue Culture	кат. 39501	Набор для выявления микоплазм в культуре ткани	20 тестов
Campylobacter	кат. 39502	Выявление кампилобактера	20 тестов

Mycobacterium tuberculosis и Chlamydia trachomatis прямо из клинических проб за 2ч. 30 мин.

HLA-DR типирование

Метод HLA-DR типирования – применяется для определения гистосовместимости при пересадках тканей, органов и костного мозга.

Тест HLA-DR oligo detection основан на прямом определении полиморфизма HLA-R на уровне ДНК (выявление олигонуклеотида с использованием метода реверс-гибридизации).

Тест адаптирован к обычным лабораторным условиям, простой и точный.

Считывание результатов визуальное или с использованием ридера микротитрационных плашек.

Идентификация производится по аналитической таблице.

Время исследования – 90 мин. от начала амплификации.



ГЛАВА 7. БИОТЕХНОЛОГИЯ. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Вторая половина XX в. ознаменовалась появлением и развитием ряда основополагающих фундаментальных наук, определявших успехи в научно-техническом прогрессе в целом и отразившихся на изменении уровня и образа жизни человека. К ним следует отнести атомную энергию, радиоэлектронику, сверхпроводимость, робототехнику, искусственный интеллект, информатику и другие технические науки. Однако, по мнению большинства ученых, государственных и общественных деятелей, все же ведущей наукой, которая будет определять научно-технический прогресс в ближайшие десятилетия, будет биотехнология, успехи и открытия в биологии. По мнению академика А. А. Баева (1998), изложенному им в анкете-прогнозе развития биологии на ближайшее десятилетие, основную роль будут играть следующие направления:

1) комплекс «молекулярных наук» – молекулярные основы иммунитета; молекулярные основы рака; молекулярные основы нервной деятельности;

2) биотехнология – фармацевтические продукты, трансгенные животные, трансгенные растения;

3) геном человека: структура генома, функция генома, генотерапия, диагностика и профилактика наследственных болезней.

По существу, как следует из этого прогноза, биотехнология не только решает конкретные задачи и направления в биологии, но и пронизывает буквально все области профилактической и клинической медицины.

Биотехнология тесно связана с микробиологией и иммунологией. Фактически она родилась в недрах микробиологии, является развитием технической микробиологии. Не случайно, основоположником биотехнологии по праву признается основатель микробиологии и иммунологии Л. Пастер, открывший ферментативную природу брожения. Вот почему знакомство с основами медицинской биотехнологии заложено в программе кафедр микробиологии и иммунологии медицинских вузов.

Сущность биотехнологии. Цели и задачи

Биотехнология представляет собой область знаний, которая возникла и оформилась на стыке микробиологии, молекулярной биологии, генетической инженерии, иммунологии, химической технологии и ряда других наук. Рождение биотехнологии обусловлено потребностями общества в новых, более дешевых продуктах для народного хозяйства, в том числе, для медицины и ветеринарии, а также принципиально новых технологиях. Само слово «биотехнология» произошло от греч. *bios* – жизнь, *tecen* – искусство, *logos* – наука. Целью биотехнологии является получение продуктов из биологических объектов или с их применением, а также воспроизведение биоэффектов, не встречающихся в природе. В качестве биологических объектов, чаще всего, используются одноклеточные микроорганизмы, животные и растительные клетки, а также организм животных, человека или растений. Выбор этих объектов обусловлен следующими причинами:

1) Клетки являются своего рода «биофабриками», вырабатывающими в процессе жизнедеятельности разнообразные ценные продукты: белки, жиры, углеводы, витамины, аминокислоты, антибиотики, гормоны, антитела, антигены, ферменты, спирты и т.д. Многие из этих продуктов, крайне необходимые в жизни человека, пока недоступны для получения «небиотехнологическими» способами.

2) Клетки чрезвычайно быстро воспроизводятся. Так, бактериальная клетка, делится через каждые 20 – 60 мин, дрожжевая – через 1,5 – 2 ч, животная – через 24 ч, что

позволяет за относительно короткое время искусственно нарастить на сравнительно дешевых и недефицитных питательных средах в промышленных масштабах огромные количества биомассы микробных, животных или растительных клеток.

3) Биосинтез сложных веществ, таких, как белки, антибиотики, антигены, антитела и др. значительно экономичнее и технологически доступнее, чем другие виды химического синтеза. При этом исходное сырье для биосинтеза, как правило, проще, дешевле и доступнее, чем сырье для других видов синтеза. Для этого используются отходы сельскохозяйственной, рыбной продукции, пищевой промышленности, растительное сырье, например рыбная мука, меласса, дрожжи, древесина и др.

4) Возможность проведения биотехнологического процесса в промышленных масштабах, т.е. наличие соответствующего технологического оборудования, доступность сырья, технология переработки и т.д.

Биотехнология использует следующие продукты одноклеточных:

а) Сами клетки как источник целевого продукта;

б) Крупные молекулы, которые синтезируются клетками в процессе выращивания: ферменты, токсины, антигены, антитела, пептидогликаны и др.;

в) Первичные метаболиты – низкомолекулярные вещества (мол. масса менее 1500 Да), необходимые для роста клеток (аминокислоты, витамины, нуклеотиды, органические кислоты и др.);

г) Вторичные метаболиты *(идиолиты)* – низкомолекулярные и макромолекулярные соединения, не требующиеся для роста клеток: антибиотики, алкалоиды, токсины, гормоны и др.

Биотехнология использует эту продукция клеток как сырье, которое в результате технологической обработки превращается в конечный, пригодный для использования, продукт.

Помимо микроорганизмов, животных и растительных клеток, биотехнология в качестве биологических объектов использует органы и ткани человека и животных, растения, организм животных и человека. Например, для получения инсулина используется поджелудочная железа крупного рогатого скота и свиней, гормона роста – гипофизы трупов человека; для получения иммуноглобулинов используют организм лошадей и других животных, препаратов крови – доноров и т.д.

Биотехнология, используя перечисленные выше биологические объекты, получает огромный ассортимент продукции, используемой в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве, пищевой и химической промышленности, в других отраслях народного хозяйства. К ним относятся, например, такие продукты, без которых немыслимо существование современного человека, как антибиотики, витамины, ферменты, вакцины, гормоны, аминокислоты, нуклеотиды, комплемент и препараты крови, иммуномодуляторы, антитела, диагностические препараты, сердечнососудистые, противоопухолевые и множество других фармацевтических препаратов; пищевые и кормовые белки, биологические средства защиты растений, инсектициды, сахара, спирты, липиды, дрожжи, кислоты, бутанол, ацетон и многие другие.

Помимо этого, биотехнология играет большую роль в оздоровлении окружающей среды – в экологии, так как с помощью биотехнологических процессов проводят очистку от загрязняющих веществ почвы, водоемов, воздушную среду путем их биоконверсии и биодеградации.

Однако, биотехнология не ограничивается получением только вышеперечисленных продуктов. Значительные, более масштабные и революционные проблемы она решает на пути создания трансгенных животных и растений, т.е. создания новых, ранее неизвестных

пород животных и растений, а также клонирования животных. Новейший раздел биотехнологии – генетическая и белковая инженерия – позволяет получать совершенно уникальные биотехнологические эффекты, открывать способы диагностики, профилактики и лечения врожденных болезней, влиять на свойства генома человека, животных и растений.

Одним из перспективных направлений биотехнологии является разработка биосенсоров для определения, индикации и идентификации биологически активных веществ и макромолекул. Принцип работы биосенсоров основан на регистрации с помощью датчиков и детекторов физических, химических или биологических эффектов, возникающих при взаимодействии детектируемых клеток и молекул с биореагентами. Например, реакцию антиген – антитело можно выявлять по физическим, биологическим и химическим эффектам, сахар в крови – по $C0_2$, образующемуся в результате его расщепления ферментом («ферментным электродом»).

Следовательно, биотехнология призвана внести существенный вклад в создание эффективных диагностических, профилактических и лечебных медицинских и ветеринарных препаратов, решение продовольственной программы (повышение урожайности, продуктивности животноводства, улучшение качества пищевых продуктов – молочной, кондитерской, хлебобулочной, мясной и рыбной продукции), обеспечение многих технологических процессов в легкой, химической и других отраслях промышленности, а также в оздоровлении окружающей среды. В настоящее время в биотехнологии выделяют 4 приоритетных направления: а) медико-фармацевтическое; б) продовольственное; в) сельскохозяйственное; г) экологическое.

В литературе не просто отсутствует приемлемое определение предмета биотехнологии, а даже ведется спор, что такое биотехнология – наука или производство? Некоторые авторы понимают биотехнологию как сугубо промышленную отрасль, другие – сводят ее к генетической инженерии, третьи – дают половинчатое определение, сводя биотехнологию к процессу использования культур клеток бактерий, дрожжей, животных и растений для получения специфических веществ. Н. П. Блинов определяет биотехнологию как науку об использовании биологических процессов в технике и промышленном производстве.

Видимо, правильно будет определять **биотехнологию как науку, которая на основе изучения процессов жизнедеятельности живых организмов, главным образом, микроорганизмов, животных и растительных клеток, использует эти биологические процессы, а также сами биологические объекты для промышленного производства продуктов, необходимых для жизни человека или воспроизведения биоэффектов, не проявляющихся** в **естественных условиях** (А. А. Воробьев).

В биотехнологии, как в никакой другой области знаний, тесно увязываются наука и производство. Промышленное производство в биотехнологии, по сути дела, основано на нескольких принципах: на брожении (ферментации), биоконверсии (превращении одного вещества в другое), культивировании растительных и животных клеток, бактерий и вирусов; на генетических манипуляциях. в том числе, генно-инженерных процедурах. Естественно, что реализация этих научных принципов в производстве потребовала разработки соответствующего промышленного оборудования и аппаратуры, отработки и оптимизации технологических процессов, разработки способов оценки и контроля продукции на всех ее стадиях. Современная биотехнологическая промышленность располагает крупными заводами, опытно-конструкторскими учреждениями, научно-исследовательскими институтами; фундаментальными проблемами биотехнологии заняты научно-исследовательские институты Академии наук, Академии медицинских наук, Академии сельскохозяйственных наук и ряд прикладных отраслевых институтов.

Краткая история развития биотехнологии

Старая биотехнология возникла в древности, примерно 6000 – 5000 лет до н. э., тогда, когда люди научились выпекать хлеб, варить пиво, приготовлять сыр и вино. Этот первый этап биотехнологии был сугубо эмпирический и продолжал оставаться таким, несмотря на совершенствование технологических процессов и расширение сфер использования биотехнологических приемов, вплоть до открытия Л. Пастером в XIX в. ферментативной природы брожения. С этого момента начался второй, научный этап традиционной биотехнологии. В этот период получены и выделены ферменты, открыты многие микроорганизмы; разработаны способы их выращивания и получения в массовых количествах; получены культуры животных и растительных клеток и разработаны способы искусственного культивирования; в результате изучения физиологии, биохимии и генетики микробных и животных клеток намечены пути получения многих продуктов микробиологического синтеза, необходимых для медицины, сельского хозяйства и промышленности. Вначале сформировалась техническая микробиология, а затем – биотехнология. Однако промышленное производство сводилось в основном к получению на основе природных штаммов биомассы бактерий, дрожжей, грибов, вирусов, из которых затем получали или выделяли необходимый продукт (ферменты, антибиотики, антигены, белок и т.д.).

На смену старой, традиционной биотехнологии пришла новая биотехнология, основанная на применении искусственно получаемых штаммов – суперпродуцентов бактерий, клеток животных и растений, на использовании иммобилизованных ферментов, применении культур животных и растительных клеток, широком использовании генно-инженерных работ для получения клеток-рекомбинантов, моноклональных антител и других биологически активных веществ.

Новая биотехнология возникла, таким образом, на основе достижений молекулярной биологии и микробиологии, генетики и генной инженерии, иммунологии и химической технологии. Сердцевиной ее явилась генетическая инженерия, индустрия рекомбинантных ДНК.

Рождение новой биотехнологии обусловлено рядом принципиальных открытий и достижений в науке, таких, как доказательство 2-нитевой структуры ДНК, расшифровка генетического кода и доказательство его универсальности для человека, животных, растений, бактерий и т.д.; искусственный синтез биологически активных веществ, открытие ферментов обмена нуклеиновых кислот, получение рекомбинантных ДНК, а также рекомбинантных вирусов, бактерий, способных синтезировать несвойственные им продукты; искусственный синтез генов и их экспрессия в биологических объектах; получение трансгенных животных и растений, генодиагностика и генотерапия и др.

Вышеупомянутые фундаментальные достижения позволили в течение последнего десятилетия расшифровать, синтезировать и создать рекомбинантные молекулы для целого ряда белковых продуктов (гормонов, антигенов, ферментов, иммунопрепаратов) и получать их в несвойственных биологических системах.

Возможности генной инженерии и биотехнологии в наши дни таковы, что ставится задача расшифровать и получить геном человека. Основная цель этой программы – прочтение наследственной информации, записанной в ДНК человека, с тем, чтобы установить структуру и механизм работы генов и хромосомы и на основании этого попытаться исправлять наследственные повреждения генома человека, направленно менять генетическую программу животных и растений. Создана программа «Геном человека», которая успешно решается. В настоящее время уже расшифровано примерно 5000 генов из 40 – 50 тыс., заложенных в ДНК человека, а также расшифрована нуклеотидная последовательность всей ДНК человека.

Микроорганизмы и процессы, применяемые в биотехнологии

На Земле существует около 100 000 видов бактерий, не считая многочисленных грибов (250 тыс. видов), вирусов, простейших. Микробы, как указывалось, способны синтезировать продукты или осуществлять реакции, полезные для биотехнологии. Однако, в практике используют не более 100 видов микроорганизмов, так как остальные мало изучены.

Так, например, дрожжи используют в хлебопечении, пивоварении, виноделии, получении соков, кормового белка, питательных сред для выращивания бактерий и культур животных клеток.

Из бактерий в биотехнологии чаще всего используются: род *Acetobacter* – для превращения этанола в уксусную кислоту, в углекислый газ и воду; род *Bacillus* – для получения ферментов *(B. subtilis),* средств защиты растений *(B. thuringiensis);* род *Clostridium* – для сбраживания сахаров в ацетон, этанол, бутанол; молочнокислые бактерии *(Lactobacillus* и др.); псевдомонады, например, *Ps. deni-trificans,* – для получения витамина B_{12}; *Corinebacterium gentamicum* – для получения аминокислот и др.

Из грибов в биотехнологии для получения разнообразных антибиотиков применяют род *Streptomices, Peniciliumchrysogenium, Cefalosporum acremonium, Streptomyces spp.* и др.

Естественно, широкое применение в получении диагностикумов, вакцин, иммуноглобулинов, эубиотиков, фагов и других микробных препаратов находят патогенные и вакцинные штаммы болезнетворных микробов, а также условно-патогенные микроорганизмы.

Многие микроорганизмы – бактерии, дрожжи, вирусы – используются в качестве реципиентов чужеродного генетического материала с целью получения рекомбинантных штаммов – продуцентов биотехнологической продукции. Так, получены рекомбинантные штаммы *E. coli,* продуцирующие интерфероны, инсулин, гормоны роста, разнообразные антигены; штаммы *B. subtilis,* вырабатывающие интерферон; дрожжи, продуцирующие интерлейкины, антигены вируса гепатита В, рекомбинантные вирусы, осповакцины, синтезирующие антигены гепатита В, вирус клещевого энцефалита – **ВИЧ** и другие антигены.

Широкое применение в биотехнологии нашли культуры животных и растительных клеток. Известно, что строение, физиология и биохимия животных и растительных клеток более сложны, чем бактериальных клеток. Хотя из животных и растительных клеток можно извлекать более широкой ассортимент сложных и ценных веществ, однако, их трудно культивировать. Из культур клеток растений (так же как и из растений) можно получать разнообразные соединения, используемые в медицине (алкалоиды, противовоспалительные вещества, противолейкозные и противоопухолевые, противобактериальные, сердечные и мочегонные средства, ферменты, опиаты, витамины и др.), в сельском хозяйстве, в химической и других отраслях промышленности. Например, разработано и освоено в крупномасштабном производстве выращивание клеток женьшеня, обладающего биологическим действием, присущим природному женьшеню.

Животные клетки используют как для получения продукции, синтезируемой клетками, так и для выращивания в клетках вирусов с целью получения из них вакцин и диагностических препаратов. Для этого используют перевиваемые и первичные (первично-трипсинизированные) клетки человека и животных, полученные из различных нормальных органов (легких, кожи, почек, костного мозга, соединительной ткани) или опухолевых тканей. Штаммы животных и растительных клеток поддерживаются в специальных слож-

ных условиях (замороженные в жидком азоте) и как можно реже подвергаются пересевам, так как, они могут претерпевать генетические изменения.

Технология получения продуктов микробного и клеточного синтеза принципиально сводится к нескольким типовым стадиям: выбор продуктивного штамма; подбор оптимальной для роста экономичной питательной среды; культивирование; выделение целевого продукта, его стандартизация и придание лекарственной формы препарату. Перечисленные стадии и процессы осуществляются в промышленной биотехнологии на соответствующем оборудовании и аппаратуре в крупных масштабах при получении многих медицинских препаратов.

Генетическая инженерия и область ее применения в биотехнологии

Генетическая инженерия является сердцевиной биотехнологии. Она, по существу, сводится к генетической рекомбинации, т.е. к обмену генами между двумя хромосомами, которая приводит к возникновению клеток или организмов с двумя и более наследственными детерминантами (генами), по которым родители различались между собой. Метод рекомбинации *in vitro* или генетической инженерии заключается: а) в выделении или синтезе ДНК из отличающихся друг от друга организмов или клеток; б) получении гибридных молекул ДНК; в) введении рекомбинатных (гибридных) молекул в живые клетки; г) создании условий для экспрессии и секреции продуктов, кодируемых генами.

Гены, кодирующие те или иные структуры, или выделяют (клонируют) как таковые (хромосомы, плазмиды), или прицельно выщепляют из этих генетических образований с помощью ферментов рестрикции. Набор этих ферментов, а их уже известно более тысячи, способны резать ДНК по многим определенным связям, что является важным инструментом генной инженерии.

В последнее время, обнаружены ферменты, расщепляющие по определенным связям РНК, наподобие рестриктаз ДНК. Эти ферменты названы рибозимами.

Чтобы представить генетические структуры клеток человека, бактерий, а также вирусов, приведем такие данные. Бактериальная хромосома представляет собой молекулу ДНК длиной 1 мм, состоящую приблизительно из 3 млн пар нуклеотидов. В клетке она компактно уложена несколько тысяч раз и занимает пространство менее 1 мкм в поперечнике. В клетках человека ДНК организована в 46 хромосом, каждая из которых содержит молекулу ДНК длиной 4 см, а полное число нуклеотидов в ней приближается к 3 млрд пар.

Сравнительно небольшие гены могут быть получены с помощью химического синтеза. Для этого, вначале расшифровывают число и последовательность аминокислот в белковой молекуле вещества, а затем, по этим данным узнают очередность нуклеотидов в гене, поскольку каждой аминокислоте соответствуют три нуклеотида (кодон). С помощью синтезатора создают химическим путем ген, аналогичный природному гену.

Полученный одним из способов, целевой ген с помощью ферментов лигаз сшивают с другим геном, который используется в качестве вектора, для встраивания гибридного гена в клетку. Вектором могут служить плазмиды, бактериофаги, вирусы человека, животных и растений.

Для РНК-вирусов передача генетической информации возможна с помощью ревертазы (обратной транскриптазы), которая передает информацию о структуре белка от РНК к ДНК, которая является комплементарной информационной РНК.

Экспрессируемый ген в виде рекомбинатной ДНК (плазмида, фаг, вирусная ДНК) встраивается в бактериальную или животную клетку, которая приобретает новое свой-

ство – продуцировать несвойственное этой клетке вещество, кодируемое экспрессируемым геном.

В качестве реципиентов экспрессируемого гена, чаще всего, используют *E. coli, B. subtilis,* псевдомонады, дрожжи, вирусы. Реципиента подбирают не только с учетом возможности встройки чужеродного гена, но и уровня выраженности (экспрессии) синтеза вещества, кодируемого геном, возможности его секреции в окружающую среду, легкости и доступности массового культивирования, экологической безопасности. Некоторые штаммы рекомбинантных бактерий способны переключать на синтез чужеродного вещества, экспрессируемого геном до 50% своей синтетической возможности. Такие штаммы – суперпродуценты целевых продуктов уже получены и применяются в биотехнологической промышленности. В качестве примера можно привести штаммы – суперпродуценты триптофана, интерферона и других веществ.

Некоторые штаммы микроорганизмов хорошо экспрессируют чужеродные гены, но плохо секретируют продукт в окружающую среду. В таких случаях, приходится прибегать к дезинтеграции (разрушению) клетки с целью высвобождения из нее синтезированного продукта. Иногда, несмотря на наличие экспрессии и секреции продукта клеткой, его не удается получить, вернее – собрать, из-за разрушения в процессе синтеза или после него протеазами и другими ингибиторами. В некоторых случаях, с целью повышения уровня секреции целевого белка, к гену целевого белка присоединяют ген-индикатор, т.е. ген, кодирующий легко узнаваемый белок, в результате этой манипуляции, получают химерный белок, а из него – целевой белок. В качестве индикатора может быть, например, р-галактозидаза, можно использовать ген интерферона и т.д.

Методом генетической инженерии созданы сотни препаратов медицинского и ветеринарного назначения, получены рекомбинантные штаммы-суперпродуценты, многие из которых нашли практическое применение. Уже применяются в медицине полученные методом генетической инженерии вакцины против гепатита В, интерлейкины – 1, 2, 3, 6 и другие, инсулин, гормоны роста, интерфероны а, Р, у, фактор некроза опухолей, пептиды тимуса, миелопептиды, тканевой активатор плазминогена, эритропоэтин, антигены ВИЧ, фактор свертываемости крови, моноклональные антитела и многие антигены для диагностических целей.

Разработаны и в ближайшие годы будут использованы в практике генно-инженерные вакцины против малярии, ВИЧ-инфекции, сифилиса, клещевого энцефалита, холеры, бруцеллеза, гриппа, бешенства и других инфекций; интерлейкины-6-18, пептиды тимуса, колониестимулирующие факторы, эпи-дермальный фактор роста, атриальный пептид, фактор тромбоцитов, рекомбинантные антигены многих бактерий и вирусов, нейропептиды и другие поведенческие пептиды, рецепторы клеток, ферменты, метаболиты, тканевые антигены, антигены опухолей и др.

Работы по созданию рекомбинантных препаратов ведутся широким фронтом. Быстрому внедрению их в практику препятствуют следующие преодолимые обстоятельства.

Во-первых, длительное время к генно-инженерным препаратам и рекомбинантным штаммам микроорганизмов относились настороженно и даже с опаской, боясь, что может произойти неуправляемое распространение экологически опасных рекомбинантных микробов, а в препаратах может содержаться нежелательная для организма генетическая информация. Однако, в настоящее время, эти опасения практически сняты, так как доказана безопасность при соблюдении определенных правил и самих рекомбинантных штаммов и препаратов, полученных на их основе.

Во-вторых, использование рекомбинантных штаммов-продуцентов предусматривает разработку сложных технологических процессов по получению и выделению целевых

продуктов. На разработку технологии обычно затрачивается значительно больше средств, чем на получение штамма.

В-третьих, при получении препаратов генно-инженерным способом всегда возникает вопрос об идентичности активного начала, вырабатываемого рекомбинантным штаммом-продуцентом, природному веществу, т.е. требуется проведение исследовательских работ, направленных на доказательство их идентичности, а также иногда для решения дополнительных задач по приданию продукту природного характера.

Тем не менее, генно-инженерный способ относится к числу перспективнейших при получении многих белковых биологических веществ, ценных для медицины.

Таким образом, биотехнология проникла во все сферы науки и производства, стала незаменимой в жизни людей. Мы переживаем ее бурный расцвет, каждый день приносит новые результаты. Развитие биотехнологии во всех странах порождает конкуренцию на рынках сбыта. Так, сейчас за рынки сбыта генно-инженерных продуктов (вакцина против гепатита В, интерферон, интерлейкин и др.) за рубежом конкурируют десятки и сотни фирм. Это определяет темпы развития, с одной стороны, а также служит движущей силой поиска и разработки новых продуктов для медицины, ветеринарии, промышленности – с другой. Будущее за биотехнологией, как наиболее природной и рациональной сферой в области производства многих жизненно ценных продуктов, в том числе, медицинского назначения.

ГЛАВА 8. ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Сдерживание или прекращение роста микробов достигается различными методами (комплексами мер): антисептикой, стерилизацией, дезинфекцией, химиотерапией. Соответственно, химические вещества, которые применяются для осуществления этих мер, называются стерилизующими агентами, дезинфектантами, антисептиками и противомикробными химиопрепаратами. Противомикробные химические средства подразделяют на две группы: (1) **не обладающие избирательностью действия** – губительны в отношении большинства микробов (антисептики и дезинфектанты), но при этом токсичны для клеток макроорганизма и (2) **обладающие избирательностью действия** (химиотерапевтические средства).

Химиотерапевтические препараты

Химиотерапевтические противомикробные лекарственные средства – это химические препараты, которые применяют при инфекционных заболеваниях для **этиотропного** лечения (т.е. направленного на микроб, как на причину болезни), а также *(редко и осторожно!)* для профилактики инфекций.

Химиопрепараты вводят внутрь организма, поэтому они должны губительно действовать на возбудителей инфекций, но при этом, быть нетоксичными для человека и животных, т.е. обладать **избирательностью действия.**

Избирательное действие *(«селективная токсичность»)* – термин, предложенный немецким иммунохимиком, лауреатом Нобелевской премии Паулем Эрлихом и характеризующий **разную** степень токсичности химиопрепарата для паразитов и для клеток организма хозяина. Для осуществления избирательности необходимо, чтобы противомикробный препарат действовал на такую мишень, которая есть у микроба, но отсутствует в клетках макроорганизма. Такие мишени легче подобрать для прокариотов (бактерий), так как у них гораздо больше отличий от клеток хозяина, чем у эукариотических микробов (грибы, простейшие). Наиболее отличаются от клеток хозяина вирусы, как не имеющие клеточных структур и собственного метаболизма. Тем не менее выбрать мишени для селективного действия противовирусных препаратов оказалось чрезвычайно сложно, так как вирусы – облигатные внутриклеточные паразиты и, следовательно, противовирусные препараты должны осуществлять свое действие внутри клетки хозяина, не принося ей вреда.

В настоящее время известны тысячи химических соединений, обладающих антимикробной активностью, но лишь только несколько десятков из них применяются в качестве химиотерапевтических средств.

По тому, на какие микробы действуют химиотерапевтические препараты, определяют **спектр** их активности:

- действующие на клеточные формы микроорганизмов **(антибактериальные, противогрибковые, противопротозойные).** ***Антибактериальные,*** в свою очередь, принято подразделять на препараты **узкого** и **широкого** спектра действия: ***узкий*** – когда препарат активен в отношении только небольшого количества разновидностей или грамположительных, или грамотрицательных бактерий, а ***широкий*** – если препарат действует на достаточно большое количество разновидностей представителей обеих групп.
- **противовирусные** химиопрепараты.

Кроме того, существуют некоторые антимикробные химиотерапевтические лекарственные средства, обладающие также *противоопухолевой* активностью.

По типу действия различают химиопрепараты:

• **«Микробоцидные»** (бактерицидные, фунгицидные и т. п.), т.е. губительно действующие на микробы, за счет необратимых повреждений;

• **«Микробостатические»,** т.е. ингибирующие рост и размножение микробов.

К антимикробным химиотерапевтическим средствам относят следующие группы препаратов:

• **Антибиотики** (действуют только на клеточные формы микроорганизмов; также известны противоопухолевые антибиотики).

• **Синтетические химиопрепараты** разного химического строения (среди них есть препараты, которые действуют или на клеточные микроорганизмы, или на неклеточные формы микробов).

Антибиотики

Тот факт, что одни микробы могут каким-то образом задерживать рост других, был хорошо известен издавна. Еще в 1871 – 1872 гг. российские ученые В. А. Манассеин и А. Г. Полотебнов наблюдали эффект при лечении зараженных ран прикладыванием плесени. Наблюдения Л. Пастера (1887) подтвердили, что **антагонизм** в мире микробов – это распространенное явление, однако природа его была неясна. В 1928 – 1929 гг. А. Флеминг открыл штамм плесневого гриба пенициллa *(Penicillium notatum)*, выделяющего химическое вещество, которое задерживает рост стафилококка. Вещество было названо «пенициллин», однако лишь в 1940 г. Х. Флори и Э. Чейн смогли получить стабильный препарат очищенного пенициллина – первый антибиотик, нашедший широкое применение в клинике. В 1945 г А. Флеминг, Х. Флори и Э. Чейн были удостоены Нобелевской премии. В нашей стране большой вклад в учение об антибиотиках внесли З. В. Ермольева и Г. Ф. Гаузе.



А. Флеминг
(1881-1955)

Сам термин «антибиотик» (от греч. *anti, bios* – против жизни) был предложен С. Ваксманом в 1942 г. для обозначения природных веществ, *продуцируемых* микроорганизмами и в низких концентрациях антагонистичных к росту других бактерий.

Антибиотики – это химиотерапевтические препараты из химических соединений биологического происхождения (природные), а также их полусинтетические производные и синтетические аналоги, которые в низких концентрациях оказывают избирательное повреждающее или губительное действие на микроорганизмы и опухоли.

Источники и способы получения антибиотиков

Основными продуцентами природных антибиотиков являются микроорганизмы, которые, находясь в своей естественной среде (в основном, в почве), синтезируют антибиотики в качестве средства выживания в борьбе за существование. Животные и растительные клетки также могут вырабатывать некоторые вещества с селективным антимикробным действием (например, фитонциды), однако, широкого применения в медицине в качестве продуцентов антибиотиков они не получили.

Таким образом, основными источниками получения природных и полусинтетических антибиотиков стали:

• **Актиномицеты** (особенно стрептомицеты) – ветвящиеся бактерии. Они синтезируют большинство природных антибиотиков (80%).

• **Плесневые грибы** – синтезируют природные бета-лактамы (грибы рода *Cephalosporium* и *Penicillium*)и фузидиевую кислоту.

• **Типичные бактерии** – например, эубактерии, бациллы, псевдомонады – продуцируют бацитрацин, полимиксины и другие вещества, обладающие антибактериальным действием.

Существует три основных способа получения антибиотиков:

• **биологический** синтез (так получают природные антибиотики – натуральные продукты ферментации, когда в оптимальных условиях культивируют микробы-продуценты, которые выделяют антибиотики в процессе своей жизнедеятельности);

• **биосинтез** с последующими **химическими модификациями** (так создают полусинтетические антибиотики). Сначала путем биосинтеза получают природный антибиотик, а затем его первоначальную молекулу видоизменяют путем химических модификаций, например, присоединяют определенные радикалы, в результате чего, улучшаются противомикробные и фармакологические характеристики препарата;

• **химический** синтез (так получают синтетические ***аналоги*** природных антибиотиков, например, хлорамфеникол/левомицетин). Это – вещества, которые имеют такую же структуру, как и природный антибиотик, но их молекулы синтезированы химически.

Классификация антибиотиков по химической структуре

По химической структуре антибиотики сгруппированы в семейства (классы):

- **бета-лактамы** *(пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы)*
- **гликопептиды**
- **аминогликозиды**
- **тетрациклины**
- **макролиды (и азалиды)**
- **линкозамиды**
- **левомицетин (хлорамфеникол)**
- **рифамицины**
- **полипептиды**
- **полиены**
- **разные антибиотики** *(фузидиевая кислота, фузафунжин и др.)*

Бета-лактамы. Основу молекулы составляет бета-лактамное кольцо, при разрушении которого препараты теряют свою активность; тип действия – бактерицидный. Антибиотики этой группы подразделяют на пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы и монобактамы.

– **Пенициллины.** Природный препарат – бензилпенициллин (пенициллин G) – активен против грам-положительных бактерий, однако, имеет много недостатков: быстро выводится из организма, разрушается в кислой среде желудка, инактивируется пенициллиназами – бактериальными ферментами, разрушающими бета-лактамное кольцо. Полусинтетические пенициллины, полученные путем присоединения к основе природного пенициллина – 6-аминопенициллановой кислоте – различных радикалов, имеют преимущества перед природным препаратом, в том числе, широкий спектр действия:

– **депо-препараты** *(бициллин)*, действует около 4 недель (создает депо в мышцах), применяется для лечения сифилиса, профилактики рецидивов ревматизма;

– **кислотоустойчивые** *(феноксиметилпенициллин)* – для перорального приема;

– **пенициллиназоустойчивые** *(метициллин, оксациллин)*, но у них довольно узкий спектр;

– **широкого спектра** *(ампициллин, амоксициллин)*;

- антисинегнойные *(карбоксипенициллины – карбенициллин, уреидопенициллины – пиперациллин, азлоциллин);*

• **комбинированные** (амоксициллин + клавулановая кислота, ампициллин+сульбактам). В состав этих препаратов включены **ингибиторы** ферментов – **бета-лактамаз** (клавулановая кислота и др.), которые тоже содержат в своей молекуле бета-лактамное кольцо: их противомикробная активность очень низка, но они легко связываются с этими ферментами, ингибируют их и таким образом, защищают молекулу антибиотика от разрушения.

– **Цефалоспорины.** Спектр действия широкий, но более активны в отношении грамотрицательных бактерий. По последовательности внедрения различают 4 поколения (генерации) препаратов, которые отличаются по спектрам активности, устойчивости к бета-лактамазам и некоторым фармакологическим свойствам, поэтому препараты одного поколения **не заменяют** препараты другого поколения, а **дополняют.**

• 1-е **поколение** *(цефазолин, цефалотин и др.)* – более активны в отношении грамположительных бактерий, разрушаются бета-лактамазами;

• **2-е поколение** *(цефуроксим, цефаклор и др.)* – более активны в отношении грамотрицательных бактерий, более устойчивы к бета-лактамазам;

• **3-е поколение** *(цефотаксим, цефтазидим и др.)* – более активны в отношении грамотрицательных бактерий, высоко резистентны к действию бета-лактамаз;

• 4-е **поколение** *(цефепим и др.)* – действуют в основном на грамположительные, некоторые грамотрицательные бактерии и синегнойную палочку, резистентны к действию бета-лактамаз.

– **Карбапенемы** *(имипенем и др.)* – из всех бета-лактамов имеют самый широкий спектр действия и резистентны к бета-лактамазам.

– **Монобактамы** *(азтреонам и др.)* – резистентны к бета-лактамазам. Спектр действия узкий (очень активны против грамотрицательных бактерий, в том числе, против синегнойной палочки).

ГЛИКОПЕПТИДЫ *(ванкомицин и тейкопланин)* – это крупные молекулы, которым трудно пройти через поры грамотрицательных бактерий. Вследствие этого, спектр действия ограничивается грамположительными бактериями. Их используют при резистентности или аллергии к бета-лактамам, при псевдомембранозном колите, вызываемом *Clostridium difficile.*

АМИНОГЛИКОЗИДЫ – соединения, в состав молекулы которых входят аминосахара. Первый препарат – стрептомицин – был получен в 1943 г. Ваксманом, как средство для лечения туберкулеза. Сейчас различают несколько поколений препаратов: *(1) стрептомицин, канамицин и др., (2) гентамицин, (3) сизомицин, тобрамицин и др.* Препараты бактерицидны, спектр действия – широкий (особенно активны против грамотрицательных бактерий, действуют на некоторых простейших).

ТЕТРАЦИКЛИНЫ – это семейство крупномолекулярных препаратов, имеющих в своем составе четыре цикличных соединения. В настоящее время, в основном, применяют полусинтетики, например, *доксициклин.* Тип действия – статический. Спектр действия – широкий (особенно часто используются для лечения инфекций, вызванных внутриклеточно расположенными микробами: риккетсиями, хламидиями, микоплазмами, бруцеллами, легионеллами).

МАКРОЛИДЫ (и азалиды) – это семейство больших макроциклических молекул. *Эритромицин* – наиболее известный и широко используемый антибиотик. Более новые препараты: *азитромицин, кларитромицин* (их можно применять всего 1–2 раза в сутки). Спектр действия – широкий, включая внутриклеточные микроорганизмы, легионеллы,

гемофильную палочку. Тип действия – статический (хотя, в зависимости от вида микроба, может быть и цидным).

ЛИНКОЗАМИДЫ *(линкомицин* и его хлорированный дериват – *клиндамицин)*. Бактериостатики. Спектр их действия похож на макролиды, клиндамицин особенно активен против анаэробов.

ЛЕВОМИЦЕТИН (ХЛОРАМФЕНИКОЛ) имеет в составе молекулы нитробензеновое «ядро», которое, к сожалению, делает препарат токсичным не только в отношении бактерий, но для клеток организма человека. Статический тип действия. Спектр действия – широкий, включая внутриклеточных паразитов.

РИФАМИЦИНЫ *(рифампицин)*. В основе препарата – крупная молекула со сложной структурой. Тип действия – бактерицидный. Спектр действия – широкий (в том числе, внутриклеточные паразиты; очень эффективны против микобактерий). Сейчас применяют, в основном, только для лечения туберкулеза.

ПОЛИПЕПТИДЫ *(полимиксины)*. Спектр антимикробного действия – узкий (грамотрицательные бактерии), тип действия – бактерицидный. Очень токсичны. Применение – наружное; в настоящее время не используются.

ПОЛИЕНЫ *(амфотерицин В, нистатин* и др.). Противогрибковые препараты, токсичность которых достаточно велика, поэтому применяются чаще местно (нистатин), а при системных микозах препарат выбора – амфотерицин В.

Синтетические противомикробные химиопрепараты

Методами химического синтеза создано много веществ, которые не встречаются в живой природе, но похожи на антибиотики по механизму, типу и спектру действия. В 1908 г. П. Эрлих на основе органических соединений мышьяка синтезировал сальварсан – препарат для лечения сифилиса. Однако, дальнейшие попытки ученого создать подобные препараты – «волшебные пули» – против других бактерий были безуспешны. В 1935 г. Герхардт Домагк предложил пронтозил («красный стрептоцид») для лечения бактериальных инфекций. Действующим началом пронтозила являлся сульфаниламид, который высвобождался при разложении пронтозила в организме.

К настоящему времени создано много разновидностей антибактериальных, противогрибковых, противопротозойных синтетических химиотерапевтических лекарственных средств разного химического строения. К наиболее значимым группам относятся: сульфаниламиды, нитроимидазолы, хинолоны и фторхино-лоны, имидазолы, нитрофураны и др.

Особую группу составляют противовирусные препараты.

СУЛЬФАНИЛАМИДЫ. Основу молекулы этих препаратов составляет парааминогруппа, поэтому они действуют как аналоги и конкурентные антагонисты парааминобензойной кислоты, которая необходима бактериям для синтеза жизненно важной фолиевой (тетрагидрофолиевой) кислоты – предшественника пуриновых и пиримидиновых оснований. Бактериостатики, спектр действия – широкий. Роль сульфаниламидов в лечении инфекций в последнее время снизилась, так как существует много устойчивых штаммов, серьезны побочные эффекты и активность сульфаниламидов в целом ниже, чем у антибиотиков. Единственным препаратом этой группы, который продолжает достаточно широко использоваться в клинической практике, является ко-тримоксазол и его аналоги. Котримоксазол *(бактрим, бисептол)* – комбинированный препарат, который состоит из сульфаметоксазола и триметоприма. Оба компонента действуют синергически, потенцируя действие друг друга. Действуют бактерицидно. Триметоприм блокирует синтез фолиевой кислоты, но на уровне другого фермента.

Применяют при инфекциях мочевого тракта, вызванных грамотрицательными бактериями.

Таблица 8.1

Классификация антимикробных химиопрепаратов по механизму действия

Ингибиторы синтеза клеточной стенки	Ингибиторы синтеза белка	Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот	Ингибиторы функции клеточных мембран (ЦПМ)
• Бета-лактамы (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы) • Гликопептиды	•Аминогликозиды • Тетрациклины • Хлорамфеникол • Линкозамиды • Макролиды • Фузидиевая кислота	Ингибиторы синтеза предшественников нуклеиновых кислот • Сульфаниламиды • Триметоприм Ингибиторы репликации ДНК • Хинолоны • Нитроимидазолы • Нитрофураны Ингибиторы РНК-полимеразы • Рифамицины	• Полимиксины • Полиены • Имидазолы

ХИНОЛОНЫ. Первый препарат этого класса – налидиксовая кислота (1962). У нее ограниченный спектр действия, к ней быстро развивается резистентность, применение нашла при лечении инфекций мочевыводящих путей, вызванных грамотрицательными бактериями. Сейчас используют так называемые фторхинолоны, т.е. принципиально новые фторированные соединения. Преимущества фторхино-лонов – разные способы введения, бактерицидное действие, хорошая переносимость, высокая активность в месте введения, хорошая проницаемость через гистогематический барьер, достаточно низкий риск развития резистентности. У **фторхинолонов** *(ципрофлоксацин, норфлоксацин* и др.) спектр – широкий, тип действия – цидный. Применяют при инфекциях, вызванных грамотрицательными бактериями (в том числе, синегнойной палочкой), внутриклеточными паразитами, микобактериями.

НИТРОИМИДАЗОЛЫ *(метронидазол, трихопол)*. Особенно активны против анаэробных бактерий, так как только эти микробы способны активировать метронидазол путем восстановления. Тип действия – цидный, спектр – анаэробные бактерии и простейшие (трихомонады, лямблии, дизентерийная амеба).

ИМИДАЗОЛЫ *(клотримазол* и др.). Противогрибковые препараты, действуют на уровне цитоплазматической мембраны.

НИТРОФУРАНЫ *(фуразолидон* и др.). Тип действия – цидный, спектр – широкий. Накапливаются в моче в высоких концентрациях. Применяются как уросептики для лечения инфекций мочевыводящих путей.

Механизмы действия противомикробных химиопрепаратов

Основа избирательности противомикробных химиопрепаратов состоит в том, что мишени для их воздействия в микробных клетках отличаются от таковых в клетках макроорганизма. Большинство химиотерапевтических препаратов вмешиваются в метаболизм микробной клетки и обычно не повреждают готовые структуры, поэтому препараты особенно активно воздействуют на микроорганизмы в фазе их активного роста и размножения. По механизму действия противомикробных химиопрепаратов различают следующие группы: ингибиторы синтеза клеточной стенки, ингибиторы синтеза белка, нарушающие синтез и функции нуклеиновых кислот, нарушающие синтез и функции ЦПМ (табл. 8.1).

Ингибиторы синтеза клеточной стенки

Антибиотики, ингибирующие синтез клеточной стенки, очень различаются по своей химической структуре. Наиболее важные препараты этой группы – бета-лактамы и гликопептиды (есть еще циклосерин и бацитрацин, которые очень токсичны). Пептидогликан – основа клеточной стенки бактерий – уникален и жизненно необходим для прокариотов, он есть у большинства бактерий, за исключением не имеющих клеточной стенки. Синтез предшественников пептидогликана начинается в цитоплазме. Затем они транспортируются через ЦПМ, где происходит их объединение в гликопептидные цепи (эту стадию ингибируют гликопептиды). Образование полноценного пептидогликана происходит на внешней поверхности ЦПМ. Этот этап совершается при участии белков-ферментов, которые называют пенициллинсвязывающими белками, так как именно они служат мишенью для пенициллина и других бета-лактамных антибиотиков. Ингибирование пенициллинсвязывающих белков приводит к накоплению предшественников пептидогликана в бактериальной клетке. В результате, ненормально большое количество этих предшественников запускает в бактериальной клетке систему их уничтожения – аутолитические ферменты, которые в норме расщепляют пептидогликан при делении бактериальных клеток. В результате действия аутолитических ферментов и происходит лизис бактериальной клетки.

Ингибиторы синтеза белка

По ряду признаков белоксинтезирующий аппарат прокариотов отличается от рибосом эукариотических клеток, что может быть использовано для достижения селективной токсичности действующих на них препаратов. Синтез белка – многоступенчатый процесс, в котором задействовано множество ферментов и структурных субъединиц. Известно несколько точек приложения действия различных препаратов: присоединение тРНК с образованием инициального комплекса на 70S рибосоме (аминогликозиды), перемещение тРНК с акцепторного сайта на донорский сайт, присоединение нового аминоацила тРНК к акцепторному сайту (тетрациклины), формирование пептида, катализируемого пептидил-трансферазой (хлорамфеникол, линкозамиды), транслокация пептидил тРНК (эритромицин), удлинение пептидной цепи (фузидиевая кислота), терминация и высвобождение пептидной цепи. Таким образом, аминогликозиды и тетрациклины связываются с 30S-субъединицей, блокируя процесс еще до начала синтеза белка. Аминогликозиды необратимо ингибируют процесс присоединения транспортной РНК, а тетрациклины обратимо блокируют следующую стадию присоединения к рибосомам транспортной РНК. Макролиды, хлорамфеникол, линкозамиды соединяются с 50S-субъединицей. Это обрывает удлинение пептидных цепей. После удаления этих антибиотиков процесс возобновляется, т.е. эффект бактериостатичен.

Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот

Нарушение синтеза и функций нуклеиновых кислот достигается тремя способами: 1) ингибирование синтеза предшественников пурин-пиримидиновых оснований (сульфаниламиды, триметоприм), 2) подавление репликации и функций ДНК (хинолоны/фторхинолоны, нитроимидазолы, нитрофураны) и 3) ингибирование РНК-полимеразы (рифамицины).

В большинстве своем в эту группу входят синтетические препараты, из антибиотиков подобным механизмом действия обладают только рифамицины, которые присоединяются к РНК-полимеразе и блокируют синтез мРНК. Действие фторхинолонов связано, в основном, с инактивацией ДНК-гиразы – фермента, обеспечивающего суперспирализацию бактериальной хромосомы. Сульфаниламиды – структурные аналоги парааминобензойной кислоты – могут конкурентно связываться и ингибировать фермент, который нужен для перевода парааминобензойной кислоты в фолиевую кислоту – предшественник пуриновых и пиримидиновых оснований. Эти основания необходимы для синтеза нуклеиновых кислот.

Ингибиторы функций ЦПМ

ЦПМ есть у всех живых клеток, но у прокариотов (бактерий) и эукариотов ее структура различна. У грибов больше общего с клетками макроорганизма, хотя есть и различия. Поэтому противогрибковые препараты – антимикотики – более токсичны для организма человека, так что лишь немногие препараты из этой группы допустимо принимать внутрь. Число антибиотиков, специфически действующих на мембраны бактерий, невелико. Наиболее известны полимиксины (полипептиды), к которым чувствительны только грамотрицательные бактерии. Они лизируют клетки, повреждая фосфолипиды клеточных мембран. Из-за токсичности они применялись лишь для лечения местных процессов и не вводились парентерально. В настоящее время на практике не используются. Противогрибковые препараты (антимикотики) повреждают эргостеролы (полиеновые антибиотики) и ингибируют один из ключевых ферментов биосинтеза эргостеролов (имидазолы).

Осложнения при антимикробной химиотерапии

Как и всякие лекарственные средства, практически каждая группа антимикробных химиопрепаратов может оказывать побочное действие, причем и на макроорганизм, и на микробы, и на другие лекарственные средства.

Осложнения со стороны макроорганизма

Наиболее частыми осложнениями антимикробной химиотерапии являются:

• **токсическое действие препаратов**

Как правило, развитие этого осложнения зависит от свойств самого препарата, его дозы, способа введения, состояния больного и проявляется только при длительном и систематическом применении антимикробных хи-миотерапевтических препаратов, когда создаются условия для их накопления в организме. Особенно часто, такие осложнения бывают, когда мишенью действия препарата являются процессы или структуры, близкие по составу или строению к аналогичным структурам клеток макроорганизма. Токсическому действию антимикробных препаратов особенно подвержены дети, беременные, а также пациенты с нарушением функций печени, почек.

Побочное токсическое влияние может проявляться как нейротоксическое (например, гликопептиды и аминогликозиды оказывают ототоксическое действие, вплоть до полной потери слуха за счет воздействия на слуховой нерв); нефротоксическое (полиены, полипептиды, аминогликозиды, макролиды, гликопептиды, сульфаниламиды); общетоксическое (противогрибковые препараты – полиены, имидазолы); угнетение кроветворения (тетрациклины, сульфаниламиды, левомицетин/хлорамфеникол, который содержит нитробензен – супрессор функции костного мозга); тератогенное (аминогликозиды, тетрациклины нарушают развитие костей, хрящей у плода и детей, формирование зубной эмали (коричневая окраска зубов), левомицетин/хлорамфеникол токсичен для новорожденных, у которых ферменты печени не полностью сформированы («синдром серого ребенка»), хинолоны – действуют на развивающуюся хрящевую и соединительную ткани].

Предупреждение осложнений состоит в отказе от противопоказанных данному пациенту препаратов, контроле за состоянием функций печени, почек и т. п.

- **дисбиоз (дисбактериоз)** Антимикробные химиопрепараты, особенно широкого спектра, могут воздействовать не только на возбудителей инфекций, но и на чувствительные микроорганизмы нормальной микрофлоры. В результате формируется дисбиоз, поэтому нарушаются функции ЖКТ, возникает авитаминоз и может развиться вторичная инфекция (в том числе эндогенная, например, кандидоз, псевдомембранозный колит, вызванный *C. difficile*). Предупреждение последствий такого рода осложнений состоит в назначении, по возможности, препаратов узкого спектра действия, сочетании лечения основного заболевания с противогрибковой терапией (например, назначением нистатина), витаминотерапей, применением эубиотиков и т. п.
- **отрицательное воздействие на иммунную систему. К** этой группе осложнений относят, прежде всего, аллергические реакции. Причинами развития гиперчувствительности может быть сам препарат, продукты его распада, а также комплекс препарата с сывороточными белками. Возникновение такого рода осложнений зависит от свойств самого препарата, от способа и кратности его введения, индивидуальной чувствительности пациента к препарату. Аллергические реакции развиваются примерно в 10% случаев и проявляются в виде сыпи, зуда, крапивницы, отека Квинке. Относительно редко встречается такая тяжелая форма проявления аллергии, как анафилактический шок. Такое осложнение чаще дают бета-лактамы (пенициллины), рифамицины. Сульфаниламиды могут вызвать гиперчувствительность замедленного типа. Предупреждение осложнений состоит в тщательном сборе аллергоанамнеза и назначении препаратов в соответствии с индивидуальной чувствительностью пациента. Кроме того, антибиотики обладают некоторым иммунодепрессивным действием и могут способствовать развитию вторичного иммунодефицита и ослаблению напряженности иммунитета.
- **эндотоксический шок (терапевтический).** Это явление, которое возникает при лечении инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями. Введение антибиотиков вызывает гибель и разрушение клеток и высвобождение больших количеств эндотоксина. Это закономерное явление, которое сопровождается временным ухудшением клинического состояния больного.
- **взаимодействие с другими препаратами.** Антибиотики могут способствовать потенцированию действия или инактивации других препаратов (например, эритромицин стимулирует выработку ферментов печени, которые начинают ускоренно метаболизировать лекарственные средства разного назначения).

Побочное воздействие на микроорганизмы

Применение антимикробных химиопрепаратов оказывает на микробы не только прямое угнетающее или губительное воздействие, но также может привести к формированию

атипичных форм микробов (например, к образованию L-форм бактерий или изменению других свойств микробов, что значительно затрудняет диагностику инфекционных заболеваний) и персистирующих форм микробов. Широкое использование антимикробных лекарственных средств ведет также к формированию антибиотикозависимости (редко) и лекарственной устойчивости – антибиотико-резистентности (достаточно часто).

Лекарственная устойчивость бактерий

Антибиотикорезистентность – это устойчивость микробов к антимикробным химиопрепаратам. Бактерии следует считать резистентными, если они не обезвреживаются такими концентрациями препарата, которые реально создаются в макроорганизме. Резистентность может быть природной и приобретенной.

Природная устойчивость

Некоторые виды микробов природно устойчивы к определенным семействам антибиотиков или в результате отсутствия соответствующей мишени (например, микоплазмы не имеют клеточной стенки, поэтому не чувствительны ко всем препаратам, действующим на этом уровне) или в результате бактериальной непроницаемости для данного препарата (например, грамотрицательные микробы менее проницаемы для крупномолекулярных соединений, чем грамположительные бактерии, так как их наружная мембрана имеет «маленькие» поры).

Приобретенная устойчивость

Начиная с 1940-х годов, когда началась «эра антибиотиков», бактерии стали чрезвычайно быстро приспосабливаться, постепенно формируя устойчивость ко всем новым препаратам. Приобретение резистентности – это биологическая закономерность, связанная с адаптацией микроорганизмов к условиям внешней среды. Она, хотя и в разной степени, справедлива для всех бактерий и всех антибиотиков. К химиопрепаратам адаптируются не только бактерии, но и остальные микробы – от эукариотических форм (простейшие, грибы) до вирусов. Проблема формирования и распространения лекарственной резистентности микробов особенно значима для внутрибольничных инфекций, вызываемых так называемыми «госпитальными штаммами», у которых, как правило, наблюдается множественная устойчивость к антибиотикам (так называемая **полирезистентность).**

Генетические основы приобретенной резистентности

Устойчивость к антибиотикам определяется и поддерживается генами резистентности (r-генами) и условиями, способствующими их распространению в микробных популяциях. Приобретенная лекарственная устойчивость может возникать и распространяться в популяции бактерий в результате:

- **мутаций в хромосоме бактериальной клетки с последующей селекцией** (т.е. отбором) мутантов. Особенно легко селекция происходит в присутствии антибиотиков, так как в этих условиях мутанты получают преимущество перед остальными клетками популяции, которые чувствительны к препарату. Мутации возникают независимо от применения антибиотика, т.е. сам препарат не влияет на частоту мутаций и не является их причиной, но служит фактором отбора. Далее резистентные клетки дают потомство и могут передаваться в организм следующего хозяина (человека или животного), формируя и распространяя резистентные штаммы. Мутации могут быть: 1) единичные (если мутация произошла в одной клетке, в результате чего, в ней синтезируются измененные белки) и 2) множественные (серия мутаций, в результате чего изменяется не один, а

целый набор белков, например, пенициллинсвязывающих белков у пенициллинрезистентного пневмококка);

- **переноса трансмиссивных плазмид резистентности (R-плазмид).** Плазмиды резистентности (трансмиссивные) обычно кодируют перекрестную устойчивость к нескольким семействам антибиотиков. Впервые такая множественная резистентность была описана японскими исследователями в отношении кишечных бактерий. Сейчас показано, что она встречается и у других групп бактерий. Некоторые плазмиды могут передаваться между бактериями разных видов, поэтому один и тот же ген резистентности можно встретить у бактерий, таксономически далеких друг от друга. Например, бета-лактамаза, кодируемая плазмидой ТЕМ-1, широко распространена у грамотрицательных бактерий и встречается у кишечной палочки и других кишечных бактерий, а также у гонококка, резистентного к пенициллину, и гемофильной палочки, резистентной к ампициллину;
- **переноса транспозонов, несущих г-гены** (или мигрирующих генетических последовательностей). Транспозоны могут мигрировать с хромосомы на плазмиду и обратно, а также с плазмиды на другую плазмиду. Таким образом, гены резистентности могут передаваться далее дочерним клеткам или при рекомбинации другим бактериям-реципиентам.

Реализация приобретенной устойчивости

Изменения в геноме бактерий приводят к тому, что меняются и некоторые свойства бактериальной клетки, в результате чего, она становится устойчивой к антибактериальным препаратам. Обычно антимикробный эффект препарата осуществляется таким образом: агент должен связаться с бактерией и пройти сквозь ее оболочку, затем он должен быть доставлен к месту действия, после чего, препарат взаимодействует с внутриклеточными мишенями. Реализация приобретенной лекарственной устойчивости возможна на каждом из следующих этапов:

- **модификация мишени.** Фермент-мишень может быть так изменен, что его функции не нарушаются, но способность связываться с химиопрепаратом (аффинность) резко снижается или может быть включен «обходной путь» метаболизма, т.е. в клетке активируется другой фермент, который не подвержен действию данного препарата.
- **«недоступность» мишени** за счет снижения ***проницаемости*** клеточной стенки и клеточных мембран или *«эффлюкс»-механизма,* когда клетка как бы «выталкивает» из себя антибиотик.
- **инактивация препарата бактериальными ферментами.** Некоторые бактерии способны продуцировать особые ферменты, которые делают препараты неактивными (например, бета-лактамазы, аминогликозид-модифицирующие ферменты, хлорамфениколацетилтрансфераза). Бета-лактамазы – это ферменты, разрушающие бета-лактамное кольцо с образованием неактивных соединений. Гены, кодирующие эти ферменты, широко распространены среди бактерий и могут быть как в составе хромосомы, так и в составе плазмиды.

Для борьбы с инактивирующим действием бета-лактамаз используют вещества – ингибиторы (например, клавулановую кислоту, сульбактам, тазобактам). Эти вещества содержат в своем составе бета-лактамное кольцо и способны связываться с бета-лактамазами, предотвращая их разрушительное действие на бета-лактамы. При этом, собственная антибактериальная активность таких ингибиторов низкая. Клавулановая кислота ингибирует большинство известных бета-лактамаз. Ее комбинируют с пенициллинами: амоксициллином, тикарциллином. пиперациллином.

Предупредить развитие антибиотикорезистентности у бактерий практически невозможно, но необходимо использовать антимикробные препараты таким образом, чтобы не способствовать развитию и распространению устойчивости (в частности, применять антибиотики строго по показаниям, избегать их использования с профилактической целью, через 10 – 15 дней ан-тибиотикотерапии менять препарат, по возможности использовать препараты узкого спектра действия, ограниченно применять антибиотики в ветеринарии и не использовать их как фактор роста).

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам

Для определения чувствительности бактерий к антибиотикам **(антибиотикограммы)** обычно применяют:

- ***Метод диффузии в агар.*** На агаризованную питательную среду засевают исследуемый микроб, а затем вносят антибиотики. Обычно препараты вносят или в специальные лунки в агаре, или на поверхности посева раскладывают диски с антибиотиками («метод дисков»). Учет результатов проводят через сутки по наличию или отсутствию роста микробов вокруг лунок (дисков). **Метод дисков** – ***качественный*** и позволяет оценить, чувствителен или устойчив микроб к препарату (рис.8.1).

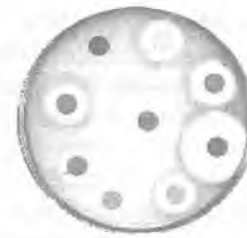


Рис. 8.1. Определение чувствительности синегнойной палочки к антибиотикам

- *Методы определения* минимальных ингибирующих и бактерицидных концентраций, т.е. минимального уровня антибиотика, который позволяет *in vitro* предотвратить видимый рост микробов в питательной среде или полностью ее стерилизует. Это **количественные** методы, которые позволяют рассчитать дозу препарата, так как концентрация антибиотика в крови должна быть значительно выше минимальной ингибирующей концентрации для возбудителя инфекции. Введение адекватных доз препарата необходимо для эффективного лечения и профилактики формирования устойчивых микробов.

Есть ускоренные способы, с применением автоматических анализаторов.

Основы рациональной антибиотикотерапии

Профилактика развития осложнений состоит прежде всего в соблюдении **принципов рациональной антибиотикотерапии** (антимикробной химиотерапии):

- **Микробиологический принцип.** До назначения препарата следует установить возбудителя инфекции и определить его индивидуальную чувствительность к антимикробным химиотерапевтическим препаратам. По результатам антибиотикограммы больному назначают препарат узкого спектра действия, обладающий наиболее выраженной активностью в отношении конкретного возбудителя, в дозе, в 2–3 раза превышающей минимальную ингибирующую концентрацию. Если возбудитель пока неизвестен, то обычно назначают препараты более широкого спектра, активные в отношении всех возможных микробов, наиболее часто вызывающих данную патологию. Коррекцию лечения проводят с учетом результатов бактериологического исследования и определения индивидуальной чувствительности конкретного возбудителя (обычно через 2-3 дня). Начинать лечение инфекции нужно как можно раньше (во-первых, в начале заболевания микробов в организме меньше, во-вторых, препараты активнее действуют на растущих и размножающихся микробов).
- **Фармакологический принцип.** Учитывают особенности препарата – его фармакокинетику и фармакодинамику, распределение в организме, кратность введения, возмож-

ность сочетания препаратов и т. п. Дозы препаратов должны быть достаточными для того, чтобы обеспечить в биологических жидкостях и тканях микробостатические или микробоцидные концентрации. Необходимо представлять оптимальную продолжительность лечения, так как клиническое улучшение не является основанием для отмены препарата, потому что в организме могут сохраняться возбудители и может быть рецидив болезни. Учитывают также оптимальные пути введения препарата, так как многие антибиотики плохо всасываются из ЖКТ или не проникают через гематоэнце-фалический барьер.

- **Клинический принцип.** При назначении препарата учитывают, насколько безопасным он будет для данного пациента, что зависит от индивидуальных особенностей состояния больного (тяжесть инфекции, иммунный статус, пол, наличие беременности, возраст, состояние функции печени и почек, сопутствующие заболевания и т.п.) При тяжелых, угрожающих жизни инфекциях особое значение имеет своевременная антибиотикотерапия. Таким пациентам назначают комбинации из двух-трех препаратов, чтобы обеспечить максимально широкий спектр действия. При назначении комбинации из нескольких препаратов следует знать, насколько эффективным против возбудителя и безопасным для пациента будет сочетание данных препаратов, т.е. чтобы не было антагонизма лекарственных средств в отношении антибактериальной активности и не было суммирования их токсических эффектов.
- **Эпидемиологический принцип.** Выбор препарата, особенно для стационарного больного, должен учитывать состояние резистентности микробных штаммов, циркулирующих в данном отделении, стационаре и даже регионе. Следует помнить, что антибиотикорезистентность может не только приобретаться, но и теряться, при этом восстанавливается природная чувствительность микроорганизма к препарату. Не изменяется только природная устойчивость.
- **Фармацевтический принцип.** Необходимо учитывать срок годности и соблюдать правила хранения препарата, так как при нарушении этих правил антибиотик может не только потерять свою активность, но и стать токсичным за счет деградации. Немаловажна также и стоимость препарата.

Противовирусные средства

Среди препаратов, обладающих противовирусной активностью, можно выделить несколько основных групп. По химическому составу и механизмам действия различают: химиопрепараты, интерфероны, индукторы эндогенных интерферонов, иммуномодуляторы.

Противовирусные химиопрепараты – это синтетические лекарственные средства, используемые, в основном, для этиотропной терапии вирусных инфекций. Механизм действия противовирусных химиопрепаратов заключается в избирательном подавлении отдельных этапов репродукции вирусов без существенного нарушения жизнедеятельности клеток макроорганизма.

Облигатный внутриклеточный паразитизм вирусов значительно осложняет задачу получения высокоэффективных противовирусных препаратов, безопасных для человека, так как лишь немногие из этапов процесса репродукции вирусов специфичны, ведь синтез вирусных геномов (транскрипция) и белков (трансляция), транспорт вирусных компонентов внутри клетки хозяина и, наконец, сборка новых вирионов осуществляются инфицированными клетками. Именно поэтому, основным показателем клинической пригодности отобранных препаратов служит их химиотера-певтический индекс, т.е. отношение специфической эффективности к токсичности. Другим существенным недостатком химиопре-

паратов является их участие в формировании резистентных штаммов, возникновение и распространение которых, несомненно, снижает эффективность терапии.

В качестве противовирусных химиопрепаратов в настоящее время применяют в основном аномальные нуклеозиды (аналоги нуклеозидов), производные адамантана, синтетические аминокислоты, аналоги пирофосфата и тиосемикарбозона, некоторые препараты, имеющие прямое вирулицидное действие на вирионы, находящиеся вне клеток. В настоящее время разработаны противовирусные лекарственные средства, которые угнетают следующие стадии взаимодействия вируса с клеткой: процесс депротеинизации вирусного генома (производные адамантана), синтез «ранних» вирусных белков (гуанидин), синтез нуклеиновых кислот (аналоги нуклеозидов), синтез «поздних» вирусных белков (производные пептидов), сборку вирионов (производные тиосемикарбазона) (табл. 8.2).

Сейчас существует достаточно много средств борьбы с гриппом, ОРВИ и герпесом. При вирусных гепатитах и ВИЧ/СПИДе применяют единичные препараты. Что касается энтеровирусных инфекций, вирусных энцефалитов и других вирусных инфекций, то до сих пор практически отсутствуют химиотерапевтические средства для их эффективного этиотропного лечения.

Таблица 8.2.

Классификация противовирусных химиопрепаратов

Препараты	Показания	
Аномальные нуклеозиды	Азидотимидин (АЗТ)	СПИД
	Аникловир	Герпес 1 и 2, герпес зостер
	Ганцикловир	Герпес 1, цитомегалия
	Видарабин	Герпес 1 и 2, герпес зостер
	Идоксуридин	Герпес 1 и 2
	Рибавирин	РС-вирус, гепатит С, лихорадка Ласса
	Трифлюрилин	Герпес, аденовирусные кератиты
	Цитарабин	Цитомегалия
Производные адамантана	Адапромин	Грипп А и В
	Амантадин	Грипп А
	Дейтифорин	Грипп А, парагрипп 3, РС-вирус
	Ремантадин	Грипп А
	Тромантадин	Герпес
Синтетические аминокислоты	Амбен	Грипп А и В, ОРВИ
	Аминокапроновая кислота	Грипп А и В, парагрипп, РС-вирус
Аналоги пирофосфата	Фоскарнет	Герпес 1 и 6, цитомегалия, гепатит В, СПИД
Производные тиосемикарбазона	Марборан	Оспа
	Метисазон	
Вирулицидные препараты	Оксолин	Грипп, герпес, риниты
	Теброфен	Герпес, аденовирусные кератиты
	Флюреналь	Герпес, аденовирусные кератиты
Прочие препараты	Пандовир	Герпес
	Хельпин	Герпес, ветряная оспа
	Арбидол	Грипп А и В, ОРВИ

Таким образом, антимикробные химио-терапевтические препараты являются основным средством лечения и профилактики бактериальных, вирусных инфекций и заболеваний другой микробной этиологии. Они производятся и выпускаются в огромных количествах и в нашей стране, и за рубежом. Поэтому знание основных характеристик, а также механизмов действия и принципов применения антимикробных химиопрепаратов необходимо каждому врачу и медицинскому работнику.

Антисептические и дезинфицирующие вещества

Основой антисептики являются противомикробные вещества, называемые антисептиками, резко снижающие численность микробов в ране, на поверхности организма и т.д.

По химическому составу различают следующие антисептики:

галогены – препараты йода (спиртовой раствор йода, раствор Люголя, йодоформ, йодинол, йодопирин), хлора (хлорамины, хлориты);

перекись водорода, калия перманганат, обладающие, как и галогены, окислительными свойствами;

кислоты и их соли (борная, салициловая, тетраборат натрия), щелочи (аммиак и его соли, бура);

спирты (70° – 80° этанол и др.);

альдегиды (формальдегид, гексаметилен-тетрамин, бета-пропиолактон);

детергенты (декамин, хлоргексидин, этоний и др.);

производные 8-оксихинолина (хинозол, интестопан, нитроксолин), 4-хинолона (оксолиновая кислота), хиноксалина (хиноксидин, диоксидин);

производные нитрофурана (фурацилин, фурагин, фуразолидон);

производные фенола (трикрезол, фенилрезорцин, фенилсалицилат), дегги (деготь березовый, ихтиол и др.);

красители (бриллиантовый зеленый, метиленовый синий, этакридиналактат);

соединения тяжелых металлов (дихлорид и оксицианид ртути, нитрат серебра, колларгол, протаргол, сульфат цинка).

Для дезинфекции, т.е. уничтожения возбудителей инфекций в окружающей среде, применяют разнообразные химические вещества. К наиболее распространенным дезинфицирующим средствам относят хлорсодержащие, фенольные, четвертичные аммониевые и перекисные соединения. К неорганическим хлорсодержащим соединениям относят хлорную известь, белильную известь, гипохлорид кальция, гипохлорит натрия. К органическим хлорсодержащим соединениям относят хлорамин Б, дезам, дихлор-1, сульфохлорантин, хлорцин, хлордезин. Фенольными соединениями являются лизол и хлор-бета-нафтол, гексахлорофен и др. Перспективной группой дезинфицирующих соединений являются поверхностно-активные вещества, относящиеся к четвертичным аммониевым соединениям и амфолитам, обладающие бактерицидными, моющими свойствами и низкой токсичностью (ниртан, амфолан и др.). К перекисным соединениям относят пергидроль (30% водный раствор перекиси водорода) и дезоксон-1. Для дезинфекции применяются также детергенты (хлоргексидин и др.), кислоты (например, 40% раствор уксусной кислоты для противогрибкового обеззараживания обуви), альдегиды (формальдегид, глютаральдегид и др.).

Для дезинфекции помещений, а также оборудования и аппаратуры используют газовую смесь из оксида этилена с метилбромидом. Дезинфекцию проводят в герметичных условиях.

Перечисленные химические вещества можно разделить на следующие основные группы по механизму действия:

1) деструктивный механизм с литическим или денатурирующим эффектом;
2) окислительный механизм (перекись водорода, перманганат калия, галогены);
3) мембранно-атакующий механизм (например, детергенты, нарушающие проницаемость мембран);
4) антиферментный механизм (например, соли тяжелых металлов, 8-оксихинолины и др.).

ГЛАВА 9. УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ

Учение об инфекции – это учение о свойствах микробов, позволяющих им существовать в макроорганизме и оказывать на него патогенное воздействие, а также учение о защитно-приспособительных реакциях макроорганизма, препятствующих болезнетворному воздействию микробов на него. Учение об инфекции играет важную роль, так как позволяет понять, чем микробы, вызывающие инфекционный процесс, отличаются от непатогенных микробов и в чем разница между восприимчивым и невосприимчивым к микробам макроорганизмом. Это играет решающую роль в разработке препаратов для лечения и профилактики инфекционных болезней, а также в совершенствовании диагностических методов исследования. Знание особенностей развития и течения инфекционного процесса позволяет грамотно управлять им не только на молекулярном, но и на более высоких уровнях.

Термин **«инфекция»** (позднелат. *infectio* – заражение, от лат. *inficio* – вношу что-либо вредное, заражаю) или синоним **инфекционный процесс** обозначает совокупность физиологических и патологических восстановительно-приспособительных реакций, возникающих в восприимчивом макроорганизме при определенных условиях окружающей внешней среды в результате его взаимодействия с проникшими и размножающимися в нем патогенными или условно-патогенными бактериями, грибами и вирусами и направленных на поддержание постоянства внутренней среды макроорганизма (гомеостаза). Сходный процесс, но вызванный простейшими, гельминтами и насекомыми – представителями царства Animalia, носит название **инвазия** (от лат. *invazio* – нападение, вторжение).

В основе инфекционного процесса лежит феномен **паразитизма,** т.е. такой формы взаимоотношений между двумя организмами разных видов, при которой один из них, называемый *паразитом,* использует другого, называемого *хозяином,* в качестве источника питания и как место постоянного или временного обитания, причем, оба организма находятся между собой *в антагонистических отношениях.* В отличие от сапрофитического образа существования паразитизм – это жизнь в живой среде. Неотъемлемым критерием паразитизма является патогенное воздействие паразита на организм хозяина и ответная, защитная реакция со стороны организма хозяина. Паразитизм – свойство, закрепленное за видом и передающееся по наследству. Все возбудители инфекционных и инвазионных болезней человека, животных и растений относятся к паразитам, т.е. способны к паразитической форме существования в живой системе. Так как жизнь организма хозяина всегда ограничена во времени, у паразитов является обязательной смена среды обитания и характерно наличие двух фаз жизненного цикла: паразитической фазы жизнедеятельности в живом организме и непаразитической фазы существования. При этом под непаразитической формой существования следует понимать в широком смысле этого слова сапрофити-ческий образ жизни, а также отличные от паразитизма формы симбиоза: мутуализм, метабиоз, комменсализм и т.д., характерные для условно-патогенных бактерий. Наибольшее значение имеет та среда обитания, без которой микроб не может существовать как биологический вид. Ее называют главной, специфической средой обитания. Так как термин «паразитизм» это сборное понятие и популяция паразита гетерогенна, то степень выраженности паразитизма микробной популяции определяет, прежде всего, среда обитания, поэтому с популяционно-экологических позиций выделяют **три категории паразитов:** облигатные, факультативные и случайные.

Облигатные паразиты во всех стадиях популяционного цикла тесно связаны с организмом хозяина. У них есть лишь паразитическая фаза существования, они никогда не попадают в окружающую среду, поскольку существование во внешней среде для них в

принципе не возможно. Они передаются трансмиссивно, трансплацентарно или контактно-половым путем. Если паразит имеет двух хозяев – теплокровного носителя и членистоногого переносчика, то его популяция в любое время представлена двумя частями: гостальной (организменной) и векторной (в переносчике). В других случаях популяция представлена лишь гостальной частью. Они образуют замкнутую паразитарную систему.

Факультативные паразиты, помимо организма хозяина, в процессе циркуляции могут использовать и внешнюю среду, но паразитическая фаза у них имеет определяющее значение. Данные микроорганизмы, помимо выше названных путей передачи, могут передаваться и не трансмиссивными путями. Эта категория паразитов весьма неоднородна и состоит либо из трех частей, а именно гостальной, векторной и внеорганизменной (сапрофитической), либо из двух частей: гостальной и внеорганизменной. Они образуют полузамкнутую паразитарную систему с преобладанием паразитической фазы существования над сапрофитической.

К случайным паразитам относятся такие паразиты, для которых внешняя среда (вода, почва, растения, а также другие органические субстраты) является нормальной средой их автономного обитания. Они сохранили способность к сапрофитическому типу питания. Сапрофитическая фаза существования для них – основная и обязательная, а паразитическая – лишь эпизодическая. Соответственно двум средам обитания популяция паразитов состоит из двух частей: внеорганизменной (сапрофитической), которая является основной, и организменной (гостальной), которая является случайной. Трансмиссивный путь передачи у них отсутствует. Они образуют открытую паразитарную систему. К ним относятся возбудители типичных сапронозов.

Случайные и факультативные паразиты являются переходными формами от сапрофитов к облигатным паразитам. Таким образом, теснота связи с организмом уменьшается от облигатных паразитов к случайным, у которых роль внешней среды обитания возрастает. При этом, чем выше зависимость пищевых потребностей микробов от клетки хозяина, тем выше его паразитические свойства. В основе этого лежит селекция мутантов, произошедших из сапрофитов и утративших в ходе эволюции не нужные им ферменты и другие биологические системы, так как они получают все необходимые им вещества от клетки хозяина в готовом виде. Например, у риккетсий нет ферментов, участвующих в гликолитическом цикле, у хламидий не происходит синтеза АТФ, а вирусы не имеют собственных белоксинтезирующих систем.

Инфекционный процесс и инфекционная болезнь

Возникновение, течение и исход инфекционного процесса определяются тремя группами факторов: 1) количественные и качественные характеристики микроба – возбудителя инфекционного процесса; 2) состояние макроорганизма, степень его восприимчивости к микробу; 3) действие физических, химических и биологических факторов окружающих микроб и макроорганизм внешней среды, которая и обуславливает возможность установления контактов между представителями разных видов, общность территории обитания разных видов, пищевые связи, плотность и численность популяций, особенности передачи генетической информации, особенности миграции и т.д. При этом по отношению к человеку под условиями внешней среды, прежде всего, следует понимать *социальные условия* его жизнедеятельности. Первые два биологических фактора являются непосредственными участниками инфекционного процесса, развивающегося в макроорганизмепод действием микроба. При этом, микроб определяет специфичность инфекционного процесса, а **реша-**

ющий интегральный вклад в форму проявления инфекционного процесса, его длительность, степень тяжести проявлений и исход вносит состояние макроорганизма, прежде всего, факторы его неспецифической резистентности, на помощь которым приходят факторы специфического приобретенного иммунитета. Третий, экологический, фактор оказывает на инфекционный процесс опосредованное воздействие, снижая или повышая восприимчивость макроорганизма, либо снижая и повышая инфицирующую дозу и вирулентность возбудителя, активируя механизмы заражения и соответствующие им пути передачи инфекции и т.д.

Микробы, вызывающие инфекционные болезни, общепринято называть *возбудителями* инфекционных болезней. Организм человека или животного, находящийся в состоянии инфекции, т.е. паразитирования в нем возбудителя, называют *инфицированным,* в то время, как предметы внешней среды, на которые попали возбудители, целесообразно обозначать как *загрязненные тем* или иным возбудителем. Под восприимчивостью макроорганизма следует понимать способность макроорганизма реагировать на внедрение микробов развитием инфекционного процесса в его многообразных проявлениях – от носительства до инфекционной болезни.

Стадии и уровни инфекционного процесса

Инфекционный процесс – это одна из наиболее динамичных форм взаимодействия между микробами и макроорганизмом, сложившаяся в ходе эволюции. Процесс протекает с постоянной сменой причинно-следственных взаимоотношений. Условно его можно разделить на несколько стадий.

Первая стадия – *проникновение микробов в макроорганизм.* Пусковым моментом инфекционного процесса является *внедрение и адаптация микробов* (от позднелат. *adaptatio* – приспособление) в месте входных ворот инфекции – *заражение (инфицирование),* а также *адгезия (прилипание)* микробов к клеткам макроорганизма. *Входные ворота* – это ткани и органы, через которые микробы попадают в организм. В большинстве случаев микробы проникают в макроорганизм через поврежденные кожные покровы и проницаемые для микробов неповрежденные слизистые оболочки.

Второй стадией является *колонизация* (от лат. *colonia* – поселение) *-горизонтальное заселение кожных покровов и слизистых оболочек в месте входных ворот инфекции.* При инфекционном процессе распространение микробов происходит не только горизонтально, по поверхности клеток, но и в глубину клеток и тканей макроорганизма. *Способность микробов проникать внутрь клеток макроорганизма называется пенетрацией.* При этом происходит размножение микробов и образование новых поколений возбудителя при наличии благоприятных условий, а также высвобождение продуктов метаболизма микробов, их ферментов и токсинов и, кроме того, образование токсических продуктов распада клеток макроорганизма, которые оказывают местное или отдаленное повреждающее воздействие на ткани и органы.

Третья стадия – *диссеминация* (от лат. *disseminare* – рассеивать, распространять), т.е. распространение микробов за пределы первичного очага внедрения и колонизации микробов лимфогематогенным путем, бронхогенно или перинервально, по ходу нервных стволов, что ведет к *генерализации инфекционного процесса* (генерализация – это переход от общего к частному, распространение по всему макроорганизму).

Четвертая стадия – *мобилизация защитных факторов макроорганизма.* В ответ на проникновение микробов и их болезнетворное воздействие макроорганизм мобилизует все присущие ему первоначально неспецифические, а затем специфические факторы за-

щиты, действие которых направлено на нейтрализацию как самих микробов, так и их токсинов и на восстановление нарушенного гомеостаза в макроорганизме.

Пятая стадия – *окончание и исходы инфекционного процесса.* В большинстве случаев, наступает *санация* макроорганизма (от англ. *sanative* – целебный, оздоровляющий), т.е. полное освобождение макроорганизма от микроба и приобретение им нового качества – *формирование иммунитета.* В ряде случаев, инфекционный процесс заканчивается *летальным исходом.* В тех случаях, когда между микробом и макроорганизмом устанавливается равновесие, происходит *формирование микробоносительства.*

Инфекционный процесс в результате действия многих факторов не всегда проходит все присущие ему стадии и может закончиться уже на ранних этапах, например, протекая в виде абортивной формы инфекционной болезни у привитых или у лиц, ранее перенесших данное заболевание. Другим примером может служить поражение слизистых оболочек урогенитального тракта при гонорее без последующей генерализации инфекции либо микроколонизация слизистых оболочек при кишечных заболеваниях без последующей генерализации инфекции. При дифтерии инфекционный процесс также ограничивается адгезией, колонизацией и продукцией экзотоксина (гистотоксина). Проникновения бактерий в кровь не происходит. Если для внеклеточных паразитов процесс ограничивается адгезией и колонизацией, то для облигатных и факультативных внутриклеточных паразитов важным условием является проникновение их в клетку и последующее внутриклеточное размножение.

Инфекционный процесс может проявляться на всех уровнях организации биологической системы макроорганизма. При этом каждый вышестоящий уровень включает в себя нижестоящие уровни. Прежде всего, многоуровневая система инфекционного процесса включает в себя *организменный уровень* или собственно инфекционный процесс, так как инфекция – это система реакций, которые возникают в восприимчивом макроорганизме. Нижестоящими уровнями являются *тканевоорганный, клеточный (взаимодействие клетки микроба и клетки организма хозяина) и субклеточный или молекулярный уровень, в основе которого лежит конкурентное взаимодействие биологических молекул микроба и макроорганизма.*

В результате взаимодействия микроба с макроорганизмом, прежде всего, страдает клетка, в которой микроб пробивает бреши, через которые он в последующем проникает в макроорганизм. Сам процесс взаимодействия происходит на уровне комплементарных структур макромолекул микроба и эукариотической клетки макроорганизма. Процессы, протекающие на молекулярном и клеточном уровнях, а именно взаимодействие факторов патогенности микробов с клеточными и гуморальными факторами защиты макроорганизма, отражаются на тканевоорганном уровне. Тканевая дифференциация клеток хозяина обуславливает специфичность инфекционного процесса и выполняет защитную роль, ограничивая зоны размножения микробов. Поэтому основные черты патогенеза инфекционного процесса формируются на тканево-органном уровне, отражаясь в последующем на организменном уровне, определяя манифестность проявлений инфекционного процесса. Особенности же патогенеза и клиники инфекционного процесса на организменном уровне отражаются на течении эпидемического процесса на экосистемном уровне, определяя характер и интенсивность реализации того или иного механизма передачи возбудителя. Таким образом, инфекционный процесс характеризуется многообразием сложных взаимодействий как на каждом уровне системы, так и между этими уровнями.

Понятие об инфекционной болезни

Термины «инфекция» и «инфекционная болезнь» не равнозначны. Инфекционный процесс составляет основу инфекционной болезни. В отличие от инфекционного процесса, *под инфекционной болезнью следует понимать индивидуальный случай определяемого лабораторно и/или клинически инфекционного состояния данного макроорганизма, обусловленного действием микробов и их токсинов, и сопровождающегося различными степенями нарушения гомеостаза.* Это частный случай проявления инфекционного процесса у данного конкретного индивидуума. Об инфекционной болезни говорят тогда, когда происходит нарушение функции макроорганизма, сопровождающееся формированием патологического морфологического субстрата болезни.

Возможно наличие широкого спектра отклонений от типичного течения инфекционных болезней, обусловленных как свойствами микроба, так и индивидуальными особенностями макроорганизма. В тех случаях, когда она протекает клинически выраженно, можно говорить о крайней степени проявления инфекционного процесса. Инфекционный процесс не всегда заканчивается развитием болезни. У лиц с остаточным иммунитетом или врожденной естественной невосприимчивостью встреча с микробом заканчивается формированием здорового микробоносительства, не сопровождающегося формированием патологического морфологического субстрата и изменениями функций макроорганизма. Другим примером может быть формирование бессимптомной вакцинной инфекции при применении живых вакцин из аттенуированных штаммов.

Как нозологическая единица (абстрактное название болезни) инфекционная болезнь вызывается отдельным, самостоятельным в видовом, а иногда и типовом отношении возбудителем. Число инфекционных (инвазионных) болезней соответствует известному науке числу возбудителей, способных заразить макроорганизм.

Свойства микробов – возбудителей инфекционного процесса

Понятие о патогенных, сапрофитных и условно-патогенных микробах

По степени патогенности *(сил. болезнетворности) для макроорганизма* человека, животного или растения все микробы делятся на три группы: патогенные, сапрофиты и условно-патогенные.

Патогенные (от греч. *pathos* – страдание и *genos* – рождение) – это возбудители инфекционных болезней человека, животных и растений. Адаптация патогенных микробов в ходе эволюции зашла так далеко, что *существование их в макроорганизме является необходимым условием сохранения микроба как биологического вида,* несмотря на то, что они могут определенное время находится вне макроорганизма. Следовательно, болезнь для них – это результат сформировавшихся симбионтных отношений с макроорганизмом в ходе эволюции.

Сапрофиты (от греч. *sapros* – гнилой и *phyton* – растение), или непатогенные – это микробы, питающиеся мертвыми тканями растений и животных или продуктами их жизнедеятельности. Степень требовательности их к питательному субстрату различна у разных видов. Они не зависят от макроорганизма, им нужны лишь готовые органические вещества.

Некоторые микробы, например, возбудитель сибирской язвы и столбняка, находясь в почве, проявляют себя как сапрофиты. Патогенность их проявляется после случайного проникновения в макроорганизм, используемый ими в качестве источника метаболитов и среды обитания.

Условно-патогенные (син. потенциально-патогенные или возбудители оппортунистических инфекций) – это микробы, оказывающие болезнетворное воздействие на макроорганизм при определенных условиях, т.е. когда они попадают (пассивно проникают) во внутреннюю среду макроорганизма в больших количествах на фоне резкого снижения резистентности макроорганизма. Они занимают промежуточное положение между патогенными микробами и сапрофитами. К условно-патогенным микробам относятся представители нормальной микрофлоры человека или свободноживущие микробы, способные вызывать инфекционные болезни, так как эволюционно они сохранили способность как к сапрофитному, так и к паразитическому образу жизни. *В отличие от патогенных микробов, болезнь макроорганизма для них не является необходимым условием существования как биологического вида, а представляет лишь результат нарушения симбиотных отношений.* В этом состоит коренное отличие между патогенными и условно-патогенными микробами.

В настоящее время общепризнана относительность деления на патогенные и условно-патогенные микробы.

Свойства патогенных микробов

Патогенные микробы – это паразиты, которые произошли в ходе длительной сопряженной эволюции от сапрофитов. При этом они утратили ряд ферментативных систем, так как макроорганизм поставляет им многие вещества в готовом виде. Они приспособились к гетеротрофному паразитическому типу питания в различных органах, тканях и клетках. Данные микробы по способности к внутриклеточному паразитированию можно разделить на три группы: облигатные внутриклеточные паразиты, факультативные внутриклеточные паразиты и облигатные внеклеточные паразиты.

Облигатные внутриклеточные паразиты удовлетворяют свои пищевые потребности только в условиях внутриклеточного существования. При этом следует отметить, что внутриклеточная среда отличается от внеклеточной по многим физико-химическим свойствам, она богата органическими веществами, богата АТФ, которая совсем отсутствует вне клеток. В такой среде много готовых жизненно необходимых веществ, есть белок-синтезирующие системы. Помимо обеспечения метаболических, энергетических, генетических и белоксинтезирующих потребностей микробов, клетка защищает их от действия антител, фагоцитоза, бактериофагов и антибиотиков, которые не проникают через клеточную мембрану. Внутриклеточные паразиты в целом хорошо адаптированы к переживанию и размножению в клетках. Во многих случаях развития внутриклеточной инфекции клетками-мишенями служат макрофаги, хотя эту роль могут выполнять и другие клетки. Это обусловлено тем, что макрофаги способны активно поглощать микробы, а те, в свою очередь, выработали механизмы, защищающие их от завершенного фагоцитоза. К облигатным внутриклеточным паразитам относятся вирусы, риккетсии и хламидии, возбудители лепры, малярии, токсоплазмоза. Размножение данных микробов в клетке может происходить как в цитоплазме, так и в ядре. На искусственных питательных средах они не культивируются.

Факультативные внутриклеточные паразиты способны существовать как внутри, так и вне клетки. При этом в организме хозяина преобладает внутриклеточное размножение, хотя они могут размножаться и внеклеточно, так как внутриклеточная среда в условиях организма является основным местом развития инфекционного процесса. Такая способность к внутриклеточному паразитированию может иметь значение в хронизации инфекционного процесса, так как облегчает выживание микробов и их сохранение в макро-

организме. Данные микробы культивируются на искусственных питательных средах. К ним относятся возбудители туберкулеза, бруцеллеза, туляремии, менингококковой инфекции, гонореи, шигеллы, сальмонеллы и другие микробы.

Облигатные внеклеточные паразиты – это микробы, которые не проникают внутрь клетки, а прикрепляются к ее поверхности и распространяются по межклеточным пространствам. Примером таких микробов являются микоплазмы, возбудитель холеры, лептоспиры и другие микробы. Для внеклеточных паразитов характерна продукция экзоферментов, способствующих их агрессии и инвазии – нейраминидазы, гиалуронидазы и т.д.

Это приспособление микробов к внутри- или внеклеточному паразитированию в ходе сопряженной эволюции отразилось на дуалистичном формировании и работе иммунной системы макроорганизма, которая состоит из Т-системы, защищающей макроорганизм, в первую очередь, от внутриклеточных паразитов, и В-системы, ответственной за продукцию антител, нейтрализующих внеклеточно расположенные микробы и их токсины.

Патогенные микробы должны обладать целым рядом свойств и прежде всего *патогенностью*.

Патогенность (син. болезнетворность) – это потенциальная способность микробов вызывать инфекционный процесс, т.е. проникать в макроорганизм определенного вида хозяина при естественных для данного микроба условиях заражения, размножаться в нем, вызывать различные нарушения гомеостаза и развитие ответных реакций со стороны макроорганизма.

Предложено рассматривать патогенность как функцию адаптации микроба к макроорганизму хозяина, в основе которой лежит перестройка метаболизма микроба, адекватная новым условиям его существования. В экспериментальных условиях, при использовании в определенных дозах высоковирулентных микробов любой микроб, при любом способе заражения может вызывать инфекционный процесс, т.е. быть патогенным, поэтому определение патогенности должно включать вид хозяина и условия заражения. Это видовой, генетически детерминированный признак, передающийся по наследству. Он характеризует лишь потенциальную способность микроба вызывать инфекционный процесс. Фенотипическая же реализация генотипа происходит лишь в определенных условиях. Для одних микробов этих условий может быть больше, а для других – меньше. В невосприимчивом макроорганизме патогенность микробов остается нереализованной, так как для этого нет условий, адгезии и колонизации не происходит, микробы утрачивают свою жизнеспособность и погибают. В восприимчивом организме происходит их активное размножение.

В качестве примера можно привести *T. pallidum* или *S. typhi,* которые в естественных условиях вызывают заболевание только у человека. При этом, чем выше пищевая зависимость микроба от клетки хозяина, тем выше его паразитические свойства, тем выше патогенность. Патогенность микробов отличается от патогенности факторов любой другой природы своей биологической сущностью.

Для патогенных микробов характерны *нозологическая специфичность* (от греч. *nosos* – болезнь и *logos* – учение) *и органотропность. Нозологическая специфичность* заключается в том, что каждый вид патогенных микробов способен вызывать только для него характерный инфекционный процесс, а также симптомокомплекс патологических реакций, в какой бы восприимчивый макроорганизм они ни попали. Таким образом, *S. typhi* вызывает только брюшной тиф, а *N. meningitidis* – менингококковую инфекцию. Такая специфичность возбудителей позволяет проводить клиническую диагностику отдельных инфекционных заболеваний, как самостоятельных нозологических форм. Такой нозологической специфичности нет у условно-патогенных бактерий. *Органотропность* – это

поражение клеток, тканей и органов, наиболее подходящих по своим биохимическим свойствам для жизнедеятельности данных микробов. Например, возбудители воздушно-капельных инфекций поражают дыхательные пути, а возбудители кишечных инфекций – ЖКТ.

В основе специфичности и органотропности лежит лиганд – рецепторное взаимодействие микробов с эукариотическими клетками макроорганизма. Специфичность и органотропность объясняют хозяино-адаптированность многих микробов. Из этого правила есть исключения, например, возбудители зоонозных инфекций (бруцеллеза, чумы, туляремии, сибирской язвы и т.д.), для которых характерны **полигостальность** – много хозяев и **пантропизм,** в основе которого лежит способность к внутриклеточному паразитизму в макрофагах, расположенных во многих тканях и органах. Для этих микробов инфекционный процесс в макроорганизме человека, являющегося их неспецифическим хозяином, не играет жизненно важного адаптивного значения. Если микробы попадают не в ту среду, к которой они адаптированы, то инфекционный процесс либо не разовьется, либо разовьется, но будет протекать атипично.

Чем меньше выражены паразитические свойства микробов, тем меньше выражена специфичность и органотропность, что характерно для условно-патогенных микробов. Чем сильнее органоспецифическая адаптация микроба и более выражены его метаболические особенности, тем патогенней микроб и уже диапазон его возможных биологических хозяев, без которых он не может существовать. Примером такого микроба со сложными метаболическими потребностями является возбудитель сифилиса, за что он получил название «микроба гурмана».

Патогенные микробы должны проникать в макроорганизм в определенной *критической или инфицирующей дозе (син. патогенной дозе).* При попадании микробов в макроорганизм в количестве ниже определенной критической дозы инфекционный процесс не разовьется. Критическая инфицирующая доза необходима для возникновения стойкой адгезии, колонизации и инвазии микробов в ткани. Если инфицирующая доза мала, то микроб погибает под действием неспецифических защитных факторов макроорганизма (кислотности желудка, ферментов и т.д.) в момент его попадания в макроорганизм, что препятствует адгезии и колонизации. Инфицирующая доза является величиной условной. Для каждого вида микробов характерна своя инфицирующая доза. Она определяет не только клинические особенности течения и проявления инфекционных болезней (продолжительность инкубационного периода, степень тяжести и т.д.), но и наиболее эффективные и вероятные факторы передачи возбудителей инфекций. Для проявления инфицирующей дозы важное значение имеет не столько абсолютное число микробов, попавших в макроорганизм, сколько *их плотность на единицу поверхности и наличие рецепторов у эукариотических клеток.* Это объясняет наличие низких заражающих доз возбудителей в целом ряде случаев возникновения инфекционных болезней. Помимо критической инфицирующей дозы, важную роль в развитии и проявлениях инфекционного процесса играет *скорость репродукции микробов,* определяющая возможность увеличения численности их популяции в макроорганизме.

Например, для возбудителя чумы *Y. pestis,* которая является самой патогенной из всех бактерий, характерна высокая скорость роста и размножения. Для заболевания характерен короткий инкубационный период (от нескольких часов до 9 дней) и последующее острое, тяжелое течение с высокой летальностью. В то же время, для возбудителей туберкулеза и лепры характерны медленный рост и размножение, а для заболеваний, которые они вызывают, соответственно характерны длительный инкубационный период и длительное первично-хроническое течение. L-формы бактерий обладают низкой метаболи-

ческой активностью и скоростью размножения. Они не накапливаются в количествах, способных вызвать типичное течение инфекционной болезни. Высокая скорость размножения и плотность популяции способствуют накоплению мутаций и отбору более адаптированных к макроорганизму мутантов.

В естественных условиях патогенные микробы должны проникать через определенные *входные ворота инфекции – ткани и органы, через которые микробы попадают в макроорганизм.* Например, *N. gonorrhoeae* проникает в макроорганизм через однослойный цилиндрический эпителий, расположенный в слизистой оболочке уретры, канале шейки матки, дистальных отделах прямой кишки и конъюнктиве глаза. Возбудители кишечных инфекций проникают в макроорганизм через слизистую оболочку кишечника, а возбудители воздушно-капельных инфекций – через слизистые оболочки дыхательных путей. С другой стороны, есть патогенные микробы, проникающие в макроорганизм через разные входные ворота, например, возбудители зоонозов, обладающие пантропизмом. *Установлена связь между дозой микробов, путем их передачи, входными воротами инфекции и многообразием клинических проявлений инфекционных заболеваний,* что затрудняет их своевременную диагностику. Механизм заражения и характерные для него пути передачи определяют локализацию микробов в макроорганизме.

Пути и способы выделения микробов из организма, определяющие механизм передачи и распространения инфекции, также как и пути проникновения микробов в макроорганизм, специфичны, например с выдыхаемым воздухом при воздушно-капельных инфекциях, с экскрементами при кишечных инфекциях. Этой закономерности нет при генерализованных инфекциях, так как возбудитель с током крови попадает в различные ткани и органы и поэтому может выделяться всеми вероятными путями, например, с мочой, калом, желчью и т.д., а также передаваться с помощью кровососущих членистоногих насекомых. При этом, как было отмечено ранее, большое значение для передачи микроба из одного восприимчивого макроорганизма в другой имеет количественное содержание микробов в экскретах.

Популяция паразитов гетерогенна. Микробы, относящиеся к одному и тому же виду, обладают генотипической и фенотипической гетерогенностью. Гетерогенность – универсальное свойство всего живого.

В связи с тем, что патогенность, являясь полифакториальным генотипическим видовым признаком, подвержена фенотипическим изменениям, *для обозначения степени патогенности* введено понятие «вирулентности» (от лат. *viruktus* – ядовитый). В отличие от патогенности, характеризующейся лишь *потенциальной способностью данного вида* вызывать инфекционный процесс, *вирулентность* – это динамичное *индивидуальное свойство данного штамма* микроба вызывать развитие инфекционного процесса. Это мера патогенности, ее качественная характеристика или фенотипическое проявление генотипа.

По этому признаку все штаммы данного вида микроба могут быть подразделены на высоко-, умеренно-, слабо- и авирулентные. Высоковирулентные штаммы, как правило, вызывают более тяжело протекающие заболевания, чем умеренно- или слабовирулентные штаммы. Тем не менее, авирулентные штаммы есть даже среди возбудителей конвенционных и особо опасных инфекций.

В вирусологии вместо термина «вирулентность» применяют термин «инфекционность» или «инфекциозность». В лабораторных условиях о вирулентности микробов и силе действия их токсинов судят по величине летальной (LD) и инфицирующей (ID) доз, которые выражают в условно принятых единицах. *Летальная доза* – это наименьшее количество живого возбудителя или токсина, вызывающее в определенный срок гибель конкретного

количества (%) животных, взятых в опыт. *Инфицирующая доза* – это минимальное количество живых микробов, способное вызвать инфекционное заболевание у определенного количества (%) животных, взятых в опыт. Различают:

Dcl *(dosis certa letalis)* – наименьшее количество живого микроба или его токсина, вызывающее в течение определенного времени гибель 100% экспериментальных животных, взятых в опыт. *Это безусловно смертельная доза.*

Dim *(dosis letalis minima)* – наименьшее количество живого микроба или его токсина, вызывающее в течение определенного времени гибель 95% экспериментальных животных. взятых в опыт.

ID 100 – это минимальное количество живых микробов, вызывающее развитие инфекционного заболевания у 100% зараженных экспериментальных животных, взятых в опыт.

Чаще всего используют LD50 – дозу живого микроба или его токсина, вызывающую в течение определенного времени гибель 50% экспериментальных животных, взятых в опыт, и ID50 – минимальное количество живых микробов, способное вызвать развитие инфекционного заболевания у 50% зараженных экспериментальных животных, взятых в опыт.

При постановке опыта необходимо учитывать вид, пол, возраст, вес, условия содержания и полноценность питания экспериментальных животных, что тесным образом связано с формированием и активностью работы иммунной системы у них, а также способ заражения (пероральный, интраназальный, внутривенный, внутримышечный, внутрибрюшинный, интрацеребральный и т.д.). Например, у морских свинок, которые наиболее чувствительны к *M. tuberculosis,* чем другие лабораторные животные, заболевание с летальным исходом возникает при введении через дыхательные пути 1 – 2 клеток микроба, тогда, как при пероральном заражении летальная доза увеличивается до нескольких тысяч клеток. Даже внутри одного и того же вида существуют внутривидовые генетические отличия. Например, есть линии мышей, высокочувствительные к вирусам, но устойчивые к бактериям, и наоборот. Для снижения степени влияния индивидуальных колебаний резистентности макроорганизма на результаты исследований определение вирулентности проводят на значимом количестве животных. Более однородные результаты получают при использовании генетически управляемых линий животных, например, инбредных (от англ. *in* – в, внутри и *breeding* – разведение). *Инбредные животные* – это линейные, гомозиготные животные, которые получены в результате скрещивания близко родственных особей на протяжении 20 и более поколений. Такие животные генетически однородны, так как достигают 100%-й гомозиготности.

Как фенотипическое проявление генотипа, вирулентность подвержена изменениям как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения под действием физических, химических и биологических факторов. Снижение вирулентности (аттенуация) может происходить при длительном культивировании бактерий на искусственной питательной среде или в результате длительного пассирования микробов через организм маловосприимчивых животных. Полная утрата вирулентности связана с изменением генотипа. Повышение вирулентности отмечается, наоборот, при пассировании микробов через организм высоковосприимчивых животных, при лизогении, а также вследствие мутаций и рекомбинаций. Эти особенности изменения вирулентности учитываются при получении вакцинных штаммов микробов.

С учетом вирулентности микробов и степени опасности работы с ними, все патогенные микробы подразделены на четыре группы, режимы работы с которыми регламентируются соответствующими приказами и инструкциями МЗ России. Примером изменения вирулентности может служить L-трансформа-ция у бактерий, образование цист у спирохет, синтез

капсулы у бактерий при их попадании в макроорганизм, температурозависимый синтез инвазивных белков у иерсиний и Ви-антигена у *S. typhi,* синтез индуцибельных экзоферментов и т.д.

Факторы патогенности микробов

Факторы патогенности **– это материальные носители, обуславливающие способность микробов вызывать инфекционный процесс.**

Изучение факторов патогенности позволяет понять, чем патогенный микроб отличается от непатогенного и чем восприимчивый макроорганизм отличается от невосприимчивого. В отличие от сапрофитов, патогенные микробы для того, чтобы преодолеть естественные барьеры макроорганизма и существовать в нем, должны обладать способностью к *адгезии* и *колонизации, инвазивностью,* т.е. способностью к преодолению защитных барьеров макроорганизма, проникновению во внутреннюю среду макроорганизма за пределы входных ворот инфекции и распространению в его тканях, проникновению в клетки макроорганизма *(пенетрация),* а также обладать *агрессивностью,* т.е. способностью подавлять неспецифическую и специфическую реактивность организма за счет агрессинов, интерферирующих с защитными факторами макроорганизма, в том числе, *противостоять фагоцитозу.*

В настоящее время термин «инвазивность», подразумевающий способность сохраняться в макроорганизме и размножаться в нем, применяют и в отношении внеклеточных паразитов, таких как стафилококки, стрептококки, псевдомонады и т.д. Кроме того, патогенные микробы должны оказывать *токсическое воздействие на макроорганизм.* Каждую из этих функций патогенные микробы реализуют с помощью специализированных структур, состоящих из макромолекул, которые являются материальными носителями патогенности, обуславливающими специфичность инфекционного процесса. В основе специфичности лежит механизм биологического распознавания по принципу комплементарности взаимодействующих структур. Адгезию, колонизацию и защиту от фагоцитоза осуществляют макромолекулы, входящие преимущественно в состав поверхностных морфологических структур микробов. Инвазивность и агрессивность обусловлены, в основном, действием экзоферментов, в то время как токсическое воздействие – действием токсинов, играющих ведущую роль в развитии специфических симптомов при инфекционных заболеваниях. В развитии определенных стадий инфекционного процесса принимают участие сразу несколько факторов патогенности.

Факторы патогенности, обуславливающие адгезию и колонизацию. Патогенные микробы активно преодолевают естественные защитные барьеры макроорганизма, стремясь закрепиться на занятой ими поверхности кожи и слизистых оболочек. Поэтому адгезия и колонизация – это пусковые механизмы инфекционного процесса. Микробы, не способные преодолеть этот барьер, приобрели способность проникать в макроорганизм парентеральным путем, используя повреждения эпидермиса или прибегая к помощи кровососущих членистоногих насекомых. Адгезия характеризуется специфичностью, которая проявляется в избирательной способности микробов прикрепляться к эпителиальным клеткам определенного вида хозяина и определенных систем и органов макроорганизма (органотропность). Даже в пределах одного и того же органа или системы (дыхательной, пищеварительной, нервной и т.д.) отмечается мозаичность поражения. Специфичность адгезии обусловлена наличием комплементарных структур у микробов и чувствительных к ним эукариотических клеток макроорганизма. Структуры микроба, ответственные за прикрепление, называют *ад-гезинами* или *лигандами,* а структуры эукариотической клетки хозяина – *рецепторами.* Между ними происходит лиганд-рецепторное взаимодействие по

принципу комплементарности. У грамотрицательных бактерий адгезины образуют органеллы – ворсинки, фимбрии или пили I типа. Роль адгезинов у них выполняют также основные белки наружной мембраны и липополисахариды. У грамположительных бактерий нет фимбрий и роль адгезинов у них выполняют поверхностные белки и тейхоевые кислоты. У капсульных бактерий в адгезии принимают участие капсульные полисахариды и полипептиды. У микоплазм адгезины входят в состав выростов цитоплазматической мембраны (белок P1 у *M. pneumoniae*), а у вирусов адгезия осуществляется за счет белков капсида и гликопротеинов суперкапсида. В процессе колонизации слизистых оболочек бактериями помимо адгезинов определенную роль играют фрагмент A1 холерогена у *V. cholerae,* дифтерийный токсин у *C. diphtheriae,* пертуссис токсин у *B.* pertussis и т.д. Стойкая адгезия и колонизация возможны только в том случае, если микробы могут выстоять против биоцидных и биостатических факторов, которые в разных сочетаниях представлены на коже и слизистых оболочках. Поэтому важную роль в процессе колонизации эпителия слизистых оболочек играют IgA-протеазы и антилимфоцитарный фактор бактерий, продукция бактериоцинов, антиоксидантов, сидерофоров, конкурирующих с лактоферрином за ионы железа. Колонизация кожных покровов и слизистых оболочек в месте входных ворот инфекции зависит не только от дозы микробов, но и от количества рецепторов на поверхности эпителиальных клеток. Количество же и строение рецепторов эпителиальных клеток колеблются в пределах одного и того же вида, вплоть до полного их отсутствия у отдельных представителей вида, что и объясняет мозаичность поражения как на популяционном уровне, так и на клеточно-тканевом и органном уровнях. Помимо нативных поверхностных структур клеток макроорганизма, в качестве рецепторов могут выступать вирусиндуцированные антигены и приобретенные рецепторы – мостики, представляющие собой альбумины, иммуноглобулины, фибронектин, ряд компонентов комплемента и другие молекулы, которые взаимодействуют с нативными рецепторами клеток макроорганизма и адгезинами микробов.

С одной стороны, если рецепторов нет, то инфекционный процесс не разовьется. Это говорит о том, что восприимчивый макроорганизм отличается от невосприимчивого макроорганизма на уровне макромолекул. Генетически детерминированное отсутствие рецепторов обусловливает наличие естественного, видового (конституционного) врожденного иммунитета к определенным микробам. С другой стороны, патогенные микробы от непатогенных также отличаются на уровне макромолекул, так как даже при наличии рецепторов микробы-мутанты, лишенные адгезинов, не обладают способностью вызывать инфекционный процесс.

Адгезия не является чисто механическим взаимодействием с клетками макроорганизма. Непосредственное взаимодействие адгезинов с рецепторами клетки, а также секреторных белков ведет к активации сигнальных систем клетки и образованию воспалительных цитокинов, которые стимулируют синтез **интегринов** на поверхности клетки, проводящих сигналы внутрь клеток макроорганизма. Таким образом, включаются механизмы, обуславливающие проникновение микробов внутрь клетки. Белки наружной мембраны грамотрицательных бактерий и другие адгезивные молекулы, используемые ими для проникновения внутрь клетки, получили название **инвазинов.** При этом механизмы, используемые бактериями для активного проникновения как в не фагоцитирующие, так и фагоцитирующие клетки, одинаковы. Они позволяют бактериям избежать антибактериальной активности фагосом, куда бактерии попадают при традиционном фагоцитозе.

Факторы, обуславливающие адгезию и колонизацию микробов, играют ведущую роль на ранних начальных стадиях патогенеза инфекционных заболеваний, что необходимо учитывать при разработке препаратов для профилактики этих заболеваний.

Факторы патогенности, обуславливающие инвазивность и агрессивность. Способность микробов распространяться по макроорганизму и противостоять его защитным факторам обусловлена действием образуемых микробами ферментов, что особенно характерно для облигатных внеклеточных паразитов. При этом ферменты оказывают свое действие как местно, так и на расстоянии, генерализованно. Они либо усиливают действие токсинов, разрушая клетки и волокна тканей (нейраминидаза и гиалуронидаза), а также переводя протоксины в токсины, либо сами действуют как токсины в результате образования токсических для макроорганизма веществ, как, например, фермент уреаза, гидролизующая мочевину с образованием аммиака и диоксида углерода (углекислоты) или декарбоксилазы аминокислот, образуемые бактериями в кишечнике, что ведет к образованию токсичных биогенных аминов. Токсическое воздействие на макроорганизм оказывают протеазы легионелл, аденилатциклаза возбудителя коклюша и т.д. Ряд микробов продуцирует ферменты, вызывающие гемолиз эритроцитов и разрушение лейкоцитов (гемолизины и лейкоцидины). Очевидно, грань между ферментами и токсинами в ряде случаев условна, так как у некоторых токсинов в настоящее время обнаружена ферментативная активность.

К числу ферментов, способствующих инвазии микробов по макроорганизму и их сохранению в нем, относятся:

– гиалуронидаза, расщепляющая гиалуроновую кислоту, основной компонент соединительной ткани, препятствующий проникновению в них посторонних веществ;

– нейраминидаза (син. сиалидаза), расщепляющая сиаловую кислоту, входящую в состав поверхностных рецепторов клеток, благодаря чему, последние приобретают способность взаимодействовать с адгезинами микробов или их токсинами. С помощью данного фермента микробы преодолевают первый защитный барьер макроорганизма – муцинозный слой, покрывающий поверхность слизистых оболочек и содержащий большое количество сиаловых кислот. Слизь теряет коллоидные свойства и полностью разрушается, а эпителиальные клетки слизистых оболочек, которые в норме покрыты слизью, становятся доступными для колонизации. Данный фермент способствует проникновению микробов внутрь клеток и их распространению по межклеточным пространствам. Так как сиаловая кислота входит в состав разных тканей и органов, нейраминидаза обладает широким спектром действия;

– фибринолизин, растворяющий сгустки фибрина, образующиеся в тканях в результате развития воспаления, что способствует ограничению воспалительного очага и препятствует распространению микробов по макроорганизму. Лизис фибрина ведет к инвазии микробов по макроорганизму;

– плазмокоагулаза, ведущая к образованию в воспалительном очаге вокруг микробов капсулы в результате коагуляции плазмы, что препятствует их фагоцитозу и действию комплемента;

– ДНКаза, деполимеризующая ДНК, выделяющаяся в среду при гибели клеток. Это ведет к снижению вязкости окружающей среды, что благоприятно сказывается на развитии микробов в тканях.

– коллагеназа, разрушающая коллаген мышечных волокон, что понижает стабильность его структуры и лецитиназа С (фосфолипаза), действующая на лецитин и другие фосфоглицериды, входящие в состав клеточных мембран мышечных волокон, и т.д. Продукты гидролиза лецитина оказывают токсическое воздействие на макроорганизм.

При этом ферменты агрессии и инвазии, помимо своих агрессивных, разрушительных функций, способствующих инвазии микробов в макроорганизме, выполняют трофические функции, поставляя микробам низкомолекулярные продукты распада клеток и тканей

макроорганизма, необходимых микробам для их жизнедеятельности, что ведет к столь характерному для инфекционных болезней истощению макроорганизма. Так, например, фибринолизин обеспечивает не только распространение менингококков сквозь сгустки фибрина, но и обеспечивает им поставку аминокислот, продуктов распада фибрина, необходимых микробам для жизнедеятельности. Продукция микробами ферментов объясняет наличие многих симптомов при инфекционных заболеваниях, например, возникновение абсцедирующих пневмоний, вызванных стафилококками; появление жидкой, а не вязкой мокроты у больных чумой и т.д. При этом, в патогенезе инфекционных болезней ведущую роль играют специализированные ферменты или ферментные системы, например, специфическая протеаза гемоглобина у возбудителей малярии, или фибринолизин – коагулазная система у возбудителя чумы, способствующая образованию чумного блока у переносчиков микроба – блох и попаданию микробов в макроорганизм и их распространению, а также специфические протеазы гонококков, вызывающие гидролиз секреторного иммуноглобулина класса А, препятствующего их адгезии на слизистых оболочках и т.д. Продукция микробами ферментов объясняет необходимость назначения больным, в ряде случаев, ингибиторов ферментов. Таким образом, ферменты микробов оказывают токсическое воздействие, способствуют инвазии и агрессии микробов, выполняют трофическую функцию.

Помимо ферментов, важную роль, как факторы патогенности, играют жгутики, осуществляющие движение микробов и препятствующие их фагоцитозу, а также гетерофильные антигены, способствующие персистенции микробов в макроорганизме. Гетерофильные антигены – это общие антигены у представителей разных видов, имеющие сходные антигенные детерминанты, но разные носители. Такие антигены обнаружены у возбудителя чумы и у лиц с первой группой крови, к ним относятся кардиолипиновый антиген возбудителя сифилиса, капсульный полисахаридный антиген менингококков группы В, сходный с гликопептидами мозга и ряд других антигенов. Благодаря наличию гетерофильных антигенов, макроорганизм может не распознавать такие микробы как чужеродные, что способствует их сохранению в макроорганизме. Образование данных антигенов является результатом либо случайного повторения биосинтеза конечных продуктов, либо длительной совместной эволюции представителей разных видов. Данное явление получило название антигенной мимикрии (от англ. *mimicry* – подобный). С другой стороны, наличие таких антигенов у микробов способствует развитию аутоиммунных реакций в макроорганизме, так как данные антигены имеют разные носители, что обусловливает включение запрещенных клонов клеток. Важным защитным механизмом у микробов является образование антигенных вариантов, устойчивых к действию защитных факторов макроорганизма. Формирование антигенных вариантов может происходить как в одном организме хозяина, что характерно для возбудителей малярии, эндемического клещевого и эпидемического вшивого возвратных тифов, трипаносомозов и т.д., так и на уровне популяции, что характерно для вируса гриппа типа А.

Факторы патогенности, обладающие антифагоцитарной активностью. К важным факторам патогенности, обладающим антифагоцитарной активностью у бактерий, а также других микробов, относятся капсулы, микрокапсулы, слизистые чехлы и входящие в их состав антигены. Они выполняют роль механических барьеров, экранирующих поверхностные структуры микробов, взаимодействующих с опсонинами, выполняющими роль распознающих микробы молекул и роль лигандов, связывающих их с фагоцитирующими клетками, а также непосредственно взаимодействующих с рецепторами фагоцитирующих клеток, что препятствует распознаванию микробов и их поглощению. Капсульное вещество защищает микробы от действия лизосомальных ферментов и перекисных радикалов фагоцитирующих клеток. Легкая отделяемость капсул и слизи от поверхности мик-

робов ведет к ложному связыванию рецепторов фагоцитирующих клеток. Капсульные варианты микробов, как правило, вызывают более тяжело протекающие заболевания, чем их бескапсульные варианты. Хорошо известна роль К-антигенов, как факторов патогенности у эшерихий, шигелл и сальмонелл, Ви-антигена – у возбудителя брюшного тифа, cord-фактора – у возбудителей туберкулеза, полипептидной капсулы – у возбудителя сибирской язвы и т.д.

Микробы могут подавлять фагоцитарную активность клеток на всех стадиях фагоцитоза. Антифагоцитарные свойства у микробов обусловлены не только наличием у них капсул, микрокапсул и слизистых чехлов, но и способностью многих микробов образовывать вещества, подавляющие хемотаксис фагоцитирующих клеток, разрушающие хемоаттрактанты и фагоцитирующие клетки; противодействовать внутриклеточному перевариванию, препятствуя слиянию лисозомы с фагосомой; образовывать ферменты, инактивирующие перекисные радикалы, оказывающие кислородзависимый киллерный эффект; обладать резистентностью к лизосомальным ферментам; образовывать вещества, вызывающие лизис фаголизосомы (листериолизин, сальмолизин, контактный гемолизин шигелл); покидать фаголизосому; индуцировать апоптоз фагоцитирующих клеток. С другой стороны, облигатные внутриклеточные паразиты образуют вещества, активирующие хемотаксис (N-формильные и им подобные пептиды) и фагоцитарную активность клеток (инвазивные белки), что способствует их проникновению внутрь клетки. Таким образом, механизмы внутриклеточного существования микробов и незавершенного фагоцитоза многообразны.

Если возбудители туберкулеза образуют фосфатиды, препятствующие слиянию лизосомы с фагосомой, то возбудитель лепры может переживать в фаголизосоме за счет особенностей строения клеточной стенки, легионеллы подавляют метаболический взрыв, а трипаносомы покидают фаголизосому, выходя в цитоплазму клетки и т.д. Эндоцитобиоз способствует сохранению микробов в макроорганизме, их распространению по макроорганизму, делает микробы неузнаваемыми и недоступными для защитных факторов иммунной системы. Способность микробов сохраняться и размножаться в фагоцитирующих клетках, а также распространяться по макроорганизму, находясь внутриклеточно, получила название механизма «троянского коня».

Преодолев входные ворота инфекции и поступив в кровь, микробы должны избегать воздействия комплемента и других микробоцидных факторов крови (антител, лизоцима, В-лизинов и т.д.). В частности, они должны обладать антикомплементарной активностью. В одних случаях, это достигается благодаря наличию капсул, препятствующих активации комплемента, прежде всего, по альтернативному пути. В других случаях, микробы поступают в кровь, располагаясь внутриклеточно или внутри микротромбов, образующихся под действием плазмокоагулазы. Это сохранение в крови создает дополнительные возможности для реализации их потенциальной патогенности.

Помимо адгезинов, ферментов, агрессинов, в том числе, факторов, препятствующих фагоцитозу, важное значение имеют *токсины микробов* (от греч. *toxikon* – яд), обуславливающие развитие симптомов интоксикации при инфекционных заболеваниях. Они играют ведущую роль в патогенезе инфекционных заболеваний.

Токсины бактерий

Токсины бактерий – продукты метаболизма, оказывающие непосредственное токсическое воздействие на специфические клетки макроорганизма, либо опосредованно вызывающие развитие симптомов интоксикации в результате индукции ими образования биологически активных веществ.

По физико-химической структуре и биологическим свойствам токсины бактерий делятся на две группы: *белковые токсины* и *эндотоксины*.

Белковые бактериальные токсины и их биологические свойства. К данной группе токсинов относятся термолабильные и термостабильные белки, которые образуются как грам-положительными, так и грамотрицательными аэробными и анаэробными бактериями. Обычно это ферменты, которые оказывают губительное воздействие на клетки макроорганизма в исключительно малых концентрациях. Они могут как секретироваться клеткой в окружающую среду, так и находиться с клеткой в связанном состоянии, освобождаясь в процессе автолиза клетки. *По степени связи с бактериальной клеткой* их подразделяют на три класса:

Класс А – секретируемые во внешнюю среду, например, гистотоксин *C. diphtheriae*.

Класс В – токсины, частично связанные с микробной клеткой и частично секретируемые в окружающую среду. Они находятся в периплазматическом пространстве. Такие токсины называют *мезотоксинами,* как, например, тетаноспазмин *C. tetani* или нейротоксин *C. botulinum*. Клетка остается жизнеспособной. Они не имеют сигнального пептида, поэтому не секретируются в окружающую среду. Эти токсины попадают в окружающую среду в результате слияния с мембранами клетки и затем выводятся из нее посредством эксфолиации мембран (син. отслоение, деск-вамация), а не автолиза, как считали ранее.

Класс С – токсины, связанные с микробной клеткой и попадающие в окружающую клетку среду лишь в результате гибели клетки, например, шига-токсин у *S. dysenteriae* 1 серовара и другие шигаподобные токсины.

Способность бактерий образовывать белковые токсины называется *токсигенностью*.

По строению белковые токсины делятся на **простые** и **сложные.** ***Простые токсины*** *образуются в виде единой полипептидной цепи или протоксина, неактивного в функциональном отношении, который под действием протеаз самого микроба, либо протеаз представителей нормальной микрофлоры, а также протеаз тканей и клеток макроорганизма превращается в активную бифункциональную В – А-структуру.* Часть В не обладает токсичностью. Это природный *токсоид (анатоксин),* который, выполняя транспортную функцию, взаимодействует со специфическим рецептором на эукариотической клетке и образуя канал в цитоплазматической мембране клетки, обуславливает проникновение *токсической группы А* или *активатора* в цитоплазму клетки. Как правило, субъединица А обладает ферментативной активностью. Она активна только при наличии субъединицы В, которая обеспечивает специфичность и органотропность действия токсина, а также экранирует ферментативную субъединицу А, предотвращая ее взаимодействие с субстратом, как в собственной клетке микроба, так и за ее пределами. *Сложные токсины* представляют собой уже готовую сложную бифункциональную структуру, состоящую из одной или нескольких В-субъединиц, соединенных с А-субъединицей, как, например, холерный энтеротоксин, у которого субъединица А окружена пятью абордажными В-субъединицами. Субъединицы В и А синтезируются в клетке независимо и в последующем соединяются в единый комплекс. Часть В взаимодействует со специфическими рецепторами эукариотических клеток, а часть А под действием протеаз диссоциирует на две субъединицы: А1 или активатор и А2, которая осуществляет транспорт активатора через цитоплазматическую мембрану клетки-мишени в цитоплазму.

Механизм действия белковых токсинов на молекулярном уровне состоит из нескольких стадий. Белковые бактериальные токсины относятся к высокомолекулярным соединениям и самостоятельно через клеточные мембраны не проникают – необходима их диссоциация. *На первой стадии* белковый токсин за счет своих абордажных молекул В фикси-

руется на поверхности клетки, взаимодействуя со **специфическим рецептором** ганглиозидной, гликопротеидной или гликолипидной природы, что ведет к образованию комплекса токсин – рецептор клетки. *Вторая стадия* заключается в активации токсина под действием протеаз по типу ограниченного протеолиза с последующим образованием бифункциональной В–А-структуры. У сложных токсинов роль активации сводится к переводу активаторного фрагмента А из неактивного в активное состояние. Изменение конформационной структуры молекулы токсина ведет к раскрытию у нее каталитического центра и появлению ферментативной активности. *Третья стадия* заключается в трансмембранной транслокации части А или А1в цитоплазму клетки, где она нарушает жизненно важные биохимические процессы в клетке, действуя на свои мишени, что ведет к гибели клеток. Взаимодействие части В со специфическими рецепторами на поверхности клеток и высокая избирательность катализа совместно и обуславливают специфичность действия белковых бактериальных токсинов.

Знание механизма действия белковых бактериальных токсинов позволяет понять, почему применение антитоксических сывороток не всегда бывает эффективным.

При применении антитоксических сывороток необходимо помнить, что белковый токсин может быть нейтрализован антителами, когда он находится в крови или лимфе, а также на поверхности клетки, так как антитела препятствуют его взаимодействию со специфическими рецепторами и диссоциации комплекса токсин – рецептор на субъединицы и транслокации части А в цитоплазму клетки. Непосредственно через мембрану клетки антитела не проникают и нейтрализовать транслоцированную в цитоплазму часть А не могут, что объясняет отсутствие эффекта от серотерапии при несвоевременно начатом лечении.

По **механизму действия** белковые бактериальные токсины делятся на пять групп: повреждающие клеточные мембраны; ингибиторы синтеза белка; активирующие пути метаболизма, контролируемые вторичными посредниками (мессенджерами); протеазы; суперантигены, активирующие иммунный ответ макроорганизма.

Токсины, повреждающие клеточные мембраны. Токсины данной группы способны повреждать плазматическую мембрану эукариотических клеток с помощью ферментативного гидролиза или в результате формирования пор. Такие повреждения вызывают не только лизис клеток, но и способствуют распространению бактерий в макроорганизме. Примером ферментативного гидролиза является действие альфа-токсина *C. perfringens,* обладающего активностью фосфолипазы С.

Порообразующие токсины формируют трансмембранные поры и нарушают селективный вход и выход ионов через плазматическую мембрану, что ведет к лизису клетки. Эта группа токсинов включает гемолизин *E. coli,* лейкотоксин *P. haemolitica,* аэролизин *A. hydrophila,* О-перфринголизин *C. perfringens,* 0-листериолизин *L. monocytogenes,* а также пневмолизин *S. pneumoniae,* О-стрептолизин *S. pyogenes* и альфа-токсин *S. aureus.* Последний можно рассматривать в качестве прототипа олигомеризующих порообразующих цитоток-синов. Бактерии секретируют готовый токсин (протомер), который узнает клетку-мишень по специфическим рецепторам или неспецифически сорбируется в участках плазматической мембраны, содержащих фосфатидилхолин или холестерин. На мембране семь протомерных токсинов собираются в пору, формируя грибоподобный гептамер, состоящий из трех доменов. Шляпка и ободочная область альфа-токсина располагаются на плазматической мембране, а ножка служит трансмембранным каналом. Эта пора позволяет маленьким молекулам и ионам совершать двухстороннее движение, что приводит клетку к набуханию и осмотическому лизису. Альфа-токсин обладает цитолитическим действием в отношении различных типов клеток, включая моноциты, лимфоциты, эритро-

циты, тромбоциты и эндотелиоциты человека. Образование поры включает каскад вторичных процессов: активацию эндонуклеаз, высвобождение цитокинов и других медиаторов воспаления, синтез эйкозаноидов.

Токсины, ингибирующие синтез белка. К данной группе токсинов относятся: гистотоксин *C. diphtheriae,* экзотоксин А *P. aeruginoza,* шига-токсин (Stx-токсин) *S. dysenteriae* 1 серовара и шигаподобные токсины энтеропатогенных и энтерогеморрагических *E. coli* (Stx-токсины). Субстратом для них служат факторы элонгации и 288-рибосомальная РНК. Дифтерийный токсин и экзотоксин А псевдомонад являются дифтамид специфическими АДФ-рибозилтрансферазами, рибозилирующими фактор элонгации 2, что ведет к его инактивации и подавлению синтеза белка в клетке. Они синтезируются в виде протоксинов.

Stx-токсин и Stx-токсины имеют типичную АВ-структуру. Энзиматическая субъединица А нековалентно связана с 5-ю В-субъединицами. После связи пентамера В с эукариотической клеткой и интернализации, полипептид А расщепляется на энзиматическую часть А1 и фрагмент А2, связанный с В-пентамером. А1 проявляет N-гликозидазную активность. Stx-токсины инактивируют 288-рибосомаль-ную РНК, нарушая ее взаимодействие с ами-ноацил-тРНК, что ведет к подавлению синтеза белка и гибели клетки-мишени. Данные токсины нарушают синтез белка не только в эпителиоцитах, но и в других клетках, индуцируя развитие гемолитического уремического синдрома. Проникая из просвета кишечника, Stx-токсины связываются с рецепторами эндотелиальных клеток капилляров почечных гломерул Gb3, а также других органов. Это приводит к набуханию клеток, сужению просвета сосудов, агрегации тромбоцитов, развитию гемолиза эритроцитов и уремии.

Токсины, активирующие пути метаболизма вторичных мессенджеров. К данной группе относятся: цитотоксический некротизирующий фактор (CNF), термолабильный (LT) и термостабильный (ST) токсины *E. coli;* отечный фактор *B. anthracis;* коклюшный и дермато-некротический (DNT) токсины *B. pertussis;* токсины А и В *C. difficile;* холерный энтеротоксин и другие токсины. Они влияют на функцию отдельных белков эукариотической клетки, не вызывая ее гибели. С этой целью токсины активируют вторичных посредников, которые усиливают или искажают клеточные реакции на внеклеточные сигналы.

CNF и DNT имеют связывающий и ферментативный домены. Они активируют Rho-субсемейство ГТФ-связывающих белков, участвующих в модификации регуляции актина цитоскелета через *дезаминирование.* Такая модификация приводит к преобладанию Rho, не способного гидролизовать связанный с ним ГТФ. Пораженные клетки приобретают характерный вид. У них наблюдается «рифление» мембраны, формируется локальное сжатие актиновых нитей, развивается воспаление с формированием некротического очага.

Токсины А и В *C. difficile,* обладая гликозилтрансферазной активностью, наоборот, инактивируют Rho ГТФ-связывающие белки. ST-энтеротоксин *E. coli,* связываясь с рецептором гуанилатциклазы, приводит к увеличению цГМФ, который обращает в обратную сторону ток электролитов, подавляя абсорбцию ионов натрия и повышая секрецию ионов хлора, что ведет к развитию диареи.

Холерный энтеротоксин (холероген) состоит из пяти В-субъединиц и субъединицы А, которая диссоциирует на А1, обладающую АДФ-рибозилтрансферазной активностью и А2, связывающую А1 с пентамером В. А1 инактивирует G-белок, регулирующий активность аденилатциклазы клеточных мембран, что ведет к повышению активности последней и увеличению внутриклеточного содержания циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), нарушению всасывания ионов натрия, калия и воды. В отличие от ST энтероток-

сина *E. coli,* LT-энтеротоксин *E. coli* сходен по строению и механизму действия с холерным энтеротоксином. Он и коклюшный токсин обладают АДФ-рибозилтрансферазной активностью. Их мишенью являются G-белки. Они извращают функции клеток, нарушая внутриклеточный гомеостаз по цАМФ.

Протеазы. Примерами данных токсинов являются ботулинический и столбнячный нейротоксины, а также летальный фактор *B. anthracis.* Ботулотоксин (BoNT) и тетаноспазмин (TeNT) относятся к цинк-металлоэн-допротеазам. Это функциональные блокаторы. Они сходны по структуре, но различаются по путям проникновения в макроорганизм. Ботулотоксин проникает в макроорганизм энтерально при пищевом ботулизме и у новорожденных в виде больших комплексов, включающих нейротоксин и один или несколько белков, которые обеспечивают стабильность токсина в желудочно-кишечном тракте. Тетаноспазмин образуется в ранах вегетативными формами *C. tetani,* не формируя комплексов с белками. Оба нейротоксина синтезируются в виде крупномолекулярных неактивных полипептидов, активируемых путем протеолитического расщепления. Каждая активная молекула нейротоксинов включает тяжелую цепь, состоящую из домена, необходимого для связывания с клеткой, а также домена, отвечающего за транслокацию и легкой цепи, обладающей протеазной активностью. Мишенями токсинов в клетках является группа белков, необходимых для стыковки и соединения синаптических пузырьков с пресинаптическими плазматическими мембранами с последующим высвобождением нейромедиаторов. Ботулотоксин связывается с рецепторами на поверхности пресинаптической мембраны двигательных нейронов периферической нервной системы и вызывает протеолиз белков в нейронах. Это приводит к ингибированию секреции ацетилхолина, что препятствует мышечным сокращениям и проявляется развитием вялых параличей периферических нервов.

Тетаноспазмин сначала связывается с рецепторами на пресинаптической мембране мотонейронов, а затем с помощью обратного везикулярного транспорта перемещается в спинной мозг, где может внедриться в тормозящие и вставочные нейроны. Расщепление везикуло-ассоциированного мембранного протеина и синаптобревина в этих нейронах приводит к блокаде секреции ингибиторных нейротрансмиттеров – глицина и гамма-аминобутировой кислоты, что вызывает перевозбуждение мотонейронов и ведет к стойким мышечным сокращениям (спастическим параличам). Он является ингибитором инактиваторов ацетилхолина.

Данные токсины относятся к супертоксинам, так как имеют максимально возможную для белков молекулярную массу и, соответственно, токсичность. Это самые сильные биологические яды.

Сибиреязвенный токсин относится к наиболее изученным трехсоставным А1-В-А2-токсинам.

Основной мишенью его являются **макрофаги,** а также подобные им клетки, имеющие к нему высоко аффинные рецепторы. **Общая В-субъединица** токсина, являющаяся **протективным антигеном,** обеспечивает ферментативным субъединицам единый механизм проникновения в цитозоль клетки, что необходимо для синергидного действия последних. Вначале протективный антиген связывается с высоко аффинными рецепторами эукариотических клеток. Затем под действием фурина – протеазы клетки-мишени, из него образуется активная форма, имеющая молекулярную массу 63 кД (ПА 63), которая, образуя гептамеры, связывающие **летальный фактор (А1)** и **отечный фактор** (А2), участвует в формировании pH ионопроводящих (катионселективных) каналов и транслокации А1 и А2 в цитозоль клетки путем рецепторного эндоцитоза. **Летальный фактор** – металлопротеаза, мишенью которой служит митогенанактивируемая киназа протеинкиназ. Он ока-

зывает свое действие в течение нескольких минут, перемещаясь из прелизосомного пространства в лизосому через кислотное внутриклеточное окружение. Действие летального фактора проявляется в продуцировании активных форм кислорода в макрофагах и нейтрофилах, что сопровождается увеличением перекисных соединений в макрофагах и деструкции последних (цитотоксическое действие). **Отечный фактор** биохимически является зависимой от кальция и кальмодулина **аденилатциклазой,** образуемой микробами в неактивной форме. Она активируется при внутриклеточном контакте с белком эукариотов – кальмодулином, отсутствующим у бактерий. Ее мишенью является АТФ. **Аденилатциклаза индуцирует синтез вторичных мессенджеров.** Повышение уровня цАМФ в клетках сопровождается угнетением фагоцитарной функции клеток, нарушением слияния фагосомы с лизосомой, обезвоживанием клеток и экскреции источников энергии в результате нарушения проницаемости клеток. Очевидно, цАМФ используется бактериями для подавления многих нормальных функций фагоцитов, что позволяет микробам дольше выживать во внутренней среде макроорганизма. При этом развитие сибиреязвенной инфекции предполагает обязательное совместное участие всех трех компонентов сибиреязвенного токсина.

Активаторы иммунного ответа. К данной группе токсинов относятся: токсин синдрома токсического шока (TSST-1), энтеротоксины и эксфолиативные токсины *S. aureus,* пирогенные экзотоксины *S. pyogenes* и ряд токсинов других микробов. Они относятся к суперантигенам (PTSAg) и могут действовать непосредственно на антигенпрезентующие клетки иммунной системы (АРС) и Т-лимфоциты. Их иммуностимулирующий эффект является результатом способности связывать различные участки экспрессированных на поверхности АРС МНС 2 класса снаружи от пептидсвязывающего участка и специфических У|3-элементов на Т-клеточном рецепторе. Например, (3-домен стафилококкового TSST-1 связывает а-цепь МНС 2 класса на макрофагах, в то время, как А-домен специфически связывается с Ур2-элементами рецепторов Т-клеток, что ведет к массивной пролиферации Т-клеток, сопровождающейся образованием большого количества лимфоцитарных (интерлейкин-2, у-интерферон), а также моноцитарных цитоксинов (интерлейкин-1, интерлейкин-6, ос-фактор некроза опухолей). Совместно эти цитоксины вызывают развитие гипотензии, высокую температуру и диффузную эритематозную сыпь. Стафилококковый эксфолиативный токсин (син. эксфолиатин, эпидермолитический токсин) разрушает межклеточные контакты (десмосомы) зернистого слоя эпидермиса, что ведет к отслоению (десквамации, эксфолиации) поверхностных слоев эпидермиса и образованию лопающихся пузырей, наполненных серозным или гнойным содержимым.

Бактериальные токсины сходны по структуре и целому ряду других свойств с сигнальными молекулами макроорганизма: гормонами, нейромедиаторами, интерферонами и т.д. В ходе лиганд-рецепторного взаимодействия с клетками макроорганизма они используют уже готовые структуры, участвующие в нейроэндокринной сигнализации. Формирование пор тоже не является их уникальным свойством. Можно предположить, что, являясь антиметаболитами сигнальных молекул макроорганизма, они первоначально имитируют их действие, а в последующем оказывают блокирующий эффект.

Универсальность белковых токсинов заключается в их полифункциональности, не ограничивающейся их значением только лишь как факторов патогенности. Образование белковых токсинов играет существенную роль в экологии бактерий, их существованию в природных биоценозах, где они играют роль сигнальных молекул и оказывают токсическое воздействие на эукариотические клетки грибов и простейших. Благодаря сходству строения с бактериоцинами, они оказывают токсическое воздействие и на конкурентов, в том числе, представителей нормальной микрофлоры макроорганизма. Обладая фермен-

тативной активностью, они выполняют трофическую функцию жизнеобеспечения самой микробной клетки.

В отличие от эндотоксинов, белковые токсины, помимо *химической структуры* и *специфичности действия,* обладают *высокой токсичностью.* Они вызывают гибель лабораторных животных при введении им всего нескольких микрограммов токсина, тогда как эндотоксины вызывают гибель животных при введении доз, равных сотням микрограмм. Как и вирулентность, сила действия белковых токсинов измеряется величиной летальных доз (LD) – Del, Dim и LD50. Это *полноценные тимусзависимые антигены,* к ним образуются *антитела, нейтрализующие их – антитоксины.* При этом фрагменты А и В в антигенном отношении не идентичны. Протективным действием обладают антитела к С-терминальной части фрагмента В, блокирующие прикрепление токсина к специфическому рецептору клетки. Из белковых токсинов *можно получить анатоксины, т.е. токсины, лишенные своих токсических свойств, но сохранивших антигенные свойства,* что используют при проведении вакцинопрофилактики. Одним из методов получения анатоксинов является формоловая детоксикация по G. Ramon (1923), приводящая к химической модификации активного центра токсина и обуславливающая жесткость структуры белковой молекулы, препятствующей ее диссоциации. Заболевания, при которых микроорганизм остается в месте входных ворот инфекции, а в основе патогенеза заболевания и его клинических проявлений лежит действие белкового токсина, называются *токсинемическими инфекциями* (анаэробная раневая инфекция, столбняк, ботулизм, дифтерия). Такое разделение заболеваний имеет важное значение, как в плане проведения микробиологической диагностики, так и лечения, поскольку наиболее эффективными препаратами для специфического лечения токсинемических инфекций являются не антибиотики, а своевременно применяемые антитоксические сыворотки, в ряде случаев, сочетаемые с введением анатоксинов *(пассивно-активная терапия).* Использование антибиотиков, которые действуют на бактерии, а не на их токсины, уходит на второй план. В качестве же средств специфической профилактики токсинемических инфекций для создания искусственного активного приобретенного иммунитета необходимо применять анатоксины, а для создания искусственного пассивного приобретенного иммунитета в целях экстренной профилактики токсинемических инфекций необходимо применять антитоксические сыворотки *(активно-пассивная профилактика).*

Большинство белковых токсинов *разрушается пищеварительными ферментами и оказывает свое воздействие только при парентеральном введении.* Исключение составляют токсины *C. botulinum,* энтеротоксины *C. perfringens, C. difficile, S. aureus* и энтеротоксины грамотрицательных бактерий, проявляющих свое действие при пероральном поступлении в макроорганизм.

Синтез белковых токсинов кодируется генами, локализованными в хромосоме и сцепленными с генами, участвующими в спорообразовании или входящими в состав профага, *а также генами, локализованными в плазмидах.* Это tox+ гены, ответственные за токсигенность. Активность tox+ генов контролируется белками-репрессорами микробной клетки. Первоначальной функцией этих генов у сапрофитов был синтез структурных белков фага, компонентов оболочек спор или синтез ферментов, необходимых для усвоения аминокислот. По мере закрепления паразитического образа жизни эти специализированные адаптивные ферменты превратились в яды – белковые токсины.

Способность микроорганизмов образовывать белковые токсины необходимо учитывать также при проведении микробиологической диагностики. При этом необходимо помнить, что все патогенные штаммы данного вида могут продуцировать только один тип токсина по антигенной структуре и механизму действия (*C. diphtheriae, C. tetani),* разные

по антигенной структуре, но одинаковые по механизму действия токсины *(C. botulinum)*. С другой стороны, один и тот же вид микроба может образовывать разные типы белковых токсинов, а также эндотоксины, например, диареегенные E. coli, шигеллы и сальмонеллы, возбудитель холеры.

Эндотоксины и их биологические свойства. Свойство бактерий образовывать токсические вещества, вызывающие симптомы интоксикации, в том числе, выделять в окружающую среду при их разрушении эндотоксины, называется *токсичностью*. Эндотоксины относятся к бактериальным модулинам, обладающим огромным спектром биологической активности, индуцирующим синтез цитокинов и других медиаторов. В отличие от белковых токсинов, эндотоксины *термостабильны* и образуются *грамотрицательными* бактериями, выделяясь в окружающую среду только после гибели бактериальной клетки. Это сложные *белковолипополисахаридные комплексы,* которые в лабораторных условиях можно получить путем экстракции трихло-руксусной кислотой по Буавену (A. Boivin) и Месробяну (L. Mesrobeanu). Полный антиген, антиген Буавена содержит до 10% белка. Он входит в состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Данные комплексы состоят из белка – пептида, обуславливающего иммуногенность комплекса; фосфолипида В, включающего в свой состав фосфатидилхолин – основной компонент клеточной стенки бактерий; двухвалентных ионов Са и Mg; ЛПС, входящего в состав наружной мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий, который и является собственно эндотоксином, его основным компонентом (липополисахаридная фракция полного антигена, без белкового компонента). В наиболее чистом виде ЛПС получают путем водно-фенольной экстракции по Вестфалю (O. Westphal). Карболовая кислота разрушает белки. ЛПС состоит из липида А и собственно полисахарида, в состав которого входит базисная часть – R-ядро, образованное 3-дезокси-О-маннооктулозоновой кислотой и остатками гептоз, а также О-специфических олигосахаридных цепей, обуславливающих антигенную специфичность ЛПС грамотрицательных бактерий. Липид А и R-ядро полисахарида имеют одинаковое строение у всех грамотрицательных бактерий, за исключением *B. pertussis, B. abortus, B. fragilis, P. aeruginosa. C. violaceum, R. virtdis, R. tenue,* у которых они обладают ярко выраженной индивидуальностью. *Синтез отдельных компонентов ЛПС происходит в бактериальной клетке независимо и контролируется генами, локализованными в хромосоме.* Вирулентные бактерии синтезируют полную структуру ЛПС и образуют S-форму микроба, у которой О-специфические цепи составляют $^2/_3$ ЛПС. Бактерии со сниженной вирулентностью не имеют О- специфических цепей и образуют R-формы микроба. Они имеют многочисленные бреши во внешней мембране, что сопровождается нарушением ее проницаемости.

За проявления биологической активности эндотоксинов ответственна вся молекула ЛПС, а не отдельные его компоненты. В отличие от белковых токсинов, они *не обладают органотропностью и специфичностью действия.* Симптомы интоксикации при заболеваниях, вызванных грамотрицательными бактериями, однотипны, и связаны с действием образующихся медиаторов воспаления. В основе действия ЛПС лежит его неспецифическое липид-липидное и специфическое, за счет рецепторов CD 14, взаимодействие с мембранными компонентами разных типов клеток: тромбоцитов, гранулоцитов, эритроцитов, лимфоцитов, моноцитов и макрофагов, которые под действием ЛПС выделяют биологически активные вещества. ЛПС запускает в макроорганизме синтез более 20 различных биологически активных веществ, которые обуславливают патогенез эндотоксикоза и обладают пирогенным действием. *Основной точкой его приложения являются макрофаги.* Образование больших доз эндотоксина сопровождается угнетением фагоцитоза, явлениями выраженного токсикоза, слабостью, одышкой, диареей, нарушением сердечно-со-

судистой системы, снижением давления, гипогликемией, лейкопенией, сменяющейся лейкоцитозом, агрегацией тромбоцитов, гипотермией. При образовании больших количеств эндотоксина в крови вследствие усиленного разрушения большого количества грамотрицательных бактерий возможно развитие *эндотоксинового шока.* При образовании небольших доз эндотоксина отмечается слабый токсикоз и повышение температуры тела, стимуляция фагоцитоза. ЛПС относится к *тимуснезависимым антигенам* и вызывает *поликлональную стимуляцию В-лимфоцитов, активирует систему комплемента по альтернативному пути, является адъювантом.* Небольшие дозы эндотоксина, образующиеся постоянно представителями нормальной микрофлоры тела человека в кишечнике, оказывают благоприятное стимулирующее воздействие на клетки иммунной системы макроорганизма, что ведет к повышению неспецифической резистентности макроорганизма, усилению его устойчивости к инфекционным заболеваниям, повышению радиорезистентности и увеличению противоопухолевой активности клеток. В результате поликлональной стимуляции и активации системы комплемента по альтернативному пути, макроорганизм находится в постоянной готовности к встрече с самыми разнообразными микробами и может противостоять им до образования специфических факторов защиты. С другой стороны, длительное присутствие поликлонального стимулятора в макроорганизме может вести к включению запретных клонов клеток и развитию аутоиммунных реакций. В ходе иммунного ответа первоначально на введение ЛПС образуются О-антитела, которые не обладают антитоксической активностью. Симптомы интоксикации уменьшаются после образования антител к R-ядру полисахарида и липиду А. Так как они имеют одинаковое строение у грамотрицательных бактерий, то антитела к ним пытаются применять для лечения септических процессов, вызванных данными микробами. В отличие от белковых токсинов, *из эндотоксинов нельзя получить анатоксины.*

Изучение антигенной специфичности ЛПС используется при проведении идентификации грамотрицательных бактерий.

Кроме токсинов, в ходе инфекционного процесса в результате размножения микробы образуют целый ряд других токсических продуктов метаболизма, такие как ядовитые амины, холин, нейрин, высшие жирные кислоты и т.д. Одновременно с их действием происходит отравление организма токсическими продуктами распада собственных клеток и тканей, что играет важную роль в развитии интоксикации.

Таким образом, патогенность носит сложный полидетерминантный характер. Основными материальными носителями патогенности микробов являются ***морфологические структуры клетки, ферменты и токсины.*** В макроорганизме они оказывают не изолированное, а комплексное воздействие. Например, нейраминидаза холерного вибриона способствует адгезии возбудителя к эпителиальным клеткам слизистой оболочки тонкого кишечника и взаимодействию его энтеротоксина с ганглиозидными рецепторами клеток, а гемоцитолизин, образуя каналы в мембране клеток, ведет к их осмотическому повреждению и делает аденилатциклазу клеточных мембран более доступной. Показана относительность деления факторов патогенности по их функциям. Один и тот же фактор патогенности может участвовать в различных фазах инфекционного процесса, а в одной и той же фазе могут участвовать различные факторы патогенности. Например, капсулы бактерий способствуют их адгезии, препятствуют фагоцитозу и экранируют компоненты клетки, активирующие комплемент по альтернативному пути. Эндотоксины и инвазивные белки грамотрицательных кишечных бактерий не только способствуют их инвазии и развитию симптомов интоксикации, но и защищают бактерии от действия соляной кислоты и ферментов в желудке. В основе действия всех факторов патогенности лежат одни и те же принципиальные закономерности, связанные со способностью активных биомолекул воз-

будителя (лигандов) к распознаванию на клетках-мишенях комплементарных структур, связывание с которыми ведет к инициации развития инфекционного процесса, патологические проявления которого связаны с синтезом тех или иных ферментов и токсинов. Факторы патогенности используются микробами не только в макроорганизме, но и при их попадании в окружающую среду с целью колонизации ее объектов и сохранения жизнеспособности в борьбе с конкурентами.

Генетическая регуляция факторов патогенности

Патогенность бактерий носит полидетерминантный характер и контролируется группой генов. Большинство генетических детерминант факторов патогенности располагается **на хромосомах** *отдельными кластерами из функционально связанных групп генов.* Эти последовательности отличаются от большей части генома, что позволило выдвинуть предположение об их чужеродном происхождении. Подобные им структуры были также найдены на плазмидах.

При этом наблюдается своеобразное разделение функций между хромосомой и плазмидами. Например, у шигелл и энтероинвазивных кишечных палочек плазмидные гены обуславливают взаимодействие возбудителей с эпителием, а хромосомные – существование и размножение бактерий в просвете кишки и тканях. Эти данные позволили выдвинуть концепцию о ведущей роли *«островов» (islands) или «островков» (islets) патогенности* и системе секреции факторов патогенности 3-го типа.

Под *«островками» патогенности* принято понимать как не стабильные, так и стабильные участки ДНК, обнаруженные только у патогенных бактерий, включающие дискретные (разобщенные, состоящие из отдельных групп) гены вирулентности. Они отсутствуют у непатогенных близкородственных видов.

Эти фрагменты ДНК отличаются по процентному содержанию G+C от основного генома, фланкированы малыми прямыми повторами нуклеотидных последовательностей. Такие «островки» патогенности нередко несут криптические или функционирующие гены фаговых интеграз, транспозаз и других фрагментов транспозонов или IS-элементов, относимых к мобильным генетическим элементам. Структурная организация «островков» может быть различной, так как гены вирулентности часто включены в состав транспозонов, IS-элементов или генома бактериофагов. Детерминанты «островков» патогенности способны распространяться среди одного или родственных видов бактерий путем конъюгации, трансдукции и трансформации. Интеграция, стабилизация и экспрессия этих генов лежат в основе формирования новых свойств, в том числе, вирулентных, у родственных непатогенных видов. Известны «островки» патогенности, несущие гены *адгезинов, инвазинов,* различного типа *токсинов, генов лекарственной устойчивости, белков системы секреции* и т.д.

Прежде чем достичь своей потенциальной мишени, факторы патогенности преодолевают два основных барьера – цитоплазматическую мембрану и клеточную стенку микробов-продуцентов. При этом большая часть их после секреции становится функционально активной. Поэтому большое значение придают системе секреции третьего типа.

Система секреции 3-го типа ответственна за одноэтапный транспорт эффекторных молекул патогенности из цитоплазмы бактерий в цитозоль эукариотической клетки макроорганизма, где они осуществляют модификацию цитоплазматических белков поражаемых клеток макроорганизма.

Данная система также обеспечивает сборку на поверхности бактериальной клетки супермолекулярных структур, участвующих в транспорте протеинов в эукариотическую

клетку макроорганизма. Секреция эффекторных белков данной системой происходит непосредственно после контакта возбудителя с клеткой хозяина, поэтому ее называют **контакт-зависимой системой секреции.**

«Островки» патогенности могут включать несколько различающихся фрагментов. Экспрессия генов вирулентности носит индуцибельный характер и зависит от условий внешней среды, вне- или внутриклеточного расположения возбудителя. Описано несколько систем регуляции фенотипического проявления факторов патогенности у бактерий. Гены, детерминирующие их синтез, обычно репрессированы. Включение или выключение их происходит под действием сигналов, поступающих из внешней среды. Такими сигналами являются изменившийся биохимический состав среды, ее pH, температура, осмотическое давление и т.д. Микробы адаптируются к новым условиям и в зависимости от своего внутри или внеклеточного расположения изменяют свой метаболизм. Обычно они используют один или несколько из этих сигналов для того, чтобы понять, в какой микросреде и на какой стадии развития инфекционного процесса они находятся. Например, гены инвазии обычно включаются на ранней стадии инфекционного процесса, но подавляются, когда бактерии проникают в клетку. Процесс адаптации микроба к новым, меняющимся условиям контролируется *двухкомпонентными регуляторными системами.* Эти системы состоят из двух типов белков: *сенсорного белка клеточной мембраны,* воспринимающего и передающего сигналы из внешней среды внутрь клетки и *регуляторного цитоплазматического белка,* который непосредственно регулирует транскрипцию генов хромосомы и плазмиды, являясь активатором или репрессором транскрипции. Внутриклеточный домен сенсорного белка представлен гистидинкиназой. В качестве соответствующего сигнала может выступать аутофосфорилирование сенсора. Перенос фосфат-остатка на аминогруппу белка-регулятора изменяет способность последнего связывать специфические последовательности ДНК, с которых инициируется транскрипция. Эти последовательности содержат консервативные начальные участки для связывания с белком-регулятором. Включение и активация группы вирулентных генов (регулона) на общий сигнал происходит в несколько стадий и носит каскадный принцип. В ряде случаев, каждый из этих генов может экспрессироваться независимо.

Помимо двухкомпонентных регуляторных систем существуют также **системы регуляторов транскрипции.** Наиболее полно изучено Аго А-семейство регуляторов транскрипции, получивших свое название благодаря продукту ага С гена *E. coli,* контролирующего функцию арабинозного оперона. Белки этой группы содержат изгибы, которые связываются с началом специфических ДНК-фрагментов генов, что активирует транскрипцию последних.

К регуляторному механизму относят также топологию ДНК, рассматриваемую в качестве глобальной регуляторной системы, используемой и для экспрессии вирулентности. Реализуется указанное через топоизомеразы и гистоноподобные ДНК-связывающие белки, регулирующие уровень суперскрученности молекулы и реагирующие на определенные сигналы извне. Эти же сигналы влияют на транскрипцию соответствующих генов.

Все эти механизмы регуляции взаимосвязаны между собой. Значимость каждого из них постоянно меняется.

Нестабильность «островков» патогенности, как и их стабильность, способна создать бактериям определенные адаптивные преимущества. Высокая вирулентность может оказаться невыгодной для бактерий на определенной стадии инфекционного процесса. Нестабильность «островков» патогенности будет способствовать снижению вирулентности всей популяции возбудителя инфекции. Их делеция может усилить экспрессию других, рядом расположенных генов.

В то же время, отдельные факторы патогенности являются адаптивными для бактерий, поэтому должны кодироваться на стабильных «островках» патогенности. Чужеродность последних придает им большую стабильность, так как чужеродная ДНК, интегрированная в хромосому, не вовлекается в рекомбинацию с ДНК близкородственных микроорганизмов, поэтому они могут длительно поддерживаться в бактериальных популяциях.

Циклические фенотипические или модификационные изменения вирулентности происходят при смене организменной и внеорганизменной стадии существования микробов. В иммунном организме и вне организма сохраняются маловирулентные резервационные штаммы. Попадая в макроорганизм, из них формируются высоковирулентные эпидемические штаммы. По мере формирования иммунитета из последних снова происходит формирование резервационных штаммов. Стойкие изменения вирулентности возникают в случае мутаций и рекомбинаций и связаны с изменениями генотипа микроба.

Реорганизация генов, кодирующих факторы патогенности, в ходе инфекционного процесса происходит на молекулярном уровне, но на популяционном уровне создаются условия для естественного отбора эпидемических или резервационных штаммов. Благодаря принципу распознавания кворума, бактерии обладают способностью «разговаривать». *кворум – сенсинг – это химический сигнальный механизм бактерий, благодаря которому, попав в новую среду обитания, они считают себе подобных.* Чем больше в округе бактерий, тем больше химических сигналов они выделяют. Чем больше концентрация химического сигнала, тем больше воспринимающих его рецепторов у бактерии работает. В том случае, если бактерий много (кворум), они начинают синтезировать факторы патогенности и принимают воинственную вирулентную форму, которая может справиться с иммунной системой макроорганизма. Если же сил не хватает, то армия бактерий будет отсиживаться в засаде и ждать благоприятного момента. Знание механизмов кворум-сесинга позволяет по-новому подойти к лечению инфекционных заболеваний, в том числе, вызванных антибиотико-резистентными штаммами бактерий.

Влияние факторов окружающей среды на реактивность организма. Роль реактивности макроорганизма в возникновении и развитии инфекционного процесса

Если микроб определяет специфичность инфекционного процесса, то особенности его течения и форма проявления определяются состоянием макроорганизма. Для борьбы с возбудителями инфекций макроорганизм мобилизует весь комплекс генетически предопределенных (видовых) и индивидуально приобретенных механизмов, препятствующих проникновению и размножению в нем патогенных и условно-патогенных микробов, а также действию образуемых ими факторов патогенности. Основными свойствами макроорганизма, определяющими возникновение, течение и исход инфекционного процесса, являются *резистентность* и *восприимчивость*.

Резистентность (от лат. *resistentia* – сопротивление, противодействие) – это *устойчивость* организма к воздействию различных повреждающих факторов. *Восприимчивость* к инфекции – это способность макроорганизма реагировать на внедрение микробов развитием разных форм инфекционного процесса.

Различают *видовую* и *индивидуальную* восприимчивость, а также видовую и индивидуальную резистентность соответственно. *Видовая восприимчивость* присуща всем особям данного вида. По отношению к различным микробам она генетически обусловлена и в значительной мере определяется особенностями химического состава клеток и тканей,

наличием рецепторов и т.д. Даже если микроб попал во внутреннюю среду макроорганизма, инфекционный процесс развивается далеко не всегда, так как состояние его восприимчивости является одним из основных факторов, определяющих возможность проявления патогенного действия. При этом разные виды обладают неодинаковой чувствительностью к одному и тому же микробу. Например, водяные крысы, зайцы, домовые мыши и хомяки являются высоковосприимчивыми и высокочувствительными к возбудителю туляремии. Они заболевают и погибают при заражении минимальными дозами этого микроба. В отличие от них кошки, лисицы и хорьки маловосприимчивы и практически нечувствительны к данному микроорганизму, так как даже при заражении массивными дозами возбудителя заболевание у них может протекать легко и быстро заканчиваться выздоровлением. К вирусу ящура высоковосприимчив крупный рогатый скот, а человек редко заболевает ящуром.

Восприимчивость к определенному возбудителю может меняться не только в процессе эволюции инфекционного агента, но и в процессе эволюции данного вида – реципиента.

Под *индивидуальной восприимчивостью* принято понимать предрасположенность отдельных индивидов к возникновению у них разных форм инфекционного процесса под действием микробов. Степень индивидуальной восприимчивости определяется той или иной степенью иммунитета, приобретенного в результате перенесения инфекционного заболевания той же этиологии, а также профилактических прививок, наличием сопутствующих заболеваний, изменяющих реактивность макроорганизма.

Как мера чувствительности вида или индивидуума к определенным микробам в количественном отношении восприимчивость может быть *полной, высокой, умеренной, слабой* или же *совсем не проявляться.* В зависимости от этого патогенные свойства микробов будут проявляться полностью, частично или не будут проявляться совсем, а инфекционный процесс будет протекать типично, атипично (стерто и субклинически) или не будет возникать.

Восприимчивость и резистентность макроорганизма тесным образом связаны с его *общей физиологической реактивностью* или способностью отвечать изменениями жизнедеятельности на воздействия извне, в том числе противостоять действию микробов. К числу факторов, влияющих на реактивность макроорганизма, помимо принадлежности к определенному виду, относятся: принадлежность к определенному полу и возраст, нарушения питания, состояние нервной, эндокринной и связанной с ними иммунной системы, а также действие биологических и социальных факторов внешней среды.

Различная возрастная устойчивость к инфекциям зависит от особенностей обмена веществ, функций органов внутренней секреции и состояния иммунной системы. Известно, что дети до 6 месяцев не восприимчивы к кори, дифтерии и т.д., что связано с пассивной передачей специфических антител, относящихся к иммуноглобулинам класса G, от матери к плоду в эмбриональном периоде через плаценту. При этом новорожденные, находящиеся на естественном грудном вскармливании, более устойчивы к возбудителям кишечных инфекций, чем дети, находящиеся на искусственном вскармливании, так как они получают с молоком матери антитела, относящиеся к иммуноглобулинам класса А и М, которые не передаются трансплацентарно и играют важную роль в местном антибактериальном иммунитете. У взрослых и детей старшего возраста чаще развивается дифтерия зева и глотки, а у детей грудного возраста – дифтерия гортани, носа и других, редких локализаций. Эта возрастная разница объясняется анатомо-физиологическими особенностями детского организма. Редкое развитие дифтерии зева и глотки у детей грудного возраста обусловлено недоразвитием миндалин, а также отсутствием у них нервных рецепторов в слизистой оболочке и лимфатическом аппарате зева. Чем меньше возраст

ребенка, тем атипичней протекает инфекционное заболевание. Говоря о возрасте, следует отметить, что мыши, наследственно иммунные к желтой лихорадке во взрослом состоянии, чрезвычайно восприимчивы к ней в молодом возрасте. Полностью беззащитны к данному вирусу 3-недельные мышата. Незрелые крольчата могут безболезненно переносить внутривенное введение стафилококкового токсина в таких количествах, которые являются, безусловно, смертельными для кроликов старше 4 месяцев. Новорожденные мышата и крольчата появляются на свет в недоразвитом состоянии и устойчивы к столбнячному токсину, тогда как взрослые мыши и кролики поражаются им. Старение сопровождается снижением резистентности макроорганизма в связи с истощением ресурсов иммунной системы, что связано как с изменением клеточного микроокружения, так и с изменениями самих клеток иммунной системы. Процесс старения сопровождается инволюцией тимуса, изменением количества и функциональной активности лимфоцитов, активацией клеток с супрессорной активностью, снижением микробоцидной активности фагоцитирующих клеток, нарушением местного иммунитета, чему способствуют хронические прогрессирующие заболевания кожи и слизистых оболочек, сопровождающиеся атрофией последних.

У девочек раньше, чем у мальчиков, происходит формирование иммунной системы, поэтому они более устойчивы к действию неблагоприятных факторов. С другой стороны, несмотря на то, что женский организм более устойчив к длительному воздействию неблагоприятных факторов, чем мужской, у женщин во время менструации, беременности и родов вследствие повышения продукции гормонов-иммунодепрессантов отмечается повышенная восприимчивость к возбудителям гноеродных инфекций, возбудителям туберкулеза и другим микробам.

Голодание или недоедание (алиментарная дистрофия), белковая и витаминная недостаточность оказывают неблагоприятное влияние на механизмы, которые препятствуют размножению и распространению микробов в его внутреннюю среду. Они вызывают резкое снижение реактивности макроорганизма в результате утраты не только индивидуально приобретенного, но и видового иммунитета. Происходит ослабление защитной функции кожных покровов и слизистых оболочек, воспалительная реакция протекает более вяло, резко угнетается фагоцитарная активность клеток, антителообразование падает, ослабляется высшая нервная деятельность, исчезают аллергические реакции, изменяется клиническая картина многих заболеваний. Нарушение питания ведет к дефициту продукции не только антител, но и многих *молекул метаболических циклов* (ферментов, кислот, витаминов и аминокислот, АТФ, НАД и НАДФ и т.д.), которые являются участниками *иммунных молекулярных циклов и нарушают биохимические процессы у микробов, оказывая микробоцидное или микробостатическое действие.* Возникает порочный круг, так как развившаяся болезнь будет способствовать дальнейшему ухудшению питания. Особенно важен дефицит витаминов и незаменимых аминокислот. Исследования показывают, что устойчивость макроорганизма к патогенным бактериям при дефектном питании чаще снижается, в то время как к вирусам, которые являются облигатными внутриклеточными паразитами на генетическом уровне, она, наоборот, усиливается, так как они не имеют собственных белоксинтезирующих систем и поэтому более зависимы от физиологического состояния клетки. Таким образом, голодающий организм может быть более устойчивым к одним инфекционным агентам и менее устойчивым к другим.

Не менее важную роль играет состояние нервной, эндокринной и иммунной систем. Как и нервная система, иммунная система является одной из молодых систем макроорганизма, которая устроена и работает по тому же принципу, что и нервная система, но конечные эффекты будут иммунными, а не нейрогуморальными. Клетки иммунной системы име-

ют рецепторы к сигнальным молекулам макроорганизма – гормонам и нейромедиаторам. Иммунная система является составной комплексной частью защиты макроорганизма. Она имеет обратную связь с нервной и эндокринной системами. Показано, что реактивность макроорганизма у животных к заражению микробами, действию их токсинов и антигенов зависит от типа высшей нервной деятельности. После отравления стафилококковым, стрептококковым и дифтерийным токсином у крыс со слабым типом высшей нервной деятельности наблюдаются явления разлитого коркового торможения более длительное время, чем у животных с сильной, уравновешенной и подвижной высшей нервной деятельностью. Кора головного мозга играет иммуномодулирующую роль, проявляющуюся в том, что левое полушарие осуществляет контроль за деятельностью Т-лимфоцитов, активность которых подавляется при ее разрушении, а правое полушарие контролирует деятельность В-лимфоцитов и макрофагов. У левшей чаще развиваются аутоиммунные заболевания. Психоэмоциональные и посттравматические депрессии, стресс и переутомление ведут к угнетению иммунных реакций в результате повышенного выброса глюкокортикоидов, одна из функций которых заключается в защите макроорганизма от гиперактивности иммунной системы и развития аутоиммунных процессов. С другой стороны, по каналам обратной связи активация иммунной системы запускает механизмы ЦНС. Клинической иллюстрацией этого являются невротические и психиатрические побочные эффекты при лечении интерфероном.

Все иммунные процессы протекают в нейроэндокринном окружении. Эндокринная система также работает по принципу обратной связи. Заболевания эндокринной системы ведут к значительным изменениям реактивности макроорганизма. Так, у больных сахарным диабетом отмечается повышенная восприимчивость к возбудителям гноеродных инфекций, что связано с отсутствием стимулирующего влияния на иммунную систему инсулина, нарушением обмена веществ и подавлением фагоцитоза. Дефицит продукции соматотропного гормона – гормона роста, образуемого передней долей гипофиза и участвующего в регуляции всех видов обмена веществ в организме человека и животных, ведет к недоразвитию тимуса, относящегося к центральным органам иммунной системы и соответственно к ослаблению иммунных реакций в результате развития иммунодефицита. Глюкокортикоиды, андрогены, эстрогены и прогестерон подавляют иммунные реакции макроорганизма, а гормон роста, тироксин и инсулин обладают стимулирующим действием.

Важную роль в формировании индивидуальной реактивности организма имеет *генетический полиморфизм*. Резистентность и восприимчивость носят полигенный характер. Резистентность включает не только устойчивость к непосредственному возникновению инфекции, но и к дальнейшему ее развитию, удержанию в латентном состоянии. В ряде случаев предполагается наличие фазовой устойчивости к определенным стадиям развития микроба. Генетическая устойчивость к микробам может реализоваться как через иммунную систему, так и минуя ее. Среди генетических факторов иммунной системы в развитии инфекции наиболее изучена роль антигенов МНС, а также мутаций генов, регулирующих фагоцитоз, дифференциацию Т- и В-лимфоцитов, продукцию интерферона и т.д. Среди генетических факторов, не реагирующих через иммунную систему, можно отметить: мутации в рецепторах, нарушающих лиганд-рецепторное взаимодействие; мутации в субстратах, метаболизируемых узкоспециализируемыми микробами, и т.д.

Устойчивость к микробам у отдельных индивидуумов, популяции, этнических групп и рас всегда носит относительный характер.

Таким образом, разнообразие проявлений инфекционного процесса, клинический полиморфизм инфекционных болезней являются следствием не только биологических свойств возбудителей данного инфекционного процесса, но и особенностей индивидуальной ре-

активности поражаемого ими макроорганизма. При этом факторы, ослабляющие защитные функции макроорганизма, способствуют распространению инфекции, а факторы, повышающие резистентность макроорганизма, наоборот, препятствуют ее развитию. В отличие от иммунокомпетентного макроорганизма, в иммунодефицитном макроорганизме резистентность является предопределяющей в возникновении инфекционного процесса. При этом в более чувствительном иммунодефицитном макроорганизме происходит селекция высоковирулентных штаммов микробов, а в иммунном макроорганизме – маловирулентных.

Влияние биологических и социальных факторов окружающей среды на реактивность макроорганизма

Развитие и исход инфекционного процесса во многом определяются условиями окружающей среды, в которой происходит взаимодействие микробов с восприимчивым макроорганизмом. *Внешняя среда играет важную роль в активации механизма передачи инфекции и развитии эпидемического процесса.*

Разнообразные физические, химические и биологические факторы оказывают свое неблагоприятное воздействие не только на микробы, но и на макроорганизм. Классические работы Л. Пастера показали, что даже естественный видовой врожденный иммунитет не является абсолютным. Куры, которые в естественных условиях не восприимчивы к возбудителю сибирской язвы, в его экспериментах утрачивали свою видовую невосприимчивость в результате переохлаждения после погружения конечностей в холодную воду. В настоящее время этого можно достигнуть путем применения жаропонижающих препаратов. Перегревание, как и переохлаждение, влечет за собой нарушение биохимических процессов в макроорганизме, что способствует снижению устойчивости к микробам. Влияние температуры на сопротивляемость макроорганизма во многом связано со снижением активности фагоцитоза и активности иммунной системы в целом.

На роль температуры и влажности окружающей среды указывают сезонные подъемы заболеваемости различными инфекциями дыхательных путей. Низкая температура и высокая относительная влажность, наблюдавшаяся в осенне-зимний период, оказывают неблагоприятное воздействие на реактивность макроорганизма, снижая барьерфиксирующую функцию тканей носоглотки, что сопровождается повышением восприимчивости к различным возбудителям, вызывающим заболевания верхних дыхательных путей.

Помимо температуры и влажности, определенную роль играет действие таких природных факторов, как ультрафиолетовое излучение, ионизирующая радиация и т.д. Действие солнечных лучей на макроорганизм зависит от длины волны, интенсивности и длительности воздействия. Солнечный свет благоприятно действует на макроорганизм и в значительной степени повышает устойчивость к инфекциям. В то же время, длительное и интенсивное облучение сопровождается понижением устойчивости макроорганизма к патогенным микробам. Большое значение в нарушении сопротивляемости организма придается действию ионизирующей радиации. Установлено, что небольшие дозы рентгеновских лучей повышают резистентность животных к различным заболеваниям, а повышенные дозы снижают ее, способствуя активации нормальной микрофлоры, развитию бактериемии и септицемии. При этом нарушается проницаемость слизистых оболочек, уменьшается их барьерфиксирующая способность, снижаются функциональная активность фагоцитов и защитные свойства крови. Особую опасность для человека представляют возрастающие дозы ионизирующих излучений, вызывающие глубокие изменения кроветворной функции костного мозга – поставщика клеток иммунной системы.

У некоторых людей в периоды солнечных вспышек повышается нервная возбудимость, обостряется течение хронических заболеваний и т.д. В эти периоды усиливается также интенсивность взаимодействий в экологических системах микроб-жертва. В своих исследованиях А. Л. Чижевский, разработавший учение о биокосмической природе эпидемических катастроф, и С. Т. Вельховер обнаружили, что патогенность возбудителей инфекционных болезней в такие критические периоды изменяется в сторону повышения их активности (эффект Чижевского – Вельховера). В отличие от этого, защитные силы макроорганизма ослабевают под влиянием пертурбаций магнитосферы и усиления интенсивности излучений солнца. Природа магнитоэлектрических сил дает основания полагать, что они влияют непосредственно на конформацию молекулярных компонентов живых существ, в том числе и молекул, обеспечивающих взаимодействие в системах микроб-жертва.

Говоря о действии факторов внешней среды на организм человека, прежде всего, следует помнить об огромном влиянии воздействия на него социальных антропогенных факторов, таких как прием антибиотиков и иммунодепрессантов, антиметаболитов и цитостатиков, способствующих снижению реактивности макроорганизма, в результате развития иммунодефицита, применение с лечебной целью облучения, интенсивные испытания ядерного оружия, применение пестицидов и т.д. Существенное влияние на развитие и течение инфекционного процесса оказывает проведение профилактических прививок. Вакцинация ведет не только к формированию искусственного активного приобретенного иммунитета, но и созданию *вакуума вирулентности* за счет вытеснения высоковирулентных диких штаммов микробов не вирулентными вакцинными штаммами. Такое нарушение баланса между микробами и макроорганизмом приводит к его восстановлению за счет проникновения в популяцию других, ранее неизвестных патогенов.

Исследования по воздействию антропогенных факторов, проведенные под руководством А. А. Воробьева, показали, что у работников химических предприятий и лиц, проживающих на территории, граничащей с ними, отмечается тотальное снижение основных показателей иммунитета. Другим примером антропогенного воздействия внешней среды на организм человека может служить Аральская зона экологического бедствия, у 80% жителей которой выявлены серьезные различные нарушения иммунной системы.

Обычно экологические факторы ускоряют появление инфекционных болезней у людей путем создания контакта людей с естественным резервуаром или хозяином инфекции. Значение социально-бытовых условий проявляется в распространении инфекционных заболеваний среди лиц, проживающих на определенной территории и занимающихся определенным производственным видом деятельности. Так, например, в силу профессиональных особенностей зоонозами чаще болеют лица, работающие с животными и проживающие в сельской местности: ветеринары, доярки, охотники, работники мясокомбинатов и т.д. Роль производственных факторов отражена в образных названиях ряда инфекционных болезней, таких как сибирская язва («болезнь тряпичников»), туберкулез («болезнь пролетариата» или «слезы нищеты, выплаканные внутрь»), брюшной тиф («болезнь коммунальщиков») и т.д.

Важную роль в распространении инфекционных заболеваний играют материально-бытовые условия жизни, уровень развития общества, его санитарной культуры, национальные и религиозные обычаи, политическая и экономическая ситуация в обществе и т.д. Например, в ряде развивающихся тропических стран существует обычай прикладывать к пуповине новорожденных (для ее обработки) навоз, землю, глину, помет птиц, порошки, приготовленные из различных субстратов и продуктов, которые часто содержат споры *C. tetani,* что способствует развитию столбняка у новорожденных. Во Вьетнаме встречается фарингеальная форма чумы, что связано с обычаем *у маленьких ростом вьетнамок* соби-

рать зубами друг у друга в волосах блох, являющихся переносчиками возбудителя чумы и раздавливать их. В ряде стран, в силу религиозных и национальных обычаев, существуют ограничения на употребление определенных продуктов питания, что ведет к обеднению и без того скудного пищевого рациона и неблагоприятно сказывается на состоянии макроорганизма. В силу национальных особенностей и традиций источником ботулизма в США служат растительные консервы, в странах Европы – мясные консервы, а в России – рыба и рыбные консервы.

В качестве примера влияния природных факторов через социальные условия на распространение инфекционных болезней можно привести весенне-летнюю сезонность подъема заболеваемости клещевым энцефалитом. Благоприятная температура окружающей среды способствует повышению активности клещей, являющихся резервуаром и источником вируса клещевого энцефалита. Изменение климатических условий обуславливает и сезонный характер работы человека, а именно сбор трав, грибов и ягод, охота и рыболовство, что ведет к усилению контакта с клещами, активации трансмиссивного механизма передачи вируса и росту заболеваемости клещевым энцефалитом. Другим примером влияния социальных факторов является рост заболеваемости воздушно-капельными инфекциями у школьников после начала учебного года. Начало занятий в школах ведет к обновлению и перемешиванию коллектива детей, увеличению не иммунной прослойки, скученности большого количества людей в закрытых помещениях и активации воздушно-капельного механизма передачи инфекций при заносе микробов извне.

Возникновению новых и активации старых инфекционных болезней способствуют такие социальные факторы, как изменение технологии производства, особенно пищевых продуктов; технологии разведения домашних и сельскохозяйственных животных; *развитие* международного туризма и коммерции; изменение поведения людей и т.д.

В индустриально развитых странах приблизительно 50% взрослого населения переносят первичное инфицирование *вирусом Эпштейна – Барр в детском и подростковом* возрасте. Первый пик подъема антител к данному вирусу отмечается у детей, второй пик – у подростков, что связано с повышением их социальной и половой активности. Максимальная частота инфекционного мононуклеоза отмечается у девочек в возрасте 14 – 16 лет, а у мальчиков в 16 – 18 лет. К окончанию подросткового периода большинство лиц являются сероположительными.

Необходимо помнить, что инфекционные болезни это, прежде всего, социальные заболевания (социальная проблема общества). Рост их свидетельствует об экономическом неблагополучии в обществе, его слабом экономическом развитии. Классическим примером социальных заболеваний являются туберкулез и лепра, трахома и сифилис, протозойные инвазии и кишечные инфекции. Особенно резко проявляется влияние социальных факторов во время политической и экономической нестабильности, сочетающейся с природными катаклизмами. Национальные бедствия, военные действия ведут к значительной гибели людей, уничтожению природных и экономических ресурсов, бесконтрольной миграции населения, обусловленной отсутствием безопасности для жизни, ухудшением материальных, а также санитарно-бытовых условий жизни. Все это препятствует своевременному проведению эффективных лечебно-профилактических мероприятий, так как помимо медицинских задач, надо одновременно решать массу других, более важных экономических проблем. Ситуация коренным образом может измениться лишь в том случае, если жизнь каждого человека будет представлять для общества самую главную духовную и материальную ценность.

Характерные особенности инфекционных болезней

Инфекционная болезнь – это специфическое инфекционное состояние, вызванное отдельным, самостоятельным в видовом, а иногда и типовом отношении возбудителем. Непосредственной причиной возникновения инфекционных болезней является внедрение в макроорганизм патогенных микробов и/или их токсинов, которые вступают во взаимодействие с клетками и тканями макроорганизма. Возбудителями инфекционных болезней являются патогенные бактерии, вирусы и грибы. Болезни, вызванные простейшими, гельминтами и насекомыми, относятся к *инвазионным* или *паразитарным, болезням.*

Инфекционные болезни в отличие от других заболеваний имеют ряд особенностей.

1. Инфекционные болезни характеризуются *нозологической специфичностью,* которая заключается в том, что каждый патогенный микроб вызывает «свою», присущую только ему, инфекционную болезнь и локализуется в том или ином органе или ткани. Этой нозологической специфичности нет у условно-патогенных микробов.

По этиологическому принципу инфекционные болезни подразделяют на: а) бактериозы (бактериальные инфекции), б) вирусные инфекции; г) микозы и микотоксикозы.

Инвазионные или паразитарные болезни подразделяют на: а) протозоозы (протозойные инвазии); б) гельминтозы; в) инфестации (заболевания, вызванные членистоногими).

2. Инфекционные болезни характеризуются *контагиозностью* (син. инфекционностью, заразительностью). Это, прежде всего, заразные болезни. Под контагиозностью (от лат. *contaggiosus* – заразный, заразительный) подразумевается легкость, с которой возбудитель передается от зараженного организма незараженному или быстрота распространения микробов среди восприимчивой популяции с помощью цепной реакции или веерообразной передачи.

Для инфекционных болезней характерно наличие *заразительного периода* – промежутка времени в течении инфекционной болезни, когда возбудитель может распространяться прямо или опосредованно от больного макроорганизма к восприимчивому макроорганизму, в том числе, с участием членистоногих переносчиков. Продолжительность и характер этого периода специфичны для данной болезни и обусловлены особенностями патогенеза и экскреции микроба из макроорганизма. Этот период может охватывать все время болезни или ограничиваться определенными периодами болезни и, что важно с эпидемиологической точки зрения, начинаться уже в ходе инкубационного периода.

Для качественной оценки степени контагиозности применяют *индекс контагиозности,* определяемый как процент заболевших из числа лиц, подвергшихся опасности заражения за определенный период времени. Индекс контагиозности зависит от таких переменных величин, как вирулентность штамма микроба; интенсивность и продолжительность времени его выделения из организма хозяина; доза и способ распространения; выживаемость микроба в окружающей среде; степень восприимчивости макроорганизма. Степень контагиозности не одинакова. Так, корь относится к высококонтагиозным болезням, поскольку корью заболевают практически 100% лиц, контактировавших с больным и не имеющих иммунитета к вирусу (индекс контагиозности 0,98). В то же время эпидемическим паротитом переболевает менее половины лиц, подвергшихся опасности заражения (индекс контагиозности 0,35 – 0.40).

3. Инфекционным болезням свойственна *цикличность течения,* которая заключается в наличии последовательно сменяющихся периодов, исходя из патогенеза заболевания. Длительность периодов зависит как от свойств микроба, так и от резистентности макроорганизма, особенностей иммуногенеза. Даже при одном и том же заболевании у разных лиц, длительность этих периодов *может быть разной.*

Различают следующие периоды развития болезни: инкубационный (скрытый); продромальный (начальный); период основных или выраженных клинических проявлений болезни (период разгара); период угасания симптомов болезни (ранний период реконвалесценции); период выздоровления (реконвалесценции).

Период с момента внедрения микроба (заражения, инфицирования) в макроорганизм до начала первых клинических проявлений болезни получил название *инкубационного* (от лат. *incubo* – покоюсь или *incubatio* – без внешних проявлений, скрытое). В течение инкубационного периода происходит адаптация возбудителя к внутренней среде зараженного макроорганизма и преодоление им защитных механизмов последнего. Помимо адаптации микробов, происходит их размножение и накопление в макроорганизме, движение и избирательное накопление в определенных органах и тканях (тканевой и органный тропизм), которые в наибольшей степени подвержены повреждению. Со стороны макроорганизма уже в инкубационном периоде происходит мобилизация его защитных сил. Признаков болезни в этом периоде еще нет, однако, при специальных исследованиях можно обнаружить начальные проявления патологического процесса в виде характерных морфологических изменений, обменных и иммунологических сдвигов, циркуляции микробов и их антигенов в крови. В эпидемиологическом плане важно, что макроорганизм в конце инкубационного периода может представлять эпидемиологическую опасность, вследствие выделения из него микробов в окружающую среду.

Длительность инкубационного периода имеет определенную продолжительность, подверженную колебаниям как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения. При одних инфекционных болезнях длительность инкубационного периода исчисляется часами, как, например, при гриппе; при других – неделями и даже месяцами, как, например, при вирусном гепатите В, бешенстве, медленных вирусных инфекциях. Для большинства инфекционных болезней длительность инкубационного периода равна *1 – 3* неделям.

Продромальный или начальный период (от греч. *prodromes* – предвестник) начинается с появления первых клинических симптомов болезни общего характера, в результате интоксикации макроорганизма (недомогание, озноб, повышение температуры, головная боль, тошнота и т.д.). Характерных специфических клинических симптомов, на основании которых можно было бы поставить точный клинический диагноз, в этот период нет. На месте входных ворот инфекции нередко возникает воспалительный очаг – **первичный аффект.** Если при этом в процесс вовлекаются регионарные лимфатические узлы, то говорят о **первичном комплексе.**

Продромальный период наблюдается не при всех инфекционных болезнях. Обычно он длится 1 – 2 суток, но может укорачиваться до нескольких часов или удлиняться до 5-10 дней и более.

Продромальный период сменяется *периодом основных* или *выраженных клинических проявлений болезни* (период разгара), который характеризуется максимальной выраженностью общих неспецифических симптомов болезни и появлением специфических или абсолютных (облигатных, решающих, патогномоничных), свойственных только данной инфекции симптомов болезни, которые позволяют поставить точный клинический диагноз. Именно в этом периоде находят свое наиболее полное выражение специфические патогенные свойства микробов и ответная реакция макроорганизма. Этот период нередко подразделяется на три стадии: 1) стадия нарастания клинических проявлений (stadium incrementi); 2) стадия максимальной выраженности клинических проявлений (stadium fastigii); 3) стадия ослабления клинических проявлений (stadium decrementi). Длительность этого периода существенно различается при разных инфекционных болезнях, а также при одном и том же заболевании у разных лиц (от нескольких часов до нескольких

суток и даже месяцев). Данный период может закончиться летально или болезнь переходит в следующий период, который называется *периодом угасания симптомов болезни (ранний период реконвалесценции)*.

В период угасания происходит исчезновение основных симптомов болезни, нормализация температуры. Этот период сменяется *периодом реконвалесценции* (от лат. *re* – обозначающего повторность действия и *convalescentia* – выздоровление), который характеризуется отсутствием клинических симптомов, восстановлением структуры и функции органов, прекращением размножения возбудителя в макроорганизме и гибелью микроба, либо процесс может перейти в микробоносительство. Длительность периода реконвалесценции также широко варьирует даже при одной и той же болезни и зависит от ее формы, тяжести течения, иммунологических особенностей макроорганизма, эффективности проводимого лечения.

Выздоровление может быть полным, когда все нарушенные функции восстанавливаются или неполным, когда сохраняются остаточные (резидуальные) явления, представляющие собой более или менее стабильные изменения тканей и органов, возникающие на месте развития патологического процесса (деформации и рубцы, параличи, атрофия тканей и т.д.). Различают: а) клиническое выздоровление, при котором исчезают только видимые клинические симптомы болезни; б) микробиологическое выздоровление, сопровождающееся освобождением макроорганизма от микроба; в) морфологическое выздоровление, сопровождающееся восстановлением морфологических и физиологических свойств пораженных тканей и органов. Обычно клиническое и микробиологическое выздоровление не совпадают с полным восстановлением морфологических повреждений, длящихся продолжительное время. Помимо полного выздоровления, исходом инфекционной болезни может быть формирование микробоносительства, переход в хроническую форму течения болезни, летальный исход.

В клинических целях инфекционную болезнь принято делить по типу, тяжести и течению. Под *типом* принято понимать выраженность признаков, свойственных данной нозологической форме. К *типичным формам* относят такие случаи болезни, при которых имеются все ведущие клинические симптомы и синдромы, свойственные данной болезни. К *атипичным формам* относят стертые, инаппарантные, а также молниеносные и абортивные формы.

При *стертых формах* отсутствует один или несколько характерных симптомов, а остальные симптомы, как правило, слабо выражены.

Инаппарантные (син.: субклинические, скрытые, бессимптомные) формы протекают без клинических симптомов. Они диагностируются с помощью лабораторных методов исследования, как правило, в очагах инфекции.

Молниеносные (син. фульминантные, от лат. *fulminare* – убивать молнией, молниеносная или гипертоксические) формы характеризуются очень тяжелым течением с быстрым развитием всех клинических симптомов. В большинстве случаев, эти формы заканчиваются летально.

При *абортивных* формах инфекционная болезнь с самого начала развивается типично, но внезапно обрывается, что характерно, например, для брюшного тифа у привитых.

Течение инфекционных болезней различают по характеру и длительности. По характеру течение может быть гладким, без обострений и рецидивов или негладким, с обострениями, рецидивами и осложнениями. По длительности, течение инфекционной болезни может быть *острым*, когда процесс заканчивается в течение 1 – 3 месяцев, затяжным или *подострым* с продолжительностью до 4 – 6 месяцев и *хроническим* – свыше 6 месяцев.

Осложнения, возникающие при инфекционных болезнях, можно условно разделить на специфические, вызванные действием основного возбудителя данной инфекционной болезни и неспецифические.

4. В ходе инфекционных болезней происходит *формирование иммунитета,* что является характерной чертой инфекционного процесса. Напряженность и длительность приобретенного иммунитета существенно различаются при разных инфекционных болезнях – от выраженного и стойкого, практически исключающего возможность повторного заражения в течение всей жизни (например, при кори, чуме, натуральной оспе и т.д.) до слабого и кратковременного, обуславливающего возможность повторного заболевания даже спустя короткий промежуток времени (например, при шигеллезах). При большинстве инфекционных болезней формируется стойкий, напряженный иммунитет.

Интенсивность формирования иммунитета в процессе инфекционной болезни во многом определяет особенности течения и исход инфекционной болезни. *Характерной чертой патогенеза инфекционных болезней является развитие вторичного иммунодефицита.* В ряде случаев, неадекватно выраженная иммунная реакция, направленная на локализацию и элиминацию микроба, принимает иммунопатологический характер (гиперергические реакции), что способствует переходу инфекционного процесса в хроническую форму и может поставить макроорганизм на грань гибели. При низком уровне иммунитета и наличии микробов в макроорганизме возможно возникновение обострений и рецидивов. **Обострение** – это усиление симптомов заболевания в период угасания или период рекон- валесценции, а **рецидив** – это возникновение повторных приступов заболевания в период выздоровления после исчезновения клинических симптомов болезни. Обострения и рецидивы наблюдаются преимущественно при длительно протекающих инфекционных болезнях, например, при брюшном тифе, роже, бруцеллезе, туберкулезе и т.д. Они возникают под действием факторов, снижающих резистентность макроорганизма и могут быть связаны с естественным циклом развития микробов в макроорганизме, как, например, при малярии или возвратных тифах. Обострения и рецидивы могут быть как клиническими, так и лабораторными.

5. Для постановки диагноза при инфекционных болезнях применяются *специфические микробиологические и иммунологические методы диагностики* (микроскопическое, бактериологическое, вирусологическое и серологическое исследования, а также постановка биопробы и кожных аллергических проб), которые нередко являются единственным достоверным способом подтверждения диагноза. Эти методы делятся на *основные* и *вспомогательные* (дополнительные), а также методы *экспресс-диагностики.*

К основным методам диагностики относятся методы, которые применяются для постановки диагноза у каждого обследуемого больного, комплексно, в динамике заболевания в обязательном порядке.

Дополнительные методы позволяют более детально оценить состояние больного, а методы экспресс-диагностики – поставить диагноз на ранних сроках, в первые дни болезни.

Выбор методов диагностики определяется первичным клинико-эпидемиологическим диагнозом и особенностями предполагаемой нозологической формы.

6. Для лечения и профилактики инфекционных болезней, помимо этиотропных препаратов, к которым относятся антибиотики и другие противомикробные препараты, применяют *специфические препараты,* направленные непосредственно против данного микроба и его токсинов. К специфическим препаратам относят вакцины, сыворотки и иммуноглобулины, бактериофаги, эубиотики и иммуномодуляторы.

Формы инфекционного процесса

Проявления инфекционного процесса разнообразны. **По происхождению** различают *экзогенную инфекцию,* возникающую в результате заражения микробами извне и *эндогенную инфекцию* (син. парентеральная инфекция, аутоинфекция), вызванную микробами, находящимися в самом макроорганизме и относящимся к условно-патогенным представителям нормальной микрофлоры. Возникновение эндогенной инфекции связано с ослаблением защитных сил макроорганизма под влиянием факторов, ведущих к снижению резистентности макроорганизма и развитию вторичного иммунодефицита.

В зависимости от локализации возбудителя различают *очаговую инфекцию* (син. локальная инфекция, местная инфекция), при которой возбудитель остается в месте входных ворот инфекции и не распространяется по макроорганизму и *генерализованную инфекцию,* при которой микроб распространяется по макроорганизму различными путями, а именно лимфогенно, гематогенно, бронхогенно и периневрально. Это деление условно, так как при снижении резистентности макроорганизма очаговая инфекция может трансформироваться в генерализованную. Местный очаговый воспалительный процесс часто является лишь этапом патогенеза общего генерализованного инфекционного процесса. В том случае, если микроб короткий промежуток времени находится в крови, не размножаясь в ней (в данном случае, кровь выполняет функцию транспортной среды), говорят о бактериемии, риккетсиемии, спирохетемии, вирусемии или паразитемии. *Бактериемия, вирусемия и т.д. – обязательный этап патогенеза всех инфекционных и инвазивных болезней с трансмиссивным механизмом заражения.* Распространяясь по макроорганизму с током крови, микробы могут быть ассоциированы с клеточными элементами, либо находиться в свободном виде в плазме. Клеточная мембрана защищает микробы от неблагоприятных воздействий. Более широким понятием, чем бактериемия, вирусемия и т.д. является *антигенемия,* которая обозначает наличие антигенов в крови в форме комплексов, представляющих целиком клетку микроба, или отдельных антигенов микробов в крови, например О- или К-антигенов бактерий. Антигенемия есть даже в тех случаях, когда микробы в ток крови не проникают, например, при холере или шигеллезах. При наличии токсинов в крови говорят о *токсинемии.* Инфекции, при которых микроб остается в месте входных ворот инфекции, а все основные клинические симптомы заболевания связаны с действием белковых бактериальных токсинов, получили название *токсинемических инфекций* (дифтерия, столбняк, ботулизм, газовая гангрена). В тех случаях, когда кровь и лимфа являются местом постоянного обитания и размножения микробов, говорят о *сепсисе* (от греч. *sepsis* – гниение) или *септицемии,* представляющей собой форму сепсиса, при которой входные ворота инфекции неизвестны. При возникновении вторичных отдаленных гнойных очагов во внутренних органах возникает *септикопиемия.*

Инфекции, вызванные одним видом микробов, получили название *моноинфекций,* а вызванные одновременно несколькими видами микробов – *смешанной* или *микст-инфекций.* От микст-инфекции следует отличать *вторичную инфекцию,* при которой к уже развившемуся инфекционному процессу, вызванному каким-либо одним видом микроба, присоединяется новый инфекционный процесс, вызванный другим микробом или микробами, вследствие снижения резистентности макроорганизма под действием первого микроба. Чаще всего, вторичную инфекцию вызывают представители собственной микрофлоры, например, развитие бактериальной пневмонии при гриппе. От микст-инфекции и вторичной инфекции следует отличать *суперинфекцию* – повторное заражение тем же микробом, что ведет к усилению клинической картины того периода болезни, при котором произош-

ло это заражение и *реинфекцию* – повторное заражение тем же микробом, но после полного выздоровления.

Инфекционный процесс может сопровождаться развитием болезни с полным набором характерных для нее клинических симптомов, что получило название *манифестной формы инфекции* (от лат. *manifestus* – явный) или же не проявляться клинически, что называют *инаппарантной* (син. скрытой, бессимптомной) *формой инфекции.*

По длительности взаимодействия микроба с макроорганизмом можно условно выделить два типа инфекционного процесса.

Первый тип характеризуется *непродолжительным пребыванием микроба в макроорганизме.* К нему относятся: *острая продуктивная инфекция* длительностью до 3 месяцев, которая в ряде случаев, переходит в *затяжную форму инфекции,* длящуюся от 3 до 6 месяцев. Затяжная (или подострая) форма характеризуется увеличением периода разгара и периода реконвалесценции болезни и нередко является переходом от острой к хронической инфекции;

Инаппарантная, субклиническая инфекция, которая характеризуется отсутствием клинических симптомов и сопровождается развитием характерного комплекса иммунологических, функциональных и структурных изменений в макроорганизме, которые развиваются циклически и соответствуют острой форме инфекционного процесса. Данная форма заканчивается формированием иммунитета и полным освобождением макроорганизма от микроба. Диагностика инаппарантных форм инфекции возможна лишь в очагах инфекционных заболеваний на основании специфических методов исследования (изменение нарастания титров антител в динамике, морфологические исследования, постановка аллергических проб и т.д.).

Второй тип характеризуется длительным пребыванием микроба в макроорганизме, или *персистенцией* (от лат. *persistentia* – сохранение предыдущего состояния, упорство, постоянство). Персистенция говорит о неспособности общества и макроорганизма справиться с микробом и о способности последнего выжить в макроорганизме. Механизмы развития пер-систенции разнообразны. Важную роль играют: образование морфологически измененных или дефектных форм микробов (L-форм бактерий, цист, дефектных вирусных частиц); формпрование лекарственной устойчивости, способность микробов к внутриклеточному паразитированию (возбудители малярии и лейшмании, вирусы, хламидии и т.д.); блокирование апоптоза клеток хозяина; наличие как врожденных, так и приобретенных иммуноде-фицитов, втом числе, под действием микробов; развитие иммунологической толерантности, а также аутоиммунных и аллергических реакций в макроорганизме и т.д. Отличительной чертой персистенции является то, что она развивается на фоне приобретенного иммунитета, который оказывается неэффективным, а также то, что для ряда микробов она является патогенетической нормой (вирусы, риккетсии и хламидии, микобактерии, трепонемы, бруцеллы, возбудитель четырехдневной малярии). Персистенция может проявляться в форме:

– *микробоносительства* (бактерио-, паразите-, вирусо- или миконосительства), представляющего собой инфекционный процесс на субклиническом уровне, при котором микроб короткий или длительный промежуток времени, а в ряде случаев, пожизненно сохраняется в макроорганизме, не вызывая клинических проявлений и выделяется в окружающую среду. Микробоносительство сопровождается иммунологическими изменениями в макроорганизме. Морфологические и функциональные изменения в макроорганизме слабо выражены. Исключение составляет здоровое микробоносительство, при котором морфо-функциональных и иммунологических изменений нет. Носительство может формироваться как в результате перенесенного заболевания (брюшной тиф, сальмонеллез, дифте-

рия), так и являться одной из стадий инфекционного процесса, предшествуя его генерализации (менингококковая инфекция);

– *латентной инфекции* (син. дремлющая инфекция), являющейся своеобразной формой микробоносительства, при которой микроб длительно находится в макроорганизме, но не выделяется в окружающую среду. Как правило, латентная инфекция является закономерной стадией инфекционного процесса при заболеваниях, склонных к хроническому течению (бруцеллез, сифилис, герпетическая инфекция, токсоплазмоз);

– *хронической инфекции,* которая длится свыше 6 месяцев и может протекать в виде непрерывной или рецидивирующей формы, характеризующейся сменой периодов ремиссий и обострений, при которых микробы выделяются в окружающую среду в течение многих месяцев и даже лет. К первично-хроническим заболеваниям относятся бруцеллез, туберкулез, лепра, малярия и сифилис.

В вирусологии в отдельную группу выделены *медленные вирусные инфекции.*

Особенности формирования патогенности у вирусов. Формы взаимодействия вирусов с клеткой. Особенности вирусных инфекций

В отличие от других представителей мира микробов, вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами на генетическом (молекулярном) уровне. Среди них нет непатогенных, поэтому применительно к ним термин «патогенность» обычно не применяют, а вирулентность обозначают как *инфек-циошость* или *инфекциозность.* В связи с вышеизложенным, инфекционный процесс при вирусных инфекциях связан прежде всего, с поражением клеток, в которых они размножаются и всегда является взаимодействием двух геномов – вирусного и клеточного.

Патогенные свойства вирусов складываются из следующих компонентов: способности вируса проникать в организм и адсорбироваться на клеточных мембранах, проникать в чувствительные к ним клетки; способности этих клеток депротеинизировать вирусный геном и делать его функционально активным; пермиссивности клеток или возможности этих клеток обеспечить транскрипцию и репликацию генетического материала, полноценную сборку вирионов; возможности воспроизведения в клетках нескольких циклов репродукции вирусов, цитопатического действия вируса; способности вирусов распространяться на новые клетки, расположенные рядом с пораженными; распространения вирусов за пределы первичного очага поражения по всему организму; способности вызывать местные и общие патологические процессы, лежащие в основе клинических проявлений вызываемых ими заболеваний; способности вируса к переходу в новый организм и обеспечение его эстафетной передачи.

Все эти свойства необходимы, но в то же время сами по себе они могут быть недостаточными для патогенного действия вируса. Некоторые из этих свойств обусловлены клетками, в которых они размножаются, что получило название *хозяинного* или *хозяйского ограничения клеткой.*

Многие вирусы проникают в организм непосредственно через слизистые оболочки, которые служат входными воротами инфекции и защищены целым рядом неспецифических факторов резистентности, поэтому вирусы должны быть устойчивы к действию данных неблагоприятных факторов, что детерминируется генами вирусов. Например, кишечные вирусы обычно устойчивы к кислым значениям pH, детергентному действию солей желчных кислот и к разрушающему их действию протеолитических ферментов.

Способность вирусов адсорбироваться на мембранах чувствительных к вирусам клеток является специфическим процессом для вирусов. Этот процесс протекает при участии *прикрепительных белков (антирецепторов)* у вирусов и чувствительных к ним *клеточных рецепторов.* Простые вирусы содержат прикрепительные белки в составе капсида, а сложноустроенные вирусы – в составе супер-капсида. Такие сложные вирусы, как вирус осповакцины и вирус простого герпеса, могут иметь прикрепительные белки нескольких видов. Способность вирусов менять круг хозяев и адаптироваться к новому хозяину обусловлена изменением первичной структуры в области участка прикрепительного белка, узнающего клеточный рецептор. Эти участки консервативны по своему строению и расположены в углублениях-каньонах, которые чрезвычайно малы по своим размерам, благодаря чему недоступны для активных центров антител, реагирующих лишь с окружающими эти углубления гипервариабельными участками, что позволяет вирусам избежать иммунологического пресса. Мутации в генах, кодирующих антирецепторы, иногда приводят к полной потере способности вирусов взаимодействовать с клеточными рецепторами.

Сама по себе адсорбция вирусов на поверхности клетки далеко не всегда приводит к проникновению вирусов в клетки. Многие вирусы, имеющие гемагглютинин на своей поверхности, адсорбируются на эритроцитах, особенно на безъядерных эритроцитах млекопитающих, но не проникают в них, поскольку последние лишены способности к эндоцитозу. Это же в значительной степени справедливо и для сохранивших ядра птичьих эритроцитов. Но если одновременно с эндоцитозом не произойдет *слияния клеточных и вирусных мембран* при заражении сложными вирусами, имеющими суперкапсид *и сходного взаимодействия вирусного капсида с клеточной мембраной* при заражении простыми вирусами, то только лишь эндоцитоза будет недостаточно, так как эндоциторная вакуоль станет «кладбищем» для вирионов. Эта стадия взаимодействия чрезвычайно важна и специфична для разных вирусов. В ней принимают участие специальные *белки слияния,* которые есть у многих оболочечных вирусов или их *функциональные участки.* Белки слияния приводят к нарушению функции клеточных мембран, изменению их проницаемости. Белки слияния не идентичны прикрепительным белкам вирусов. Наиболее хорошо изучен белок слияния у парамиксовирусов, получивший название F-белка (от англ. *fusion* – слияние). Область F-белков, участвующая в слиянии, обладает высоким консерватизмом. Мутации в этой области блокируют процесс слияния. Слияние может происходить извне и изнутри. При высокой множественности заражения происходит слияние извне, которое появляется почти сразу же после заражения и не требует синтеза кодируемых вирусом белков. Слияние изнутри обнаруживается при низкой множественности заражения. Оно обусловлено вновь синтезированными белками слияния и появляется на поздних стадиях инфекционного процесса. Для проявления инфекционной активности вирусов необходим *посттрансляционный процессинг белков слияния,* заключающийся в протеолитическом нарезании белка-предшественника в результате точечного или ограниченного протеолиза, что ведет к его активации и образованию фрагмента, взаимодействующего с клеточной мембраной. Этим белки слияния вирусов напоминают протоксины бактерий. Для нарезания вирусных белков требуются протеазы определенной специфичности. Эти протеазы могут иметь как клеточное, так и вирусное происхождение. Мутации в участке нарезания ведут к блокированию протеолиза и продукции неинфекционных вирусов, не способных осуществлять многоцикловую инфекцию, поэтому инфекционный процесс будет носить *абортивный характер.* Степень протеолиза имеет большое значение для генерализации вирусной инфекции в организме. Посттрансляционная модификация вирусных белков в результате протеолитического нарезания является критическим моментом в оконча-

тельном приобретении вирусами инфекционной активности и представляет уязвимую мишень для ингибиторов протеолиза. Белки слияния вирусов выводят из строя не только зараженные, но и не зараженные вирусами клетки, входящие в состав синцития. Они обусловливают возможность перехода вирусов из клетки в клетку по образовавшимся межклеточным мостикам, благодаря чему вирусы не попадают в межклеточное пространство и становятся недоступными для вируснейтрализующих антител.

В отличие от парамиксовирусов, у вирусов гриппа белком слияния является гемагглютинин, обуславливающий также адсорбцию вирусов к клетке. Однако, функции прикрепления и слияния разделены между разными его участками большой (НА1) и малой (НА2) субъединицами соответственно. Важным фактором патогенности у вирусов гриппа является нейраминидаза, которая, удаляя остатки сиаловой кислоты с вирусного гемагглютинина, делает его доступным для протеолитического расщепления, необходимого для проявления инфекционности вирусов.

Очевидно, что сходный по функции с белками слияния сложных вирусов белок существует в составе капсида простых вирусов и один из поверхностно расположенных белков капсида вызывает дестабилизацию клеточной мембраны, что способствует проникновению модифицированного капсида из эндоцитарной вакуоли в цитоплазму.

Взаимодействие вируса и клетки – это всегда взаимодействие вирусного и клеточного генома. В результате адсорбции вируса, его проникновения в клетку и раздевания происходит освобождение генетического материала вирусов, который становится функционально активным, так как освобождается от внешних защитных оболочек, препятствующих его экспрессии. Степень активности генома обусловлена разной степенью депротеинизации у вирусов разных семейств. Депротеинизация осуществляется либо клеточными протеазами, либо поверхностно-активными структурами клетки (хозяинное ограничение клетки). Исключение составляют вирусы оспы. При этом для сложноустроенных вирусов **минимальной инфицирующей структурой** оказались внутренние компоненты вирусной частицы – сердцевины и нуклеокапсиды с модифицированными белками и измененной конформацией, а для простых вирусов – нуклеиновые кислоты, тесным образом соединенные с внутренними или геномными белками, функция которых связана с функциями генома и их регуляцией. *Ключевым моментом в репликации вирусов является использование для синтеза вирусных белков хозяйских структур клетки, синтезирующих белки.* Эукариотическая клетка навязывает вирусу **два ограничения.** *Во-первых,* так как клетка синтезирует в ядре свою собственную мРНК путем транскрипции своей ДНК и последующего посттранскрипционного процессинга транскрипта, ни в ядре, ни в цитоплазме нет ферментов, необходимых для транскрипции мРНК с вирусного РНК-генома, а в цитоплазме нет ферментов, способных транскрибировать вирусную ДНК. Поэтому клеточную транскриптазу могут использовать только ДНК-геномные вирусы, способные проникать в ядро. Все другие вирусы *должны создавать собственные ферменты для синтеза* мРНК. Для транскрипции ДНК-геномных вирусов в цитоплазме клетки необходим специальный фермент – вирусная РНК-полимераза, которая является структурным вирусным белком. У РНК-геномных вирусов транскрипция осуществляется вирусоспеци-фическими транскриптазами, которые могут быть как структурными (эндогенная транскриптаза), так и неструктурными белками. У сложноустроенных РНК-геномных вирусов транскрипция происходит не на голой матрице **РНК,** а в составе вирусных нуклеокапсидов или сердцевин *(транскриптивные комплексы).* Связанные с геномом капсидные белки необходимы для транскрипции, так как они обеспечивают правильную конформацию тяжа РНК, защиту его от клеточных протеаз, связь отдельных фрагментов генома друг с другом, а также регуляцию транскрипции. *Во-вторых,* синтезирующий аппарат эукариотической клетки

приспособлен для трансляции только моноцистронных мРНК, так как он не распознает внутренних участков инициации в мРНК. В результате, вирусы вынуждены синтезировать либо отдельные мРНК для каждого гена, либо мРНК, включающие несколько генов и кодирующие большой полипротеин, который затем разрезается на индивидуальные белки. Транскрипция вирусного генома строго регулируется на протяжении инфекционного процесса многочисленными вирусо-специфическими и клеточными факторами. Со степенью транскрипции нередко связан характер инфекции, ее тип (от продуктивной до абортивной инфекции).

Важную роль в регуляции процессов транскрипции играют *гены усилители и трансактиваторы.* Они расположены в специальной области генома вирусов и содержат гены, усиливающие и активирующие экспрессию структурных генов. **Усилители** – это генетические элементы, усиливающие транскрипцию. Структура вирусных усилителей не отличается от структуры клеточных. Факторы транскрипции, связывающиеся с промотором и усилителем, выполняют одну и ту же функцию и могут представлять собой как *клеточные,* так и *вирусные белки.* Усилители, контролирующие уровень экспрессии генов, обнаружены у паповавирусов, гепаднавирусов, герпесвирусов, ретровирусов и ряда других вирусов.

Белки **трансактиваторы** не обладают специфичностью действия. Они связываются с регуляторными областями генов и одновременно активируют усиленную транскрипцию *всех генов,* в том числе и других вирусов, что сопровождается взрывной продукцией вирусных частиц, а также включают экспрессию бактериальных генов и клеточных онкогенов. Они действуют не только на стадии транскрипции, но и на посттранскрипционном уровне. Взаимодействие вирусных и клеточных трансактиваторов может приводить к переходу латентной инфекции в литическую, а также к онкогенной трансформации зараженных клеток. Как и усилители, трансактиваторы содержат две важные для их функции области. Одна из них определяет *транспорт и связывание* белка с мишенью, а другая представляет собой *активный центр* и выполняет основную, активирующую, функцию белка. Блокировка функции трансактиваторов на основе конкуренции с белками-мутантами или пептидами, соответствующими функциональным областям трансактиваторов является перспективным направлением в противовирусной терапии. Трансактиваторы обнаружены у вируса иммунодефицита человека, вируса гепатита В, герпесвирусов, аденовирусов, паповавирусов.

Усилители и трансактиваторы являются необходимым атрибутом вирусов как генетических паразитов, конкурирующих с клеточным геномом. Неравные шансы небольших по размерам вирусов на победу уравновешиваются возникшими в ходе эволюции генетическими элементами, позволяющими гораздо меньшей по величине молекуле вирусного генома успешно завершить экспрессию своих генов и создать вирусное потомство. При этом вирусы широко используют механизмы клеточного происхождения, которые теперь обращены против клетки хозяина.

Важную роль в формировании патогенности сложных вирусов, помимо посттрансляционной модификации вирусных белков, играет синтез М-белка (матриксного белка), участвующего в сборке вирусной частицы. Включение М-белка в плазматическую мембрану является лимитирующим событием, определяющим возможность почкования вирусных частиц. Синтез М-белка жестко регулируется как вирусоспецифическими, так и клеточными механизмами. Количество М-белка в зараженных клетках во многом определяет особенности репродукции вируса в данной клеточной системе. Аберрантный синтез М-белка и его нарушенный внутриклеточный транспорт служат одной из частых причин абортивных и персистентных вирусных инфекций. Экспрессия гена М значительно варьирует в клетках разного происхождения.

Патогенность вирусов обусловлена также их белковыми продуктами, блокирующими апоптоз клетки и изменяющими защитные реакции в макроорганизме, подавляя продукцию цитокинов, что способствует репродукции вирусов и их распространению по макроорганизму. Например, вирусы натуральной оспы образуют TNF-связывающий белок, белки, подавляющие созревание антигенов MHC I класса и аналог рецепторов γ-интерферона. Вирус иммунодефицита человека, наоборот, усиливает продукцию цитокинов пораженными им клетками, что ведет к усилению воспалительной реакции и развитию нейротоксического действия. Как и другие микробы, вирусы, благодаря наличию внешней липидсодержащей оболочке, образованной из мембраны клетки хозяина, вариабельности структуры поверхностных антигенов, интеграции в геном клетки, гибели Т-лимфоцитов и т.д., обладают способностью уходить от воздействия иммунной системы макроорганизма.

Заражение восприимчивых клеток вовсе не означает, что в клетках неизбежно будет происходить размножение вируса, так как восприимчивость не идентична permиссивности клеточной системы. Это одна из главных концепций в вирусологии. Многие стадии взаимодействия вируса с клеткой имеют не столько вирусоспецифическую, сколько опосредованную клеткой природу (эндоцитоз, депротеинизация, синтез вирусоспецифических белков и т.д.). Клетка принимает активное участие в формировании патогенных вирусов лишь в permиссивной клеточной системе, содержащей весь набор необходимых факторов, используемых вирусами на разных стадиях инфекционного процесса, а репликативный цикл завершается и приводит к образованию инфекционного потомства, что не будет происходить в полупermиссивных и непermиссивных клеточных системах (*хозяинная* или *хозяйская рестрикция*).

Патогенность вирусов имеет адресный характер. Каждый вирус занимает свою экологическую нишу. Одни из них поражают широкий круг хозяев, другие – более или менее близкие между собой виды, третьи – один-единственный вид, хотя экспериментальными моделями могут быть разные виды животных. В пределах вида хозяина вирус поражает определенные клетки, которые имеют рецепторы к данному вирусу, что и определяет тканевой тропизм вирусов. При этом разные вирусы могут взаимодействовать с различными клеточными рецепторами, так как одни и теже клетки могут иметь рецепторы для разных вирусов. С другой стороны, рецепторы для одного и того же вируса могут иметь разные клетки. Чаще всего наличие на клетках рецепторов для вирусов является и показателем возможности репродукции в них вирусов.

Тканевой тропизм определяется не только наличием на клетках рецепторов, но и возможностью осуществления в клетках *вирусоспецифических синтезов*. В зависимости от permиссивности клеточной системы инфекция восприимчивых клеток может быть **продуктивной, ограниченной и абортивной.** *Продуктивная инфекция* происходит в permиссивных клетках и характеризуется полным циклом репродукции, который заканчивается формированием инфекционного потомства. Permиссивность клеточной системы обуславливает и многократную цикличность размножения в ней вирусов.

Абортивной называется инфекция, которая не завершается образованием инфекционных вирусных частиц или при которой они образуются в гораздо меньшем количестве, чем при продуктивной инфекции. Абортивная инфекция может наступить в силу двух обстоятельств. Во-первых, несмотря на восприимчивость к заражению, клетки могут оказаться непermиссивными, так как в них могут экспрессироваться не все, а лишь некоторые гены вирусов. В основе механизмов генетически обусловленной непermиссивности клеток лежит либо отсутствие клеточных факторов, необходимых для репродукции, либо наличие факторов, нарушающих процессы репродукции вирусов. Во-вторых, абортив-

ная инфекция может быть результатом заражения как пермиссивных, так и непермиссивных клеток **дефектными вирусами,** у которых отсутствует полный набор вирусных генов, необходимых для репродукции. Дефектные вирусы представляют собой крайнюю форму паразитизма, так как они используют генные продукты, образованные другими, часто не родственными им, не гомологичными вирусами. Примером таких вирусов являются аденоассоциированные вирусы и вирус гепатита D, помощником которого служит вирус гепатита В. Абортивную инфекцию вызывают также **дефектные интерферирующие вирусные частицы,** которые тоже лишены части генетического материала. В отличие от дефектных вирусов, в ходе репликации они интерферируют с гомологичными инфекционными вирусами, в связи с чем их назвали дефектными интерферирующими вирусными частицами (ДИ-частицами). Образование ДИ-частиц играет важную роль в ослаблении летального действия полноценных вирусов в силу интерференции и предрасполагает некоторые клетки к формированию в них длительной персистентной инфекции.

Наконец, клетки могут быть только временно пермиссивными, вследствие чего, вирус либо сохраняется в клетках до момента, когда они становятся пермиссивными, либо в любой данный момент вирусное потомство образуется только в немногих клетках популяции. Этот вид инфекции одними исследователями был определен как *рестриктивный* (restrictive), другими – как *ограниченный* (restringent). В ряде случаев, цитолитические вирусы могут только лишь изменять функциональную активность клеток, не вызывая их морфологических повреждений (изменять синтез гормонов, холестерина и т.д.), или вызывать опухолевую трансформацию клеток. Дополнительным следствием как ограниченной, так и абортивной инфекции является сохранение в клетке вирусного генома.

Если геном вируса реплицируется независимо от клеточного генома, такая инфекция называется *автономной.* Если вирусный геном интегрирует в состав генома клетки и реплицируется вместе с ним, то такая инфекция называется *интегративной (вирогения).* Интегрировать может как полный геном, так и часть его. Например, при гепатите В возможна интеграция полного генома, при аденовирусной или герпесвирусной инфекциях обычно интегрирует часть генома, при заражении онковирусами может интегрировать как полный геном, так и часть его. Вирусные последовательности, входящие в состав генома клетки, называются *провирусом* или *провирусной ДНК.* Интеграционный тип инфекционного процесса возможен при заражении адено-, папиллома-, герпесвирусами, вирусом гепатита В и обязателен для ретровирусов, имеющих фермент – обратную транскриптазу. Возникшая интеграция может явиться причиной ряда хронических и аутоиммунных заболеваний.

По исходу взаимодействия с клеткой инфекция может быть *цитолитической* и *нецитолитической.* Инфекция, завершающаяся гибелью клетки, называется цитолитической. Инфекция, которая непосредственно не приводит к лизису клетки, в результате чего, клетка еще может функционировать в течение определенного периода времени, продуцируя вирусные частицы, называется нецитолитической. Инфицирование клетки запускает механизмы ее запрограммированной гибели, что препятствует репродукции и распространению вирусов. Поэтому ряд вирусов, например, поксвирусы, имеют в своем составе гены, белковые продукты которых ингиби-руют апоптоз. Вирусы могут изменять только лишь функциональную активность клеток, без изменения их морфологии или вызывать опухолевую трансформацию клеток.

Взаимодействие вируса с клеткой может носить как острую, так и хроническую форму. *Острой* называется такая форма инфекции, при которой после образования вирусного потомства клетка либо погибает, либо выздоравливает и не содержит вирусных компонентов. *Хронической* называется такая форма инфекции, при которой клетка длительное

время продолжает продуцировать вирусные частицы или вирусные компоненты и передает эту способность дочерним клеткам. Следует отметить, что для вирусных инфекций характерна гетерогенность вирусной популяции и изменение ее в динамике инфекционного процесса, формирование отдельных клонов, в том числе, агрессивных, смена антигенной специфичности.

В результате разрушения клеток вирионы и вирусные компоненты, а также продукты распада клеток, образовавшиеся в результате автолиза клеток, поступают в ток крови, вызывая развитие симптомов интоксикации в виде лихорадки, а также вызывают развитие симптомов воспаления. Одновременно развиваются иммунные реакции как клеточного, так и гуморального типа.

Повреждение клеток вирусами, их отмирание и распад переносят вирусную инфекцию с клеточного уровня на *органный* и *организменный уровень.* Распространение инфекции может происходить путем контакта с клетками, в том числе и по межклеточным мостикам, образовавшимся в результате слияния мембран изнутри; с выделениями слизистых оболочек как в близлежащие, так и более отдаленные ткани и органы; по ходу нервных стволов. Но чаще всего вирусы распространяются с током крови – гематогенно. Именно этим путем вирусы разносятся по организму и нередко принимают *вторичную локализацию.* Классическим примером служит полиомиелит, при котором вирус первично локализуется в эпителии тонкой кишки. В подавляющем большинстве случаев, инфекционный процесс здесь и заканчивается, однако, в ряде случаев, развивается вирусемия, в результате которой вирус может вторично локализоваться в ЦНС, а именно в клетках передних рогов спинного мозга, а также в продолговатом мозге, что ведет к возникновению параличей и летальному исходу. Основную роль в распространении вирусов по макроорганизму играет состояние резистентности макроорганизма.

На организменном уровне вирусные инфекции можно разделить на *очаговые инфекции,* при которых действие вирусов проявляется в месте входных ворот инфекции и *генерализованные инфекции,* при которых после ограниченного периода репродукции вирусов в первичном очаге происходит генерализация инфекционного процесса и вирус достигает чувствительных тканей макроорганизма, формируя в них вторичные очаги. По длительности взаимодействия с макроорганизмом инфекция может быть *острой* и *персистентной.* Острая инфекция соответствует продуктивной инфекции на уровне клетки. Она может протекать как в клинически выраженной, так и инаппарантной форме и завершается либо выздоровлением, либо гибелью организма. Персистентная инфекция в зависимости от выделения вируса в окружающую среду и появления симптомов заболевания проявляется в виде *вирусоносительства, латентной, хронической* или *медленной вирусной инфекции.*

Медленной вирусной инфекцией называется такое взаимодействие вирусов с организмом, которое характеризуется длительным инкубационным периодом, длящимся многие месяцы и годы, последующим медленным и прогрессирующим течением заболевания с неизбежным летальным исходом, поражением какой-либо одной системы макроорганизма (как правило, ЦНС).

Большинство вирусов человека и животных способны персистировать в макроорганизме, что ведет к проэпидимичиванию населения и сохранению вирусов как биологического вида. Способность к персистенции выработалась у многих вирусов как механизм длительного сохранения в организме теплокровного хозяина или членистоногого-переносчика. Персистенция вирусов может быть итогом действия многих причин, связанных как с вирусом, так и с клеткой хозяина, например, в результате изменения репликации и транскрипции вируса при заражении неполным или дефектным вирусом, образования

мутантов, изменения экспрессии вирусных генов, нарушения функции иммуноцитов, приводящего к супрессии иммунного ответа. Способность к персистенции определяется во многом пермиссивностью клеточной системы. Так, в эпителиальных и других интенсивно делящихся клетках происходят полные многократные циклы репродукции герпесвирусов. В нервных же клетках, которые, как известно, не делятся, герпесвирусы не размножаются, а существуют в виде плазмиды, так как в этих клетках нет ферментов, обуславливающих клеточно-зависимый синтез вирусных ДНК.

9.1. Понятие об эпидемическом процессе

Эпидемический процесс – это процесс возникновения и распространения среди населения специфических инфекционных состояний – от бессимптомного носительства до манифестных заболеваний, вызванных циркулирующим в коллективе возбудителем.

Условия и механизмы формирования эпидемического процесса, методы его изучения, а также совокупность противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение и снижение инфекционных заболеваний, являются предметом изучения специальной науки – эпидемиологии.

Биологической основой эпидемического процесса является паразитарная система, т.е. взаимодействие популяций паразита и хозяина. В процессе такого взаимодействия, при любой инфекции или инвазии, происходит взаимное влияние популяций паразита и хозяина, которые в результате этого, взаимно адаптационно изменяются. Взаимодействие паразитарной системы с социальными условиями жизни населения превращает ее в эпидемический процесс.

Эпидемический процесс обуславливает непрерывность взаимодействия трех его элементов:

1) источник инфекции;
2) механизмы, пути и факторы передачи;
3) восприимчивость коллектива.

Выключение любого из этих звеньев приводит к прерыванию эпидемического процесса.

Первый элемент эпидемического процесса представляет собой источник инфекции. Понятие «источник возбудителя инфекции» означает живой или абиотический объект, являющийся местом естественной жизнедеятельности патогенных микробов, из которого происходит заражение людей или животных. Источником инфекции могут быть организм человека (больного или носителя), организм животного и абиотические объекты окружающей среды.

Инфекции, при которых источником инфекции служит только человек, называются антропонозными, а инфекции, при которых источником инфекции служат больные животные, но может болеть и человек, – зоонозными. Кроме того, выделяют группу сапронозов, при которых источником инфекции служат объекты окружающей среды. Сапронозы – это болезни, возбудители которых имеют не только позвоночного хозяина, но и место развития, и резервуар неживого происхождения (органические вещества, в том числе пища, почва, растения).

Возбудители сапронозов являются псевдопаразитами человека и животных. Они постоянно и естественно обитают в окружающей среде (вода, почва) и для поддержания своего существования в природе не обязательно нуждаются в эпидемическом процессе. В связи с этим, эпидемический процесс сапронозов представляет собой процесс заражения людей в результате лишь автономного «выброса» возбудителей из объектов окружаю-

щей среды в человеческий коллектив без последующего воспроизводства одного случая заболевания в другие. Эпидемический процесс при сапронозах представляет собой проявление способности их возбудителей к ложному паразитизму, а каждый случай заболевания человека является, как и при зоонозах, биологическим тупиком. Возбудители сапронозов, прежде чем вызвать заражение людей, нередко концентрируются на объектах окружающей среды в условиях, имитирующих (по крайней мере, по температуре и влажности) среду живого зараженного организма человека или животного: легионеллы – в испарителях кондиционеров или в душевых установках, иерсинии – на гнющих овощах в овощехранилищах и т.д. В результате, образуется масса микробов, достаточная для формирования инфицирующей дозы (которая должна быть очень большой, как во всех случаях, когда речь идет об условно-патогенных микроорганизмах), обеспечивающей преодоление защитных иммунобиологических барьеров организма. При этом происходит не просто механическая концентрация микробов, но и их размножение, сопровождающееся процессами изменчивости, в частности, повышение вирулентности. Происходит своеобразное явление, которое можно обозначить как «феномен преадаптации» возбудителей сапронозов к переходу от сапрофитического существования в окружающей среде к паразитическому образу жизни в организме.

Второй элемент эпидемического процесса составляют механизмы, пути и факторы передачи инфекции. Русским ученым-эпидемиологом Л. В. Громашевским был сформулирован закон соответствия механизма передачи и локализации возбудителя в организме, согласно которому, механизмы, пути и факторы передачи инфекции можно представить следующим образом (табл. 9.1).

Третий элемент эпидемического процесса составляет восприимчивость коллектива. Замечено, что если иммунная прослойка в популяции составляет 95% и выше, то в данном коллективе достигается состояние эпидемического благополучия и циркуляция возбудителя прекращается. Поэтому задачей по предупреждению эпидемий является создание в коллективах данной иммунной прослойки путем проведения вакцинации против соответствующих возбудителей.

В соответствии с этим противоэпидемические мероприятия, проводимые в коллективе, могут быть направлены на различные звенья эпидемического процесса. Мероприятия 1-й группы направлены на источник инфекции, мероприятия 2-й группы – на разрыв механизмов и путей передачи, мероприятия 3-й группы – на восприимчивый коллектив.

К мероприятиям 1-й группы относится комплекс мер, направленных на ликвидацию источника инфекции: больных необходимо выявлять, изолировать и лечить; носителей – выявлять, ставить на учет и санировать; больных животных, как правило, уничтожают.

Мероприятия 2-й группы, направленные на разрыв механизмов и путей передачи, включают в себя комплекс санитарно-гигиенических мероприятий по благоустройству населенных пунктов (например, централизованное водоснабжение и канализация), разукрупнение организованных коллективов, карантинные мероприятия, санитарный надзор за объектами пищевой промышленности и общепита, соблюдение правил асептики, антисептики, дезинфекции и стерилизации в больничных учреждениях и др. Это наиболее трудоемкие и, к сожалению, наименее эффективные мероприятия, особенно при инфекциях, характеризующихся множественностью механизмов, путей и факторов передачи, как, например, зоонозные или внутрибольничные инфекции (ВБИ).

Мероприятия 3-й группы, направленные на восприимчивый коллектив, включают в себя, если это возможно, мероприятия по созданию искусственного приобретенного иммунитета – активного (путем проведения вакцинации) или пассивного (с помощью сывороток и иммуноглобулинов). При отсутствии в арсенале врача специфических профилак-

тических иммунобиологических препаратов мероприятия 3-й группы сводятся к санитарно-просветительной работе среди населения.

В соответствии с вышеизложенным, инфекции можно подразделить на управляемые, при которых имеются эффективные меры воздействия на одно или несколько звеньев

Таблица 9.1.

Механизмы, пути и факторы передачи инфекции для разных групп инфекционных болезней

Локализация возбудителей в организме	**Механизм передачи**	**Пути передачи**	**Факторы передачи**
ЖКТ	Фекально-оральный	Алиментарный Водный Контактно-бытовой	Пища, вода, грязные руки, мухи, посуда и т. п.
Респираторный тракт	Аэрогенный (респираторный)	Воздушно-капельный Воздушно-пылевой	Воздух, пыль
Кровь	Кровяной	Через укусы кровососущих эктопаразитов Парентеральный Половой	Эктопаразиты Кровь Шприцы Хирургический инструментарий Инфузионные растворы и т. п.
Наружные покровы	Контактный	1)раневой 2) контактно-половой	Пули и т.д. Режущие предметы и т. п.
Зародышевые клетки	Вертикальный	Вертикальный	

Интенсивность эпидемического процесса выражается в интенсивных показателях заболеваемости (смертности): количество заболевших (умерших) на 10 000 или 100 000 населения, с указанием названия болезни, территории и исторического отрезка времени. Эпидемиологи различают три степени интенсивности эпидемического процесса:

- спорадическая заболеваемость – это обычный уровень заболеваемости данной нозологической формой на данной территории в данный исторический отрезок времени;
- эпидемия – это уровень заболеваемости данной нозологической формой на данной территории в конкретный отрезок времени, резко превышающий уровень спорадической заболеваемости;
- пандемия – это уровень заболеваемости данной нозологической формой на данной территории в конкретный отрезок времени, резко превышающий уровень обычных эпидемий. Как правило, такой уровень заболеваемости трудно удержать в рамках определенного географического региона и заболеваемость обычно быстро распространяется, захватывая новые и новые территории (например, пандемии чумы, холеры, гриппа, ВИЧ-инфекции и др.). Не исключена возможность пандемии какого-либо заболевания в стро-

гих географических рамках, например, пандемия сыпного тифа в период Гражданской войны в России (1918–1922 гг.), которая не вышла за границы России.

Эндемия не характеризует интенсивность эпидемического процесса, она включает в себя относительную частоту заболеваемости данной нозологической формой на данной географической территории. Различают *эндемию природно-очаговую,* связанную с природными условиями и ареалом распространения в природе резервуаров инфекции и переносчиков (например, природные очаги чумы) и *эндемию статическую,* обусловленную комплексом климатогеографических и социально-экономических факторов (например, холера в Индии и Бангладеш).

В соответствии с распространенностью инфекционные болезни можно разделить на:

1. Кризисные – заболеваемость свыше 100 случаев на 100 000 населения, например, СПИД.
2. Массовые – заболеваемость 100 случаев на 100 000 населения, например, острые респираторные заболевания (ОРЗ), острая кишечная инфекция (ОКИ), гнойно-воспалительные заболевания (ГВЗ).
3. Распространенные управляемые – заболеваемость менее 20 случаев на 100 000 населения, например, газовая гангрена, псевдотуберкулез.
5. Спорадические – единичные случаи на 100 000 населения, например, сыпной тиф.

Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней

С учетом изложенных выше особенностей эпидемического процесса разработана современная эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней человека (табл. 9.2).

Первичное эколого-эпидемиологическое разделение всех инфекционных болезней человека должно учитывать в своей основе главную среду обитания (резервуар) возбудителя в природе, с которой так или иначе связано заражение человека. Существуют три главные специфические среды обитания возбудителя: организм человека (антропонозы), организм животного (зоонозы), внешняя среда (сапронозы). Сочетание двух резервуаров возбудителя свойственно переходным формам. При антропонозах человек – единственный резервуар возбудителя в природе и источник заражения. Во главу угла классификации здесь ставится характер взаимоотношений возбудителя с организмом человека (локализация), либо с человеческой популяцией (механизм передачи). При более детальной классификации антропонозов придерживаются общепринятого деления на кишечные, кровяные, респираторные, наружных покровов и «вертикальные» (от матери плоду).

Принципиально другая картина наблюдается у инфекций, возбудители которых имеют внечеловеческие резервуары в природе. При этих инфекциях локализация возбудителя в организме человека или механизм его передачи от человека к человеку есть вовсе не причина, а следствие процессов, обеспечивающих нормальную жизнедеятельность патогенного микроба.

При зоонозах основным резервуаром возбудителя в природе служат животные, преимущественно, млекопитающие и членистоногие. Именно они обеспечивают существование возбудителя как биологического вида и вызывают эпизодическое заражение человека, тогда как роль человека биологически недетерминирована и несущественна для паразита. Зоонозы делятся на две эколого-эпидемиологические группы: болезни домашних (сельскохозяйственных, пушных, домашних) и синантропных (в основном, грызуны) животных; болезни диких животных.

При сапронозах основной резервуар возбудителя – субстраты внешней среды (почва, вода и др.), которые способны сами по себе обеспечить устойчивое его существование в природе. Для возбудителей типичных сап-ронозов внешняя среда служит практически единственной или основной средой обитания возбудителя. Другие сапронозы представляют длинный и плавный переход к зоонозным инфекциям, в ходе которых постепенно возрастает роль животных как резервуара возбудителя. Их называют сапрозоонозами.

Классификация сапронозов по механизму передачи невозможна. Человек и теплокровные животные являются биологическим «тупиком» для возбудителя, поэтому закономерной цепной передачи его от особи к особи не существует. Эпидемический процесс носит качественно иной – веерообразный – характер, будучи представлен независимыми заражениями людей от общего резервуара – субстратов внешней среды. С эпидемиологических позиций сапронозы подразделяются по природным резервуарам на почвенные и водные.

«Чистые» сапронозы – природно-очаговые заболевания: их возбудители являются компонентами естественных наземных или водных экосистем. Доказано автономное существование легионелл в природных водоемах; клостридий и грибов – возбудителей глубоких микозов в почве.

Таблица 9.2.

Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней

Классы инфекционных болезней	**Группы внутри классов**	**Основной резервуар возбудителя**	**Репрезентативные болезни**
Антропонозы	Кишечные Респираторные Кровяные Наружных покровов «Вертикальные»	Человек	Брюшной тиф, гепатит А, полиомиелит, корь, краснуха, дифтерия, паротит, ветряная оспа, сыпной тиф, возвратный тиф вшивый, сифилис, гонорея и др.
	Домашних и синантропных животных		Бруцеллез, ящур, Ку-лихорадка, орнитоз, трихофития и др.
Зоонозы	Диких животных (природно-очаговые)	Животные	Туляремия, клещевой риккетсиоз, клещевые боррелиозы, арбовирусные инфекции, обезьянья оспа бешенство, лихорадка Ласа и др.
	Почвенные	Почва	Клостридиозы, актиномикоз, аспергиллез, гистоплазмоз, бластомикоз, кокцидиоидомикоз и др.
Сапронозы	Водные	Вода	Легионеллез, холера, мелиоидоз, НАГ-инфекция и др.
	Зоофильные (сапрозоонозы)	Внешняя среда + животные	Сибирская язва, лептоспирозы, иерсинеозы, листериоз, столбняк и др.

Сапрозоонозы – болезни, возбудители которых, помимо сапрофитического существования, ведут паразитический образ жизни, причем, связи их с животными закономерны, хотя подчас и неспецифичны (широкий круг различных хозяев). Эта группа инфекций экологически близка к зоонозам, отличаясь, однако, возможностью длительного автономного обитания возбудителей во внешней среде. Заражение человека возможно как от почвы, воды, растительных субстратов, так и от животных.

Понятие о конвенционных (карантинных) и особо опасных инфекциях

Настоящее время характеризуется бурным ростом международных связей. Активации межгосударственной миграции населения в значительной степени способствует развитие современных транспортных средств. Попытки предотвращения распространения инфекционных болезней путем установления разного рода карантинов известны с XIV в. Накопленный опыт международных мер по предупреждению распространения карантинных инфекций позволил прийти к принципиальному выводу: без наличия быстрой и централизованной системы обмена эпидемиологической информацией между государствами невозможно своевременно принять соответствующие меры национальной и международной безопасности.

Конвенционная (карантинная) болезнь – это болезнь, система информации и меры профилактики которой обусловлены международными соглашениями (конвенцией).

1 октября 1952 г. вступили в действие Международные медико-санитарные правила, которые касались чумы, холеры, желтой лихорадки и натуральной оспы. Основная цель этих Правил заключалась в обеспечении противоэпидемической защиты государств от заноса инфекций. Правила обязывают национальные органы здравоохранения немедленно уведомлять ВОЗ о возникновении карантинных болезней и регулярно сообщать об эпидемиологической ситуации в стране. В свою очередь, на ВОЗ возлагается ответственность за быстрое распространение получаемой информации. При возникновении в любой точке планеты случаев карантинных инфекций, вступает в силу, согласно Правилам, следующая система:

1) страна направляет в ВОЗ информацию о возникших случаях;

2) ВОЗ обрабатывает данные и направляет их всем странам мира;

3) страны мира, получив информацию, принимают решение относительно проведения каких-либо особых противоэпидемических мероприятий и информируют об этом ВОЗ;

4) ВОЗ обрабатывает полученную информацию и направляет ее всем странам мира.

Аналогичным образом осуществляется обмен информацией после ликвидации случаев заболевания в пораженном районе. Главным каналом передачи информации является еженедельный эпидемиологический бюллетень «Weekly epidemiology review» (WER), а также автоматическая телексная связь накопления и передачи информации, по которой распространяется дневная сводка по карантинным болезням.

Наиболее эффективный контроль за международным распространением инфекционных болезней может быть основан на постоянно действующей системе глобального эпидемиологического надзора, направленного, с одной стороны, на выявление и уменьшение размеров пораженных болезнью территорий, а с другой – на совершенствование противоэпидемических мероприятий, снижающих риск распространения заболевания в случае его завоза из вне. Глобальный эпидемиологический надзор за заразными болезнями предусматривает изучение распространения инфекции не только в пределах одной страны, но и циркуляцию ее между странами. В России действуют Правила по санитарной охране территории, которые распространяются на особо опасные инфекционные и паразитарные

болезни: холеру, чуму, желтую лихорадку (карантинные болезни); вирусные геморрагические лихорадки Ласса, Марбург и Эбола; малярию и другие опасные для человека инфекционные болезни, передаваемые комарами (лихорадки денге, Чинкунгунья, Рифт-валли, Западного Нила; энцефаломиелиты – западный, восточный, венесуэльский; энцефалиты – японский, калифорнийский, Сан-Луи, долины Муррей). Санитарная охрана территории России представляет собой систему общегосударственных мероприятий, направленных на предотвращение заноса из-за рубежа и распространения на территории России особо опасных инфекций, ограничение и ликвидацию очагов этих болезней при их выявлении.

9.2. История становления противочумной службы Узбекистана и её вклад в борьбу с карантинными и особо опасными инфекциями

Становление противочумной службы Узбекистана имеет свою многолетнюю историю. Она создавалась по мере необходимости проведения комплекса санитарно-профилактических мероприятий по борьбе с чумой, изучения эпизоотологии и эпидемиологии этой инфекции, а также методов лечения и профилактики этой грозной болезни.

Для решения проблем, связанных с чумой, в прошлом веке, на территории СССР, были созданы шесть крупных противочумных институтов: в Саратове, Ростове, Ставрополе, Иркутске, Алма-Ате и Волгограде, которые курировали всю энзоотичную по чуме территорию бывшего Советского Союза.

Первые достоверные данные о чуме в Узбекистане относятся к 1923-24 годам, когда в Каракалпакских Кызылкумах неожиданно возникла вспышка чумы среди людей, в 30 км южнее города Турткуль в аулах Ак-Камыш и Мискен (из 124 заболевших умерло 110 человек). В апреле 1924 года чумной характер эпидемии был подтвержден бактериологически. А при эпизоотологическом обследовании территории в районе поселка Ак-Камыш от больших песчанок были впервые выделены культуры чумного микроба. Таким образом, ещё в 1924 году было доказано, что пески Кызылкумов, которые в районе Ак-Камыш вдаются в культурную зону, энзоотичны по чуме и что носителем чумы является большая песчанка. Высокая смертность людей в эту вспышку, (достигшая 88,7%), была связана, в первую очередь, с отсутствием медицинских учреждений. Кроме того, не было противочумной службы, население не имело представления о чуме, о существовании природных очагов, носителях и переносчиках, мерах профилактики и т.д. Ак-Камышская вспышка послужила началом организации на территории Каракалпакии противочумной службы.

В связи с этими событиями, Приказом № 126 от 08.04.1925 г. Всесоюзного НИ Противочумного Института «Микроб» МЗ ССР в посёлке Турткуль, была открыта противочумная лаборатория, в составе 1 врача и 1 лаборанта.

В 1934 году постановлением Совета Народных Комиссаров СССР лаборатория была преобразована в противочумный пункт (со штатом в 16 человек), первым начальником которой была Мавлютова Т.О.

Спустя 23 года были зарегистрированы вспышки чумы в северо-восточной части Каракалпакской АССР в Тахтакупырском, Чимбайском и Муйнакском (на острове Тазбескум) районах. Заболевания были зарегистрированы в Тахтакупырском районе и только после смерти 9 человек, была начата госпитализация больных под разными диагнозами: сыпной тиф, сибирская язва, малярия. Министерству Здравоохранения Каракалпакии об этих заболеваниях стало известно только через месяц после начала вспышки, а с приездом медработников из города Нукуса, были высказаны подозрения на чуму. Вспышка

чумы в Каракалпакии в 1947 году для медработников была полной неожиданностью, к которой они не были готовы.

С приездом специалистов противочумной службы СССР начали проводиться противоэпидемические мероприятия. В Тахтакупырской больнице был открыт чумной госпиталь, организован изолятор для контактных больных. В местах, где протекали заболевания, был установлен карантин. При чумном госпитале были организованы 2 бактериологические лаборатории.

В связи с крайне неблагополучной обстановкой по чуме, в Нукусе приказом МЗ СССР от 03.06.1949 г., была организована Нукусская противочумная станция (со штатом 106 человек), имевшая 2 отделения: в Турткуле и Тахтакупыре. Первым начальником Нукусской противочумной станции стал Греков П.А., проработавший там до 1965 г. Затем станцию поочередно возглавляли: Островский И.Б. (1965-68гг.); Петров Л.Н. (1969-75 гг.); Байжанов Т.Б. (1975-76 гг.); Толегенов Ж.К. (1976-83 гг.); Кенжебаев А.Я. (1983-2003 гг.) и Баймуратов М.М. (2003-по настоящее время). Тахтакупырское отделение возглавил Прохоров Л.С., а Турткульское – Мавлютова Т.О.

В 1943 году в Узбекистане в городе Ташкенте по инициативе Всесоюзного НИ Противочумного Института «Микроб» МЗ ССР Приказом № 960-151 Народного Комиссариата Уз ССР была открыта городская противочумная наблюдательная станция, которая ограничивала свою деятельность чертой города Ташкента. Она явилась как бы прообразом противочумной системы Узбекистана. Первым начальником станции была Тимофеева М.Е.

В 1950 году приказом № 346-л МЗ СССР, наблюдательная станция была реорганизована в территориальную противочумную станцию, получившую название Узбекской противочумной станции. Первым начальником станции был Усов Я.А., и состояла станция из 1 лаборатории.

Первоначально станция не располагала необходимыми кадрами, транспортом, должным оснащением, чтобы своими силами выполнять эпизоотологическую разведку и проводить комплекс санитарно-профилактических работ на обширной территории Центральных Кызылкумов, где в это время эпизоотологическая и эпидемиологическая обстановка была крайне напряженной. Это заставило станцию ежегодно приглашать специалистов из других противочумных учреждений (Московской, Киевской, Ленинградской, Новороссийской наблюдательных станций, Среднеазиатского противочумного Института, Сталинградской и Туркменской ПЧС).

Так продолжалось до 1954 года включительно. В 1954 году в г. Бухаре было открыто Бухарское противочумное отделение. Первым начальником отделения стал Козидо М.С., возглавлявший отделение до 1961 года. Затем отделение возглавляли: Бочкарёв В.М. (1961-66 гг.); Хайдаров Т.Б., Грошев В.И., Беломестных Л.В., Саттаров Ф.С., Хасенов А.Х., Темуров Б.Т. (2001-2007гг) и с 2007 года по настоящее время отделение возглавляет Хасенова М.Р.

В песках Кызылкумов на энзоотичной территории были построены стационарные базы эпидотрядов, которые являлись надежными пунктами при обследовательских и исследовательских работах. 4 благоустроенные стационарные базы эпидотрядов (г. Учкудук, поселки Тамды, Баймен и Памук) были оснащены всем необходимым для работы и быта сотрудников. На базе Учкудук в 1970 году была построена экспериментальная лаборатория.

Ещё в 1880 году была начата прокладка первой колеи железной дороги в Средней Азии, а в 1899 году дорога дошла до Ташкента. С тех пор непрерывно продолжалось и продолжается строительство новых железнодорожных веток. Все они, в основном, прохо-

дили по территории Среднеазиатского пустынного очага чумы. Увеличивалась протяженность дорог, перевозки хозяйственных грузов, рос поток пассажиров в пределах и за пределы природного очага, повышая его эпидемиологический потенциал. Многочисленные эпидемические вспышки в различных районах Средней Азии и реальная угроза заражения чумой людей, обслуживающих железные дороги и проживающих на энзоотичной по чуме территории, обусловили необходимость создания специализированных учреждений, которые занимались бы вопросами профилактики чумы на железной дороге.

Специальным распоряжением Совета Министров СССР в 1949 году на Ташкентской и Ашхабадской железных дорогах были организованы противочумные передвижные вагоны-лаборатории. В 1950 году вагон-лаборатория на Ташкентской железной дороге была преобразована в Среднеазиатскую железнодорожную противочумную станцию (со штатом в 18 человек).

До 1963 года на территории Средней Азии было несколько самостоятельных железных дорог, а в 1963 году была образована единая Среднеазиатская железная дорога с единой противочумной службой в Ташкенте. Начальниками Среднеазиатской железнодорожной противочумной станции работали: Арутюнов А.А. (1947-73 гг.); Ахмедов Э.Г. (1973-97 гг.); Болтабаев У.Б. (1997-98 гг.), Полетаева Ф.М. (1998-2006 гг.) и с 2006 г. по настоящее время – Раджабов Ш.И.

В 50-е годы перед УзПЧС стояла задача эпизоотологического изучения территории площадью более 30 млн. га и проведения профилактических противочумных мероприятий на территориях, практически совершенно не изученных, как возможные природные очаги чумы.

К этому времени было известно лишь, что на севере Узбекистана в пределах Каракалпакских Кызылкумов были эпидемии чумы в 1924 году и, что здесь в 1948-49 гг. стали регистрироваться эпизоотии чумы на больших песчанках, поэтому первые противоэпидемические отряды направлялись в различные районы Узбекистана. Они работали на крайнем севере Бухарской области (Кулкудук) и на крайнем юге Республики (Термез), на западе (Джангельды и Каракуль) и на востоке (Шаульдер, Чардара и Фергана).

Уже в первое десятилетие существования УзПЧС все пустынные районы Бухарских и Южно-Казахстанских Кызылкумов, Каршинская степь и пески Сундукли, пустынные и нагорные участки Сурхандарьинской области неоднократно обследовались противоэпидемическими отрядами или зоолого-паразитологическими рекогносцировочными группами. Большая часть обследований была проведена в Кызылкумах, как наиболее угрожаемом участке в эпизоотологическом и эпидемиологическом отношениях.

Вместе с ростом штатов и материального оснащения станции, увеличилось число выставляемых ею эпидотрядов. В процессе работы этих эпидотрядов и групп накапливался материал по видовому составу, численности, стационарной приуроченности и другим вопросам экологии грызунов – носителей чумы, по отдельным вопросам экологии их эктопаразитов (блох и клещей). Вместе с тем, накапливались материалы, характеризующие течение чумных эпизоотий на от-



Рис 9.1. Лабораторная группа противочумного эпидотряда

дельных участках той обширной территории, которая была приписана Узбекской противочумной станции. Постепенно обследование и изучение потенциально энзоотичных земель приобретали системность, большую направленность, накопленные материалы обобщались в виде отдельных работ или сообщений, большинство которых были опубликованы в закрытой печати.

Первоначально число сезонных отрядов не превышало 4-6 (1951-53 гг.), затем увеличилось до 8-9 (1954-57 гг.). Начиная с 1958 года по 1972 год, станция ежегодно выставляла уже 10-11 противоэпидемических отрядов. С 1973 по 1990 гг. по эпизоотологическому обследованию территории ежегодно работали 10-12 эпидотрядов, а с 1998 года, ежегодно выставляет до 43 сезонных отрядов и рекогносцировочных групп. Соответственно увеличились и территории, обследуемые на чуму и проведение на них комплекса санитарно-профилактических мероприятий.

В 1951-54 гг. была выявлена интенсивная эпизоотия чумы в Центральных Кызылкумах. Установлены границы эпизоотии, изучены основные закономерности эпизоотических процессов и проведен большой комплекс профилактических работ, обеспечивший эпидемиологическое благополучие по чуме в Узбекистане. Изучался видовой состав грызунов и их эктопаразитов.

В 1954-56 гг. и в 1959 г. станция апробировала авиационный метод борьбы с песчанками с помощью самолета АН-2, в сравнении с наземным методом обработок, позволивший в последующем усовершенствовать методы обследования и профилактики чумы в Узбекистане.

В 60-е годы отмечалась новая активизация природного очага чумы в Кызылкумах. Чрезвычайно интенсивные эпизоотии с 1963 до 1968 год охватывали северные и восточные Кызылкумы, представляя угрозу для населения животноводческих хозяйств Бухарской и др. областей. В этот период УзПЧС проводила обследования с помощью подвижных эпидотрядов с лабораториями – палатками, что позволило проникнуть в самые труднодоступные песчаные массивы.

Примененный метод ускоренного эпизоотологического обследования на чуму в условиях Кызылкумов, с помощью сбора и исследования норовых эктопаразитов, позволил эффективнее выявлять эпизоотии чумы и устанавливать их границы. Большое внимание уделялось изучению характера эпизоотических процессов в Кызылкумах, поиску мест длительного существования чумы. В практику обследования был внедрен серологический метод. Под методическим руководством Среднеазиатского Противочумного Института проводилось изучение свойств штаммов возбудителя чумы, выделенных в Кызылкумах, а также продолжалось изучение биологических особенностей и экологии грызунов и эктопаразитов.

На основании материалов многолетнего изучения была предложена схема ландшафтно-экологического и эпизоотологического районирования Кызылкумов, которая легла в основу принципов эпизоотологического обследования и эпидемиологического наблюдения, проводимых станцией в дальнейшем.

В 70-е годы отмечалась дальнейшая активизация эпизоотических процессов в Центральных Кызылкумах. Эпизоотии разной интенсивности и остроты, от локальных до охватывающих 3-8 млн. га.. протекали здесь с 1970 по 1975 годы.

Накопив значительный опыт полевого обследования и достаточно изучив территорию, станция переменила тактику работы. Было проведено объединение отдельных эпидотрядов на общих базах в Центральных Кызылкумах (г. Учкудук, пос. Тамды) или отряды работали самостоятельно на стационарных базах (пос. Утимурат, г. Газли). Это позволило оснастить лаборатории баз электрическим оборудованием, значительно улуч-

шить качество исследования полевого материала, развернуть экспериментальные исследования.

Также, станция уделяла особое внимание эпизоотологическому обследованию горных районов Узбекистана, выставляя эпидотряды в отроги Западного Тянь-Шаня и Северного Памира. Для эпизоотологического обследования широко использовались машины высокой проходимости, автобаклаборатория, самолеты и вертолеты.

В первые два десятилетия существования станция проводила истребительные работы против большой песчанки на ограниченных территориях (10-15 тыс.га) в плане экстренной профилактики чумы или для создания защитных зон против лейшманиоза по границе с Бухарским оазисом и в районе Голодной степи вокруг города Янги-Ер. В 1954-59 гг. истребительные работы были проведены на значительно больших площадях авиационным методом. Начиная с 1970 года, станция ежегодно планово обрабатывала против большой песчанки 50 тыс. га и 10 тыс. га против блох. Истребительные работы против носителей и переносчиков чумы, в последние десятилетия, проведены в Центральных и Южных Кызылкумах, с целью создания защитных зон вокруг густо населенных районов и промышленных центров. Все работы выполнены наземным методом с эффективностью 93,5-98,5%. Наряду с истребительными работами в поле, станция большое внимание уделяла дератизации и дезинсекции в населенных пунктах, расположенных в Кызылкумах, в районах освоения Голодной степи, в Бухарско-Каракульском оазисе.

С момента организации станции, противохолерные мероприятия проводились наряду с санитарной охраной территории Республики. В 50-е годы и в начале 60-х годов эта работа ограничивалась подготовкой ряда бактериологических лабораторий Ташкента, Термеза и Денау к проведению массовых анализов на холеру; изучением вибрионного пейзажа открытых водоемов гг. Ташкента, Термеза и Бухары; исследованием материала от больных с явлениями гастроэнтеритов (выполняемых в периоды «холерной угрозы» из сопредельных стран); организацией и контролем выполнения противохолерных прививок населению пограничных районов Республики и некоторых других контингентов; подготовкой медицинских работников.

Объем противохолерных мероприятий резко возрос, начиная с 1965 года. Увеличилось количество бактериологических исследований, расширился перечень объектов, подлежащих обследованию, значительно расширилась сеть специальных бактериологических лабораторий по диагностике вибрионной флоры. Специалисты станции принимали активное участие в комплексе противохолерных мероприятий 1965 года, в период седь-



Чиченина Зоя Михайловна со своими колегами



Матвеева Ольга Григорьевна

мой пандемии холеры. Холерная лаборатория станции была единственным учреждением, занимавшимся идентификацией культур вибрионов, выделяемых всеми лабораториями особо опасных инфекций Республики.

Помимо большой практической работы по профилактике холеры, специалистами станции выполнены значительные научно-практические исследования по теоретическому обоснованию механизмов укоренения вибрионов эльтор на территории Республики, улучшению методов лабораторных исследований, изучению роли внешней среды в циркуляции холерных вибрионов.

Впервые, на большом фактическом материале была доказана зараженность гидробионтов возбудителем холеры и сделаны первые попытки теоретического обоснования этого явления. Уникальны работы по обследованию различных видов птиц и их роли в очаговости холеры. Оригинальными полевыми и экспериментальными наблюдениями изучались и изучаются многие вопросы экологии возбудителя холеры.

Наряду с выполнением работ противочумного и противохолерного профиля, станция активно участвовала в ряде мероприятий, направленных на предотвращение возникновения и распространения других карантинных и особо опасных инфекций.

С 1955 года станция сотрудничала с республиканскими и местными органами здравоохранения в деле профилактики и борьбы с бруцеллезом в неблагополучных по этой инфекции хозяйствах Бухарской, Кашкадарьинской и Ташкентской областей. Работа по бруцеллезу заключалась в организации и проведении противобруцеллезных прививок, выявлении больных и эпидобследовании очагов, в лабораторных исследованиях материала и осуществлении мер профилактики и борьбы с бруцеллезом.

С момента организации станция периодически участвовала в профилактике и борьбе с сибирской язвой в областях Республики, в противоэпидемической работе и бактериологической диагностике этого зооноза.

С 1958 года станция активно сотрудничала с Узбекским Институтом малярии и медицинской паразитологии, с Бухарской, Кашкадарьинской и Ташкентской областными СЭС, по вопросам борьбы с кожным остронекротизирующимся лейшманиозом, очаги которого существовали в Каршинском, Бухарском, Каракульском оазисах и в Голодной степи. Станция занималась эпизоотологическим обследованием очагов кожного лейшманиоза и проведением истребительных работ против грызунов.

С 1978 года станция планово приступила к исследованию грызунов и кровососущих насекомых поймы реки Сыр-Дарьи на туляремию.



Руденко Святослав Никифорович

Противочумные мероприятия осуществлялись силами высококвалифицированных специалистов: врачей, биологов, лаборантов, среди которых были доктора и кандидаты наук, специалисты и лаборанты высшей категории (Сало Р.К., Борисовская Л.Г., Бреер Л.И., Набиева Э., Привалов В.К., Данилова К.Я., Данилов А.И., Алейникова А.Ф., Раджапов Т.Р., Дятлов А.И., Митропольский О.В., Степанова Н.А., Бочкарёв В.М., Шестакова Л.И., Островская Н.М., Милоградова Л.В., Инжеватова М.В., Чиченина З.М., Абдуллаев Б., Кузнецов О.В., Кустов И.Г., Войтенко А.М., Козлов И.А., Автайкин Г.Ф., Минегулова Д., Колупаева Т., Мельников И.Ф., Мельникова В.И., Глухова Г.П., Елисеева Ф.В., Курмаева Н.К., Ташходжаев С.М., Руденко Р.Д., Руденко С.Н., Сар-

жинский В.А., Урманов Р.А., Третьяков Г.П., Абдуллаев А., Ривкус Ю.З., Мухаммедов С.М., Иногамова И.А., Островский И.Б., Курочкин Н.Я. и многие другие).

Возглавляли Уз ПЧС: Мухаммедов С.М. (1963–77 гг.), Хакимов М.М.(1977-98 гг.), Неъматов А.С. (1998 – по настоящее время).



Мухаммедов С.М. (1963–77 гг.)

В 1982 году Приказом МЗ РУз № 804 от 11.08. было открыто Зарафшанское отделение Уз ПЧС, (передислоцированное в г. Зарафшан из посёлка Тамды, где оно базировалось с 1981 г.). Первым начальником отделения был с 1982 по 1985 год Краснощёков А.С., а затем отделение возглавляли: Джумабаев А.Д., Икматов А.И.. С 1999 года – Хасанов Р.У., являющийся начальником отделения в настоящее время.

Станция плодотворно сотрудничала с научно-исследовательскими противочумными Институтами (Саратов, Алма-Ата, Ростов, Ставрополь, Иркутск, Волгоград). Проводились совместные симпозиумы и конференции.

Достаточно мощная противочумная служба в Узбекистане обеспечивала постоянный эпизоотологический и эпидемиологический надзор за обширными территориями природных очагов чумы, осуществляла эффективную профилактику чумы среди населения. Своевременная локализация и ликвидация возникающих очагов способствовала предотвращению распространения инфекции. Благодаря этому заболеваемость чумой людей, за последние 50 лет, выражалась единичными случаями со значительными временными промежутками (1966, 1972, 1981, 1990, 1999 гг.).

Реальную угрозу эпидемиологическому благополучию Узбекистана по чуме представляют не только местные природные очаги этой инфекции. С учетом широких международных связей нашего государства, существует риск завоза чумы и из эндемичных стран.

Активное хозяйственное освоение природно-очаговых территорий Республики, а также возможность проникновения чумы из-за рубежа потребовали новых подходов к эпиднадзору за чумой, разработки и внедрению более экономичных и вместе с тем, достаточно информативных его методов.

После распада Советского Союза в 1991 году противочумная служба Узбекистана, как и в других суверенных Республиках СНГ, стала работать в автономном режиме.

Правительство Республики Узбекистан и Министерство здравоохранения, зная эпидемиологическую обстановку по чуме и другим, карантинным и особо опасным инфекциям, сохранили структуру и штаты противочумной службы.

В 1999 году вышел Указ Президента Республики Узбекистан «О Государственной программе реформирования системы здравоохранения Республики Узбекистан» (№ УП-2107 , 10.11.1998 г.).

В целях реализации данного Указа, а также, согласно Приложения № 5 Приказа МЗ РУз № 710 от 02.12.1999 г. на базе Узбекской противочумной станции, Ташкентской железнодорожной противочумной станции, Каракалпакской противочумной станции был организован единый Центр профилактики карантинных и особо опасных инфекций Министерства здравоохранения Республики Узбекистан (ЦПК ООИ МЗ РУз). Директором Центра в 1999 г. стал д.м.н., профессор А.С.Неъматов, возглавляющий его и в настоящее время.

Со времени реорганизации службы, в связи с необходимостью расширенного проведения эпизоотологического и эпидемиологического надзора за карантинными и особо опасными инфекциями природно-очаговых территорий Республики Узбекистан, структура Центра была дополнена новыми подразделениями.



Рис 9.2. Места дислокации подразделений ЦПК ОИИ МЗ РУз на территории Республики Узбекистан.

В 1999 году Приказом Минздрава Республики Узбекистан № 609 было открыто Сурхандарьинское отделение ЦПК ООИ МЗ РУз (в г. Денау), начальником которого является Бутаев Р.Д.

На территории Устюртского природного очага чумы в пос. Жаслык Кунградского района Республики Каракалпакстан, Приказом МЗ РУз № 62 от 12.02.2003 г. было открыто Жаслыкское отделение Каракалпакского Филиала ЦПК ООИ МЗ РУз. Начальником данного отделения был с 2003 по 2007 гг. Примбетов А.А., а с 2007 г. по настоящее время – Ерпулатов А.У.

В 2004 году Приказом МЗ РУз № 536 от 07.12. в г. Янги-Маргилан открыт Ферганский Филиал ЦПК ООИ МЗ РУз, обслуживающий обширную территорию Андижанской, Наманганской и Ферганской областей Республики. Начальником Филиала является Жуманов С.Ж.

ЦПК ООИ МЗ РУз является структурным подразделением Главного Управления санитарно-эпидемиологического надзора Минздрава Республики Узбекистан и занимается вопросами профилактики карантинных (чума, холера, желтая лихорадка) и особо опасных (туляремия, бруцеллез, сибирская язва, сап, мелиоидоз, особо опасные вирусные лихорадки, риккетсиоз и др.) инфекций, с проведением научных исследований по изучению природной очаговости, краевых особенностей, эпизоотологии, эпидемиологии и бактериологии этих инфекций, а также вопросами совершенствования методов лабораторной диагностики и профилактики.

Центр имеет в своем составе: лабораторию эпидемиологии и бактериологии чумы, лабораторию эпидемиологии и бактериологии холеры (региональную диагностическую

лабораторию), лабораторию национальной коллекции бактерий возбудителей I-II групп инфекций, лабораторию особо опасных вирусных лихорадок, зоопаразитологическую лабораторию, организационно-методический отдел, отдел приготовления питательных сред, виварий лабораторных животных, гараж спец. автотранспорта и административную часть.

В период с 2003 по 2006 гг. в Центре была проведена реконструкция лабораторий, с повышением уровня их физзащиты и биобезопасности, с оснащением их современным лабораторным оборудованием, отвечающим требованиям международных стандартов. В практику работы внедрены современные методы эпизоотологического мониторинга (Геоинформационная система – ГИС технологии) и лабораторной диагностики (методы полимеразноцепной реакции – ПЦР, иммуноферментного анализа – ИФА, кристаллография, определение эпидемической значимости холерных вибрионов с применением холерных бактериофагов ctx+ и ctx-).

ЦПК ООИ МЗ РУз плодотворно сотрудничает с научно-исследовательскими институтами и учреждениями соответствующего профиля в Республике Узбекистан. А также, с учреждениями и организациями стран как ближнего, так и дальнего зарубежья: Казахским Научным Центром карантинных и зоонозных инфекций им. М.Айкимбаева; НИИ Проблем биологической безопасности НЦБ МОН Республики Казахстан; Противочумным Центром Российской Федерации; Ростовским-на-Дону Государственным НИ Противочумным Институтом; Государственным Научным Центром вирусологии и биотехнологии «Вектор».

ЧАСТЬ II. УЧЕНИЕ ОБ ИММУНИТЕТЕ

ГЛАВА 10. ВВЕДЕНИЕ В ИММУНОЛОГИЮ

Иммунология, одна из направлений, которая определяет развитие современной медицины. Она формировалась в течение 200 лет, однако, основные открытия в этой области были сделаны последние 50-60 лет. За это короткое время определились многие функции иммунной системы и было доказано то, что понятие классической иммунологии не полностью отражает всю многогранность задач иммунитета. Классическая иммунология была одной из частей микробиологии, поэтому под иммунитетом понималась только защита организма от патогенных микроорганизмов.

С середины XX века формировался иной взгляд на иммунитет. Исследования доказали, что иммунная система не только защищает от внешних инфекционных факторов, но и защищает от внутренних факторов, которые нарушают внутренний гомеостаз организма.

Для защиты от антигенов эволюция создала у теплокровных да и у низших представителей живой природы специальную систему противодействия им. У теплокровных организмов эта система достигла своего совершенства. Эта система получила название иммунной, а ее функция защиты от антигенов именуется иммунитетом.

Таким образом, иммунитет (лат. immunitas, immunitatus – освобождение от чего-либо, неприкосновенность) – это способ защиты организма от генетически чужеродных веществ – антигенов экзогенного и эндогенного происхождения, направленный на поддержание и сохранение гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма, биологической (антигенной) индивидуальности каждого организма и вида в целом. Этот термин был заимствован из латинского языка, где слово immunitas употреблялось как политический термин, означающий неприкосновенность кого-либо, нераспространение на него общепринятых правил (этот термин используется в области дипломатии и в настоящее время). Биологический смысл термина «иммунитет» очень точно соответствует смысловому значению тех процессов, которые направлены на защиту, неприкосновенность, освобождение организма от биологически активных веществ – антигенов. Следует подчеркнуть, что антигенами, в первую очередь, могут быть только вещества, генетически чужеродные для данного организма, т.е. генетически, структурно отличающиеся от биополимеров, входящих в структуры данного организма. Мир антигенов чрезвычайно разнообразен и многочислен. Антигены могут проникать в организм через дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, кожу и слизистые оболочки (экзогенные антигены) или формироваться в результате мутаций клеток и молекул или патологических процессов в самом организме (эндогенные антигены).

Основная функция иммунной системы – распознать антиген, т.е. установить его генетическую чужеродность, генетическое отличие от собственных антигенов и комплексом реакций и механизмов, присущих иммунной системе, устранить его влияние на биологические процессы, протекающие в организме, с целью сохранения целостности гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма, а также сохранить специфическую память об этом антигене, иногда на всю жизнь.

Помимо этого, иммунная система охраняет и поддерживает антигенную индивидуальность собственных биополимеров организма, поскольку каждый человек (кроме одноя-

цовых близнецов) имеет присущие только ему генетически детерминированные антигенные особенности биополимеров. В случае возникновения антигенно отличных молекул или клеток, иммунная система распознает их и уничтожает.

Иммунология как наука занимается задачами иммунитета. В настоящее время, она отделилась от микробиологии и являясь отдельным направлением медицины, развивается бурными темпами.

Классифицируют инфекционную и неинфекционную иммунологию: инфекционная иммунология изучает устойчивость организма к инфекционным заболеваниям, развитие клеточных и гуморальных факторов защиты, молекулярное строение антител и их биосинтез, функции лимфоцитов и макрофагов и т.д. Наряду с этим, она занимается усовершенствованием лабораторной диагностики, методов лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

Неинфекционная иммунология занимается иммуногенетикой (определение функции и расположение генов контролирующих иммунные реакции, передача этих генов в наследство, изучение человеческих лейкоцитарных антигенов, поиск наследственных маркеров иммунозависимых заболеваний), иммуногематология (изучение заболеваний крови), трансплантационная иммунология (изучение видоспецифических антигенов, пересадка органов и тканей), иммунопатология (изучение врожденных и приобретенных заболеваний, связанных с иммунной системой), эмбриоиммунология (изучение развития плода, чужеродного для материнского организма), иммуногистология (изучение гистологии органов и тканей иммунной системы), иммуннодиагностика (постановка диагноза с помощью иммунологических методов), иммунотерапия (лечение с помощью иммунных факторов), иммунопрофилактика (создание иммунитета разными способами), экологическая иммунология (изучение климатогеографических, социальных, профессиональных и экологических факторов на иммунную систему), иммунофармакология (изучает влияние на иммунные процессы лекарственных веществ). В последние годы в результате интеграции иммунологии и биотехнологии, возникла иммуно-биотехнология, разрабатывающая принципы и методы создания «химически» чистых иммунобиологических диагностических, профилактических и лечебных препаратов.

Основоположниками научной иммунологии, по праву, считаются французский ученый-химик Луи Пастер, открывший принцип вакцинации, русский ученый-зоолог И. И. Мечников – автор учения о фагоцитозе и немецкий врач-биохимик Пауль Эрлих, сформулировавший гипотезу об антителах.

Таким образом, на рубеже XIX и XX вв. сформировалась новая наука иммунология, которая в течение XX в. ознаменовалась принципиальными открытиями, сделавшими ее общебиологической и общемедицинской наукой. О важности открытий в иммунологии для биологии в целом и, особенно для медицины, свидетельствует то обстоятельство, что авторы многих из них отмечены Нобелевской премией. Так, лауреатами Нобелевской премии в области иммунологии стали: И. И. Мечников, П. Эрлих, Р. Кох, Э. Беринг, Ж. Борде, К. Ландштейнер, Ш. Рише, Д. Снелл, Н. Ерне, Ф. Бернет, П. Медовар, Р. Портер, Д. Эдельман, Ж. Доссе, У. Мильштейн, Д. Келлер, С. Тонегава, С. Прусинер и др. Основоположник иммунологии Л. Пастер, который вполне достоин Нобелевской премии, не получил ее, поскольку при его жизни она еще не была учреждена.

Иммунология за сравнительно короткий исторический период добилась существенных результатов в снижении и ликвидации болезней человека, сохранении и поддержании здоровья населения нашей планеты.

Значительные успехи достигнуты в области профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней:

– благодаря вакцинации ликвидирована натуральная оспа на земном шаре, в ближайшее время будет ликвидирован полиомиелит, снижается заболеваемость корью, коклюшем, дифтерией, столбняком, паротитом, туляремией, сибирской язвой, бруцеллезом вирусным гепатитом В и другими инфекциями;

– внедрена в медицинскую практику иммуннодиагностика практически всех инфекционных болезней, в том числе, таких опасных, как ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты, чума, холера и др.;

– для лечения многих инфекционных болезней применяются иммуномодуляторы (интерферон, пептиды тимуса, интерлейкины, адъюванты и др.), а также специфические иммуноглобулины (особенно, при токсинемических инфекциях, ботулизме, столбняке, газовой гангрене);

В области онкологии – установлены антигены опухолей человека и на их основе разработаны способы дифференциальной диагностики опухолей; широко применяются в онкологии для лечения и профилактики в комплексе с другими традиционными способами иммуномодуляторы (интерлейкины, интерфероны, фактор некроза опухолей и др.), а также адаптогены.

В области трансплантологии – благодаря прогрессу в изучении антигенов гистосовместимости, явлений толерантности и применения иммуннодепрессантов значительно снижен риск отторжения трансплантатов при пересадках сердца, почек и других органов, а также тканей.

В результате установления иммунологически совместимых групп крови, решена проблема переливания крови.

Изучение иммунных взаимоотношений между матерью и плодом на всех стадиях репродукции позволило разработать иммунологические методы выявления причин бесплодия, аномалий в развитии плода, заболеваний и осложнений в здоровье ребенка и матери. В частности, решена проблема иммунологической диагностики резус-гемолитической болезни новорожденных.

Установлены причины и иммунные механизмы поражения многих внутренних органов (печени, сердца, легких и др.), что открыло новые возможности для диагностики и лечения таких поражений.

Установлен комплекс параметров, характеризующих состояние иммунной системы (иммунный статус), в результате чего, стало возможным выявление врожденных и приобретенных иммунодефицитов; влияние на иммунную систему экологических, социальных, профессиональных и других факторов послужило основанием для разработки патогномоничной иммунотерапии многих болезней.

Значительный прогресс достигнут в выявлении причин и механизмов аллергических состояний, в разработке способов лечения и профилактики аллергий. Разработана большая группа иммунобиологических препаратов, которая используется для профилактики, лечения и диагностики как инфекционных, так и неинфекционных заболеваний (вакцины, анатоксины, иммуноглобулины, иммуномодуляторы, цитокины, адаптогены, диагностикумы). Намечены пути и методы генодиагностики и генотерапии заболеваний, в основе которых лежат врожденные поражения иммунной системы.

В связи с многогранностью решаемых задач, некоторая информация об иммунной системе представлена в биологии, анатомии, гистологии, нормальной и патологической физиологии, аллергологии, эндокринологии, терапии, онкологии, гематологии, трансплантационной хирургии и в других дисциплинах. В курсе микробиологии изучаются факторы неспецифической резистентности и иммунной защиты, механизмы их развития, методы

иммунологической диагностики инфекционных заболеваний, специфическая терапия и профилактика.

Факторы защиты организма от инфекционных и других агентов по своей сути разделяется на 3 вида:

1. Филогенетический – древний, обеспечивающийся анатомическими и физиологическими признаками, передающие в наследство неспецифические факторы или неспецифическую резистентность организма. Эти факторы первыми вступают в контакт с патогенными агентами, поэтому за счет них обеспечивается резистентность организма ко многим возбудителям инфекционных заболеваний.

2. Врожденный иммунитет (видоспецифический, естественный) – это передающийся в наследство резистентность одного биологического вида определенным патогенным агентам. Примером может служить невосприимчивость человека к некоторым возбудителям, в том числе, к особо опасным для животных (чума крупного рогатого скота, болезнь Ньюкасла, поражающая птиц, оспа лошадей и др.), нечувствительность человека к бактериофагам, поражающим клетки бактерий. К генетическому иммунитету можно также отнести отсутствие взаимных иммунных реакций на тканевые антигены у однояйцовых близнецов; различают чувствительность к одним и тем же антигенам у различных линий животных, т.е. животных с различным генотипом.

Видовой иммунитет может быть абсолютным и относительным. Например, нечувствительные к столбнячному токсину лягушки могут реагировать на его введение, если повысить температуру их тела. Белые мыши, не чувствительные к какому-либо антигену, приобретают способность реагировать на него, если воздействовать на них иммуннодепрессантами или удалить у них центральный орган иммунитета – тимус.

3. Приобретенный иммунитет – эта защита формируется в течение жизнедеятельности, по мере контакта иммунной системы с чужеродными антигенами. Функцию специфической защиты от антигенов выполняет иммунная система, представляющая собой лимфоидную ткань, способную комплексом клеточных и гуморальных реакций, осуществляемых с помощью набора иммунореагентов, нейтрализовать, обезвредить, удалить, разрушить генетически чужеродный антиген, попавший в организм извне или образовавшийся в самом организме.

Примером естественного приобретенного иммунитета у человека может служить невосприимчивость к инфекции, возникающая после перенесенного заболевания, так называемый постинфекционный иммунитет (например, после брюшного тифа, дифтерии и других инфекций), а также приобретение невосприимчивости к ряду микроорганизмов, обитающих в окружающей среде и в организме человека и постепенно воздействующих на иммунную систему своими антигенами. Известно, что в крови каждого человека можно обнаружить антитела к непатогенным и условно-патогенным бактериям, обитающим в кишечнике человека: у некоторых лиц в крови присутствуют антитела – реагины на растительные антигены (например, пыльцу, тополиный пух).

В отличие от приобретенного иммунитета, в результате перенесенного инфекционного заболевания или «скрытной» иммунизации, на практике широко используют преднамеренную иммунизацию антигенами для создания к ним невосприимчивости организма. С этой целью применяют вакцинацию, а также введение специфических иммуноглобулинов, сывороточных препаратов или иммунокомпетентных клеток. Приобретаемый при этом иммунитет называют поствакцинальным и служит он для защиты от возбудителей инфекционных болезней, а также других чужеродных антигенов.

Приобретенный иммунитет может быть активным и пассивным. *Активный* иммунитет обусловлен активной реакцией, активным вовлечением в процесс иммунной системы при

встрече с данным антигеном (например, поствакцинальный, постинфекционный иммунитет), а *пассивный* иммунитет формируется за счет введения в организм уже готовых иммунореагентов, способных обеспечить защиту организма от антигена. К таким иммунореагентам относятся антитела, т.е. нормальные и специфические иммуноглобулины или иммунные сыворотки, а также иммунные лимфоциты. Иммуноглобулины широко используют для пассивной иммунизации, а также для специфического лечения при многих инфекциях (дифтерия, ботулизм, бешенство, корь и др.). Пассивный иммунитет у новорожденных детей создается иммуноглобулинами при плацентарной внутриутробной передаче антител от матери ребенку и играет существенную роль в защите от многих детских инфекций в первые месяцы жизни ребенка.

Поскольку в формировании иммунитета принимают участие клетки иммунной системы и гуморальные факторы, принято активный иммунитет дифференцировать в зависимости от того, какой из компонентов иммунных реакций играет ведущую роль в формировании защиты от антигена. В связи с этим, различают клеточный, гуморальный, клеточно-гуморальный и гуморально-клеточный иммунитет.

Примером клеточного иммунитета может служить противоопухолевый, а также трансплантационный иммунитет, когда ведущую роль в иммунитете играют цитотоксические Т-лимфоциты-киллеры; иммунитет при токсинемических инфекциях (столбняк, ботулизм, дифтерия) обусловлен в основном антителами (антитоксинами); при туберкулезе ведущую роль играют иммунокомпетентные клетки (лимфоциты, фагоциты) с участием специфических антител; при некоторых вирусных инфекциях (натуральная оспа, корь и др.) роль в защите играют специфические антитела, а также клетки иммунной системы.

Следует отметить, что клеточные и гуморальные факторы иммунитета функционируют в тесном взаимодействии, всегда в виде комплекса иммунных реакций, причем, какая-либо одна или несколько из них играют ведущую роль, поскольку наиболее эффективно и целенаправленно обеспечивают защиту организма от данного антигена.

В инфекционной и неинфекционной патологии и иммунологии для уточнения характера иммунитета в зависимости от природы и свойств антигена, пользуются также такой терминологией: антитоксический, противовирусный, противогрибковый, противобактериальный, противопротозойный, трансплантационный, противоопухолевый и другие виды иммунитета.

Наконец, иммунное состояние, т.е. активный иммунитет, может поддерживаться, сохраняться либо в отсутствие, либо только в присутствии антигена в организме. В первом случае, антиген играет роль пускового фактора, а иммунитет называют стерильным. Во втором случае, иммунитет трактуют как нестерильный. Примером стерильного иммунитета является поствакцинальный иммунитет при введении убитых вакцин, а нестерильного -иммунитет при туберкулезе, который сохраняется только в присутствии в организме микобактерий туберкулеза.

Развитие иммунологии в Узбекистане

В Узбекистане иммунология как наука начала развиваться с 70-х годов XX века. Развитие иммунологии в Узбекистане связано с именем акад. У. А. Арипова. В начале, на базе Ташкентского медицинского института открылась научно-исследовательская лаборатория по решению проблемы тканевой несовместимости. В дальнейшем научные исследования в области иммунологии начались на базах не только медицинских институтов, но и на иммунологических лабораториях специализированных научно-исследовательских институтов.

Основной вклад в развитии иммунологии в Узбекистане внесли такие учёные как А. И. Николаев, Р. М. Хаитов, А. М. Нажмиддинов, Р. М. Рузибакиев, Ф. Ю. Гариб, А. А. Батырбеков, Т. У. Арипова, М. Д. Уразметова, М. В. Залялиева, Н. М. Хаитова и др.



Арипов У. А. (1925–2005)

Второе развитие иммунологии в Республике приходится открытию первого филиала Института иммунологии МЗ СССР в Ташкенте 1985 году. С 1992 года Институт иммунологии МЗ РУз, с 1995 года АН РУз. Разные годы институт возглавляли профессора Абдуллаев Н. Х, Ризаев М. Н., Нажмиддинов А. М., Рузыбакиев Р. М. С 2003 года по настоящее время директором института является профессор Т. У. Арипова.

Основные темы научных исследований в области иммунологии были направлены на изучение иммунного статуса населения Узбекистана при воздействии различных неблагоприятных производственных факторов таких, как пестициды, ядохимикаты, радиационное облучение (в том числе, и у участников ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС), при аутоиммунных состояниях, инфекциях бактериальной и вирусной природы, аллергозах. Проводилось изучение эффективности различных иммунотропных препаратов в эксперименте и клинике.

В результате проведенных научных исследований, разработана карта нормативных показателей иммунного статуса взрослого и детского населения основных крупных городов, областей и регионов Узбекистана и Каракалпакистана. Было установлено, что несмотря на некоторые различия в зависимости от регионов, иммунный статус населения Узбекистана следует классифицировать как «смешанный» вариант нормы с супрессией клеточного и активизацией гуморального иммунитета. Выявленные для населения Узбекистана особенности иммунного статуса, отражающие уровень динамического равновесия организма с окружающей средой, сложившегося за последние 30-40 лет, – это адаптивная норма.

Еще одним важным фундаментальным направлением исследования иммунологов является изучение частоты выявляемости антигенов I и II классов Главного комплекса гистосовместимости человека или HLA-системы среди различных этнических групп, населяющих Центральную Азию. Исследования проводились совместно с учёными Института иммунологии МЗ РФ (Россия), Стенфордского университета (США) и Оксфордского института молекулярной медицины (Великобритания). Эти фундаментальные исследования на стыке иммуногенетики и молекулярной биологии позволили выявить генетическое разнообразие HLA-системы для различных этнических популяций Узбекистана. Эти данные вносят существенный вклад в изучение происхождения «генетического родства» различных этнических групп и популяций, принадлежащих к различным расам и являются составной частью Международной программы «Разнообразие Генома Человека». По полученным результатам, HLA-A2 ген узбекской популяции введен в Международный реестр.

Республика Узбекистан относится к регионам, эндемичным по заболеваемости вирусными гепатитами. Фундаментальные исследования по распространенности вирусных гепатитов В, С, ВИЧ-инфекции и их генотипов среди различных групп риска населения Узбекистана, проведены совместно с японскими учёными Нагойского и Канагавского университетов. Полученные результаты имеют важное значение как для проведения соответствующей антивирусной терапии, так и для создания новых вакцин.

Учёными Узбекистана разработаны и зарегистрированы иммуномодуляторы «Иммуномодулин», «Тимоптин», «Иммуноглобулин антистафилококковый человека», которые



Уразметов К. Г. (1939-2000)

в настоящее время успешно применяются в лечении и профилактики различных заболеваний.

В настоящее время учёные иммунологи ведут исследования по следующим направлениям: изучение физико-химического и энергетического состояния мембранных структур лимфоцитов при вторичных иммунодефицитных состояниях; изучение рецепторов, обусловливающих развитие апоптоза клеток; изучение генетических факторов различных заболеваний; оценка иммунного статуса при вирусных инфекциях, хронических неспецифических заболеваниях легких, TORCH-инфекциях, аутоиммунных и аллергических заболеваниях; создание новых медицинских иммунобиологических препаратов.

Учёные, которые внесли большой вклад в развитии экспериментальной и клинической иммунологии в Республике Узбекистан:

Проф., д.м.н. Уразметов К. Г. (1939–2000), лауреат Государственной премии им. А. Беруни. Вся научно-творческая деятельность учёного была тесно связана с Проблемной научно-исследовательской лабораторией по преодолению тканевой несовместимости (ПНИЛ) ТашГосМИ, которая была организована под руководством акад. У. А. Арипова, где он проработал с первого дня ее основания и до конца своей жизни. Основным направлением научной деятельности К. Г. Уразметова явилась разработка методов тканевой несовместимости при пересадке органов и тканей и внедрение их в клиническую трансплантологию и терапию аутоиммунных заболеваний. Так, впервые в мировой практике, в лабораторных условиях была получена ослиная антилимфоцитарная сыворотка, а затем ослиный антилимфоцитарный глобулин.

Были начаты исследования по углубленному изучению химических иммуносупрессивных препаратов, синтезированных в Институте Биоорганической химии АН РУз под руководством академика А. С. Садыкова. За разработку и внедрение в клиническую практику новых и усовершенствованных методов лечения больных хронической почечной недостаточностью, создание отечественных препаратов иммуносупрессивного действия в 1983 году К. Г. Уразметову была присуждена государственная премия им. А. Беруни в области науки и техники.

С 1986 года К. Г. Уразметов явился автором и одним из главных разработчиков нового научного направления в Узбекистане – лечения больных инсулинзависимым сахарным диабетом, путем пересадки островковых клеток поджелудочной железы. При этом учёным впервые в мировой практике предложено использование в качестве донорского материала нового вида клеток – островковые клетки поджелудочной железы плодов ягнят, на что получен патент РУз.

Научные исследования К. Г. Уразметова опубликованы в 140 научных статьях, монографиях, методических рекомендациях, а также в 8 изобретениях и 2 патентах РУз. На всем протяжении существования ПНИЛ Уразметов К. Г. являлся ответственным редактором выпускаемых сборников по иммунологии и иммуносупрессии.

Под руководством К. Г. Уразметова защищены 16 кандидатских и 6 докторских диссертаций. К. Г. Уразметовым положено начало развития в Узбекистане нового направления в иммунологии – трансплантационной иммунологии. Кроме того, К. Г. Уразметовым вложен большой вклад в разработку новых отечественных иммунокорригирующих препаратов в практическую медицину.

Проф., д.м.н. Р. М. Рузыбакиев (1941–2003), заслуженный деятель науки РУз. С 1972 г. руководил ЦНИЛ Самаркандского медицинского института и с 1977 г. ЦНИЛ Ташкентского медицинского института.

Участвовал в организации филиала Института Иммунологии МЗ СССР в Ташкенте в 1985 г. С 1992 по 2003 гг. директор Института Иммунологии МЗ РУз, затем АН РУз. Основным направлением научной деятельности Р. М. Рузыбакиева явилась изучение клинической, экспериментальной и экологической иммунологии, иммуногенетики и молекулярной генетики. Научные работы Р. М. Рузыбакиева позволили выявить системные и клеточные механизмы нарушения иммунной системы коренного населения под воздействием пестицидов, разработать методы иммунокоррекции, позволили создать карту иммунного статуса населения, что является важной характеристикой здоровья населения в различных регионах, особенно, в экологически неблагоприятных.



Р. М. Рузыбакиев (1941–2003)

Особого внимания заслуживают научные исследования под руководством Р. М. Рузыбакиева по молекулярной антропогенетике и генетике вирусов. Осуществленные им в 1996, 1998, 2000 гг. международные экспедиции в рамках проекта «Геном человека» с участием сотрудников Института Иммунологии АН РУз, Стенфордского и Оксфордского университетов позволили генотипировать гены HLA и Y-хромосомы различных этнических популяций Закавказья, Ирана и Центральной Азии. Полученные результаты внесли большой вклад в понимание молекулярного этногенеза узбеков и других народов Центральной Азии. Под его руководством совместно с японскими и российскими учеными проводились и в настоящее время продолжаются генотипирование вирусов гепатитов В и С, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), циркулирующих в Узбекистане.

Р. М. Рузыбакиев опубликовал более 200 научных работ, в том числе, 3 монографии, ряд методических рекомендаций, а также ему принадлежит 12 авторских свидетельств на изобретения. Под его редакцией выпущены 10 томов научных трудов «Актуальные вопросы аллергологии и иммунологии», в 1999 г. он организовал издание «Журнал теоретической и клинической медицины» и являлся его главным редактором до 2003 года. Он являлся научным экспертом Еврокомиссии и членом редколлегии журнала «Иммунология» (Россия).

С 1997 года он является действительным членом Нью-Йоркской Академии Наук, а в 2000 году признан Американским национальным библиографическим обществом «Человеком Года».

Под руководством Р. М. Рузыбакиева защищены 22 кандидатских и 6 докторских диссертаций. Р. М. Рузыбакиевым положено начало развития в Узбекистане нового направления в иммунологии – экологической и молекулярной иммунологии.

Проф., д.м.н. Ф. Ю. Гариб (1946), заслуженный деятель науки РУз. С 1980 по 1995 гг. заведовал кафедрой микробиологии с вирусологией и иммунологией Ташкентского государственного медицинского института и руководил отделом иммунологии ЦНИЛ. С 1995 по 1997 гг. Ф. Ю. Гариб работал заместителем директора по научной работе Международного неправительственного Фонда «За здоровое поколение». С 1997г. является директором организованного им Научно-Производственного Центра «Иммунопрепарат», позднее, ЧНПП «Иммуномед» в г. Ташкенте. С 1997 по 2003 гг. являлся директором Ташкентского НИИ вакцин и сывороток ГАК «Узфармпром». С 2003 по 2006 гг. Ф. Ю. Гариб заведовал научной лабораторией в Центре молекулярных технологий в стоматологии при Санкт-Петербургском Государственном медицинском университете им. акад. И. П. Павлова. С 2006 г. является профессором кафедры иммунологии Московской Академии Пост-дипломного Образования (МАПО).



А. М. Нажмитдинов (1945–2005)

Основным направлением научной деятельности Ф. Ю. Гариба является изучение клинической и экспериментальной иммунологии. Научные работы Ф. Ю. Гариба позволили изучить иммунный статус населения в норме и при различных патологических состояниях, выявить системные и клеточные механизмы нарушения иммунной системы, разработать методы их иммунокоррекции.

Особого внимания заслуживают научные исследования под руководством Ф. Ю. Гариба по созданию отечественных иммуномодуляторов. Им создан иммунокорригирующий препарат «Иммуномодулин», полученный из тимуса ягнят, который, в настоящее время успешно используется в практической медицине в лечении различных заболеваний не только в Узбекистане, но и в других государствах Центральной Азии.

Ф. Ю. Гарибом опубликовано более 386 научных работ, в том числе, 7 монографий, 32 методических рекомендаций, 6 лекций. Он получил 27 авторских свидетельств и патентов на изобретения, 37 удостоверений на рационализаторские предложения.

С 1983 по 1990 гг. был первым Президентом Узбекского научного общества иммунологов. С 1990 по 2003 гг. работал в ВАКе РУз экспертом, Председателем экспертного Совета по медико-биологическим специальностям и заместителем Председателя экспертного совета по медицинским наукам; в Фармакологическом комитете МЗ РУз – экспертом по иммуномодуляторам; рецензентом «Медицинского журнала Узбекистана»; членом Республиканского научного Совета МЗ РУз по иммунологии.

В 1999 году он организовал издание научного журнала «Инфекция, иммунитет и фармакология» и является его главным редактором по настоящее время.

Под руководством Ф. Ю. Гариба защищено 16 докторских и 60 кандидатских диссертаций. Ф. Ю. Гарибом положено начало развития в Узбекистане нового направления в иммунологии – иммунокоррекция иммунозависимых болезней.

Проф., д.м.н. А. М. Нажмитдинов (1945–2005), заслуженный работник здравоохранения РУз. В 1974–1983 гг. был старшим научным сотрудником ПНИЛ Ташкентского Государственного медицинского института, где участвовал в разработке новых иммуномодуляторов. С 1983 по 1985 года работал заведующим лабораторией в Ташкентском институте вакцин и сывороток. В Филиале Института иммунологии МЗ СССР А. М. Нажмитдинов стал работать со дня его основания (1985 г.) в должности заместителя директора по научной работе и заведующего лабораторией СПИД, а с 1989 по 1996 гг. в Министерстве Здравоохранения РУз начальником Главного управления Науки, кадров, учебных заведений и новых медицинских технологий. Он занимался разработкой проблем и приоритетов медицинской науки, организацией Комитета новой медицинской техники, Фармакологического комитета и службы СПИД в Республике Узбекистан. Участвовал в разработке проекта закона «Об охране здоровья граждан» и концепции реформирования здравоохранения. С 1996 по 1999 гг. А. М. Нажмитдинов работал директором в Институте гематологии и переливания крови. Занимался реформированием службы крови, подготовкой проекта «Закона о донорстве». С 1999 по 2000 гг. возглавлял Центр СПИДа Узбекистана, участвовал в разработке закона «О СПИДе» (1999 г.) и реформирование службы СПИД, а с 2001 года работал в Ташкентском институте усовершенствования врачей профессором кафедры организации, экономики и управления здравоохранения, где занимался разработкой вопросов реформирования здравоохранения, улучшения качества медицинской помощи, участвовал в разработке проекта концепции страховой медицины

и проекта закона «О страховой медицине». Участвовал в организации Центра доказательной медицины на базе кафедры ТашИУВ.

Плодотворные научные исследования он совмещал с педагогической работой и участвовал в подготовке Проекта Всемирного банка «Здоровье» по компонентам финансирования и обучения. Участвовал в подготовке проекта Японского агентства по международному сотрудничеству (JICA) «Исследования по реструктуризации системы здравоохранения Республики Узбекистан» по компонентам финансирование и медицинское страхование, качества медицинских услуг и доказательная медицина, менеджмент и маркетинг.

А. М. Нажмитдиновым опубликовано более 200 работ, в том числе 2 монографии и ряд методических рекомендаций, авторских свидетельств на изобретения. Он был организатором научных конференций, симпозиумов, съездов, проводимых в Узбекистане по иммунологии, гематологии, вопросам СПИДа и общественного здравоохранения. Он являлся членом Специализированного совета по защите диссертаций, экспертом ВАК, ГКНТ, членом редакционной коллегии «Журнала теоретической и клинической медицины».

Основным направлением научной деятельности А. М. Нажмитдинова были изучение вопросов здорового образа жизни населения, общественное здравоохранение, непрерывное медицинское образование и ВИЧ/СПИДа.

Проф., д.м.н. Т. У. Арипова (1953). С 1980 по 1982 год работала в должности с. н. с. НИИ онкологии МЗ УзССР, а с 1982 по 1984 год – заместителем директора Института курортологии и физиотерапии МЗ УзССР. С 1984 по 1986 год была заведующей лабораторией в Ташкентском Государственным медицинском институте. С 1986 года по 1992 год работала в должности с. н. с. Института иммунологии МЗ РУз. С 1992 года по 2003 год работала заместителем директора по науке Института иммунологии АН РУз и одновременно, с 1995 года возглавляла лабораторию иммунопатологии детского возраста. С 2003 года по настоящее время, является директором Института иммунологии АН РУз и одновременно, заведующим лабораторией молекулярной диагностики.

Основными направлениями научной деятельности проф. Т. У. Ариповой являются экологическая иммунология; молекулярная диагностика инфекционных заболеваний; молекулярная иммуногенетика при патологиях; изучение иммуногенетических маркеров народов, проживающих в Центральной Азии.

Она является членом международного общества аллергологов и иммунологов стран СНГ, редактором «Журнала теоретической и клинической медицины», членом редакционной коллегии журнала «Инфекция, иммунитет и фармакология» и журнала «Иммунология» (Россия, Москва), координатором программы ISAAC по профилактике и лечению астмы у детей в Узбекистане. Т. У. Арипова проводит совместные исследования по международным программам и проектам с учеными из Франции, Германии, Великобритании, Японии, России, Кыргызстана, Таджикистана, Казахстана.

Т. У. Ариповой в период работы директором Института иммунологии АН РУз открыт научно-диагностический центр «Иммуноген тест», оказывающий квалифицированную специализированную помощью населению Республики.

С 2006 года она является председателем Специализированного совета по защите диссертаций по специальности 14. 00. 36 – аллергология и иммунология при Институте иммунологии АН РУз.

Под руководством Т. У. Ариповой защищены 3 докторские и 6 кандидатских диссертаций. Ею опубликовано свыше 170 научных работ, в том числе, 5 монографий, 5 патентов, 20 методических рекомендаций.

Иммунная система человека

Иммунная система – совокупность органов, тканей, клеток и гуморальных факторов, обеспечивающих клеточно-генетическое постоянство организма. Её действие основывается на способности отличать собственные структуры организма от генетически чужеродных, а также перерабатывать и элиминировать последние. Началом каждой иммунологической реакции служит процесс распознавания антигена: если иммунная система определяет, что это не «свое», а «чужое», то включается механизмы иммунного ответа (ИО). Во многих случаях происходит распознавание изменённого «своего», что расценивается иммунной системой как «чужое».

Способность организмов отличать «свое» от «чужого» существует уже сотни миллионов лет, однако, лишь у позвоночных лимфатическая система сформировалась в морфологическую основу иммунной системы. В связи с этим, только у позвоночных вырабатываются разнообразные иммуноглобулины (антитела).

Иммунная система (ИС) отличается от других факторов защиты организма следующими функциями: специфичность реакций, множество видов антител и лимфоцитов, способность создать иммунологическую память. Несмотря на специфичность процессов, ИС связана с другими системами организма (нервной и эндокринной системой).

Иммунная система – это специализированная, анатомически обособленная лимфоидная ткань. Она разбросана по всему организму в виде различных лимфоидных образований и отдельных клеток (рис.10.1). Суммарная масса этой ткани составляет 1-2% от массы тела. В анатомическом плане иммунная система подразделена на центральные и периферические органы. К центральным органам иммунитета у позвоночных относятся костный мозг, тимус (вилочковая железа), сумка Фабрициуса и эмбриональная печень, к периферическим – лимфатические узлы, скопления лимфоидной ткани (групповые фолликулы, миндалины, пейеровы бляшки), а также селезенка, аппендикс, кровь и лимфа. В центральных органах созревание лимфоцитов происходит без существенного влияния антигенов, развитие периферических, напротив, не-

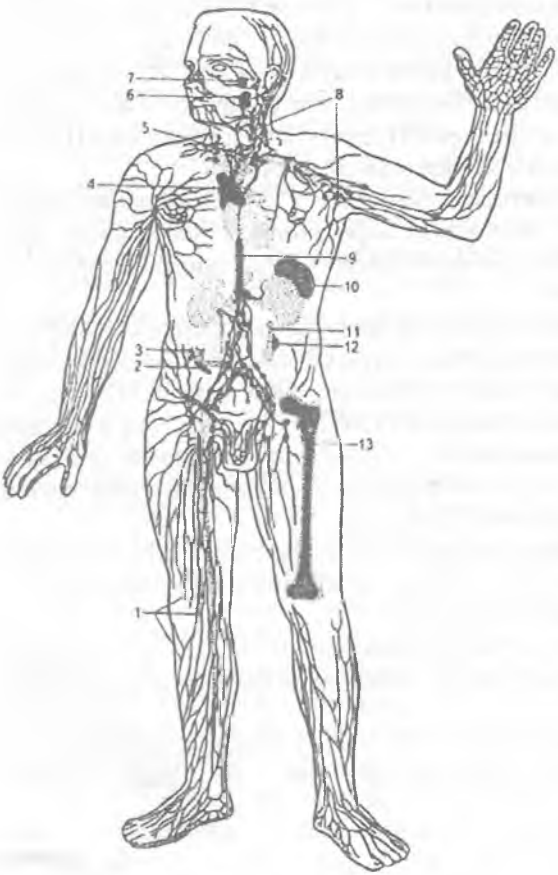


Рис. 10.1. Лимфоидная система человека (по Р. В. Петрову).
1–тканевые лимфатические сосуды; 2–аппендикс; 3–толстая кишка; 4–тимус; 5–левая подключичная вена; 6–миндалины; 7–аденоиды; 8–лимфатические узлы; 9–грудной проток; 10–селезенка; 11–тонкая кишка; 12–групповые лимфатические фолликулы (пейеровые бляшки); 13–костный мозг.

посредственно зависит от антигенного воздействия. Лишь при контакте с антигеном в них начинаются процессы пролиферации и дифференцировки.

Центральный орган ИС сумка Фабрициус (bursa Fabricii), обнаружена только у птиц. У млекопитающих роль сумки Фабрициуса выполняет костный мозг, который поставляет стволовые клетки – предшественники лимфоцитов. На ранних стадиях онтогенеза, в период эмбрионального развития, до рождения ребенка, роль поставщика стволовых клеток выполняет эмбриональная печень.

Костный мозг локализуется в губчатом веществе костей (эпифизы трубчатых костей, грудина, ребра и др.). Общая масса которого у человека достигает 3 кг. Костный мозг не является непосредственным лимфоидным органом. В постэмбриональной фазе он поставляет все клетки-предшественники для различных популяций лимфоцитов и макрофагов. В костном мозге находятся полипотентные стволовые клетки, которые являются родоначальницами всех форменных элементов крови и, соответственно, иммунокомпетентных клеток. В строме костного мозга происходит дифференцировка и размножение популяции В-лимфоцитов, которые затем разносятся по всему организму кровотоком. Здесь же образуются предшественники лимфоцитов, которые впоследствии мигрируют в тимус, – это популяция Т-лимфоцитов. Фагоциты и некоторые дендритные клетки также образуются в костном мозге. В нем можно обнаружить и плазматические клетки. Они образуются на периферии в результате терминальной дифференцировки В-лимфоцитов, а затем мигрируют назад, в костный мозг. Кроме того, в костном мозге могут протекать специфические иммунные реакции, например, связанные с синтезом антител. Лимфоциты составляют примерно 20% всех клеток костного мозга.

Вилочковая железа или тимус или зобная железа – лимфоэпителиальный орган, располагается в верхней части загрудинного пространства. Онтогенетически вилочковая железа развивается из 3-го и 4-го глоточных карманов на 6-7 недели. После обрыва связи с глоточной трубкой, она превращается в небольшое плотное образование из эпителиальных клеток и занимает свое окончательное положение в верхней области грудины. Эпителиальные закладки заселяются лимфоидными стволовыми клетками сначала из желточного мешка и печени плода уже к 8-9 недели, а затем из костного мозга. Тимус формируется к 12 неделям внутриутробного развития. К моменту рождения человека его масса составляет 10-15 г, окончательно он созревает к пятилетнему возрасту, а максимального размера достигает к 10-12 годам жизни (масса 30-40 г). После периода полового созревания начинается инволюция органа – происходит замещение лимфоидной ткани жировой и соединительной. Инволюция тимуса сопровождается снижением продукции Т-лимфоцитов. Их уровень в организме поддерживается за счет долгоживущих клеток, внетимусного созревания части клеток под действием цитокинов. Предполагают, что последствия инволюции тимуса входят в число причин старческой патологии и определяет продолжительность жизни человека.

Тимус имеет дольчатое строение. В его структуре различают мозговой и корковый слои. В строме коркового слоя находится большое количество эпителиальных клеток коры, названных «клетки-няньки», которые своими отростками образуют мелкоячеистую сеть, где располагаются «созревающие» лимфоциты. В пограничном, корково-мозговом слое располагаются дендритные клетки тимуса, а в мозговом – эпителиальные клетки мозгового слоя. Эпителиальные клетки тимуса образуют пептидные гормоны и гормоноподобные пептиды: тимулин, а- и b-тимозин, тимопоэтин, способствующие созреванию и дифференцировке Т-лимфоцитов в тимусе и вне его.

Предшественники Т-лимфоцитов, которые образовались из стволовой клетки в костном мозге, поступают в корковый слой тимуса. Здесь под влиянием тимических факторов

они активно размножаются и дифференцируются (превращаются) в зрелые Т-лимфоциты, а также «учатся» распознавать чужеродные антигенные детерминанты.

Процесс «обучения» состоит из двух этапов, разделенных по месту и времени и включает «положительную» и «отрицательную» селекцию. Критерием «обученности» является качество Т-клеточной антигенной рецепции (специфичность и аффинность) и жизнеспособность клетки.

Первоначально, в глубоких слоях коры тимуса происходит положительная селекция. На этой стадии поддерживаются клоны клеток, рецепторы которых в состоянии взаимодействовать с молекулами МНС класса II собственных клеток. Причем, вне зависимости от того, к чужеродным или к собственным антигенам направлены эти рецепторы. Все остальные клетки игнорируются отбором и подвергаются программированной гибели – апоптозу.

Выжившие таким образом клетки, в дальнейшем, подвергаются процессу отрицательной селекции, которая происходит в мозговом слое и кортико-медуллярной зоне тимуса. Механизм отрицательной селекции заключается в контакте тимоцитов с дендритными клетками тимуса, которые несут на своей поверхности большое количество МНС классов I и II.

При распознавании аутологичного пептида в своей молекуле МНС (т.е. при специфичности к антигенам собственных тканей) индуцируется сильный сигнал. Если у зрелых Т-лимфоцитов такой сигнал вызывает активацию, то у незрелых клеток этот сигнал вызывает гибель по механизму апоптоза.

В результате этих двух механизмов отбора, элиминируются вначале клоны, которые не могут распознавать свои молекулы МНС, а затем те, которые имеют специфичность к антигенам собственных тканей. В конечном итоге, более 90% тимоцитов погибают в тимусе в процессе развития. Выживают только те, которые способны распознать в комплексе с аутологичными МНС только чужеродные биополимеры. Ежесуточно около 10^6 зрелых «обученных» Т-лимфоцитов покидают тимус с крово- и лимфотоком и мигрируют в различные органы и ткани.

Созревание и «обучение» Т-лимфоцитов в тимусе имеют важное значение для формирования иммунитета. Отмечено, что эссенциальное отсутствие или недоразвитие тимуса ведет к резкому снижению эффективности иммунной защиты макроорганизма. Такое явление наблюдается при врожденном дефекте развития вилочковой железы – аплазии или гипоплазии органа, ее хирургическом удалении или радиационном поражении в детском или юношеском возрасте. Между тем тимэктомия у взрослых практически не приводит к серьезным дефектам в иммунитете.

Сумка Фабрициус – фолликуло-эпителиальный орган, располагается на дорсальной стороне клоаки птиц. Она образуется из эпителиального углубления, куда на 12-й день развития куриного эмбриона мигрируют лимфоидные стволовые клетки из желточного мешка. В сумке Фабрициуса формируются В-лимфоциты подобно тому, как в вилочковой железе созревают Т-лимфоциты. Удаление органа на ранней стадии развития блокирует образование антител и приводит к агаммаглобулинемии.

Как и тимус, сумка Фабрициуса состоит из многочисленных фолликулов, в которых можно различить корковый и мозговой слои. В мозговом слое, наряду с эпителиальными клетками, находятся лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги и гранулоциты. Эпителиальный мозговой слой отделен от коры базальной мембраной. Кора состоит преимущественно из малых лимфоцитов и плазматических клеток. В развитии сумки Фабрициуса также наблюдается возрастная инволюция.

К периферическим органам иммунной системы относят селезенку, аппендикс, миндалины глоточного кольца, групповые лимфоидные фолликулы, лимфатические узлы, кровь,

лимфу и др. В этих органах локализуются иммунокомпетентные клетки, которые непосредственно осуществляют иммунный надзор. Здесь также проходит иммуногенез – размножение и окончательная дифференцировка их предшественников.

Лимфатические узлы – мелкие округлые анатомические образования почковидной формы, которые располагаются по ходу лимфатических сосудов. Каждый участок тела имеет регионарные лимфоузлы. В общей сложности в организме человека насчитывается до 1000 лимфоузлов. Лимфатические узлы выполняют функцию биологического сита – через них фильтруется лимфа, происходящая из всех покровных тканей, задерживаются и концентрируются антигены. Через лимфоузел проходит в среднем около 10^9 лимфоцитов в час.

В строении лимфоузла различают корковое и мозговое вещество. Соединительнотканными трабекулами кора разделена на сектора. В ней выделяют поверхностный корковый слой и паракортикальную зону. В секторах поверхностного кркового слоя расположены лимфатические фолликулы с центрами размножения В-лимфоцитов (герминативные центры). Здесь же обнаруживаются фолликулярные дендритные клетки, способствующие созреванию В-лимфоцитов. Паракортикальный слой – это зона Т-лимфоцитов и интердигитальных дендритных клеток, потомков клеток Лангерганса. Мозговое вещество образовано тяжами соединительной ткани, между которыми располагаются макрофаги и плазматические клетки.

В пределах лимфоузла происходит антигенная стимуляция иммунокомпетентных клеток и включается система специфического иммунного реагирования, направленная на обезвреживание антигена.

Селезенка – это орган, через который фильтруется вся кровь, она улавливает циркулирующие в крови частицы и обломки клеток. Кроме того, у многих позвоночных в ней образуются эритро-, грануло- и тромбоциты (рис. 10.2).

У человеческого эмбриона в возрасте 5 недель закладка селезенки представляет собой мезенхимальное уплотнение в области стенки желудка. В нем находятся звездчатые

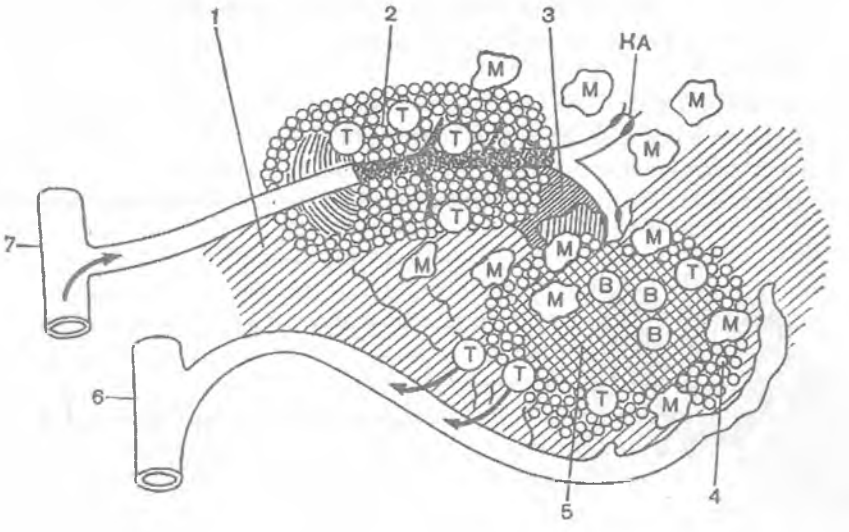


Рис. 10.2. Строение селезенки (по Craddock). КА–косточковая артерия; Т-Т–лимфоцит; В-В–лимфоцит; М–макрофаг; 1–красная пульпа; 2–белая пульпа; 3–пограничная зона; 4–оболочка; 5–зародышевый центр; 6–вена; 7–артерия.

клетки, которые позднее образуют ретикулярную основу селезенки. Заселение лимфоцитами происходит в позднем эмбриональном периоде и после рождения.

Селезенка располагается в левой подвздошной области и имеет дольчатое строение. Лимфоидная ткань образует белую пульпу. В ее строении различают первичные лимфоидные фолликулы, которые окружают артерии по их ходу и вторичные, располагающиеся на границах первичных фолликулов. Периартериальные лимфоидные скопления преимущественно заселены Т-лимфоцитами, а вторичные – В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Кроме того, в строме селезенки обнаруживают фагоциты и ретикулярные дендритные клетки. Красная пульпа состоит из венозных сосудов и синусов, а также мякотных шнуров Бильрота. Красная пульпа выполняет у млекопитающих функции органа гемопоэза, сохраняя эту способность у некоторых видов и во взрослом состоянии, например, у мышей (эритропоэз) и людей (миелопоэз).

В селезенке, как в сите, задерживаются антигены, оказавшиеся в кровотоке, сорбированные на эритроцитах и «состарившиеся» эритроциты. Поэтому этот орган еще называют «кладбищем эритроцитов». Здесь происходит антигенная стимуляция иммунокомпетентных клеток, развитие специфической иммунной реакции на антиген и его обезвреживание.

Печень играет особую роль в иммунной системе. В ней находится более половины всех тканевых макрофагов и большая часть естественных киллеров. Лимфоидные популяции печени обеспечивают толерантность к пищевым антигенам, а макрофаги утилизируют иммунные комплексы, в том числе, сорбированные на «стареющих» эритроцитах.

Групповые лимфатические фолликулы пищеварительного и дыхательного трактов. Пищеварительный и дыхательный тракты, которые рассматривают в качестве главных «входных ворот для антигена». Их строение сходно с таковыми селезенки и лимфатических узлов, встречаются как отдельные фолликулы, так и их скопления. Лимфатическими элементами этих трактов являются миндалины, лимфоидные ткани дыхательных путей, кишечника, включая пейеровые бляшки и аппендикс. Кроме того, на всем протяжении желудочно-кишечного тракта, начиная с пищевода и кончая анальным отверстием, располагаются единичные лимфатические фолликулы. Они обеспечивают местный иммунитет слизистой кишки и ее просвета и регулируют видовой и количественный состав ее микрофлоры (рис. 10.3).

Скопление лимфоидных элементов в виде миндалин глоточного кольца обеспечивает местный иммунитет в носоглотке, ротовой полости и верхних дыхательных путях, защищает их слизистые от внедрения микробов и других генетически чужеродных агентов воздушно-капельным или воздушно-пылевым путем и регулирует локальную нормофлору.

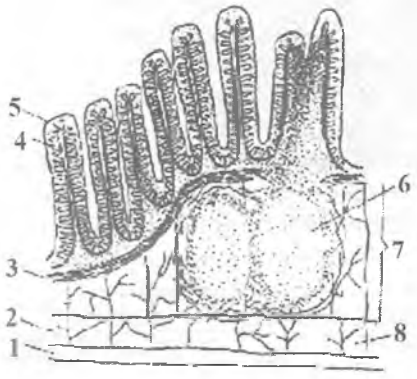


Рис. 10.3. Строение группового лимфатического фолликула (пейеровой бляшки) и его расположение в стенке кишечника (по Р. В. Петрову). 1–продольные мышцы; 2–циркулярные мышцы; 3–мышечный слой слизистой оболочки; 4–кишечная ворсинка; 5–крипты Либеркюна; 6–центр размножения; 7–групповой лимфатический фолликул; 8–лимфатические сосуды.

Структуры, обеспечивающие защиту слизистых, получили название – лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми – MALT (от англ. mucosa-associated lymphoid tissue). В состав MALT входят GALT (от англ. gut associated lymphoid tissue), BALT (от англ. bronchus associated lymphoid tissue) – лимфоидные ткани, ассоциированные с кишечником, с бронхолегочной системой. К ним примыкают лимфоидные структуры кожи-SALT (от англ. skin associated lymphoid tissue).

Нёбные миндалины представляют собой парный лимфоидный орган, расположенный в преддверии глотки, позади глоточно-щёчного сужения и впереди глоточно-носового сужения, между слизистой оболочкой и соединительно-тканевым слоем. Так же, как и в других лимфоидных органах, в миндалинах имеются фолликулы (первичные и вторичные) и фолликулярные пространства. Эти фолликулы имеют сходство с фолликулами лимфоузлов и селезенки, они заполнены преимущественно В-лимфоцитами. В этом органе синтезируется sIgA, IgM, IgG и интерфероны.

Пейеровые бляшки расположены в слизистом слое кишечника. В них различают три основных отдела: а) эпителиальный купол, образованный эпителием, лишенным кишечных ворсинок и называемый эпителием, ассоциированным с фолликулом; б) первичные и вторичные лимфоидные фолликулы с крупными центрами размножения расположены в глубине слизистой оболочки. Они заполнены В-лимфоцитами, при этом значительная их часть несет на своей поверхности IgA, т.е. это – предшественники клеток, вырабатывающих IgA; в) межфолликулярная зона клеток содержит преимущественно Т-лимфоциты, а также интердигитальные клетки. Как и в других лимфоидных органах, вокруг артериолы здесь располагаются Т-лимфоциты.

Аппендикулярный отросток гистоморфологически состоит из купола с короной, фолликулов, расположенных под куполом, тимусзависимой зоны и связанной с ней слизистой оболочки в форме грибовидных выступов. В куполе размещается смесь бластов и лимфоцитов, в кроне и тимусзависимой зоне – малые лимфоциты, в фолликулах – клетки зародышевых центров.

По-видимому, купол аппендикса выполняет функцию центрального лимфоидного органа, а в фолликулах размножаются В-клетки, сенсибилизированные кишечными бактериями.

Аппендикулярный отросток регулирует колониерезистентность бактерий в кишечнике, т.е. оптимальное состояние микрофлоры, являющейся естественным антагонистом вирулентных возбудителей. Аппендэктомия приводит к увеличению желудочно-кишечных заболеваний.

В лимфоидной структуре кожи выделяют несколько основных групп клеток: а) белые отростчатые эпидермоциты (клетки Лангерганса), которые фиксируют антигены, поступающие с поверхности кожи и мигрируют вместе с ними в региональный лимфоузел. В процессе миграции они созревают до стадии интердигитальной клетки; б) лимфоидные клетки эпидермиса представлены преимущественно популяцией Т-лимфоцитов. Однако, в дерме присутствуют как Т-, так и В-лимфоциты, поступающие из рециркулирующего пула; в) кератиноциты. По-видомому, они служат механическим барьером неповрежденной кожи. Однако, в условиях воздействия продуктов микробной жизнедеятельности и медиаторов воспаления сами начинают продуцировать различные иммунологически важные цитокины (ИЛ-1, -3, -6, -7 и другие). Предполагается, что диффузная лимфоидная ткань кожи может служить местом внетимусного развития части Т-лимфоцитов, а также развития В-лимфоцитов вне костного мозга.

Лимфа – жидкая ткань организма, которая содержится в лимфатических сосудах и узлах. Она включает в себя все соединения, поступающие из межтканевой жидкости.

Основными и практически единственными клетками лимфы являются лимфоциты. В ее составе эти клетки осуществляют кругооборот в организме.

Кровь. В ней циркулируют предшественники и зрелые Т- и В-лимфоциты, полиморфноядерные лейкоциты, моноциты. Лимфоциты составляют 30% от общего числа лейкоцитов. Одномоментно, в крови присутствует менее 2% от общего числа лимфоцитов.

Таким образом, в центральных органах происходит зарождение и дифференцировка лимфоцитов. Для выполнения своих функций лимфоциты мигрируют во вторичные лимфоидные органы. Селезенка улавливает антигены, проникшие в кровь, лимфоузлы контролируют лимфу, а лимфоидные образования кожи и слизистых оболочек обезвреживают антигены, проникшие через кожу и слизистые оболочки.

Клетки иммунной системы

Клетки ИС (иммуноциты) могут быть разделены на три группы:

1. Иммунокомпетентные клетки, способные к специфическому ответу на действие антигенов. Этими свойствами обладают исключительно лимфоциты, каждый из которых изначально обладает рецепторами для какого-либо антигена.

2. Вспомогательные (антиген-представляющие) клетки, способные отличать собственные антигены от чужеродных и представлять их иммунокомпетентным клеткам, без чего невозможен иммунный ответ на большинство чужеродных антигенов.

3. Клетки антиген-неспецифической защиты, отличающие компоненты собственного организма от чужеродных частиц, в первую очередь, от микроорганизмов и уничтожающих последние путем фагоцитоза или цитотоксического воздействия.

Специфическую функцию иммунной защиты непосредственно осуществляет многочисленный пул клеток миелоидного и лимфоидного ростков крови: лимфоциты, фагоциты и дендритные клетки. Это основные клетки иммунной системы. Кроме них в иммунный ответ может вовлекаться множество других клеточных популяций (эпителий, эндотелий, фибробласты и др.). Перечисленные клетки различаются не только морфологически, но и по своей функциональной направленности, по маркерам (специфические молекулярные метки), по рецепторному аппарату и продуктам биосинтеза. Тем не менее, большую часть клеток иммунной системы объединяет близкое генетическое родство – они имеют общего предшественника, полипотентную стволовую клетку костного мозга.

На поверхности цитоплазматической мембраны клеток иммунной системы существуют особые молекулы, которые служат их маркерами. С помощью специфических антител против этих молекул удалось разделить клетки на отдельные субпопуляции. В 1980-х годах была принята международная номенклатура мембранных маркеров лейкоцитов человека. Они получили название CD-антигены (от англ. cluster of differentiation или definition). В настоящее время, важнейшие субпопуляции клеток иммунной системы идентифицируют серологически при помощи моноклональных антител или в генетическом анализе.

По функциональной активности клетки-участники иммунного ответа подразделяют на регуляторные (индукторные), эффекторные и антиген-представляющие клетки (АПК). Регуляторные клетки управляют функционированием компонентов иммунной системы путем выработки медиаторов – иммуноцитокинов и лигандов. Эти клетки определяют направление развития иммунного реагирования, его интенсивность и продолжительность. Эффекторы являются непосредственными исполнителями иммунной защиты. Они воздействуют на объект либо непосредственно, либо путем биосинтеза биологически активных веществ со специфическим эффектом (антитела, токсические субстанции, медиаторы и пр.).

АПК выполняют несложную, но очень ответственную задачу. Они захватывают, процессируют (перерабатывают путем ограниченного протеолиза) и представляют антиген иммунокомпетентным клеткам (Т-хелперам) в составе комплекса с МНС II класса. АПК лишены специфичности в отношении самого антигена. За счет спонтанной сорбции молекула МНС II класса может включать в себя любые эндоцитированные олигопептиды, как свои собственные, так и чужие. Установлено, что большая часть комплексов МНС II класса содержит аутогенные молекулы и лишь малая доля – чужеродный материал.

Наличие на мембране МНС II класса является обязательным, но не единственным признаком АПК. Для осуществления профессиональной деятельности необходима экспрессия костимулирующих факторов (CD40, 80, 86), а также множества молекул адгезии.

Последние обеспечивают тесный, пространственно стабильный и продолжительный контакт АПК с Т-хелпером. Помимо МНС II класса АПК экспрессируют молекулы CD1. С их помощью клетки могут презентировать липид содержащие или полисахаридные антигены.

Наиболее типичными АПК, относящимися к разряду «профессиональных», являются (по активности) дендритные клетки костномозгового происхождения. В-лимфоциты и макрофаги. Дендритные клетки почти в 100 раз эффективнее макрофагов. Функцию «непрофессиональных» АПК могут также выполнять некоторые другие клетки в состоянии активации – это, в первую очередь, эпителиальные и эндотелиоциты (рис. 10.4).

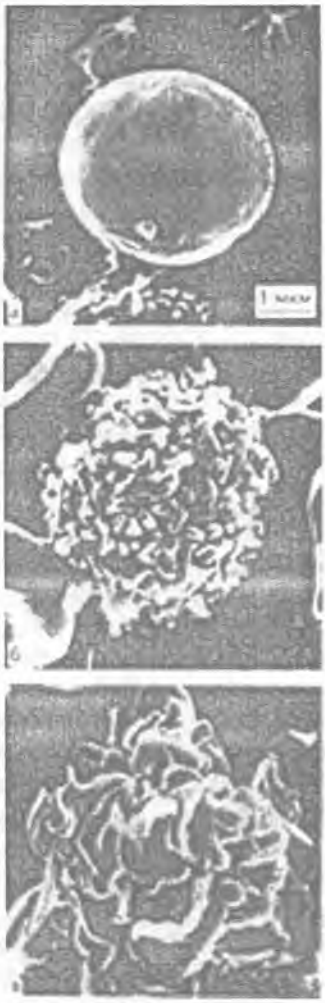


Рис. 10.4.
Электронограмма Т-клетки (а), В-клетки (б) и макрофага (в) (по Dantschew ва Belpomme).

Осуществление целенаправленной функции по иммунной защите макроорганизма возможно, благодаря наличию на клетках иммунной системы специфических антигенных рецепторов (иммунорецепторов). По механизму рецепции они подразделяются на прямые и непрямые. Прямые иммунорецепторы непосредственно связываются с молекулой антигена. Так функционируют антигенспецифические рецепторы большинства субпопуляций лимфоцитов. Непрямые иммунорецепторы взаимодействуют с молекулой антигена опосредованно – через Fc-фрагмент молекулы иммуноглобулина. Это так называемый Fc-рецептор (FcR).

Существуют особенности в механизме рецепции в зависимости от аффинности FcR. Высокоаффинный рецептор может связываться с интактными молекулами IgE или IgG4 и образовывать рецепторный комплекс, в котором антигенспецифическую ко-рецепторную функцию выполняет молекула иммуноглобулина. Такой рецептор есть у базофилов и тучных клеток. Низкоаффинный FcR «распознает» молекулы иммуноглобулина, уже образовавшие иммунные комплексы. Это самый распространенный тип FcR, который обнаруживается на макрофагах, естественных киллерах, эпителиальных, дендритных и множестве других клеток.

Иммунное реагирование основано на тесном взаимодействии различных клеточных популяций. Это достигается при помощи биосинтеза клетками иммунной системы широкого спектра иммуноцитокинов. Подавляющее большинство клеток иммунной системы постоянно перемещается во внутренних средах организма, широко используя возможности лимфатической и кровеносной систем, а также свои функциональные возможности.

Клеточно-элементный состав иммунной системы постоянно возобновляется. Состарившиеся, выработавшие свой биологический ресурс, ложно активированные, зараженные и генетически трансформированные клетки уничтожаются. Клеточный дефицит восполняется за счет деления стволовых клеток.

Лимфоциты – подвижные мононуклеарные клетки. Они имеют определенные морфологические особенности и отличаются онтогенезом и функциональной принадлежностью. Лимфоциты играют ключевую роль в обеспечении приобретенного (адаптивного) иммунитета. Они осуществляют специфическое распознавание антигена, индукцию клеточного и гуморального иммунного ответов, различные формы иммунного реагирования. Различают три основных популяций лимфоцитов: Т- (тимус), В- (бурса Фабрициуса, костный мозг) и О-лимфоциты (ЕК).

Первые получили такое название в связи с тем, что их развитие и созревание происходит в тимусе. Отсюда этот тип лимфоцитов стали называть тимусзависимыми, Т-лимоцитами, или Т-клетками.

Развитие второй группы лимфоцитов было связано у птиц с фабрициевой сумкой (бурсой). Поэтому этот тип лимфоцитов стали называть бурсозависимыми лимфоцитами, В-лимфоцитами или В-клетками. Позднее был открыт третий тип – О-лимфоциты (нулевые), их название было связано с отсутствием на их поверхности рецепторов Т- и В-лимфоцитов. По функциональным свойствам их называют NK-лимофциты (от англ. natural killer – естественные убийцы). В костном мозге на их долю приходится около 50% всех лимфоцитов, а в крови – примерно 5%.

Все лимфоциты происходят от кроветворной стволовой клетки и вначале развиваются в костном мозге. В дальнейшем они мигрируют в другие органы, где и происходит их созревание и дифференцировка. При этом каждому типу лимфоцитов соответствует свои органы. В ходе дифференцировки лимфоциты приобретают рецепторный аппарат, определяющий их способность взаимодействовать с другими клетками организма и отвечать на антигенные воздействия, формировать клоны клеток – потомков, реализующих конечный эффект иммунологической реакции (образование антител или цитологических лимфоцитов).

В организме непрерывно идет рециркуляция и возобновление популяций лимфоцитов. С крово- и лимфотоком, а также за счет амебоидной подвижности клетки активно мигрируют между различными органами и тканями. Вместе с тем, миграция и расселение лимфоцитов в тканях не являются хаотическими процессами. Они имеют направленный характер и строго регулируются рядом факторов, в том числе, обусловлены экспрессией на мембране лимфоцитов, эндотелия сосудов и клеточных элементах стромы особых молекул адгезии (интегрины, селектины и пр.). Так, незрелые Т-лимфоциты активно мигрируют в тимус. Зрелые неиммунные («наивные») лимфоциты тропны к периферическим лимфоидным органам и тканям. При этом Т- и В-лимфоциты заселяют только «свои» области – это так называемый эффект «хоминговой рецепции» (от англ. home – дом). Зрелые иммунные (активированные) лимфоциты распознают эпителий в очаге воспаления. Клетки иммунологической памяти всегда возвращаются в места своего происхождения.

Продолжительность жизни неиммунных клеток достаточно большая. У Т-лимфоцитов она достигает нескольких месяцев или лет, а у В-клеток – недель или месяцев. Дольше всех

живут клетки иммунологической памяти – до 10 лет и более. Однако, активированные или терминально дифференцированные лимфоциты имеют короткую продолжительность жизни (несколько суток). Клеточный дефицит постоянно восполняется за счет пролиферативных процессов, как в центральных органах иммунной системы, так и в периферических лимфоидных образованиях и регулируется ростовыми факторами клеток самой иммунной системы. Численность лимфоидных популяций находится под жестким контролем. Состарившиеся, ложно активированные и аутореактивные (реагирующие на аутоантигены) лимфоциты подвергаются уничтожению путем индукции у них апоптоза.

Т-лимфоциты – это сложная по составу группа клеток, которая происходит от полипотентной стволовой клетки костного мозга, а созревает и дифференцируется в тимусе из предшественников (пре-Т-лимфоциты). Они составляют около 80% всех лимфоцитов крови и лимфатических узлов, содержатся во всех тканях организма, являются долгоживущими, постоянно циркулируют через периферические органы ИС. Они осуществляют две основные функции – регуляторную и эффекторную. Регуляторные клетки обеспечивают развитие ИО другими клетками, регулируют его дальнейшее течение. Эффекторные Т-лимфоциты осуществляют эффект иммунологической реакции чаще всего в форме цитолиза клеточных структур, к антигенам которых возникла иммунологическая реакция.

В организме Т-лимфоциты обеспечивают клеточные формы иммунного ответа (гиперчувствительность замедленного типа, трансплантационный иммунитет, противоопухолевый иммунитет, противовирусный иммунитет и т.д.), определяют силу и продолжительность иммунной реакции. Их созреванием, дифференцировкой и активностью управляют цитокины.

Все Т-лимфоциты обладают поверхностными молекулами CD2 и CD3. В зависимости от строения Т-клеточного антигенного рецептора (TCR – от англ. T-cell receptor) и функциональной направленности сообщество Т-лимфоцитов может быть разделено на отдельные группы. Существует два варианта CD3 рецепторов Т-лимфоцитов для антигенов: α/β и γ/δ. Лимфоциты с рецепторами α/β составляют не менее 90% всех лимфоцитов человека. Они содержатся в большей концентрации в крови, лимоузлах, селезенке. Обладают выраженной хелперной активностью. γ/δ-Т-лимфоциты не имеют CD4-антиген, обладают цитотоксическими свойствами и в основном относятся к CD8+ клеткам. Они содержатся в кишечной эпителии, брюшине, репродуктивных органах, коже. γ/δ-Т-лимфоциты кишечника способствуют толерантности организма к антигенам, содержащимся в пище.

На стадии «положительной» и «отрицательной» селекции тимоцитов в тимусе начинается формирование субпопуляций Т-лимфоцитов. Те лимфоциты, которые распознают антиген в составе комплекса с МНС класса I, в дальнейшем развиваются в субпопуляцию цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеров CD8+). Лимфоциты же, которые распознают антиген в составе комплекса с МНС класса II, являются предшественниками Т-хелперов (CD4+).

В настоящее время различают две основные субпопуляции Т-лимфоцитов: Т-хелперы (от англ. helper – помощник) – Th, несущие на своей поверхности основной маркер CD4; Т-киллеры (от англ. killer – убийца) – цитотоксические Т-лимфоциты, несущие на своей мембране основной маркер – молекулу CD8. Также существуют Т-эффекторы, Т-клетки памяти.

В качестве маркеров Т-клеток могут быть использованы: молекулы рецепторного комплекса – TCRαβ, TCRγδ, CD3 и другие; основные общие маркеры Т-клеток – CD2, CD5, CD7; группа молекул адгезии – CD11a/CD18, VLA-2, 4, 5, 6 (от англ. very late antigens – очень поздние антигены), CD44, CD48, CD54, CD58 и другие; сигнальные молекулы – CD28, CD30, CD43, CD152, CD154; молекулы активации – CD25, CD69, CD71 и другие; рецепто-

ры цитокинов – CD117, CD121, CD124/132, CD127/132, CD129/132; основные маркеры субпопуляций и стадий развития: Т-хелперы – CD4; Т-киллеры – CD8; кортикальные тимоциты – CD1a, b, c; «наивные» Т-клетки – CD45 RA; Т-клетки памяти – CD45 RO.

Т-хелперы, или Т-помощники, – субпопуляция Т-лимфоцитов, которые выполняют регуляторную функцию. На долю этих клеток приходится около 75% всей популяции Т-лимфоцитов.

Т-хелперы (Тх) после воздействия антигена пролиферируются и разделяются на две субпопуляции: 1) Тх1, названные «воспалительными» хелперами, с их активностью связывают развитие ИО, протекающего по клеточному типу; 2) Тх2, названными «иммунными» хелперами, с ними связывают развитие гуморального ИО.

Т1-хелпер образует ИЛ-2, -3, γ-ИФН, фактор некроза опухолей (α-ФНО) и другие, необходимые для развития клеточного иммунного ответа, гиперчувствительности замедленного типа, иммунного воспаления. Потребность в этой клетке определяет активированный макрофаг, естественный и Т-киллеры, синтезирующие ИЛ-12 и γ-ИФН.

Т2-хелпер продуцирует ИЛ-4, -5, -6, -9, -10, -13 и др., которые поддерживают гуморальный иммунный ответ, а также гиперчувствительность немедленного типа. Дифференцировку в сторону Т2-хелпера потенцируют γδ-Т-клетки, базофилы, тучные клетки и эозинофилы, синтезирующие ИЛ-4 и 13.

В организме поддерживается баланс Т1-/Т2-хелперов. Он необходим для развития адекватного иммунного ответа. Сами клетки находятся в конкурентных взаимоотношениях, они оппозитно тормозят клональное развитие друг друга. Этим объясняется давно известный антагонизм клеточных и гуморальных иммунологических реакций. Установлено, что в организме новорожденных преобладают Т2-хелперы. Нарушение заселения желудочно-кишечного тракта нормальной микрофлорой тормозит развитие субпопуляции Т1-хелперов и ведет к аллергизации организма.

В ходе пролиферации Тх1 и Тх2-лимфоциты часть из них формирует клетки иммунологической памяти, которые длительно сохраняются в организме обеспечивая быстрый и сильный ответ на повторное действие антигена. Тх1-лимфоциты могут дифференцироваться в эффекторные цитотоксические клетки, реализующие реакции клеточного иммунитета.

Т-киллер – субпопуляция Т-лимфоцитов-эффекторов. На их долю приходится примерно 25% всей популяции Т-лимфоцитов. На поверхности цитоплазматической мембраны Т-киллера определяются молекулы CD8, а также αβTCR к антигену в комплексе с МНС I класса, по которому «свои» клетки отличаются от «чужих». В рецепции принимают участие молекула CD3, комплексирующая с TCR, и ко-рецепторные молекулы CD8, тропные к МНС I класса.

Т-киллер анализирует клетки собственного организма в поисках измененной, т.е. отличной от собственной, структуры комплекса антиген – МНС I класса. Мутантные клетки, клетки, пораженные вирусом или клетки аллогенного трансплантата несут на своей поверхности такие признаки генетической чужеродности. Поэтому они являются мишенью Т-киллера.

CD8+-лимфоциты могут играть роль супрессорных клеток, подавляющих активность других клеток ИС. Однако, в последнее время установлено, что супрессорный эффект свойствен многим видам клеток. Поэтому CD8+-клетки престали называть супрессорными клетками и они получили название цитотоксических, несмотря на то, что цитотоксическими свойствами могут обладать и CD4+-лимфоциты.

Т-киллер устраняет клетки-мишени путем антителонезависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности, для чего синтезирует ряд токсических субстанций: перфорин, гранзимы и гранулизин.

Перфорин – токсический белок, который синтезируют цитотоксические лимфоциты – Т-киллеры и естественные киллеры. Обладает неспецифическим действием. Вырабатывается только зрелыми активированными клетками, незрелые неиммунные клетки перфорин не синтезируют.

Перфорин образуется в виде растворимого белка-предшественника и накапливается в цитоплазме в гранулах, которые сосредотачиваются около TCR, связавшегося с клеткой-мишенью. «Ориентированность» по TCR необходима для обеспечения локального, «адресного» эффекта – повреждения только пораженных или измененных клеток-мишеней.

Содержимое гранул высвобождается в узкую щель, образованную тесным контактом цитотоксического лимфоцита и клетки-мишени. За счет гидрофобных участков перфорин встраивается в цитоплазматическую мембрану клетки-мишени, где в присутствии ионов Ca^{2+} полимеризуется в трансмембранную пору диаметром 16 нм. Образовавшийся дефект цитоплазматической мембраны подобно действию комплемента может вызвать осмотический лизис клетки-мишени (некроз) и/или обеспечить проникновение в нее гранзимов и гранулизина.

Гранзимы – это обобщающее название сериновых протеаз, синтезируемых зрелыми активированными цитотоксическими лимфоцитами. Различают три типа гранзимов: A, B и C. После синтеза гранзимы накапливаются в гранулах подобно перфорину и вместе с ним выделяются из клетки в синаптическую щель. В клетку-мишень проникают через поры, образованные перфорином.

Мишенью для гранзимов являются внутриклеточные специальные ферменты, инициирующие апоптоз, которые обладают широкой нуклеазной активностью, в том числе, разрушают нуклеиновые кислоты внутриклеточных паразитов. Таким образом, гранзимы индуцируют гибель клетки путем апоптоза и санацию организма от зараженных клеток.

Гранулизин – эффекторное вещество с ферментативной активностью, синтезируемое цитотоксическими лимфоцитами. Способно запускать в клетках-мишенях апоптоз, повреждая мембрану их митохондрий.

Т-киллер обладает огромным биологическим потенциалом – его называют «серийным убийцей». За короткий срок он может уничтожить несколько клеток-мишеней. Эффекторную функцию Т-киллера стимулирует Т1-хелпер, хотя в ряде случаев, его помощь не требуется.

Т-киллеры обеспечивают в организме антителонезависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, формирование Т-клеточной иммунологической памяти и гиперчувствительности замедленного типа. Кроме того, активированный Т-киллер синтезирует γ-ИФН и ФНО, стимулирующие макрофаг и потенцирующие иммунное воспаление.

<u>В-лимфоциты</u> – это преимущественно эффекторные иммунокомпетентные клетки, на долю которых приходится около 10-15% всей численности лимфоцитов крови, 20-25% клеток лимфатических узлов. В-лимфоциты являются основной клеточной структурой, благодаря которой развивается гуморальный иммунный ответ (ИО). Он характеризуется выработкой специфических циркулирующих антител.

В-лимфоциты происходят из общих лимфоидных клеток-предшественников для Т- и В-лимфоцитов, которые имеют характерный маркер CD34. В эмбриональном периоде начальное развитие В-лимфоцитов происходит в печени, а в постнатальном периоде – в костном мозге.

У птиц развитие начинается в костном мозге, а заканчивается после миграции в фабрициевом бурсе. У млекопитающих аналога фабрициевой сумки не обнаружено. В настоящее время, с некоторой долей вероятности полагают, что аналогичную функцию может выполнять лимфоидная ткань кишечника, в частности, червеобразный отросток и групповые лимфатические фолликулы (пейеровые бляшки).

В процессе развития В-лимфоцитов формируется специфический рецепторный комплекс В-лимфоцитов BCR (от англ. B-cell receptor). Его структурной базой является мембранный иммуноглобулин М (mIgM). По своему строению он очень похож на циркулирующие иммуноглобулины. Однако, в отличие от циркулирующих антител, мембранные иммуноглобулины имеют в составе своей С-концевой части гидрофобную Н-цепь (дополнительную), составляющую трансмембранный домен. Кроме того, в состав В-клеточных рецепторов могут входить и другие пептидные цепи и некоторые ферменты.

Таким образом, появление на поверхности лимфоцита сформировавшегося комплекса BCR означает, что произошел переход этой клетки в стадию незрелого В-лимфоцита.

В процессе В-лимфопоэза на стадии незрелых лимфоцитов погибает до 85-95% всей популяции. Полагают, что это происходит в результате отрицательной селекции, т.е. выбраковки клонов, несущих специфичность к собственным антигенам – аутоантигенам.

Появление на поверхности В-лимфоцита IgD (mIgD) знаменует собой окончание процесса созревания. Лимфоциты несущие mIgD вместе с mIgM, определяются как зрелые В-клетки.

Эволюция В-лимфоцитов после контакта с антигеном может идти Т-зависимым, либо Т-независимым путем. Т-зависимый путь, характерный для ответа на большинство антигенов, осуществляется с помощью цитокинов, продуцируемых Т-хелперами. Основным ростовым фактором является ИЛ-2. Механизмам дифференцировки В-клеток способствует также, ИЛ-4, -5, γ–ИФ. В свою очередь, ИЛ-1 и ИЛ-4 отменяют ростовое действие ИЛ-2 на предшественников В-клеток. В то же время, ИЛ-1 способствует экспрессии генов иммуноглоублинов, а в отсутствии ИЛ-4 В-клетки подвергаются апоптозу. Считается, что срок жизни В-лимфоцитов составляет несколько месяцев. В ходе продукции иммуноглобулинов цитокины способствуют переключению синтеза иммуноглобулинов с IgM, характерных для ранних этапов гуморального ответа, на другие классы антител. ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, γ-ИФ способствуют переключению синтеза Ig на IgG, ИЛ-5, β-ТГФ – на IgA, ИЛ-4 – на IgE.

Т-независимый путь формирования иммунного ответа В-лимфоцитами осуществляется без помощи Т-лимфоцитов и индуцируется микробными антигенами (например, липополисахариды). Т-независимые антигены обладают митогенным действием и способствуют формированию только клона клеток продуцирующих IgM антитела, при этом, не происходит переключения синтеза антител с IgM на другие классы иммуноглобинов и формирование иммунологической памяти.

В процессе созревания В-лимфоциты мигрируют из костного мозга в периферические лимфоидные органы, где локализуются, в основном, в лимфоидных фолликулах. На каждом лимфоците формируется рецепторы только для одного антигена. Созревший лимфоцит покидает костный мозг и становится антиген-реактивной клеткой и она способна к взаимодействую с одним из многочисленных антигенов, существующих в природе. В отличие от Т-лимфоцита, который может взаимодействовать с антигеном только после его представления антигенпредставляющей клеткой, В-лимфоцит вступает в контакт с антигеном напрямую, без посредников. Контакт с антигеном может служить стимулом для пролиферации и дифференцировки В-лимфоцита с последующим формированием клона однородных-клонов-потомков, конечной стадией развития которых являются плазматические клетки, оптимально адаптированные к продукции больших количеств антител.

Выделяют две субпопуляции В-лимфоцитов: «обычные» В2-клетки, не имеющие маркера CD5, и CD5+ В1-лимфоциты. По функциональным свойствам также различают В-хелперы, В-клетки памяти.

Субпопуляция В1-клеток составляет не более 20% от общего числа В-лимфоцитов и локализуется преимущественно в лимфоидных органах серозных полостей, где эти клетки сохраняют способность к самоподдержанию. Они служат источником естественных, полиспецифичных, низкоаффинных IgM и IgA аутоантител, что играет важную роль в развитии аутоиммунных процессов в организме. В1-клетки способны быстро (уже через 48 часов) развивать ответ.

Субпопуляция В2-клеток локализуется в лимфатических узлах, селезенке и крови. Эти В-клетки продуцируют IgM и IgG и другие иммуноглобулины, аффинитет которых повышается в процессе иммунного ответа.

В-лимфоциты имеют рецепторы, позволяющие им контактировать не только с антигенами, но и с другими клетками. Например, для контакта: с Т-хелперами имеются рецепторы CD40, CD80, CD86, CD72; с молекулами иммуноглобулинов – CD23, CD32, т.е. рецепторы для Fc-фрагмента IgG и IgE; для связи с межклеточным матриксом – интегрины; рецепторы для цитокинов – для ИЛ-2 (CD25/122/132), для γИФ (CD119), для ИЛ-1 (CD121), для ИЛ-5 (CD125), ИЛ-6 (CD126) и ИЛ-7 (CD127/132), рецептор к эритроцитам мышей и другие.

На мембране В-лимфоцитов присутствуют как МНС I, так и МНС класса II. Это свидетельствует о способности этих клеток выполнять функции презентации антигенов.

Основные функции В-клеток: 1. Выработка иммуноглобулинов (антител). В-лимфоциты в ходе иммунного ответа превращаются в плазматическую клетку и вырабатывают большое количество соответствующих антител. Интенсивность синтеза иммуноглобулинов одной плазматической клеткой достигает 1 млн. молекул в час. Активно синтезирующий плазмоцит живет недолго, не более 2-3 суток.

2. Антигенпрезентирующая функция. Процесс присоединения антигена к В-лимфоциту длится несколько минут, после чего, антиген подвергается эндоцитозу, а через несколько часов, вновь экспрессируется на мембране клетки в комплексе с молекулами МНС II класса. Далее В-лимфоцит презентируют антиген Т-хелперу (а также для Т-киллеров, как и все остальные клетки организма) и это служит сигналом ее активации. Презентируя антигены, В-клетки как бы «склоняют» Т-хелперы на «свою сторону», и последние превращаются в Тх2 клетки. В результате, развивается гуморальный ИО. Контакту и активации клеток способствуют дополнительные молекулы на их поверхности, а также продуцируемые ими цитокины.

3. Секреторно-регуляторная функция. Во-первых, это циркулирующие антитела, через которые опосредован целый спектр механизмов иммунитета: активация системы комплемента, дегрануляция, армирование клеток и многое другое. Во-вторых, это цитокины, которые оказывают регулирующее воздействие на различные клетки иммунитета.

Помимо лимфоцитов, в развитии иммунного ответа участвует множество различных клеточных популяций, относящихся, в основном, к миелоидному ростку. Особого внимания заслуживают гранулоциты, тучные и дендритные клетки.

Функционирования иммунной системы

Как следует из представленного выше материала, иммунная система имеет сложную организацию. Для осуществления специфической функции, направленной на распознавание и уничтожение генетически чужеродных веществ, регуляцию функционирования компонентов иммунной системы и поддержания генетического постоянства внутренней среды организма, задействовано множество различных клеточных популяций и растворимых

факторов. Клетки постоянно циркулируют в организме, погибают в процессе жизнедеятельности и заново нарождаются.

В зависимости от конкретной потребности специфическая функция иммунной системы может быть активирована, либо подавлена (супрессирована). Независимо от направленности любое реагирование иммунной системы осуществляется при постоянном взаимодействии практически всех типов ее клеток, т.е. в условиях межклеточной кооперации. Раздражителями (активирующим сигналом) являются антиген, непосредственный межклеточный контакт и растворимые факторы (цитокины, продукты деградации клеток макроорганизма или микроба). В развитии любого иммунного реагирования прослеживается каскад его последовательно сменяющихся этапов.

Активация иммунной системы

Реакции адаптивного иммунитета развиваются сразу же вслед за реакциями воспаления. В организме они сводятся к отбору и быстрому размножению лимфоцитарных клонов, способных специфически распознавать антигены возбудителя. В дальнейшем клетки этих клонов, дифференцируясь, вырабатывают специфически направленные молекулы – антитела, или специфически распознавая мишени, убивают их.

Антитела резко усиливают эффективность реакций первой линии защиты (фагоцитоза, внеклеточного цитолиза, цитолитических эффектов комплемента и др.). Они повышают «прицельность» действия этих реакций, указывая направление атаки факторам врожденного неспецифического иммунитета.

Как следует из раздела неспецифической резистентности организма, включение первой линии защиты основано на проявлении реакций врожденного иммунитета. Развиваются они благодаря древним, эволюционно закрепившимся механизмам распознавания компонентов возбудителей и материала собственных поврежденных клеток. Для удаления из организма непатогенных и слабовирулентных микроорганизмов, этих факторов вполне достаточно.

В случае же массивного заражения или высокой вирулентности внедрившихся микроорганизмов, в защиту вступает вторая, более специализированная линия обороны.

Включается она практически одновременно с развитием реакций неспецифического, врожденного иммунитета. Однако, для развития требуется время, поэтому проявляется она несколько позже.

Развитие специфических иммунных реакций требует взаимодействия разных клеток и прежде всего Т- и В-лимфоцитов, которые способны распознавать специфичность антигенов. Наиболее благоприятные условия для такого взаимодействия имеются только в структурах специализированных органов. Ими, как уже было сказано, являются периферические органы ИС.

Таким образом, антиген (нативный или разрушенный) может быть доставлен из очага воспаления в местный лимфоидный орган либо с током лимфы (или крови), либо антиген-презентирующими клетками.

Сразу же после доставки в лимфатический узел продуктов из очага воспаления (антигенов, продуктов активированных клеток и т.д.), в соответствующем лимфоидном органе развиваются процессы, напоминающие реакции локального воспаления. При этом, развивается сосудистая реакция, а активированные макрофаги и клетки стромы лимфоузла начинают выделять воспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, α-ФНО), пептиды-хемокины и др. Интенсивность кровотока и рециркуляция при этом возрастают.

Вслед за этим развивается интересный эффект, получивший название задержки или улавливания («ареста») лимфоцитов. Механизм улавливания позволяет эффективно концентрировать основную массу антигенспецифичных лимфоцитов организма в одном месте.

Исходным для запуска адаптивного иммунного ответа является момент, когда в региональном лимфоидном органе присутствуют: 1) антигенпрезентирующие клетки, несущие на своей поверхности антигены в комплексе с молекулами МНС класса II; 2) активированные лимфоциты разных популяций, специфичные к данному антигену; 3) микроокружение, обеспечивающее синтез соответствующих цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-2, хемокинов и другие.

Это сложный многоступенчатый процесс, требующий продолжительного периода времени для своей индукции – около 4 суток.

Пусковым механизмом адаптивного иммунитета является распознавание «свой-чужой», которое осуществляют Т-лимфоциты при помощи своих прямых иммунорецепторов – TCR. В случае установления чужеродности биоорганической молекулы, включается второй этап реагирования – запускается интенсивное тиражирование клона высокоспецифичных к антигену лимфоцитов-эффекторов, способных прервать аллогенную интервенцию, а также накопление Т- и В-клеток иммунологической памяти. Это явление получило название экспансия клона. Параллельно, но несколько позже пролиферации, стимулируется дифференцировка иммунных лимфоцитов.

Таким образом, продуктивная активация иммунной системы связана с размножением и дифференцировкой антигенореактивных клонов иммунокомпетентных клеток. Антигену, в этом процессе, отведена роль индуктора и фактора клональной селекции. Механизмы основных этапов активации иммунной системы рассмотрены ниже.

Активация Т-хелпера. В этом процессе, в обязательном порядке принимают участие АПК, в роли которых в подавляющем большинстве случаев, выступают дендритные клетки, В-лимфоциты и макрофаги. АПК эндоцитирует молекулярный антиген (пептид), процессирует (ограниченный протеолиз) его во внутриклеточных везикулах, встраивает образовавшийся олигопептид в молекулу МНС II класса и выставляет полученный комплекс на наружной мембране. На поверхности АПК также экспрессируются ко-стимулирующие факторы – молекулы CD40, 80, 86. Их мощным индуктором являются соединения, образующиеся на ранних этапах неспецифической антимикробной защиты (доиммунное воспаление), – продукты альтерации покровных тканей.

Т-хелпер при помощи молекул адгезии прочно соединяется с поверхностью АПК. Иммунорецептор Т-хелпера совместно с молекулой CD3 при поддержке ко-рецепторной молекулы CD4 взаимодействует с комплексом антиген-МНС II класса и анализирует аутогенность его структуры. Продуктивность рецепции зависит от ко-стимулирующих воздействий. Поэтому молекула CD28 Т-хелпера связывается с CD80/86 АПК (афферентный сигнал), а CD40-лиганд – со своей парой CD40 (эфферентный сигнал).

В случае признания чужеродности комплекса антиген-МНС II класса (а точнее «не своего»), Т-хелпер активируется. Он экспрессирует рецептор к ИЛ-2 и начинает синтезировать ИЛ-2 и другие цитокины. Итогом активации Т-хелпера является его размножение и дифференцировка в одного из своих потомков – Т1- или Т2-хелпера. Параллельно стимулируются клетки-эффекторы. Любое изменение условий рецепции абортирует активацию Т-хелпера и может индуцировать в нем апоптоз.

Активация В-лимфоцита. Для активации В-лимфоцита необходима суммация трех последовательных сигналов. Первый поступает от молекулы антигена через BCR. Оказавшись рядом с чужеродной молекулой, специфичный к ней В-лимфоцит связывается с эпитопом антигена при помощи своего иммунорецептора.

Второй и третий сигналы формируются при контакте с активированным Т2-хелпером: интерлейкиновый стимул (ИЛ-4, -5, -6) и ко-стимулирующий – взаимодействие CD40 с CD40-лигандом передает В-лимфоциту афферентный сигнал. Стабильность контакта двух клеток обеспечивают множественные связи молекул адгезии.

Активация инициирует размножение и дифференцировку специфичного к конкретному антигену В-лимфоцита. В итоге, в пределах зародышевых (герминативных) центров лимфоидных фолликулов, появляется клон специфических антителопродуцентов. Дифференцировка позволяет переключить биосинтез иммуноглобулинов с классов М на G, А или Е (редко) – повысить аффинность синтезируемых антител и образовать В-клетки иммунологической памяти. В случае терминальной дифференцировки, появляется плазматическая клетка.

Активация Т-киллера. Т-киллер постоянно мигрирует во внутренних средах организма в поисках клеток с признаками аллогенности – чужеродных, генетически трансформированных или зараженных. Критерием оценки является структура «биологического паспорта» клетки, т.е. комплекса МНС I класса.

Исполнение надзорной функции требует скрупулезной точности, поэтому Т-киллер вступает в тесный и прочный контакт с потенциальной клеткой-мишенью, используя молекулы адгезии. Затем иммунорецептор Т-киллера (αβTCR) совместно с молекулой CD3 при поддержке ко-рецепторной молекулы CD8 взаимодействует с антигенным комплексом МНС I класса и анализирует его структуру. Обнаружение отклонений в пользу аллогенности активирует Т-киллер к экспрессии рецептора к ИЛ-2 и синтезу ИЛ-2 и специальных токсических субстанций (перфорин, гранзимы, гранулизин). Последние вызывают гибель клетки-мишени. Аутогенный ИЛ-2 стимулирует пролиферацию Т-киллера и формирование Т-клеток иммунологической памяти.

Т-киллер может функционировать автономно – самостоятельно инициируя и поддерживая клонообразование. Однако, это свойство реализуется редко. В подавляющем большинстве случаев, для адекватного развития клеточной формы иммунного ответа, требуются более мощные стимулы со стороны Т1-хелпера.

Супрессия или подавление иммунного ответа. является физиологической реакцией организма, которая в норме завершает иммунный ответ. Иммуносупрессия развивается при устранении из организма антигенного раздражителя и направлена на торможение экспансии антигенспецифичных клонов лимфоцитов. В отличие от иммунологической толерантности, супрессии подвергается уже инициированное иммунное реагирование. Различают три механизма иммуносупрессии: уничтожение клонов иммунокомпетентных клеток путем апоптоза; торможение активности иммунокомпетентных клеток цитокинами; элиминация антигенного стимула.

Апоптотической элиминации подвергаются следующие группы клеток: терминально дифференцированные лимфоциты, завершившие свою биологическую программу; активированные лимфоциты, не получившие антигенного стимула; «изношенные» лимфоциты; аутореактивные клетки.

Факторами, инициирующими апоптоз, являются глюкокортикоидные гормоны, Fas-лиганд, α-ФНО и другие иммуноцитокины, а также гранзимы. Апоптотическое уничтожение клеток-мишеней могут активировать Т-киллеры, естественные киллеры с фенотипом CD16CD56 и Tl-хелперы.

Функциональная активность иммунокомпетентных клеток может быть ингибирована растворимыми факторами их конкурентов или потомков. Ведущая роль в этом явлении принадлежит иммуноцитокинам с множественными эффектами. Известно, например, что Т2-хелперы, γδТ-лимфоциты и тучные клетки при помощи ИЛ-4, -13 препятствуют диффе-

ренцировке Т0-хелпера в Т1-клетку. Последний, в свою очередь, может блокировать образование Т2-хелпера, синтезируя γ-ИФН. Пролиферацию Т- и В-лимфоцитов ограничивает β-ТФР, которого продуцирует терминально дифференцированные Т-хелперы. Уже упомянутые продукты Т2-хелпера (ИЛ-4, -13 и β-ТФР) подавляют биологическую активность макрофагов.

Помимо цитокинов, супрессия гуморального звена иммунитета может быть вызвана иммуноглобулинами. Избыточные концентрации иммуноглобулина класса G, связываясь со специальными рецепторами на мембране В-лимфоцита, тормозит биосинтетическую активность клетки и ее способность дифференцироваться в плазмоцит.

На мембране клеток были также обнаружены особые «негативные» ко-рецепторы. Их раздражение также вызывает супрессорный эффект.

Развитие иммунного ответа можно приостановить, устранив из организма антиген. В природе это событие наблюдается при полном освобождении организма от патогена (стерильный иммунитет). На практике эффект достигается очищением организма плазмо- или лимфосорбцией, а также нейтрализацией антигена антителами, специфичными к высокоиммуногенным эпитопам.

Возрастные особенности иммунитета. В онтогенезе человека отчетливо различаются несколько периодов. Во внутриутробный период происходит закладка и дифференцировка основных органов и клеток ИС. Уже с 6-8 недель начинается закладка, а затем постепенное функциональное совершенствование Т- и В-систем иммунитета. Иммунный аппарат эмбриона и плода весьма чувствителен к повреждающим воздействиям химической (лекарства, наркотики, алкоголь и др.), биологической (инфекции), физической (радиация, механические воздействия) природы. Последствия этих повреждений могут проявиться уже после рождения в форме врожденной иммунопатологии (иммунодефицит, аллергия, аутоиммунитет).

Иммунные взаимоотношения плода и матери. Имплантация оплодотворенной яйцеклетки в матке с последующим развитием эмбриона до сих пор недостаточно объяснена с иммунологических позиций, поскольку в их составе присутствуют несколько групп чужеродных антигенов (антигены отца, эмбриональные антигены). Плацента ограждает плод от проникновения В- и Т-лимфоцитов матери на ранних этапах развития эмбриона. Вместе с тем, организм матери и плода не пассивны в плане взаимной регуляции иммунных отношений. Так, материнские антитела класса IgG свободно проникают через плаценту. Антитела всех других классов – IgM, IgA, IgE, IgD – такой способностью не обладают.

Продукция собственных антител ИС плода при нормальной беременности без антигенного раздражения происходят, но с очень низкой интенсивностью. Уже с 10-й недели начинается синтез IgM, с 12-й – IgG, с 30-й – IgA, но концентрация их невелика. Таким образом, к моменту рождения здорового ребенка основную массу антител в его организме составляют материнские IgG. Защитный спектр их весьма широк и направлен преимущественно против разнообразных инфекционных агентов.

Иммунная система новорожденных, детей, подростков и взрослых. В период новорожденности организм впервые встречается с огромным количеством чужеродных антигенов. Разнообразная микрофлора активно колонизирует желудочно-кишечный тракт, дыхательные пути, кожу, при этом на организм обрушивается водопад антигенов. Конечно, большое значение имеет качественный состав естественной микрофлоры тела: если быстро сформируется нормальный микробиоценоз толстого кишечника, то развитие ИС пойдет правильнее.

Отставание в развитии лимфоидной системы отмечено у детей, рожденных при помощи операции кесарева сечения. При этом заселение полостей организма микрофлорой проис-

ходит с существенной задержкой, к тому же, качество этой микрофлоры отличается от приобретенной при нормальных родах.

Особенно интенсивная экспансия клонов характерна для детского возраста. В течение первых 5 лет жизни иммунной системе ребенка приходится усваивать примерно 90% биологической информации. Еще 9% воспринимается до наступления пубертата, на взрослое состояние остается лишь около 1%.

Совершенно очевидно, что иммунной системе ребенка приходится справляться с чудовищными нагрузками, которые, в основном, падают на гуморальное звено иммунитета. В местах с повышенной плотностью населения и частыми межиндивидуальными контактами (крупные города), где создаются условия для длительной персистенции высокой концентрации патогенов, дети часто болеют. Это закономерное явление, однако, создается впечатление о тотальном иммунодефиците, порожденном крайним экологическим неблагополучием. Количество Т- и В-клеток в крови новорожденных чаще всего соответствует их содержанию у взрослых. Но главное отличие, функциональная неполноценность регуляторных и исполнительных клеток из-за несовершенства системы цитокиновой регуляции ИС у детей раннего возраста. В связи с этим, основные защитные функции выполняют пассивно приобретенные сывороточные и секреторные антитела, часть которых совершили трансплацентарный переход и часть сывороточных иммуноглобулинов диффундируют из материнского молока в кровоток ребенка из кишечника. Секреторные иммуноглобулины, в основном в виде sIgA, в большом количестве поступают с материнским молоком и осуществляют функцию местного иммунитета в желудочно-кишечном тракте.

Грудное женское молоко является идеальной пищей для детей раннего возраста. В нем есть все компоненты, необходимые для организма развивающегося ребенка -- белки, аминокислоты, жиры, углеводы, комплекс витаминов, минеральные вещества, гормоны, разнообразные факторы иммунной защиты и неспецифической резистентности.

Только естественное вскармливание материнским молоком обеспечивает максимально возможную для этого возраста резистентность к возбудителям инфекционных болезней, к аллергенам, вообще к разнообразным аллоантигенам. По сравнению с детьми, находящимися на грудном молочном вскармливание, дети, переведенные на искусственное вскармливание, страдают от инфекций в 4 раза чаще, а от кишечных инфекций в 10 раз чаще.

На вакцинацию организм ребенка 1-го года жизни отвечает в основном продукцией IgM-антител, без формирования иммунологической памяти. Чтобы получить нормальный вторичный иммунный ответ с IgG-антителами и стойкой иммунологической памятью, требуется 2-3 ревакцинации против столбняка, дифтерии, полиомиелита, коклюша и гепатита В.

Постепенное совершенствование ИС организма приводит к тому, что к концу 1-го года жизни ряд ее функций нормализуется. В частности, концентрация лимфоцитов в крови достигает максимума, хелперная функция уже доминирует над супрессорной, начинается более активный синтез собственного IgG.

Однако, способность к полноценному синтезу антител класса IgG, соответствующего уровню взрослых, появляются только к 5 годам. Местный иммунитет слизистых дыхательных путей и пищеварительного тракта, который обеспечивается сочетанным действием секреторных антител класса IgA и неспецифических гуморальных факторов окончательно формируется только к 7-8 годам.

Еще один иммунный кризис в жизни всех детей связан с резкой гормональной перестройкой организма подростков. У девочек этот этап начинается с 12-13 лет, у мальчиков – с 14-15 лет. В ИС при этом происходит следующие изменения: 1) уменьшается масса

лимфоидных органов, что связано с пубертантным скачком роста и веса детей; 2) подавляется функция Т-системы (клеточный иммунитет); 3) стимулируется функция В-системы (гуморальный иммунитет). Такой резкий иммунный поворот в пубертатном периоде совпадает с новым подъемом хронических заболеваний лимфопролиферативной и аутоиммунной природы, при этом активизируются дремлющие вирусные инфекции и присоединяются новые.

В это время устанавливается тот фенотипический вариант иммунного статуса, который впоследствии будет определять сильный или слабый тип иммунного ответа организма взрослого человека на различные антигенные стимулы. Вместе с тем, у большинства подростков аллергические заболевания протекают уже легче, чем раньше.

С возрастом возникают структурно-функциональные изменения в иммунной системе. В отличие от детского организма, у взрослого до 50% всего лимфоидного пула представлено клонами клеток, прошедших антигенную стимуляцию. Накопление иммунной системой биологического опыта реализуется в образовании узкой «библиотеки» жизненно важных («актуальных») клонов лимфоцитов, специфичных формирования популяции Т1-хелперов в пользу Т2-клеток. Однако, при этом в организме сохраняется широкий набор невостребованных «наивных» клеток. Благодаря долго живучести клеток иммунологической памяти, «актуальные» клоны со временем становятся самодостаточными. Они приобретают способность к самоподдержанию и независимость от центральных органов иммунной системы. Функциональная нагрузка на тимус снижается, что проявляется его возрастной инволюцией.

В течение нескольких лет происходит постепенное выравнивание всех систем иммунорегуляции с выходом на «взрослый» фенотип иммунного статуса. Его принято считать наиболее адекватным тем вызовам, которые бросает среда обитания организму человека. Существенных различий в ИС женщин и мужчин не отмечается.

С возрастом у большинства лиц после 55-60 лет наблюдается постепенное, все более глубокое угнетение иммунитета. Скорость этого процесса имеет сугубо индивидуальный характер.

Продуктивный иммунный ответ после своего завершения (нейтрализации и элиминации антигена из организма) также сопровождается изменениями клональной структуры антигенреактивных лимфоцитов. В отсутствии активирующих стимулов клон инволюционирует. Невостребованные клетки со временем погибают от старости, причем, этот процесс начинается с наиболее дифференцированных лимфоцитов-эффекторов. Продолжительность инволюции лимитирована численностью клона и проявляется постепенным угасанием иммунного ответа. Однако, в организме длительно персистируют клетки иммунологической памяти. Старческий период жизни имеет свои отличительные черты. Доминирование в иммунной системе «актуальных» клонов антигенспецифичных лимфоцитов сочетается с нарастающей иммуннодепрессией на фоне снижения общей реактивности. Несмотря на всю мощь иммунологической памяти, инфекции, вызванные даже условно-патогенными микробами, зачастую принимают затяжной или угрожающий характер. Надзорная функция, как и иммунитет против внутриклеточных паразитов, также теряет эффективность. Клеточное звено иммунитета не справляется с нарастающим объемом злокачественно трансформированных клеток. Поэтому у пожилых людей часто встречаются новообразования.

ОСНОВНЫЕ ФОРМЫ ИММУНИТЕТА

Иммунный ответ развивается в организме параллельно с развитием процессов приводящих к изменению гомеостаза (инфекции, вакцинация, аллергия, новообразование, патологическое воспаление и т.д.). Свою биологическую функцию ИС осуществляет с помощью сложного комплекса взаимосвязанных реакций, в которых задействованы все ее структурные и функциональные элементы. В зависимости от конкретного проявления, этот комплекс можно подразделить на отдельные формы. Основными из них являются: антителообразование, иммунный фагоцитоз, опосредованный клетками киллинг, реакции гиперчувствительности, формирование иммунологической памяти, формирование иммунологической толерантности.

Все элементы иммунной системы имеют единый принцип активации и практически одновременно реагируют на изменение гомеостаза. Однако, в зависимости от характера антигенного воздействия наблюдается неравномерное стимулирование – одна или несколько форм становятся ведущими, в то время, как другие могут практически не проявляться. Например, при токсинемической инфекции (ботулизм, столбняк, дифтерия) преимущественно активируется продукция антител (иммуноглобулины-антитоксины), которые способны нейтрализовать активный центр молекулы токсина. При туберкулезной инфекции или против внутриклеточно паразитирующих микроорганизмах, наоборот, гуморальная защита малоэффективна. Против этих возбудителей более эффективны клеточные механизмы иммунитета, к которым относится иммунное воспаление – реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и цитотоксическая активность Т-киллеров, ЕК-клеток, макрофагов (иммунный фагоцитоз).

Иммунный фагоцитоз основан на поглощении фагоцитами антигенов, входящих в состав иммунных комплексов. При этом антигенами могут быть как отдельные молекулы или их агрегаты, так и цельные клетки или их обломки. Для осуществления иммунного фагоцитоза необходимо участие молекул иммуноглобулинов и/или комплемента. Имеющиеся на клеточной мембране фагоцитирующей клетки рецепторы к Fc-участку молекулы иммуноглобулина и компонентам комплемента обеспечивают «узнавание» и захват фагоцитом иммунных комплексов или опсонизированных антигенов. Таким образом, фагоциты участвуют в элиминации (удалении) антигенов из организма и восстановлении его гомеостаза.

Опосредованный клетками киллинг. ИС располагает независимым от системы комплемента способом уничтожения чужеродных клеток. Эта форма иммунного реагирования осуществляется непосредственно клетками-киллерами и имеет название опосредованный клетками киллинг. Киллинг способны осуществлять активированные фагоциты, Т-киллеры, естественные киллеры и некоторые другие клетки. Клетки-киллеры осуществляют санацию организма от чужеродных, трансформированных или инфицированных клеток.

Механизм клеточно-опосредованного киллинга достаточно универсален. Киллеры вырабатывают ряд веществ, обладающих цитотоксическим или цитолитическим действием: вызывают некроз, нарушением целостности клеточной мембраны (или стенки) или индуцируют апоптоз. Цитотоксические субстанции синтезируются только при активации клетки. Киллеры осуществляют свою функцию дистантно (на расстоянии) или при непосредственном контакте. Мишенью для них являются раковотрансформированные, мутантные или зараженные вирусами клетки, грибы, простейшие, гельминты и некоторые бактерии.

Способ распознавания киллерами генетической чужеродности клеток-мишеней определяется типом его антигенсвязывающего рецептора. Различают антителозависимую и антителонезависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность.

Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность реализуется благодаря экспрессии на мембране иммунокомпетентных клеток рецепторов к Fc-фрагменту молекулы иммуноглобулина (FcR). Эти рецепторы являются трансмембранными белковыми молекулами и различаются по специфичности и аффинности. FcR всегда специализирован к определенному изотипу тяжелой цепи молекулы Ig. Различают также высокоаффинные и низкоаффинные FcR. Первые могут взаимодействовать с интактной молекулой иммуноглобулина, используя ее в дальнейшем как ко-рецепторный фактор (базофилы, тучные клетки), вторые – связываются уже с иммунным комплексом. Поэтому FcR называют «непрямыми» иммунорецепторами. Антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность могут осуществлять активированные макрофаги, эозинофилы и естественные киллеры.

Активированные макрофаги продуцируют перекисные и NO^--ион-радикалы и ферменты, которые могут поражать мембрану (или стенку) клетки на расстоянии или после фагоцитирования. Первичное распознавание чужеродных клеток происходит при помощи FcR по антителам, которые предварительно связались с поверхностными антигенами клеток-мишеней.

В антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности принимают участие ЕК с фенотипом CD16+CD56 мало. На своей поверхности они несут низкоаффинный FcR к молекуле IgG, связанной антигеном в иммунный комплекс. Этот фенотип ЕК постоянно циркулирует в кровотоке и других биологических жидкостях в поиске клеток, инфицированных различными паразитами (вирусами, бактериями, простейшими) и «помеченных» Ig. При контакте с зараженной клеткой естественный киллер индуцирует разрушение клеток-мишеней осмотическим лизисом (перфорин) или индукцией в них апоптоза (гранзимы, гранулизин).

Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность эозинофилов имеет узкую противогельминтную ориентацию. Она реализуется благодаря наличию на их мембране низкоаффинных FcR к IgA или IgE, связанных в иммунные комплексы. При распознавании паразитов, уже «отмеченных» IgA или IgE, эозинофилы выделяют путем дегрануляции антигельминтные токсические факторы (ферменты и белковые токсины) и синтезируют цитокины, стимулирующие клеточное звено иммунитета, а также липидные медиаторы воспаления.

Антителонезависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность осуществляется без непосредственного участия молекулы Ig. Ее индукторами являются клетки лимфоидного ряда, несущие иммунорецепторы «прямого» распознавания. К этой группе клеток относятся Т-хелперы, Т-киллеры и CD16CD56 много естественные киллеры.

Выделяют прямой и непрямой (опосредованный) эффекторные механизмы антителонезависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. Прямой механизм цитотоксичности предполагает совмещение индукторной и эффекторной функции одной и той же клеткой, без посредников. Основной клеткой, использующей этот тип механизма является Т-киллер. Эта клетка при помощи TCR распознает антиген в составе МНС I класса на мембране клеток собственного организма и определяет аллогенность клетки-мишени. Контакт зрелого активированного Т-киллера с чужеродной клеткой-мишенью запускает их цитотоксические механизмы: осмотический лизис (перфорин) и индукцию апоптоза (гранзимы, гранулизин).

Киллинг клетки-мишени осуществляется в несколько этапов:

1. Установление плотного контакта. Т-киллер прикрепляется к поверхности клетки-мишени. Между клетками образуется тесный контакт с узким синаптическим пространством.

2. Активация Т-киллера. Эффекторная клетка при помощи своего TCR анализирует комплекс MHC I класса. При установлении чужеродности этого комплекса Т-киллер активируется и начинает синтезировать токсические субстанции, которые накапливаются в гранулах. Происходит полярное перераспределение внутриклеточных органелл киллера. Гранулы, содержащие токсические субстанции и аппарат Гольджи перемещаются в сторону TCR, связанного с клеткой-мишенью. Это необходимо для обеспечения строго направленного действия.

3. Экзоцитоз токсических субстанций. Содержимое гранул выделяется в узкое синаптическое пространство между клетками путем экзоцитоза.

4. Токсическое воздействие. В результате воздействия перфорина в мембране клетки-мишени образуются поры, способные вызвать осмотический лизис. Через поры внутрь клетки проникают гранзимы и гранулизин и запускают апоптоз.

Точный механизм специфического распознавания Т-киллером мембранных антигенов клетки-мишени и направленный цитотоксический удар предотвращают ошибочный лизис собственных нормальных клеток. В процессе контакта с чужеродными клетками формируется иммунологическая память. Повторное появление в организме клеток, несущих те же антигенные детерминанты, приводит к формированию реакции по типу вторичного иммунного ответа, т.е. киллерная активность отличается высокой интенсивностью и проявляется в очень короткие сроки.

Для ЕК, имеющих фенотип CD16CD56 много, свойственен другой вариант прямого цитотоксического действия. Эта клетка, получившая название «тканевой», не циркулирует в организме, а накапливается в портальных воротах печени и децидуальной оболочке беременной матки. CD16CD56 много ЕК экспрессирует на клеточной мембране много Fas-лиганда. Мишенью для этих киллеров являются активированные лимфоциты, для которых характерен синтез в большом количестве Fas-рецептора. Связывание Fas-рецептора с Fas-лигандом индуцирует в активированном лимфоците апоптоз.

При помощи описанного механизма цитотоксичности CD16CD56 ЕК иммунной системе удается элиминировать из организма лимфоциты, позитивно прореагировавшие на пищевые и эмбриональные аллоантигены. Это позволяет избежать развития пищевой аллергии или невынашивания беременности.

Подобный эффект также свойствен для Т-киллеров и Т1-хелперов. Элиминация активированных лимфоцитов путем индукции в них апоптоза – один из эффективных путей иммунорегуляции в периферических тканях, широко используемый иммунокомпетентными клетками.

Непрямой механизм цитотоксического эффекта характерен для Т-хелперов. При помощи TCR эти клетки способны распознать чужеродные антигены в составе MHC II класса. Однако, сами они не являются эффекторами. Т1-хелпер активирует макрофаг, включая его цитотоксические свойства, а Т2-хелпер – эозинофил.

Реакции гиперчувствительности. В ряде случаев, введение антигена в организм может индуцировать аномальную гиперергическую реакцию, которая носит черты патологического процесса и является прямой противоположностью иммунологической толерантности. Эта необычная форма реагирования, основу которой составляют естественные физиологические механизмы, получила название аллергия. Соответственно антигены, вызывающие аллергические реакции, получили название аллергены.

Современное определение понимает аллергию как повышенную извращенную специфическую реакцию макроорганизма на повторный контакт организма с антигеном (аллергеном).

Для формировании аллергии необходима предварительная сенсибилизация макроорганизма к аллергену или аллергизация. Ее можно вызвать очень малой, субиммунизирующей дозой антигена (например, введением морской свинке 0, 000001 мл лошадиной сыворотки), которая получила название сенсибилизирующей. Повторное введение того же антигена через определенный промежуток времени вызывает аллергическую реакцию. Дозу антигена, вызывающую собственно аллергическую реакцию, называют разрешающей.

В развитии аллергической реакции выделяют три стадии: иммунологическую, патохимическую и патофизиологическую. В течение иммунологической стадии в ответ на аллерген образуются антигеночувствительные клетки, специфические антитела и иммунные комплексы. Патохимическая стадия характеризуется образованием медиаторов воспаления и биологически активных аминов, которые играют основную роль в механизме аллергических реакций. В течение патофизиологической стадии проявляется клиническая картина аллергической реакции. Как правило, клинические проявления аллергии полиморфны.

По классификации Джелла и Р. Кумбса (1968 г.) различают четыре основных типа аллергии: анафилактический (I тип), цитотоксический (II тип), иммунокомплексный (III тип) и опосредованный клетками (IV тип). Первые три типа относятся к гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ), четвертый – к гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Ведущую роль в запуске ГНТ играют антитела (IgE, IgG и IgM), а ГЗТ – лимфоидно-макрофагальная реакция.

Аллергическая реакция I типа связана с биологическими эффектами IgE и IgG4, названных реагинами, которые обладают цитофильностью – сродством к тучным клеткам и базофилам. Эти клетки несут на поверхности высокоаффинный FcR, связывающий IgE и IgG4 и использующий их как ко-рецепторный фактор специфического взаимодействия с эпитопом аллергена. Связывание аллергена с рецепторным комплексом вызывает дегрануляцию базофила и тучной клетки – залповый выброс биологически активных соединений (гистамин, гепарин и др.), содержащихся в гранулах, в межклеточное пространство. Их действие практически мгновенно, но кратковременно, включает ряд органо-тканевых патофизиологических реакций, связанных с сокращением гладкой мускулатуры кишечника, бронхов, мочевого пузыря и активацией секреторных, эндотелиальных и некоторых других клеток. В результате, развиваются бронхоспазм, вазодилатация, отек и прочие симптомы, характерные для анафилаксии. Вырабатываемые цитокины стимулируют клеточное звено иммунитета: образование Т2-хелпера и эозинофилогенез.

Наиболее ярко аллергическая реакция I типа проявляется в клинической картине анафилактического шока. Инъекция сыворотки крови больного с аллергией I типа здоровому лицу переносит ему специфический реагин и делает на определенное время сенсибилизированным. На этом феномене основан эффект реакции Прауснитца-Кюстнера, ранее использовавшейся для диагностики аллергии: контакт тест – пациента с аллергеном вызывал у него анафилаксию.

Цитотоксические антитела (IgG, IgM), направленные против поверхностных структур (антигенов) соматических клеток макроорганизма, связываются с клеточными мембранами клеток-мишеней и запускают различные механизмы антителозависимой цитотоксичности (аллергическая реакция II типа). Массивный цитолиз сопровождается соответствующими клиническими проявлениями. Классическим примером является гемолитическая болезнь в результате резус-конфликта или переливания другой группы крови.

Цитотоксическим действием обладают также комплексы антиген-антитело, образующиеся в организме пациента в большом количестве после введения массивной

дозы антигена (аллергическая реакция III типа). Чрезмерное количество циркулирующих иммунных комплексов не может быть быстро утилизировано стандартными механизмами фагоцитирующих клеток. Фиксируясь на эндотелии сосудов, в клубочках почек и других тканях, иммунные комплексы инициируют антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, сопровождающуюся воспалительной реакцией. В связи с кумулятивным эффектом клиническая симптоматика аллергической реакции III типа имеет отсроченную манифестацию, иногда на срок более 7 суток. Тем не менее, этот тип реакции относят к ГНТ. Реакция может проявляться, как одно из осложнений от применения иммунных гетерологичных сывороток с лечебно-профилактической целью («сывороточная болезнь»).

ГЗТ представляет собой лимфоидно-макрофагальную реакцию, которая развивается в результате иммунной активации макрофагов под влиянием лимфоцитов, сенсибилизированных к аллергену. Основу ГЗТ составляют нормальные механизмы иммунного воспаления.

Для иммунной активации макрофага необходимы два воздействия: контактное и цитокиновое. Контактная стимуляция – результат рецептор-лигандного взаимодействия макрофага, несущего рецепторную молекулу CD40, и Т1-хелпера, экспрессирующего CD40-лиганд. В исключительных случаях, эту функцию может выполнять Т2-хелпер. Цитокиновая активация макрофага осуществляется γ-ИФН, который продуцируют Т1-хелперы, Т-киллеры или естественные киллеры. Кроме того, макрофаг может быть стимулирован ЛПС (через CDH-рецепторную молекулу). Ингибиторами активации макрофага являются продукты Т2-хелпера: ИЛ-4, -10, -13 и другие иммуноцитокины.

Иммунная активация макрофага резко повышает его эффективность в осуществлении антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности и иммунного фагоцитоза, т.е. деструкции и элиминации антигена. В процессе санации очага, макрофаг при помощи цитокинов стимулирует иммуногенез, а также фиброз и ангиогенез. Последние необходимы для восстановления тканевой альтерации. В случае неспособности макрофага элиминировать патоген (например, микобактерии), на месте внедрения формируется гранулема. Это патологическое образование с центрально расположенным возбудителем, окруженным фиброзной тканью. По периферии образуется макрофагальный инфильтрат вплоть до макрофагально-синцитиального вала. Неэффективный ангиогенез ведет к трофической недостаточности гранулемы и тогда она некротизируется («казеозный некроз»).

Реакции гиперчувствительности имеют также большое значение и в норме. Их механизмы лежат в основе воспаления, которое способствует локализации инфекционного агента или иного антигена в пределах определенных тканей и формированию полноценной иммунной реакции защитного характера.

Иммунологическая память. При повторной встрече с антигеном организм формирует более активную и быструю иммунную реакцию – вторичный иммунный ответ. Этот феномен получил название иммунологической памяти.

Иммунологическая память имеет высокую специфичность к конкретному антигену, распространяется как на гуморальное, так и клеточное звено иммунитета и обусловлена В- и Т-лимфоцитами. По длительности сохранения можно различить кратковременную и длительную иммунологическую память (ИП). Кратковременная ИП продолжается только несколько месяцев после удаления антигена и формируется в ответ на многие антигены. Длительная ИП сохраняется годами и даже десятилетиями, иногда пожизненно и возникает лишь против небольшого количества антигенов.

На сегодняшний день рассматривают два наиболее вероятных механизма формирования иммунологической памяти. Один из них предполагает длительное сохранение анти-

гена в организме. Этому имеется множество примеров: инкапсулированный возбудитель туберкулеза, персистирующие вирусы кори, полиомиелита, ветряной оспы и некоторые другие патогены длительное время, иногда всю жизнь, сохраняются в организме, поддерживая в напряжении иммунную систему. Вероятно также наличие долгоживущих дендритных АПК, способных длительно сохранять и презентировать антиген.

Другой механизм предусматривает, что в процессе развития в организме продуктивного иммунного ответа часть антигенреактивных Т- или В-лимфоцитов дифференцируется в малые покоящиеся клетки или клетки иммунологической памяти. Эти клетки отличаются высокой специфичностью к конкретной антигенной детерминанте и большой продолжительностью жизни (до 10 лет и более). Они активно рециркулируют в организме, распределяясь в тканях и органах, но постоянно возвращаются в места своего происхождения за счет хоминговых рецепторов. Это обеспечивает постоянную готовность иммунной системы реагировать на повторный контакт с антигеном по вторичному типу.

Феномен иммунологической памяти широко используется в практике вакцинации людей для создания напряженного иммунитета и поддержания его длительное время на защитном уровне. Осуществляют это 2-3-кратными прививками при первичной вакцинации и периодическими повторными введениями вакцинного препарата – ревакцинациями.

Иммунологическая толерантность – явление, противоположное иммунному ответу и иммунологической памяти. Проявляется она отсутствием специфического продуктивного иммунного ответа организма на антиген в связи с неспособностью его распознавания.

В отличие от иммуносупрессии иммунологическая толерантность предполагает изначальную ареактивность иммунокомпетентных клеток к определенному антигену.

Впервые иммунотолерантность четко описал Р. Оуэн (1945), который обследовал разнояйцовых телят-близнецов. Ученый установил, что такие животные в эмбриональном периоде обмениваются через плаценту кровяными ростками и после рождения обладают одновременно двумя типами эритроцитов – своими и чужими. Наличие чужеродных эритроцитов не вызывало иммунную реакцию и не приводило к внутрисосудистому гемолизу. Явление было названо эритроцитарной мозаикой или химеризмом. Однако, Оуэн не смог дать ему объяснение.

Собственно феномен иммунологической толерантности был открыт в 1953 г. независимо чешским ученым М. Гашеком и группой английских исследователей во главе с П. Медаваром. Гашек в опытах на куриных эмбрионах, а Медавар – на новорожденных мышатах показали, что организм становится нечувствительным к антигену при его введении в эмбриональном или раннем постнатальном периоде.

Иммунологическую толерантность вызывают антигены, которые получили название толерогены. Ими могут быть практически все вещества, однако, наибольшей толерогенностью обладают полисахариды.

Иммунологическая толерантность бывает врожденной и приобретенной. Примером врожденной толерантности является отсутствие реакции иммунной системы на свои собственные антигены. Приобретенную толерантность можно создать, вводя в организм вещества, подавляющие иммунитет (иммуннодепрессанты) или же путем введения антигена в эмбриональном периоде или в первые дни после рождения индивидуума. Приобретенная толерантность может быть активной и пассивной. Активная толерантность создается путем введения в организм толерогена, который формирует специфическую толерантность. Пассивную толерантность можно вызвать веществами, тормозящими биосинтетическую или пролиферативную активность иммунокомпетентных клеток (антилимфоцитарная сыворотка, цитостатики и пр.).

Степень проявления иммунологической толерантности существенно зависит от ряда свойств макроорганизма и толерогена. Так, на проявление толерантности влияет возраст и состояние иммунореактивности организма. Иммунологическую толерантность легче индуцировать в эмбриональном периоде развития и в первые дни после рождения, лучше всего, она проявляется у животных со сниженной иммунореактивностью и с определенным генотипом.

Из особенностей антигена, которые определяют успешность индукции иммунологической толерантности, нужно отметить степень его чужеродности для организма и природу, дозу препарата и продолжительность воздействия антигена на организм. Наибольшей толерогенностью обладают наименее чужеродные по отношению к организму антигены, имеющие малую молекулярную массу и высокую гомогенность. Легче всего формируется толерантность на тимуснезависимые антигены, например, бактериальные полисахариды.

Важное значение в индукции иммунологической толерантности имеют доза антигена и продолжительность его воздействия. Различают высокодозовую и низкодозовую толерантность. Высокодозовую толерантность вызывают введением больших количеств высококонцентрированного антигена. При этом наблюдается прямая зависимость между дозой вещества и производимым им эффектом. Низкодозовая толерантность, наоборот, вызывается очень малым количеством высокогомогенного молекулярного антигена. Соотношение «доза-эффект» в этом случае, имеет обратную зависимость.

В эксперименте толерантность возникает через несколько дней, а иногда несколько часов после введения толерогена и, как правило, проявляется в течение всего времени, пока он циркулирует в организме. Эффект ослабевает или прекращается с удалением из организма толерогена. Обычно иммунологическая толерантность наблюдается непродолжительный срок – всего несколько дней. Для ее пролонгирования необходимы повторные инъекции препарата.

Механизмы толерантности многообразны и до конца не расшифрованы. Известно, что ее основу составляют нормальные процессы регуляции иммунной системы. Выделяют три наиболее вероятные причины развития иммунологической толерантности:

1. Элиминация из организма антигенспецифических клонов лимфоцитов.
2. Блокада биологической активности иммунокомпетентных клеток.
3. Быстрая нейтрализация антигена антителами.

Элиминации или делеции подвергаются, как правило, клоны аутореактивных Т- и В-лимфоцитов на ранних стадиях их онтогенеза. Активация антигенспецифического рецептора (TCR или BCR) незрелого лимфоцита индуцирует в нем апоптоз. Этот феномен, обеспечивающий в организме ареактивность к аутоантигенам, получил название центральной толерантности.

Основная роль в блокаде биологической активности иммунокомпетентных клеток принадлежит иммуноцитокинам. Воздействуя на соответствующие рецепторы, они способны вызвать ряд «негативных» эффектов. Например, пролиферацию Т- и В-лимфоцитов активно тормозит β-ТФР. Дифференцировку Т0-хелпера в Т1 можно заблокировать при помощи ИЛ-4, -13, а в Т2-хелпер – γ-ИФН. Биологическая активность макрофагов ингибируется продуктами Т2-хелперов (ИЛ-4, -10, -13, β-ТФР и др.).

Биосинтез в В-лимфоците и его превращение в плазмоцит подавляется IgG. Быстрая инактивация молекул антигена антителами предотвращает их связывание с рецепторами иммунокомпетентных клеток – элиминируется специфический активирующий фактор.

Возможен адаптивный перенос иммунологической толерантности интактному животному путем введения ему иммунокомпетентных клеток, взятых от донора. Толерантность можно также искусственно отменить. Для этого, необходимо активировать иммунную

систему адъювантами, интерлейкинами или переключить направленность ее реакции иммунизацией модифицированными антигенами. Другой путь – удалить из организма толероген, сделав инъекцию специфических антител или проведя иммуносорбцию.

Феномен иммунологической толерантности имеет большое практическое значение. Он используется для решения многих важных проблем медицины, таких как пересадка органов и тканей, подавление аутоиммунных реакций, лечение аллергий и других патологических состояний, связанных с агрессивным поведением иммунной системы.

Особенности местного иммунитета

В структуре системы иммунной защиты выделяют местный и общий иммунитет. В отличие от общего, местный иммунитет формируется в пределах кожных покровов и слизистых, имеющих обширную область контакта с окружающей средой и являющихся наиболее вероятными входными воротами экзогенных антигенов. Основная задача местного иммунитета – обеспечение местной, локальной иммунной защиты в пределах ткани. Кроме того, факторы местного иммунитета могут действовать экстракорпорально (выходить за пределы макроорганизма) – на поверхности кожных покровов и в составе секрета слизистых.

Система местного иммунитета не имеет выраженного анатомо-морфологического обособления. Между общим и местным иммунитетом существует тесная связь. Во-первых, система общего иммунитета является резервным источником факторов защиты. При нарушении микроциркуляции локальный воспалительный процесс быстро переходит в затяжную септическую форму. Во-вторых, при развитии инфекционного процесса отчетливо прослеживается взаимный переход местной и общей иммунной реакции одна в другую. В-третьих, между этими двумя системами постоянно осуществляется обмен факторами иммунитета (антитела, клоны антигенреактивных лимфоцитов и др.). Это важно для распространения по всему организму иммунологической памяти, но также зачастую приводит к генерализации инфекции. Тем не менее, система местного иммунитета функционирует достаточно обособленно и имеет ряд особенностей.

Иммунитет кожи. Кожа выполняет пограничную функцию. Как фактор механической защиты, она предохраняет макроорганизм от внешних воздействий и в случае повреждения. способна самостоятельно его ликвидировать, восстановив свою целостность. Кожный покров имеет также физико-химическую защиту в виде потовых и сальных желез, продукты которых обладают бактерицидностью. Кроме того, кожа наделена эффективной системой местного иммунного реагирования.

Внешний слой кожи, эпидермис, формируется эпителиальными клетками – кератиноцитами. Эти клетки образуют несколько слоев. В толще кератиноцитов встречаются дендритные клетки двух типов: клетки Лангерганса и клетки Гренстейна. В тканях дермы и эпидермиса локализуются лимфоциты и тучные клетки. Лимфоидная популяция представлена в основном Т2-хелперами и Т-киллерами. В дерме и эпидермисе происходит дифференцировка незрелых Т-лимфоцитов в зрелые клетки.

Кератиноциты – немигрирующие эпителиальные клетки, выполняющие в коже важную иммунорегуляторную функцию. На своей поверхности они экспрессируют MHC II класса, ко-стимулирующие молекулы CD40, CD80, CD86 и Fas-лиганд. Клетки синтезируют широкий спектр цитокинов: ИЛ-1. -3, -6. -7, -8, -15, ФНО, β-ТФР, ГМ-КСФ, α-, β-ИФН, хемокины.

В покоящемся, неактивированном состоянии кератиноциты обеспечивают только барьерную функцию, не связанную с индукцией иммунного ответа. Повреждающие кожу

воздействия (травма, ожог, облучение, воспалительная реакция и пр.) или стимуляция со стороны иммунокомпетентных клеток активируют иммунорегуляторные свойства кератиноцитов. Они становятся способными презентировать антиген Т-хелперам, а благодаря синтезируемым цитокинам – активировать антительный иммунный ответ и супрессировать местную клеточную пролиферацию иммунных лимфоцитов.

Клетки Лангерганса – мигрирующие клеточные элементы, дендритные клетки миелоидной природы или белые отростчатые эпидермоциты. Происходят из клеток костного мозга или циркулирующих моноцитов, трансформируясь в дерме под действием цитокинов. Продолжительность жизни около 20 суток. УФ-излучение губительно действует на них. Экспрессируют на клеточной мембране МНС II класса, CD4, CD40, синтезируют ИЛ-1, -12, - и β-ИФН, ГМ-КСФ, хемокины.

Клетки Лангерганса выполняют функции АПК. Между тем, процесс запуска ими иммунного ответа двухэтапный – он разобщен в пространстве и времени. Клетки способны захватывать и процессировать антиген. Однако, на этом этапе дифференцировки, клетки Лангерганса не способны экспрессировать полный набор ко-стимулирующих факторов, у них отсутствуют молекулы CD80, CD86.

Локальная воспалительная реакция или цитокиновые стимулы активируют клетки Лангерганса. Захватившая антиген клетка мигрирует с током лимфы в регионарные лимфоузлы, где она дифференцируется в зрелую дендритную клетку – интердигитальную клетку лимфоузлов. Дифференцировка сопровождается изменением мембранного фенотипа – клетка начинает экспрессировать недостающие молекулы CD80, CD86, а также синтезировать цитокины. Интердигитальная клетка теряет способность захватывать и процессировать антиген, но при этом, превращается в эффективную АПК. Она активирует Т-хелперы и запускает специфический ИО и формирование клеток иммунологической памяти.

Разобщение в пространстве и времени индукции в коже специфического иммунного ответа имеет важное значение. Презентация антигена в лимфатическом узле сопрягает систему местного и общего иммунитета. Централизованное размножение клеток иммунологической памяти и их расселение вдоль всех кожных покровов обеспечивают местный иммунитет кожи независимо от его инициации.

В случае инактивации клеток Лангерганса (например, УФ-облучением) функции АПК в коже начинают выполнять кератиноциты и клетки Гренстейна. Однако, они потенцируют иммуносупрессию – угнетение кожной иммунореактивности.

Антитела в коже не имеют большого значения, в эпидермисе нет В-лимфоцитов. Между тем, развитие кожной иммунореактивности может сопровождаться антителогенезом. В коже развивается преимущественно клеточной иммунный ответ. Напряженность местного иммунитета в коже, также как и интегральное состояние клеточного звена иммунитета в целом, диагностируется постановкой кожно-аллергических проб.

Иммунитет слизистых. Местный иммунитет слизистых обеспечивает иммунную защиту желудочно-кишечного и респираторного тракта и мочеполовой системы. Слизистые отличаются развитой лимфоидной тканью и высокой насыщенностью иммунокомпетентными клетками.

Лимфоидный состав слизистых имеет характерные особенности, обусловленные его формированием. Различают раннюю (реликтовую) и позднюю (современную) компоненты. Ранняя компонента представлена γδТ- и В1-лимфоцитами, которые на ранних этапах эмбриогенеза отселяются в периферические лимфоидные образования прямо из костного мозга и в дальнейшем, развиваются автономно от центральных органов иммунной системы. Антигенные рецепторы этих клеток отличаются относительно низкой аффинностью,

но обладают достаточно широким спектром чувствительности. Это позволяет им обеспечить первую линию защиты от микробной агрессии и необходимую отсрочку для активации поздней компоненты.

Клетки поздней компоненты заселяют слизистые гораздо позже ранней и развиваются под полным контролем со стороны центральных органов ИС. К их числу относятся традиционные αβТ- и CD5 В-лимфоциты, обладающие высокой специфичностью и аффинностью рецепторного аппарата. Лимфоидные популяции поздней компоненты создают вторую линию иммунной защиты в слизистых, которая формирует высокоэффективный специфический иммунный ответ.

Наиболее ярким примером организации иммунной защиты слизистых является высокоразвитая лимфоидная система желудочно-кишечного тракта. В ней различают две функциональные зоны – индуктивную и эффекторную.

Индуктивная зона сформирована лимфоидными фолликулами (в том числе, аппендикса, пейеровых бляшек), в которых идентифицируются области преимущественного расселения Т- и В-лимфоцитов. Например, в В-области располагается герминативный (зародышевый) центр, где размножаются и созревают В-лимфоциты. Индуктивная зона практически полностью состоит из равных количеств Т- и В-лимфоцитов. Т-популяция на 2/3 представлена Т-киллерами и на 1/3 – Т-хелперами. В-лимфоциты – это в основном IgA-продуценты. Кроме того, в зоне обнаруживаются макрофаги и дендритные клетки.

Презентацию антигена, в основном, осуществляют дендритные клетки – короткоживущие (до 3 сут) клеточные элементы миелоидного происхождения. Эту же функцию могут выполнять макрофаги и В-лимфоциты. Помощь в презентации антигена оказывают М-клетки эпителия. Они захватывают молекулы антигена в просвете органа и путем трансцитоза переносят его к АПК.

В индуктивной зоне осуществляется: а) презентация и распознавание антигена; б) индукция иммунного реагирования; в) формирование клонов антигенспецифичных Т- и В-лимфоцитов; г) дифференцировка В-лимфоцитов в IgA-продуценты.

Эфферентная зона включает околоэпителиальную область, где располагаются интраэпителиальные лимфоциты и область lamina propria. Популяция интраэпителиальных лимфоцитов на 3/4 состоит из Т-киллеров, среди которых много γδТ-лимфоцитов. Они обеспечивают функцию иммунологического надзора за быстро размножающимся эпителием. Презентируют антиген энтероциты. В активированном состоянии они экспрессируют МНС II класса, синтезируют цитокины и хемокины (ИЛ-8). Однако, энтероциты являются «неклассическими» АПК.

В lamina propria обнаруживается много Т- и В-лимфоцитов, а также макрофаги и ЕК. На долю Т-лимфоцитов приходится до 60% всей лимфоидной популяции. На 2/3 это Т-хелперы, остальные клетки – Т-киллеры, в том числе, γδТ-лимфоциты. Объем пула В-лимфоцитов достигает 40%, половину из их числа составляют В1-клетки. Подавляющее большинство антителопродуцентов (80%) синтезирует полимерные молекулы IgA.

В lamina propria развивается преимущественно антительный ответ. Идет интенсивный биосинтез иммуноглобулинов классов А, М, G, и Е. Они действуют, как в пределах самих тканей, так и в составе секрета слизистых, куда проступают в результате направленного транспорта (sIg) или диффузии. Однако, наибольшую функциональную нагрузку несет sIgA, хорошо защищенный от протеолитических ферментов секрета.

В собственной пластинке присутствует большое количество фагоцитов. Привлеченные хемоаттрактантами, они способны совершать маятникообразные миграции: выходить через эпителий за его пределы (в просвет кишки, бронха, ротовой полости и т.д.) и возвращаться обратно.

В пределах слизистых обнаруживается много тучных клеток и эозинофилов. Синтезируя вазоактивные амины (тучная клетка), токсины (эозинофил), ферменты, иммуноцитокины, липидные медиаторы и другие биологически активные вещества, они участвуют в регуляции иммунной и воспалительной реакции в пределах ткани. В случае гиперпродукции IgE и особой генетической предрасположенности, тучные клетки потенцируют развитие аллергической реакции I типа (анафилаксия).

Сами эпителиоциты также принимают участие в осуществлении местного иммунитета. Они представляют собой хороший механический барьер для патогенов. Секрет слизистых также выполняет функции физико-химического барьера, а нормальная микрофлора, населяющая слизистые, – биологического, обеспечивая колонизационную резистентность.

Особенности иммунитета ротовой полости. Организация иммунной защиты ротовой полости принципиально не отличается от описанной выше системы местного иммунитета слизистых. Она удачно сочетает как факторы неспецифической резистентности, так и специфические иммунные факторы, обеспечивающие эффективную защиту полости рта от кариесогенных и иных болезнетворных микробов.

Неспецифические факторы резистентности ротовой полости представлены, в основном, барьерными свойствами клеток слизистой оболочки и антимикробной функцией слюны. Последняя занимает особое положение в структуре защиты макроорганизма от микробной интервенции.

В течение суток слюнные железы макроорганизма взрослого человека выделяют до 2 л секрета с выраженной энзиматической активностью. Слюна представляет собой не только мощный физико-химический барьер, трудно преодолимый патогенами, она также содержит широкий набор факторов, обладающих выраженными бактерицидными свойствами. В первую очередь, это лизоцим и лактоферрин, а также лактопероксидаза и отдельные компоненты комплемента. Кроме того, в слюне здоровых людей постоянно присутствуют клеточные элементы, обеспечивающие биологический барьер: полиморфноядерные лейкоциты и моноциты. Одномоментно, в слюне ротовой полости содержится до 100 000 фагоцитирующих клеток.

В соединительнотканной строме ротовой полости также обнаруживаются клеточные элементы системы неспецифической резистентности: активно мигрирующие тканевые макрофаги, фибробласты, гранулоциты и тучные клетки.

Ротовая полость обеспечена эффективной системой специфической иммунной защиты. Анатомически она представлена мощными миндалинами глоточного кольца, хорошо развитой системой лимфоидного дренирования в подчелюстных, подъязычных, околоушных и шейных лимфоузлах. В тканях обнаруживаются лимфоидные скопления, а в слюне – лимфоциты и широкий спектр иммуноглобулинов изотипов A, M, G, и E.

В слюне, как и в других секретах, доминирует IgA. Здесь его содержится заметно больше, чем в сыворотке крови. Наибольшую функциональную нагрузку несет секреторная форма IgA (sIgA). Содержание IgM, IgG и IgE в слюне несколько меньше, чем в сыворотке крови. Однако, иммуноглобулины этих изотипов также участвуют в иммунной защите ротовой полости. Снижение содержания в слюне иммуноглобулинов, особенно IgA, чревато гнойно-воспалительными или аллергическими заболеваниями слизистой этого анатомического образования.

Особенности иммунитета против инфекций и при различных состояниях

Защита возбудителя от реакций системы иммунитета. На земле многоклеточные существа окружены массой паразитических микроорганизмов. И у каждого макроорганизма имеется своя система защиты, ограждающая его от паразитических форм жизни. Однако, если эта система по каким-либо причинам функционирует неправильно или паразиту уда-

ется «обмануть» ее генетически запрограммированный механизм, то развивается состояние паразитизма.

В процессе эволюции у многих паразитических микроорганизмов выработался комплекс факторов, с помощью которых они «научились» проникать через покровные барьеры и «обманывать» систему иммунитета своих хозяев. Некоторые бактерии способны проникать практически через неповрежденные слизистые и даже кожу. Например, бруцеллы используют для этого фермент гиалуронидазу и нейраминидазу.

В противодействии механизмам фагоцитарной адгезии и поглощения решающую роль играют капсулы и капсулоподобные структуры микроорганизмов, некоторые микробы выделяют репелленты, способные блокировать хемотаксис или продуцировать токсины, которые разрушают приближающиеся фагоциты (стафилококки и др.). Многие микроорганизмы приспособились к внутрифагоцитарному персистированию (микобактерии, бруцеллы, листерии и др.). Они приобрели и генетически закрепили способности нарушать механизмы внутрифагоцитарного киллинга. Прежде всего, этот эффект достигается при нарушении слияния фагосом, содержащих возбудитель, с лизосомами и гранулами фагоцитов, содержащих токсичные и гидролитичекие субстанции. Некоторые возбудители подавляют способность фагоцитов активироваться под влиянием γ-ИФН. Ряд микроорганизмов подавляет у макрофагов способность к экспрессии молекул МНС класса II и презентации антигенов на своей поверхности.

Большинство патогенных бактерий в той или иной степени устойчивы к продуктам респираторного взрыва. Эти бактерии содержат ферменты каталазу и супераниондисмутазу. Первая разрушает перекись водорода, а вторая – супероксидный анион, промежуточный продукт образования перекисей.

Другие возбудители приобрели структуры, которые по своим свойствам напоминают рецепторы для Fc-фрагментов антител (например, протеин А у стафилококков или гликопротеины у герпесвирусов). Стафилококки адсорбируют на своей поверхности антитела, но только наоборот, как бы «другим концом». В результате, вся клетка возбудителя покрыта антителами, которые не только не помогают распознать ее, а напротив – маскируют ее от киллерных клеток ИС. Отдельные паразиты продуцируют протеазы, которые расщепляют иммуноглобулины с удалением Fc-фрагмента.

Другим важным направлением в «обмане» системы иммунитета служит выработка антигенов, вызывающих очень мощную активацию ИС и продуцирование большого количества цитокинов (например, эндотоксины грамотрицательных бактерий или энтеротоксины стафилококков). Это может приводить к различным физиологическим расстройствам – диссеминированному внутрисосудистому свертыванию крови, нарушению сосудистой проницаемости, циркуляторному коллапсу и геморрагическим некрозам. Чрезмерная активация ИС сменяется состоянием вторичного иммунодефицита. В качестве одного из вариантов суперактивации иммунитета рассматривают действие суперантигенов. Эти антигены, продуцируемые паразитическими микроорганизмами, обладают уникальной структурой и способны без всякого процессинга и презентации соединяться с вариабельными областями β-цепей TCR (у Т-клеток) и одновременно – с молекулами МНС класса II на антигенпрезентирующих клетках. В результате независимо от специфичности моделируется эффект распознавания и Т-лимфоцитов запускается в пролиферацию и дифференцировку. Таким образом, вместо целенаправленного накопления и активации антигенспецифических клеток происходит поликлональная активация лимфоцитов с различной специфичностью.

Ряд вирусов (цитомегаловирусы и аденовирусы) индуцируют выработку белков, подавляющих экспрессию молекул МНС класса I на мембране пораженных клеток. Это помогает блокировать распознавание этих клеток Т-киллерами. Вирусы могут индуциро-

вать цитокинподобные белки (ИЛ-10 у вируса Эпштейн-Барр), которые в большом количестве подавляет механизмы активации ИС.

Определенные виды простейших и гельминтов формируют защитные цисты и оболочки из коллагеновых и фибриновых молекул организма хозяина (эхинококки, трихинеллы и др.). Внутри этих оболочек они защищены от атаки клеток иммунитета. Для большинства патогенных микроорганизмов характерна индукция иммуносупрессии в организме хозяина. Например, многие внутриклеточные паразиты (микробы, вирусы и др.), а также многоклеточные паразиты (цестоды, нематоды) способны вызывать у макрофагов выработку супрессирующих цитотоксинов (в частности – простагландинов), подавляющих развитие иммунного ответа.

Несмотря на то, что механизмы иммунного ответа генетически детерминированы и протекают в организме по определенной программе, отмечаются существенные отличия в их проявлениях. Это зависит от антигенных, биологических, вирулентных и других свойств возбудителя, от дозы и путей его проникновения в организм, а также – от характера паразитирования.

Таким образом, для формирования эффективной защиты против паразитических форм жизни организм хозяина должен приобрести механизмы, нейтрализующие вышеперечисленные факторы патогенности.

Особенности иммунитета при бактериальных инфекциях. Иммунная реакция макроорганизма в ответ на бактериальную инфекцию в значительной степени определяется факторами патогенности микроба и, в первую очередь, его способностью к токсинообразованию. Различают антибактериальный (против структурно-функциональных компонентов бактериальной клетки) и антитоксический (против белковых токсинов) иммунитет. Основными факторами антибактериальной защиты, в подавляющем большинстве случаев, являются антитела и фагоциты. Антитела эффективно инактивируют биологически активные молекулы бактериальной клетки (токсины, ферменты агрессии и др.), маркируют их, запускают механизм антителозависимого бактериолиза и участвуют в иммунном фагоцитозе. Фагоциты осуществляют фагоцитоз, в том числе, иммунный, внеклеточный киллинг патогена при помощи ион-радикалов и антителозависимый бактериолиз. Антитела также могут связываться с адгезивными структурами бактерий (фибриллами, фимбриями). В результате этого процесса, бактерии теряют способность взаимодействовать с соответствующими рецепторами на мембране клеток хозяина и не развивают патогенных эффектов. Связываясь с антигенами на поверхности бактерий, антитела инициируют запуск реакции активации комплемента по классическому пути.

Ряд бактерий, относящихся к факультативным внутриклеточным паразитам, отличается повышенной устойчивостью к действию комплемента, лизоцима и фагоцитов (незавершенный фагоцитоз). К их числу относятся микобактерии, бруцеллы, сальмонеллы и некоторые другие. В отношении этих микробов антитела и фагоциты недостаточно эффективны, а сам инфекционный процесс имеет склонность к хроническому течению. В такой ситуации макроорганизм вынужден переключать нагрузку на клеточное звено иммунитета, что ведет к аллергизации организма по типу ГЗТ. Особое значение приобретают активированный макрофаг и естественный киллер, осуществляющие антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, а также γδТ-лимфоцит. При антибактериальном иммунном ответе особо отмечают функции Т-хелперов как клеток, не только инициирующих запуск В-клеточного, гуморального ответа, но и активирующих моноциты и макрофаги. ЕК тоже могут участвовать в антибактериальной защите. Их действие особенно эффективно в условиях развития внутриклеточных инфекций, когда необходимы механизмы разрушения инфицированных клеток хозяина.

Кроме перечисленных, на внедрившиеся бактерии воздействует весь арсенал факторов неспецифической резистентности. Среди них важная роль в борьбе с грамположительными микробами принадлежит системе комплемента, лизоциму и белкам острой фазы (С-реактивному и маннозосвязывающему протеинам).

Напряженность специфического антибактериального иммунитета оценивают в серологических тестах по титру или динамике титра специфических антител, а также по состоянию клеточной иммунореактивности (например, по результатам кожно-аллергической пробы).

Приобретенный антибактериальный иммунитет, как правило, является типоспецифическим и нестойким. Этим объясняются частые случаи повторных заболеваний бактериальными инфекциями.

Особенности противовирусного иммунитета. Иммунная защита макроорганизма при вирусных инфекциях имеет особенности, обусловленные двумя формами существования вируса: внеклеточной и внутриклеточной. Основными факторами, обеспечивающими противовирусный иммунитет, являются специфические антитела, Т-киллеры, ЕК, интерферон и сывороточные ингибиторы вирусных частиц.

Специфические противовирусные антитела способны взаимодействовать только с внеклеточным вирусом (вирионом), внутриклеточные структуры прижизненно для них недоступны. Антитела нейтрализуют вирусную частицу, препятствуя ее адсорбции на клетке-мишени, инфицированию и генерализации процесса, а также связывают вирусные белки и нуклеиновые кислоты, которые попадают в межклеточную среду и секреты после разрушения зараженных вирусами клеток. Образовавшиеся иммунные комплексы элиминируются путем иммунного фагоцитоза. Специфическое связывание антител с вирусными белками, экспрессированными на ЦПМ инфицированных клеток, индуцирует цитотоксическую активность естественных киллеров.

Клетки, инфицированные вирусом и приступившие к его репликации, экспрессируют вирусные белки на цитоплазматической мембране в составе молекул антигенов гистосовместимости – МНС I класса. Это является сигналом для активации ЕК и Т-киллеров, которые распознают зараженные вирусом клетки и уничтожают их.

Сывороточные ингибиторы неспецифически связываются с вирусной частицей и нейтрализуют ее, препятствуя тем самым, адсорбции вируса на клетках-мишенях.

Напряженность противовирусного иммунитета оценивают преимущественно в серологических тестах – по нарастанию титра специфических антител в парных сыворотках в процессе болезни. Иногда определяют концентрацию интерферона в сыворотке крови.

Специфические антитела против ряда вирусных антигенов присутствуют в сыворотках здоровых людей, что объясняется всеобщей иммунизацией населения против ряда вирусных инфекций (полиомиелит, корь, краснуха, грипп, гепатит А и В и др.), а также возможностью скрытого (латентного) течения некоторых из них (герпес, цитомегаловирус, гепатит В и С и др.).

Особенностью взаимодействия вирусов с иммунной системой организма является способность некоторых вирусов паразитировать непосредственно в клетках ИС, вследствие чего, развиваются иммунодефицитные состояния инфекционной природы (СПИД, лейкозы).

Особенности противогрибкового иммунитета. Антигены грибов имеют относительно низкую иммуногенность: они практически не индуцируют антителообразование (титры специфических антител остаются низкими), но стимулируют клеточное звено иммунитета. Между тем, основными действующими факторами противогрибкового иммунитета являются активированные макрофаги, которые осуществляют антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность грибов.

При микозах наблюдается аллергизация макроорганизма. Кожные и глубокие микозы сопровождаются, как правило, ГЗТ. Грибковые поражения слизистых дыхательных и мочеполовых путей вызывают аллергизацию по типу ГНТ (реакция I типа). Напряженность противогрибкового иммунитета оценивается по результатам кожно-аллергических проб с грибковыми аллергенами.

Особенности иммунитета при протозойных инвазиях. Характерные особенности противопаразитарного иммунного ответа обусловлены размерами объектов, против которых приходится действовать системе иммунитета. Паразиты больших размеров не могут быть фагоцитированы даже макрофагами, их нельзя непосредственно нейтрализовать и антителами. Характер противопаразитарного иммунитета определяется структурно-функциональными особенностями паразита и его жизненного цикла при инвазии макроорганизма. Многие паразиты обладают высокой антигенной изменчивостью, что позволяет им избегать действия факторов иммунитета. Например, каждой стадии развития малярийного плазмодия соответствуют свои специфические антигены. Здесь организм хозяина включает другие механизмы защиты, которые могут быть эффективны против многоклеточных паразитов. Что касается паразитических организмов, персистирующих внутри клеток, то здесь основную роль играют киллерные клетки, которые уничтожают всю зараженную клетку.

Первую линию защиты при паразитарных болезнях формируют факторы врожденного иммунитета (макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы и тромбоциты, система комплемента). Фагоциты и гранулоциты в ответ на активацию после распознавания паразитарных клеток активируются и начинают процесс внеклеточного цитолиза. Механизмы этого процесса сводятся к высвобождению содержимого гранул лейкоцитов во внеклеточное пространство (дегрануляция) в непосредственной близости от паразита.

Особенно важную роль в процессах противопаразитарного внеклеточного цитолиза играют эозинофилы и нейтрофилы. Эозинофилы содержат в своих гранулах чрезвычайно токсичный для паразитов белок. В то же время этот белок не вызывает значительных повреждений собственных клеток хозяина. Нейтрофилы также содержат в составе своих гранул весьма токсичные для паразитов продукты (дефензины).

При формировании ИО на те или иные паразитарные антигены эффективность защитных реакций зависит в значительной степени от характера паразитирования возбудителя. Известно, что паразитарная инвазия сопровождается формированием в макроорганизме гуморального и клеточного иммунитета. В крови определяются специфические антитела классов M и G, которые чаще всего, не обладают протективным действием. Однако, они активируют антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность с участием макрофагов, а в случае внутриклеточного паразитирования – естественных киллеров и γδT-лимфоцитов. Паразитарные инвазии сопровождаются аллергизацией макроорганизма – отмечается усиление ГНТ и ГЗТ на протозойные антигены.

Напряженность противопаразитарного иммунитета оценивается в серологических тестах по титру специфических антител и в кожно-аллергических пробах с протозойным антигеном.

Особенности противоглистного иммунитета. Ведущую роль в осуществлении иммунной защиты макроорганизма от глистной инвазии играют эозинофилы, которые осуществляют антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность. Эти клетки «распознают» паразитов, «отмеченных» специфическими IgE или IgA. Активированный эозинофил, дегранулируясь, выделяет ряд токсических субстанций (ферменты, белковые токсины), губительно действующих на гельминты.

Антигены гельминта, связываясь также с рецепторными комплексами тучных клеток слизистой оболочки, вызывают их дегрануляцию. Экскретированные биологически активные соединения вызывают интенсивную перистальтику, удаляющую паразита или его останки из просвета кишки.

Эозинофилы и тучные клетки синтезируют цитокины и липидные медиаторы, потенцирующие воспалительную реакцию в месте внедрения гельминта. Глистная инвазия сопровождается аллергизацией, в основном, по типу ГЗТ.

Трансплантационным иммунитетом называют иммунную реакцию макроорганизма, направленную против пересаженной в него чужеродной ткани (трансплантата). Знание механизмов трансплантационного иммунитета необходимо для решения одной из важнейших проблем современной медицины – пересадки органов и тканей. Многолетний опыт показал, что успех операции по пересадке чужеродных органов и тканей, в подавляющем большинстве случаев, зависит от иммунологической совместимости тканей донора и реципиента.

Иммунная реакция на чужеродные клетки и ткани обусловлена тем, что в их составе содержатся генетически чужеродные для организма антигены. Эти антигены, получившие название трансплантационных или антигенов гистосовместимости, наиболее полно представлены на ЦПМ клеток.

Реакция отторжения не возникает в случае полной совместимости донора и реципиента по антигенам гистосовместимости – такое возможно лишь для однояйцовых близнецов. Выраженность реакции отторжения во многом зависит от степени чужеродности, объема трансплантируемого материала и состояния иммунореактивности реципиента.

При контакте с чужеродными трансплантационными антигенами организм реагирует факторами клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Основным фактором клеточного трансплантационного иммунитета являются Т-киллеры. Эти клетки после сенсибилизации антигенами донора мигрируют в ткани трансплантата и оказывают на них антителонезависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность.

Специфические антитела, которые образуются на чужеродные антигены (гемагглютинины, гемолизины, лейкотоксины, цитотоксины), имеют важное значение в формировании трансплантационного иммунитета. Они запускают антитело-опосредованный цитолиз трансплантата (комплемент-опосредованная и антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность).

Возможен адаптивный перенос трансплантационного иммунитета с помощью активированных лимфоцитов или со специфической антисывороткой от сенсибилизированной особи интактному макроорганизму.

Механизм иммунного отторжения пересаженных клеток и тканей имеет две фазы. В первой фазе вокруг трансплантата и сосудов наблюдается скопление иммунокомпетентных клеток (лимфоидная инфильтрация), в том числе, Т-киллеров. Во второй фазе происходит деструкция клеток трансплантата Т-киллерами, активируются макрофагальное звено, естественные киллеры, специфический антителогенез. Возникает иммунное воспаление, тромбоз кровеносных сосудов, нарушается питание трансплантата и происходит его гибель. Разрушенные ткани утилизируются фагоцитами.

В процессе реакции отторжения формируется клон Т- и В-клеток иммунной памяти. Повторная попытка пересадки тех же органов и тканей вызывает вторичный иммунный ответ, который протекает очень бурно и быстро заканчивается отторжением трансплантата.

С клинической точки зрения выделяют острое, сверхострое и отсроченное отторжение трансплантата. Различаются они по времени реализации реакции и отдельным механизмам.

Острое отторжение – это «нормальная» реакция ИС по механизму первичного ответа, которая развивается в течение первых недель или месяцев после трансплантации в отсутствие иммуносупрессивной терапии. В ее основе лежит комплекс всевозможных цитолитических реакций, как с участием антител, так и независимых от них.

Отсроченное отторжение имеет тот же механизм, что и острое. Возникает через несколько лет после операции у пациентов, получавших иммуносупрессивную терапию.

Сверхострое отторжение или криз отторжения, развивается в течение первых суток после трансплантации у пациентов, сенсибилизированных к антигенам донора, по механизму вторичного ИО. Основу составляет антительная реакция: специфические антитела связываются с антигенами эндотелия сосудов трансплантата и поражают клетки, активируя систему комплемента по классическому пути. Параллельно инициируется иммунное воспаление и свертывающая система крови. Быстрый тромбоз сосудов трансплантата вызывает его острую ишемию и ускоряет некротизацию пересаженных тканей.

Следовательно, при пересадке органов и тканей во избежание иммунологического отторжения трансплантата необходимо проводить тщательный подбор донора и реципиента по антигенам гистосовместимости.

Иммунитет против новообразований. В сложноорганизованном организме, наряду с нормальными физиологическими процессами, направленными на поддержание гомеостаза, с определенной частотой происходят и дезинтегрирующие события, обусловленные ошибками и старением сложноорганизованной биологической системы. В частности, появляются мутантные и опухолевые клетки.

Мутантные клетки возникают в результате нелетального действия химических, физических и биологических канцерогенов. К последним относятся разнообразные инфекционные агенты – облигатные внутриклеточные паразиты, и, в первую очередь, вирусы. Мутантные клетки отличаются от нормальных метаболическими процессами и антигенным составом, в частности, имеют измененные антигены гистосовместимости. Поэтому они активируют гуморальное и клеточное звенья иммунитета, осуществляющие надзорную функцию. Важную роль в этом процессе играют специфические антитела (запускают комплемент-опосредованную реакцию и антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность) и Т-киллеры, осуществляющие антителонезависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность.

Противоопухолевый иммунитет имеет свои особенности, связанные с низкой иммуногенностью раковых клеток. Эти клетки практически не отличаются от нормальных, интактных морфологических элементов собственного организма. Специфический антигенный «репертуар» опухолевых клеток также скуден. В число опухольассоциированных антигенов входит группа раково-эмбриональных антигенов, продукты онкогенов, некоторые вирусные антигены и гиперэкспрессируемые нормальные белки. Слабому иммунологическому распознаванию опухолевых клеток способствует отсутствие воспалительной реакции в месте онкогенеза, а также их иммуносупрессивная активность – биосинтез ряда «негативных» цитокинов (β-ТФР и др.), а также экранирование раковых клеток противоопухолевыми антителами.

Механизм противоопухолевого иммунитета до сих пор слабо изучен. Но имеются данные, что опухолевые клетки могут синтезировать вещества угнетающие систему иммунитета. Известно, что основную роль в нем играют активированные макрофаги; определенное значение имеют также естественные киллеры. Защитная функция гуморального иммунитета во многом спорная – специфические антитела могут экранировать антигены опухолевых клеток, не вызывая их цитолиза.

Вместе с тем, в последнее время получила распространение иммуннодиагностика рака, которая основана на определении в сыворотке крови раковоэмбриональных и опухоль-ассоциированных антигенов. Таким путем, в настоящее время, удается диагностировать некоторые формы рака печени, желудка, кишечника и др.

Между состоянием иммунной защиты и развитием новообразований существует тесная связь. Об этом свидетельствует повышенная заболеваемость злокачественными новообразованиями индивидуумов с иммунодефицитами и престарелых в связи с понижением активности иммунной системы. Иммуносупрессивная химиотерапия также нередко сопровождается пролиферативными процессами. Поэтому в лечении опухолей широко применяют иммуномодуляторы (интерлейкины, интерфероны и др.).

Иммунология беременности. Беременность напрямую сопряжена с феноменом иммунологической толерантности. В организме беременной формируется целый комплекс факторов, обеспечивающих ареактивность иммунной системы матери к гетероантигенам плода. Во-первых, синцитиотрофобласт плаценты «невидим» для рецепторов иммунокомпетентных клеток. Он не экспрессирует классические молекулы гистосовместимости, а только неполиморфные, трудно распознаваемые. Во-вторых, синцитиотрофобласт синтезирует иммуносупрессорные цитокины (ИЛ-4, -10, β-ТФР). В-третьих, в децидуальной оболочке беременной матки располагаются CD16CD56 много естественные киллеры, которые устраняют активированные аллоантигенами плода лимфоциты, путем индукции у них апоптоза.

При формировании резус-конфликта возникает гемолитическая болезнь плода. Для ее профилактики практикуют введение сразу после родов резус-отрицательным женщинам, родившим резус-положительный плод, анти-D-иммуноглобулинов в дозе 300 мг (1, 5 мл). В случае массивного кровотечения, вливают до 750 мг иммунного глобулина. Существует методика инъекции 0, 4 мл препарата до родов и 1 мл после них. При этом обеспечивается почти 100% предупреждение резус-сенсибилизации.

Более сложной задачей оказывается подавление аллоиммунных процессов, обуславливающих патологическое действие на плод в тех случаях, когда резус-сенсибилизация уже произошла. Таким женщинам рекомендуется применение плазмафереза.

Перспективным является подсадка кожного лоскута отца ребенка. Кожа является одним из органов, наиболее насыщенных трансплантационными антигенами, отвлекающими на себя иммуноагрессивные реакции. Кожный лоскут размером 0,5-4 см^2, взятый от мужа, на 8-16-й неделе имплантируется в подкожную клетчатку брюшной стенки матери. Критерием для отбора женщин служит резус-сенсибилизация и крайне отягощенный акушерский анамнез.

Если в организме женщины развивается иммунологический конфликт, он оказывает неблагоприятное действие не только на плод, но и на мать. При позднем токсикозе отмечаются изменения клеточного и гуморального иммунитета, меняются соотношения субпопуляций лимфоцитов и концентрации иммунных глобулинов. Поздний токсикоз чаще развивается в том случае, когда женщины с О(I) группой крови вынашивают плод с А(II) или В(III) группами крови. При тяжелых формах поздних токсикозов отмечается несовместимость по системе лейкоцитарных антигенов (HLA). Изменения чаще наблюдаются в случае родственных браков, когда повышается частота общих аллоантигенов HLA у супругов, у матери и плода.

В последние годы установлено, что наиболее частой причиной привычного невынашивания беременности является совпадение матери и плода по двум и более локусам системы лейкоцитарных антигенов.

Антигенные различия между материнским организмом и эмбрионом очень важны, так как, чем выше степень генетической чужеродности, тем интенсивнее взаимодействуют

ткани. При этом, образуется плацента значительно более крупных размеров. Чем ярче выражены генетические различия между тканями матери и плода, тем активнее обмениваются медиаторами их клетки. В результате, плод более приспособлен к постнатальной жизни.

Факторы неспецифической защиты организма

Неспецифическая резистентность организма обеспечивается: а) механическими барьерами, препятствующими проникновению в организм чужеродных веществ (кожа, слизистые дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мерцательный эпителий и слизь дыхательного тракта); б) физико-химическими барьерами (ферменты, в первую очередь, пищеварительные, pH среды, органические кислоты и др.), обеспечивающими деструкцию антигенов; в) нормальная микрофлора человека, служащая антагонистами патогенных микроорганизмов; г) клеточные факторы (фагоцитирующие клетки, естественные киллеры); е) гуморальные факторы – лизоцим, белки острой фазы, комплемент, интерферон и другие цитокины; ж) воспаления и другие физиологические реакции организма.

Кожа и слизистые оболочки. Для большинства микроорганизмов, в том числе патогенных, неповрежденная кожа и слизистые оболочки служат механическим барьером. Однако, при малозаметных микроповреждениях, воспалительных изменениях, укусах насекомых, ожогах и травмах через кожу и слизистые могут проникать микробы и макромолекулы. Постоянное обновление эпителиальных клеток слизистых, выделение кожных и жирных желез, секреты слизистых препятствует проникновению микроорганизмов внутрь и очищает кожу и слизистые. Однако, кожа выполняет не только функции механической защиты, но обладает и бактерицидным действием. Эта связано с кислотностью кожной среды (pH–5, 5) (за счет молочных, уксусных и жирных кислот) и различными факторами, выделяемыми потовыми и сальными железами. Поэтому в этой среды, кроме сапрофитных микробов привычных к такой среды, другие патогенные бактерии не могут выживать долгое время.

Лизоцим. В жидкостях выделяемых конъюнктивой глаз, слизистых оболочек носоглотки, дыхательного, желудочно-кишечного и мочеполового трактов имеются ферменты подобной лизоцим, обладающие выраженным бактерицидным действием.

Лизоцим открыт в 1909 г. П. Л. Лащенко. Лизоцим входит в состав муколитических ферментов, термостабильный белок, его еще называют ацетилмурамидазой (от лат. mums – стенка), молекулярная масса 14-16 кДа, синтезируется макрофагами, нейтрофилами и другими фагоцитирующими клетками. Фермент содержится в крови, лимфе, слезах, материнском молоке, сперме, урогенитальном тракте, на слизистых оболочках дыхательных путей, ЖКТ, в мозге. Отсутствует лизоцим лишь только в спинномозговой жидкости и передней камере глаза. В сутки синтезируется несколько десятков граммов фермента.

Лизоцим расщепляет бактерии, но не влияет на вирусы. Механизм бактериологического действия лизоцима состоит в гидролизе связей между N-ацетилглюкозамином и М-ацетилмурамиловой кислотой в полисахаридных цепях пептидогликанового слоя клеточной стенки бактерий. В результате, нарушается проницаемость клетки и бактерия погибает. Например, животные слизывают поврежденные участки кожи на своем теле, в результате, из-за наличия в слюне лизоцима, рана не инфицируется.

Желудок также является барьером для проникающих перорально бактерий, вирусов, антигенов, так как последние инактивируются и разрушаются под влиянием кислого содержимого желудка (pH 1,5–2,5) и ферментов. В кишечнике инактивирующими факторами

служат ферменты и бактериоцины, образуемые нормальной микрофлорой кишечника, а также трипсин, панкреатин, липаза, амилазы и желчь.

В жидкостях организма, кроме лизоцима, еще имеются секреторный иммуноглобулин А и интерфероны, которые имеют огромную роль в обеспечении местного иммунитета. Секреторный IgA связываясь с бактериями и вирусами обеспечивает то, что они не могут затем связываться с поверхностью эпителиальных клеток (адгезия). В организме человека функцию механической защиты, кроме sIgA, еще обеспечивают гиалуроновая и нейраминовая кислоты. Гиалуроновая кислота защищает соединительную ткань, нейраминовая кислота защищает неприкосновенность клетки.

Лимфатические узлы. Микроорганизмы и другие чужеродные частицы, проникшие в ткани задерживаются в лимфатических образованиях, где формируется воспалительный процесс, в результате, в тканях образуется лейкотоксин, лейкопенический фактор, гистамин, серотонин и другие биологические активные вещества, которые влияют на лейкоциты и повышают их активность. Таким образом, лейкоциты накапливаются в очаге воспаления и препятствуют распространению микроба на ткани, кровь и внутренние органы. В результате воспаления, поднимается температура тела, развивается ацидоз, гипоксия, они также, в свою очередь, оказывают бактерицидное действие на микроорганизмы.

Воспаление представляет собой каскад реакций, возникающий как первый – неспецифический этап защиты организма. Он сводится к выходу клеток иммунной системы из кровяного русла и миграции их в очаг проникновения антигена. Здесь они развивают различные деструктивные эффекты, в результате чего, чужеродные клетки погибают.

Основными механизмами подавления инфекционного агента в очагах воспаления является фагоцитоз, внеклеточный цитолиз, неспецифический контактный киллинг, а также гуморальные реакции, важнейшими из которых являются цитолитические реакции системы комплемента.

Воспалительная реакция в организме служит естественным механизмом включения реакций адаптивного (специфического) иммунитета.

Фагоцитирующие клетки. Фагоцитоз (от греч. phagos – пожираю, cytos – клетка), открытый и изученный И. И. Мечниковым (1883г.), является одним из основных мощных факторов, обеспечивающих резистентность организма, защиту от инородных веществ, в том числе, от микробов. Это наиболее древняя форма иммунной защиты.

Все фагоцитирующие клетки организма, по И. И. Мечникову, подразделяются на макрофаги и микрофаги. К микрофагам относятся полиморфноядерные гранулоциты крови: нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. Макрофаги различных тканей организма (соединительной ткани, звездчатые ретикулоэндотелиоциты печени или клетки Купфера, легких, интрагломерулярные мезенгиальные клетки почки, эндотелий сосудов, лимфоидных органов, перитонеальные и др.) вместе с моноцитами крови и их костномозговыми предшественниками (промоноциты и монобласты) объединены в единую мононуклеарную фагоцитирующую систему.

Микрофаги и макрофаги имеют общие миелоидные происхождения от полипотентной стволовой клетки, которая является единым предшественником грануло- и моноцитопоэза. В периферической крови содержится больше гранулоцитов (от 60 до 70% всех лейкоцитов крови), чем моноцитов (от 1 до 6%). Вместе с тем, длительность циркуляции моноцитов в крови значительно больше (полупериод 22 ч), чем короткоживущих гранулоцитов (полупериод 6,5 ч). В отличие от гранулоцитов крови, являющихся зрелыми клетками, моноциты, покидая кровяное русло, в соответствующем микроокружении созревают в тканевые макрофаги. Внесосудистый пул мононуклеарных фагоцитов в десятки раз превышают их число в крови. Особенно богаты ими печень, селезенка, легкие.

Функции фагоцитов очень обширны: 1) удаляют из организма отмирающие клетки и их структуры (продукты распада тканей, эритроциты, раковые клетки); 2) удаляют неметаболизируемые неорганические вещества, попадающие во внутреннюю среду организма тем или иным путем (например, частички угля, минеральную и другую пыль, проникающую в дыхательные пути); 3) поглощают и инактивируют микробы (бактерии, вирусы, грибы), их останки и продукты; 4) синтезируют разнообразные биологически активные вещества, необходимые для обеспечения резистентности организма (некоторые компоненты комплемента, лизоцим, интерферон, интерлейкины и др.); 5) участвуют в регуляции иммунной системы; 6) осуществляют «ознакомление» Т-хелперов с антигенами, т.е. участвуют в кооперации иммунокомпетентных клеток.

Следовательно, фагоциты являются, с одной стороны, своеобразными «мусорщиками», очищающими организм от всех инородных частиц независимо от их природы и происхождения (неспецифическая функция), а с другой стороны, участвуют в процессе развития иммунного ответа путем представления антигена иммунокомпетентным клеткам (Т-лимфоцитам) и регуляции их активности.

Процесс фагоцитоза, т.е. поглощения инородного вещества клетками, имеет несколько стадий: 1) приближение фагоцита к объекту поглощения (хемотаксис); 2) адгезия (или прилипание к объекту); 3) поглощение вещества путем инвагинации клеточной мембраны с образованием в протоплазме фагосомы (вакуоли, пузырьки), содержащей поглощенное вещество (фагоцитоз или пиноцитоз); 4) слияние фагосомы с лизосомой клетки с образованием фаголизосомы; 5) активация лизосомальных ферментов и переваривание вещества в фаголизосоме с их помощью (рис. 10.5).

Для осуществления своих функций фагоциты располагают обширным набором литических ферментов, а также продуцируют перекисные и NO - ион-радикалы, которые могут поражать мембрану (или стенку) клетки на расстоянии или после фагоцитирования. На цитоплазматической мембране находятся рецепторы к компонентам комплемента, Fc-фрагментам иммуноглобулинов, гистамину, а также антигены гистосовместимости I и II класса. Внутриклеточные лизосомы содержат до 100 различных ферментов, способных «переварить» практически любое органическое вещество.



Рис. 10.5. Стадии фагоцитоза антигена нейтрофильными гранулоцитами (по Л. Йегеру). К–ядро клетки; aG–азурофильная гранула; SpG–специфическая гранула; C3bR–мембранные рецепторы для С3-компонента комплемента; FcγR–мембранные рецепторы для Fc–части IgG.

1. Хемотаксис – целенаправленное передвижение фагоцитов в направлении химического градиента хемоаттрактантов в окружающей среде. Покинув кровеносные сосуды, лейкоциты начинают мигрировать к центру очага воспаления. Этот процесс направленного движения лейкоцитов получил название хемотаксиса (от греч. chemeia – химия и taxis – расположение). Это АТФ-зависимый процесс, в котором участвуют сократительные белки актин и миозин. Способность к хемотаксису связано с наличием на мембране специфических рецепторов для хемоаттрактантов, в качестве которых могут выступать бактериальные компоненты, продукты деградации тканей организма, активированные фракции системы комплемента – С5а, С3а, продукты лимфоцитов – лимфокины (ИЛ-8).

Хемотаксис может подавляться некоторыми цитокинами (например, от англ. MIF – migration ingibition factor – фактор ингибиции миграции), а также некоторыми фармацевтическими препаратами.

2. Адгезия (от англ. adhesion – прикрепление) также опосредована соответствующими рецепторами (маннозосвязывающий белок и селектины, интегрины, к Fc фрагментам иммуноглобулинов, к компонентам комплемента), но может протекать в соответствии с законами неспецифического физико-химического взаимодействия (электростатические и гидрофобные взаимодействия). Адгезия непосредственно предшествует эндоцитозу (захвату).

3. Эндоцитоз является основной функцией так называемых профессиональных фагоцитов. Любое поглощение веществ клеткой называют общим термином – эндоцитоз. В эндоцитозе у фагоцитов предлагают различать пиноцитоз (от греч. pinos – пузырек) и фагоцитоз. Под пиноцитозом понимают поглощение очень мелких объектов или даже растворимых веществ. Фагоцитоз же – это поглощение крупных объектов и целых клеток частиц с диаметром не менее 0,1 мкм.

Следует подчеркнуть, что эндоцитоз микроорганизмов в большей степени зависит от их патогенности. Лишь авирулентные или низковирулентные бактерии (бескапсульные штаммы микробов) фагоцитируются непосредственно. Большинство бактерий, наделенные факторами патогенности (капсула, стафилококки – А-протеин и др.), фагоцитруются только после их опсонизации комплементом и/или антителами.

4. Внутриклеточное переваривание происходит в фаголизосомах, образующихся за счет слияния первичных лизосом с фагосомами. Захваченные фагоцитами микроорганизмы погибают в результате осуществления механизмов микробоцидности этих клеток. Различают кислородзависимые механизмы микробоцидности, связанные с «оксилительным взрывом» и кислороднезависимые механизмы, опосредованные катионными белками и ферментами, попадающими в фагосому, в результате ее слияния с лизосомами.

Так называемый оксилительный взрыв проявляется усилением потребления кислорода и глюкозы с одновременным выбросом биологически активных нестабильных продуктов восстановления кислорода: перекиси водорода H_2O_2, супероксиданионов O_2^-, гидроксильных радикалов OH^-.

Внутри фагосомы продолжается атака поглощенного вещества активными радикалами. После слияния фагосомы и лизосомы и образования в цитоплазме фаголизосомы происходит активация лизосомальных ферментов, которые разрушают поглощенное вещество до элементарных составляющих, пригодных для дальнейшей утилизации для нужд самого фагоцита (завершенный фагоцитоз). Непереваренные остатки вещества «хоронятся» вместе с погибшим от старости фагоцитом. Ферментативное расщепление вещества может также происходить внеклеточно при выходе ферментов за пределы фагоцита, т.е. за счет этих факторов фагоциты могут убивать бактерии не только в фаголизосомах, но и вне клеток, в ближайшем микрооркружении.

Этими секреторными продуктами может быть опосредовано также цитотоксическое действие фагоцитов на различные клетки-«мишени» в клеточно-опосредованных реакциях иммунитета, например, в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), при отторжении гомотрансплантатов, в противоопухолевом иммунитете.

Многие вирулентные (капсульные) бактерии часто не погибают и могут длительно персистировать внутри фагоцитов. Факультативно и облигатно внутриклеточные паразиты после эндоцитоза сохраняют жизнеспособность и размножаются внутри фагоцитов, вызывая их гибель и разрушение (незавершенный фагоцитоз).

Выживание фагоцитированных микроорганизмов могут обеспечивать различные механизмы. Одни патогенные агенты способны препятствовать слиянию лизосом с фагосомами (токсоплазмы, микобактерии туберкулеза). Другие обладают устойчивостью к действию лизосомных ферментов (гонококки, стафилококки, стрептококки группы А и др.), третьи после эндоцитоза покидают фагосому, избегая действия микробоцидных факторов и могут длительно персистировать в цитоплазме фагоцитов (риккетсии и др.), в этих случаях, фагоцитоз остается незавершенным.

Презентативная или представляющая, функция макрофагов состоит в фиксации на наружной мембране антигеннных эпитопов микроорганизмов. В таком виде они бывают представлены макрофагами для их специфического распознавания клетками иммунной системы – Т-лимфоцитами. Механизм этого процесса состоит в следующем, небольшой олигопептид (протективный антиген) может быть эндоцитирован фагоцитом и после процессинга (т.е. ограниченного протеолиза) включен в состав молекулы антигена гистосовместимости II класса. В составе сложного макромолекулярного комплекса олигопептид выставляется (экспрессируется) на поверхности клетки для «ознакомления» с ним Т-хелперов.

Секреторная функция фагоцитов заключается в секреции биологически активных веществ – цитокинов (монокинов). К ним относятся вещества, оказывающие регулирующие действия на пролиферацию, дифференциацию и функции фагоцитов, лимфоцитов, фибробластов и других клеток (ИЛ-1, простагландины, лейкотриены, циклические нуклеотиды, компоненты комплемента, интерферон) (табл. 10.1).

Фагоцитоз активируется под влиянием антител-опсонинов, адъювантами, комплементом, иммуноцитокинами (ИЛ-2) и другими факторами. Механизм активирующего действия опсонинов основан на связывании комплекса антиген-антитело с рецепторами к Fc-фрагментам иммуноглобулинов на поверхности фагоцитов. Аналогичным образом действует комплемент, который способствует связыванию на специфических для него рецепторах фагоцита (С-рецепторах) комплекса антиген-антитело. Адъюванты укрупняют молекулы антигена и таким образом, облегчают процесс его поглощения, так как интенсивность фагоцитоза зависит от величины поглощаемой частицы.

Активность фагоцитов характеризуется фагоцитарными показателями и опсоно-фагоцитарным индексом. Фагоцитарные показатели оцениваются числом бактерий, поглощенных или «переваренных» одним фагоцитом в единицу времени, а опсонофагоцитарный индекс представляет отношение фагоцитарных показателей, полученных с иммунной, т.е. содержащей опсонины и неиммунной сывороткой. Эти показатели используются в клинической практике для определения иммунного статуса индивидуума.

Таким образом, рассмотренные функции фагоцитрующих клеток обеспечивают их активное участие в процессах воспаления и регенерации, в неспецифической противоинфекционной защите, а также в иммуногенезе и реакциях специфического клеточного иммунитета (ГЗТ). Ранее вовлечение фагоцитирующих клеток (сначала – гранулоцитов, затем – макрофагов) в ответную реакцию на любую инфекцию или какое-либо поврежде-

ние объясняется тем, что микроорганизмы, их компоненты, продукты некроза тканей, белки сыворотки крови, вещества, секретируемые другими клетками, являются хемоаттрактантами для фагоцитов. В очаге воспаления происходит активация функций фагоцитов. Макрофаги приходят на смену микрофагам. В тех случаях, когда воспалительной реакции с участием фагоцитов оказывается недостаточно для очищения организма от возбудителей, тогда секреторные продукты макрофагов обеспечивают вовлечение лимфоцитов и индукцию иммунного ответа.

Таблица. 10. 1.

Продукты секреции мононуклеарных фагоцитов (по П. Е. Игнатову).

Группа	Продукт	Функции
Гидролитические ферменты и их ингибиторы	Лизоцим, кислые гидролазы. лактопероксидаза, нейтральные протеиназы, липопротеиновая липаза, α_2-макроглобулин, α_1-протеазный ингибитор	Регулирование процессов бактерицидность, цитотоксичность, разрушение тканевого матрикса
Компоненты комплемента	C1-9, C3a, C3b, C5a, Bb. пропердин, факторы B, D, I, H	Цитолиз, опсонизация
Продукты респираторного взрыва и метаболизма	H_2O_2: OH ; HClO; NO	Бактерицидная, цитотоксическая
Белки системы свертывания крови	Факторы V, VII, IX, X, XII	Участие в реакциях свертывания крови
Цитокины	TNFα; TGF; GM-CSF; IL-1; IL-6; IL-8: эритропоэтин; β-эндорфины; интерфероны α и β и др.	Регулирование клеточной активности и воспалительных реакций. бактерицидность и цитотоксичность
Продукты метаболизма арахидоновой кислоты	Простагландины E2, тромбоксаны, лейкотриены	Регуляция различных реакций иммунитета
Другие белки	Хондроитинсульфаты. фибронектин. тромбоспондин, трансферин. авидин и др.	Регуляция транспорта и метаболизма белков, участие в развитии реакций воспаления и иммунного ответа

В настоящее время продолжаются открытия новых продуктов, секретируемых макрофагом и уточняются их функции.

Естественные клетки-киллеры (ЕК – NK-клетки – от англ. natural killer). В организме человека и животных функционирует популяция больших гранулярных лимфоцитов, обладающих естественной цитотоксичностью по отношению к клеткам- «мишеням». Они получили название естественных киллеров (ЕК). ЕК имеют морфологию малых лимфоцитов, на их долю приходится около 15% всех лимфоцитов. Они происходят из общей лим-

фоидной клетки-предшественницы, мигрируют с кровотоком, но отсутствуют в лимфе. Обнаруживаются в печени, селезенке, слизистых, матке. ЕК являются клетками с эффекторной противоопухолевой, противовирусной и противопаразитарной активностью. Они способны спонтанно, без предварительного контакта с антигеном убивать опухолевые клетки, а также клетки, зараженные некоторыми вирусами и паразитами. По-видимому, основной функцией ЕК является противоопухолевый «надзор».

По маркерам, местам типичной локализации и эффекторным механизмам выделяют две субпопуляции ЕК: «кровяную» и «тканевую».

«Кровяные» ЕК – это активно циркулирующие в кровотоке клетки. Обнаруживаются в красной пульпе селезенки. Несут на себе маркер CD16+CD56, низкоаффинный FcR к иммуноглобулину класса G, связанному в иммунный комплекс и рецептор к МНС I класса. При цитокиновой активации синтезирует, накапливая в гранулах, перфорин, гранзимы и гранулизин. Эффекторная функция «кровяных» ЕК в отношении «меченных» иммуноглобулинами клеток реализуется в антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. «Мишенями» являются клетки, инфицированные внутриклеточными паразитами (бактерии, вирусы, простейшие) и аллогенные клетки трансплантата.

Рецептор к МНС I класса анализирует плотность экспрессии этого маркера на мембране клетки. Дефицит этих молекул, наблюдающийся при раковой трансформации клеток, также потенцирует цитотоксичность ЕК.

«Тканевые» ЕК ведут более оседлый образ жизни и обнаруживаются в большом количестве в печени и децидуальной оболочке беременной матки. Несут маркер CD16CD56 и много Fas-лиганда. Реализуемый эффекторный механизм – антителонезависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность. Клетками-мишенями являются лимфоциты, активированные пищевыми антигенами или аллоантигенами плода.

ЕК осуществляют неспецифический контактный киллинг. При этих реакциях уничтожается вся пораженная клетка. Но особенно эти реакции важны для деструкции опухолевых клеток.

На первом этапе процесса клетка-мишень фиксируется к мембране ЕК. При этом ЕК распознают как поврежденные, инфицированные, так и не поврежденные клетки. Однако, если клетка не повреждена и на ее поверхности экспрессированы нормальные молекулы МНС класса I, то процесс киллинга не развивается.

В случае, если клетка повреждена или на ее поверхности отсутствует продукты МНС класса I, включаются реакции, приводящие к гибели мишени через механизмы апоптоза.

Также вклад в киллинг мишени вносят секретируемые киллерной клеткой активные формы кислорода и перекись (продукты респираторного взрыва), оксид азота ($NO^{\cdot}$) и его метаболиты, катионные белки, гидролитические ферменты и ряд других веществ, которые секретируются в месте контакта. Через перфориновые поры, они могут проникать в клетку-мишень.

Помимо цитотоксических функций, ЕК вырабатывают цитокины (ИЛ-5, -8, γ-ИФН, ФНО, гранулоцит-моноцит-колониестимулирующий фактор – ГМ-КСФ и др.), активирующие макрофагально-фагоцитарное звено, развитие иммунного ответа и иммунного воспаления. Эффекторная функция ЕК усиливается цитокинами (ИЛ-2, -4, -10, -12, γ-ИФН и др.).

Дендритные клетки – отростчатые клетки костномозгового происхождения, локализуются в лимфоидных органах и барьерных тканях. Экспрессируют на своей поверхности МНС II класса и ко-стимулирующие факторы (CD40, 80, 86). Способны поглощать путем эндоцитоза, перерабатывать (процессировать) и представлять (презентировать) антиген Т-хелперам в комплексе с МНС II класса. Является наиболее активной антиген-представляющей клет-

кой (АПК). Из числа дендритных клеток хорошо известны клетки Лангерганса (в эпидермисе), интердигитальные клетки (в лимфатических узлах), дендритные клетки тимуса.

Эндотелиальные клетки (ЭК), выстилающие внутреннюю поверхность кровеносных сосудов, имеют постоянный контакт с циркулирующим пулом клеток крови. Они обеспечивают клеточную проницаемость, адгезивность и многие другие свойства эндотелия кровеносных сосудов. Тесно связаны они и с развитием иммунных реакций.

Клетки эндотелия не принадлежат ни к миелоидному, ни к эритроидному ряду. Клетки эндотелия размножаются простым делением и тесно связаны с процессами ангиогенеза.

На основной массе активированных эндотелиальных клеток присутствует большое количество молекул адгезии: интегрины, селектины, CD34. Кроме этого, они несут рецепторы к хемокинам, ИЛ-1, TNFα, интерферону γ, GM-CSF, ИЛ-3, ИЛ-4 и ИЛ-6.

При участии клеток эндотелия в воспалительных и других реакциях иммунитета выделяют несколько основных их функций. 1. Секреторно-регуляторная функция. ЭК секретируют во внешнюю среду GM-CSF, ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-7, TNFα, хемокины и другие вещества, играющие роль инициаторов и регуляторов иммунных реакций. 2. Адгезивная функция. Они могут останавливать и адгезировать на своей поверхности лейкоциты циркулирующей крови. 3. Усиление проницаемости капилляров. Этот эффект достигается путем втягивания (ретракции) клеток эндотелия, в результате чего, межклеточные пространства (т.е. расстояние между клетками) увеличиваются. Через эти пространства в очаг воспаления начинают поступать из сосудов крупные белки (иммуноглобулины, белки комплемента и т.д.), мигрируют лейкоциты.

Эозинофилы – гранулярные лейкоциты, доля которых среди белых клеток крови весьма незначительна (2-5%). Они происходят из костно-мозговых миелоидных предшественников. В их росте и дифференцировке большую роль играет ИЛ-5. Из костного мозга эозинофилы поступают в кровь, где циркулируют в течение 30 минут, а затем оседают в тканях. Считается, что срок их полужизни – около 12 суток. Клетки присутствуют как в циркулирующей крови, так и в различных тканях организма – печени, почках, селезенке и других.

В большом количестве накапливаются в очагах местных воспалений, вызванных гельминтами и выполняют функцию киллеров (антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность).

Эозинофилы несут на мембране низкоаффинные FcR к IgA или IgE, «распознающие» паразитов, «отмеченных» такими антителами. Активированная клетка выделяет ряд токсических субстанций, губительно действующих на гельминты: ферменты (эозинофильная пероксидаза и коллагеназа); белковые токсины (главный щелочной протеин, эозинофильный катионный белок и нейротоксин).

Эозинофилы также синтезируют цитокины (ИЛ-3, -5, -8, ГМ-КСФ и др.), стимулирующие клеточное звено иммунитета и образование Т2-хелпера и липидные медиаторы (лейкотриены, тромбоцитактивирующий фактор и др.), потенцирующие воспалительную реакцию в месте внедрения гельминта.

Основные функции эозинофилов: внеклеточный цитолиз, в его основе лежит комплексное воздействие на объект продуктами респираторного взрыва (H_2O_2, HO^-, HClO и др.) и содержимого гранул, которое высвобождается в результате дегрануляции во внеклеточную среду. Этот механизм наиболее часто используются в организме для уничтожения крупных объектов, которые не поддаются фагоцитозу (например, паразитов); фагоцитарная функция, к месту проникновения паразитов они привлекаются различными хемоаттрактантами; секреторно-регуляторная функция, эозинофилы выделяют гистаминазу, которые инактивируют гистамин и другие факторы аллергического воспаления. Таким образом, продукты эозинофилов могут подавлять воспалительную реакцию.

Базофилы – гранулоциты, присутствующие в циркулирующей крови млекопитающих в очень незначительном количестве (менее 1% от общего числа лейкоцитов). Постоянно мигрируют с кровотоком, привлекаются в очаг воспаления анафилотоксинами (С3а, С4а и С5а) и задерживаются там при помощи соответствующих хоминговых рецепторов. Базофилы подвижны, способны к фагоцитозу.

Тучные клетки. Считается, что тучные клетки являются немигрирующими элементами, аналогами базофилов, локализованных в тканях. Они практически не присутствуют в пуле циркулирующей крови. Локализуются в подслизистом слое пищеварительного, респираторного и урогенитального трактов, а также в серозных оболочках, эпителии и селезенке. В коже содержится около 7000 тучных клеток на 1 мкг ткани, в кишечнике – 20000.

Основные функции тучных клеток: 1) внеклеточный цитолиз; 2) секреторно-регуляторная функция.

Базофил и тучная клетка синтезируют сходный набор биологически активных веществ. Они вырабатывают, накапливая в гранулах, вазоактивные амины (гистамин), сульфатированные глюкозаминогликаны (хондроитинсульфат, гепарин), ферменты (сериновые протеазы и др.), а также α-ФНО. В межклеточное пространство клетки синтезируют лейкотриены (С4, D4, Е4), простагландины (PGD2, PGE2), цитокины (ИЛ-3, -4, -5, -13 и ГМ-КСФ) и фактор активации тромбоцитов.

На поверхности базофил и тучная клетка несут высокоаффинный FcR, связывающий IgE и IgG4 и использующий их как ко-рецепторный фактор специфического взаимодействия с эпитопом аллергена. Эти клетки также экспрессируют низкоаффинный FcR к IgG в составе иммунного комплекса, который тормозит биологическую активность клеток. Базофил и тучная клетка активируются аллергенами, анафилотоксинами, медиаторами активированных нейтрофилов, норадреналином и другими веществами; ингибируются они иммунными комплексами.

Связывание аллергена с рецепторным комплексом вызывает дегрануляцию базофила и тучной клетки – залповый выброс биологически активных соединений, содержащихся в гранулах, в межклеточное пространство, которые вызывают развитие гиперчувствительности немедленного типа (аллергической реакции I типа).

Базофил и тучная клетка стимулируют клеточное звено иммунитета. Вырабатываемые ими цитокины направляют дифференцировку Т-хелперов в сторону Т2-субпопуляции, а также усиливают эозинофилогенез.

Тромбоциты. Кроме свертывания крови, тромбоциты (или кровяные пластинки) участвуют также в реакциях иммунного ответа. Они возникают из мегакариоцитов, пролиферацию которых усиливает ИЛ-11. Считается, что тромбоциты локализуются, в основном, в составе циркулирующей крови. Тромбоциты имеют на своей поверхности рецепторы к IgG и IgE, к компонентам комплемента (С1 и С3), а также антигены гистосовместимости I класса. На тромбоциты оказывают влияние образующиеся в организме иммунные комплексы антиген+антитело (АГ+АТ), активированный комплемент. В результате такого воздействия тромбоциты выделяют биологически активные вещества (гистамин, лизоцим, β-лизины, лейкоплакины, простогландины и др.), которые принимают участие в процессах иммунитета и воспаления. Тромбоциты содержатся в крови в пределах 180-320 млн. на 1 мкл.

Система комплемента. Комплемент является одним из важных факторов гуморального иммунитета, играющим роль в защите организма от антигенов. Он был открыт в 1899 г. французским иммунологом Ж. Борде, назвавшим его «алексином». Современное название комплементу дал П. Эрлих. Комплемент представляет собой сложный комплекс бел-

ков сыворотки крови, продуктами клеток печени, мононуклеарных фагоцитов и находящийся обычно в неактивном состоянии в сыворотке крови и активирующийся при соединении антигена с антителом или при агрегации антигена. В состав комплемента входят 20 взаимодействующих между собой белков, девять из которых являются основными компонентами комплемента; их обозначают цифрами: C1, C2, C3, C4... C9. Важную роль играют также факторы B, D и P (пропердин). Белки комплемента относятся к глобулинам и отличаются между собой по ряду физико-химических свойств. В частности, они существенно различаются по молекулярной массе, а также имеют сложный субъединичный состав: Cl-Clq, Clr, Cls; C3-C3a, C3b; C5-C5a, C5b и т.д. Компоненты комплемента синтезируются в большом количестве (составляют 5–10% от всех белков крови), часть из них образуют фагоциты.

Функции комплемента многообразны: а) участвует в лизисе микробных и других клеток (цитотоксическое действие); б) обладает хемотаксической активностью; в) принимает участие в анафилаксии; г) участвует в фагоцитозе. Следовательно, комплемент является компонентом многих иммунолитических реакций, направленных на освобождение организма от микробов и других чужеродных клеток и антигенов (например, опухолевых клеток, трансплантата).

Механизм активации комплемента очень сложен и представляет собой каскад ферментативных протеолитических реакций, в результате которого образуется активный цитолитический комплекс, разрушающий стенку бактерии и других клеток. Известны основные две пути активации комплемента: классический и альтернативный (Схема 10.1).

По классическому пути комплемент активируется комплексом антиген-антитело (иммунный комплекс). Причем антитела только двух классов IgM и IgG (IgG1, IgG2 и IgG3) в составе иммунных комплексов могут инициировать активацию комплемента, благодаря наличию в структуре их Fc-фрагментов, связывающих C1-фракцию комплемента. При присоединении C1 к комплексу антиген-антитело образуются фермент (C1qrs-комплекс –

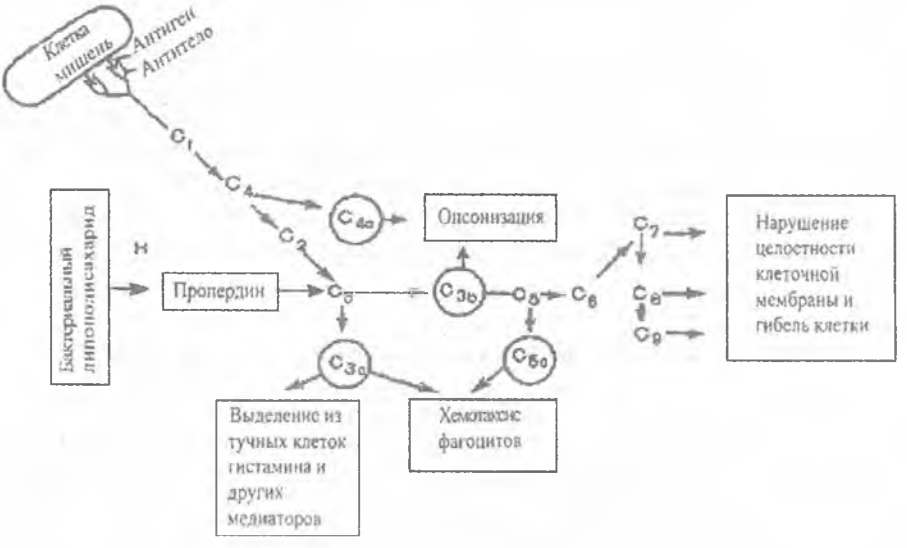


Схема 10.1. Классический и альтернативный пути активации системы комплемента. C1... C9 компоненты комплемента; C3a, C3b, C4a, C5a – активированные факторы и их биологическое действие (по В. Д. Тимакову).

эстераза), под действием которого формируется энзиматический активный комплекс (C4b, C2a), называемый С3-конвертазой. Данный фермент расщепляет С3 на С3а и С3b. При взаимодействии субфракции С3b с С4 и С2 образуется пептидаза, действующая на С5. Если инициирующий иммунный комплекс связан с клеточной мембраной, то самособирающийся комплекс С1, С4, С2, С3 обеспечивает фиксацию на ней активированной фракции С5, а затем С6 и С7. Последние три компонента совместно способствуют фиксации С8 и С9. Все компоненты вместе образует литический или мембраноатакующий комплекс, который нарушает целостность мембраны (образует в ней отверстие), и бактериальная клетка погибает, в результате осмотического лизиса (схема).

Существует возможность активации С3 с образованием С3b при участии С3-конвертазы альтернативного пути, т.е. минуя первые три компонента. Особенность альтернативного пути активации комплемента состоит в том, что инициация может происходить без участия комплекса антиген-антитело за счет полисахаридов и липополисахаридов бактериального происхождения, поверхностных структур вирусов, иммунных комплексов, включающих IgA и IgE. Этот путь характерен для защиты, в первую очередь, от грамотрицательных бактерий. Каскадная цепная реакция при альтернативном пути начинается с взаимодействия антигена (например, полисахарида) с сывороточными белками B, D и пропердином (P) с последующей активацией компонента С3. Фактор D в активной форме является протеиназой, расщепляющий фактор B с образованием фрагмента Bb. Последний способен в комплексе с C3b играть роль С3-конвертазы альтернативного пути. Функция самого пропердина заключается в стабилизации комплекса C3b Bb. Далее реакция идет так же, как и при классическом пути – образуется мембраноатакующий комплекс.

В процессе активации комплемента образуются продукты протеолиза его компонентов – субъединицы С3а и С3b, С5а и С5b и другие, которые обладают высокой биологической активностью. Например, С3а и С5а принимают участие в анафилактических реакциях, являются хемоаттрактантами, С3b – играет роль в опсонизации объектов фагоцитоза и т.д. Сложная каскадная реакция комплемента происходит с участием ионов Ca^{2+} и Mg^{2+}.

Не так давно был обнаружен еще один механизм активации комплемента, который может рассматриваться в качестве одного из вариантов классического пути. Это так называемый лектиновый путь. Он обусловлен присутствующим в сыворотке крови маннозосвязывающим белком. Этот белок специфически связывается с маннозой, которая часто присутствует на микробных клетках. Связавшись с маннозой на поверхности микробной клетки, этот белок, подобно комплексу C1qrs, запускает процессы расщепления С4 и С2 и активация комплемента протекает в дальнейшем практически аналогично классическому пути.

Биологические эффекты комплемента на организм

1. Помощь в уничтожении микроорганизмов: а) путем образования анафилотоксинов С3а и С5а, биологическая роль которых состоит в привлечении в очаг воспаления и активации различных клеток, особенно нейтрофилов; б) C3b и C4b способны ковалентно связываться с поверхностью бактерий и иммунными комплексами. В данном случае, эти молекулы способны выступать как бифункциальные лиганды, связываясь не только с бактериями, но и (через соответствующие рецепторы) с поверхностью фагоцитирующих клеток. В результате, обеспечивается очистка крови от циркулирующих бактерий и иммунных комплексов; в) комплемент оказывает литическое действие на бактерии благодаря сборке мембранолизирующего комплекса на их поверхности.

2. Помощь в усилении иммунного ответа: установлено, что факторы комплемента облегчают контакт и взаимодействие антигенпрезентирующих и В-клеток с антигеном. От комплемента зависит и локализация иммунных комплексов в центрах размножения лимфоузлов. Это очень важно для формирования В-клеток памяти.

3. Активация процессов удаления иммунных комплексов (ИК). Комплемент участвует в процессинге (разрушении) ИК благодаря их связыванию с С3-компонентом. В результате этого: а) уменьшаются размеры иммунных агрегатов, вплоть до растворения преципитатов; б) происходит связывание циркулирующих ИК с факторами локализованными на поверхностях эритроцитов. В дальнейшем, они подвергаются фагоцитозу; в) усиливается поглощение ИК мононуклеарными фагоцитами; г) улучшается связывание антигена (в виде ИК) на поверхности В-лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток.

Защитные белки сыворотки крови. К защитным белкам сыворотки крови относятся ряд протеинов, принимающих участие в защите организма от микробов и других антигенов: белки острой фазы, опсонины, пропердин, бета-лизин, фибронектин и др.

К белкам острой фазы относятся С-реактивный белок (СРБ), противовоспалительные и другие белки, которые вырабатываются в печени в ответ на повреждение тканей и клеток. СРБ способствует опсонизации бактерий и является индикатором воспаления. СРБ получил название вследствие способности присоединять и преципитировать С-полисахарид Str. pneumoniae. Он способен присоединяться к микроорганизмам, активированным лимфоцитам, поврежденным клеткам разных тканей, активируя при этом комплемент. Присоединяясь к нейтрофильным фагоцитам, СРБ усиливает фагоцитоз и элиминацию объектов фагоцитоза. Вместе с этим, СРБ подавляет продукцию супероксида и освобождение из гранул фагоцитов ферментов, защищая тем самым ткани от повреждения.

Маннозосвязывающий белок – нормальный протеин сыворотки крови. Способен прочно связываться с остатками маннозы, находящимися на поверхности микробных клеток и опсонизировать их. Способствует фагоцитозу, активирует систему комплемента.

Пропердин – представляет собой глобулин нормальной сыворотки крови. Способствует активации комплемента по альтернативному пути и таким образом, участвует во многих иммунологических реакциях.

Фибронектин – универсальный белок плазмы и тканевых жидкостей, синтезируемый макрофагами. Обеспечивает опсонизацию антигенов и связывание клеток с чужеродными веществами, например, фагоцитов с антигенами и микробами, экранирует дефекты эндотелия сосудов, препятствуя тромбообразованию.

Бета-лизины – белки сыворотки крови, синтезируемые тромбоцитами. Оказывают повреждающее действие на цитоплазматическую мембрану бактерий.

Сывороточный амилоид Р близок по структуре к СРБ, обладает способностью к активации комплемента.

Сывороточный амилоид А – липопротеин, обладающий способностью к хематтракции нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов. Повышенный уровень этого белка в крови при туберкулезе и ревматоидном артрите.

Цитокинами называют гормоноподобные медиаторы (пептиды или гликопротеиды), продуцируемые разными клетками организма и способные повлиять на функции других или этих же групп клеток. Термин предложен S. Cohen в 1974 г. Они регулируют межклеточные и межсистемные взаимодействия, определяют выживаемость клеток, стимуляцию или подавление их роста, дифференциацию, функциональную активность и апоптоз. Они обеспечивают согласованность действия иммунной, эндокринной и нервной систем в нормальных условиях и в ответ на патологические воздействия.

Цитокины формируются как активированными или поврежденными клетками, так и клетками без дополнительной стимуляции. Цитокины активны в очень малых концентрациях. Их биологический эффект на клетки реализуется через взаимодействия со специфическими рецептором, локализованным на клеточной цитоплазматической мембране. Образование и секреция цитокинов происходит кратковременно и строго регулируется.

Все цитокины, а их в настоящее время известно более 30, по структурным особенностям и биологическому действию делятся на несколько самостоятельных групп. Группировка цитокинов по механизму действия позволяет разделить их на следующие группы:

1. Провоспалительные, обеспечивающие мобилизацию воспалительного ответа.
2. Противовоспалительные, ограничивающие развитие воспаления.
3. Регуляторы клеточного и гуморального иммунитета – естественного или специфического, обладающие собственными эффекторными функциями (противовирусными, цитотоксическими).

Спектры биологических активностей цитокинов в значительной степени перекрываются: один и тот же процесс может стимулироваться в клетке более чем одним цитокином. Во многих случаях в действиях цитокинов наблюдается синергизм. Цитокины – антигенспецифические факторы. Поэтому специфическая диагностика инфекционных, аутоиммунных и аллергических заболеваний с помощью определения уровня цитокинов невозможна. Но определение их концентрации в крови даёт информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток; о тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и о прогнозе заболевания.

Цитокины представляют собой гетерогенное семейство разнообразных по структуре и функции биологически активных молекул. Для них характерен ряд общих свойств:

- Каждая клетка продуцирует разные цитокины.
- Каждый цитокин может быть продуктом разных видов клеток.
- Один цитокин обладает разными эффектами действия.
- Цитокин может стимулировать или подавлять активность клетки-»мишени».
- Каждая клетка имеет рецепторы к разным цитокинам и, следовательно, может подвергаться одновременному или разновременному воздействию нескольких цитокинов.
- Цитокины обладают универсальностью, множественностью эффектов и синергизмом или антагонизмом.
- Рецепторы цитокинов могут отделяться от клетки и взаимодействовать с цитокинами вне клетки. В этих условиях свободные рецепторы связывают соответствующими цитокины, что препятствует их контакту с клеточными рецепторами.
- Цитокины, их рецепторы на клетках и во внеклеточных средах составляют сложную функциональную сеть, результат действия которой зависит от взаимодействия этих факторов между собой и другими цитокинами.
- Цитокины действуют в низких концентрациях порядка 1 нг/мл для воздействия на клетку достаточно, чтобы цитокин связался с 10% клеточных рецепторов к нему.
- Как правило, цитокины не депонируются в клетке, а синтезируются после соответствующего стимула;
- Субпопуляции клеток иммунной системы различаются по спектру синтезируемых цитокинов и их рецепторов;
- Цитокины могут воздействовать как на рядом расположенную клетку (паракринная регуляция), так и на сам продуцент (аутокринная регуляция);
- Цитокиновая регуляция носит каскадный характер: активация клетки одним цитокином вызывает синтез другого;

• В отличие от гормонов внутренней секреции, в подавляющем большинстве, это короткодистантные медиаторы – их эффекты проявляются на месте выработки. Вместе с тем, ряд провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, -6, α-ФНО и др.) может оказывать системное действие.

Цитокины можно классифицировать, в зависимости от их ведущей функциональной направленности:

• Медиаторы доиммунного воспаления (ИЛ-1, -6, -12, α-ФНО и др);
• Медиаторы иммунного воспаления (ИЛ-5, -9, -10, γ-ИФН и др.);
• Регуляторы пролиферации и дифференцировки лимфоцитов (ИЛ-2, -4, -13, β-трансформирующий фактор роста (β-ТФР) и др.);
• Факторы роста клеток или колониестимулирующие факторы (ИЛ-3, -7, ГМ-КСФ и др.);
• Хемокины или клеточные хемоаттрактанты (ИЛ-8 и др.).

Таким образом, цитокины играют значительную роль в кроветворении, на развитие процессов воспаления, на развитие иммунных реакций и других жизненно важных функциях организма. Они подразделяются на: 1) интерлейкины – вещества, обеспечивающие взаимодействие между лейкоцитами; 2) интерфероны; 3) факторы некроза опухолей – цитокины, усиливающие цитотоксическую активность; 4) колониестимулирующие факторы – вещества, усиливающие гемопоэтическую функцию (табл. 10.2).

Большинство цитокинов именуется по действию, которое было впервые обнаружено. Однако, дальнейшие исследования раскрыли новые свойства многих из них. Так, например, «фактор некроза опухоли» превратился в группу цитокинов, обладающих, как будет показано далее, способностью не только индуцировать гибель (апоптоз) опухолевых клеток, но и стимулировать активность нейтрофильных лейкоцитов, макрофагов и других клеток иммунной системы.

Цитокины, регулирующие взаимодействие лейкоцитов между собой и другими клетками, называют интерлейкинами (ИЛ). Группа ИЛ включает 18 цитокинов, большинство из которых играет ключевую роль в развитии иммунного ответа.

Продуцируемый макрофагами и моноцитами ИЛ-1 обуславливает пролиферацию лимфоцитов при индукции иммунного ответа, а также активирует Т-лимфоциты, увеличивает продукцию антител. ИЛ-1 действует на нейтрофилы, способствуя хемотаксису, активации метаболизма, выходу из клеток лизоцима и лактоферрина. Этот цитокин – эндогенный пироген, вызывающий лихорадку за счёт воздействия на гипоталамический центр терморегуляции.

ИЛ-2 продуцируется Т-лимфоцитами (в основном Т-хелперами 1 типа), активированными антигеном, собственным ИЛ-2, другими интерлейкинами: ИЛ-1, ИЛ-6, интерфероном, фактором некроза опухоли (ФНО). Без ИЛ-2 позитивный иммунный ответ на антиген не возникает, стимулированный антигеном лимфоцит гибнет, что может привести к развитию толерантности к данному антигену. ИЛ-4 и ИЛ-10 подавляют продукцию ИЛ-2. Это способствует развитию эффекторов ГЗТ, это стимулирует противоопухолевый иммунитет и позволяет рекомендовать рекомбинантный ИЛ-2 для лечения онкологических больных.

ИЛ-4 синтезируется Т-хелперами 2 типа, его еще называют фактором роста В-лимфоцитов, стимулирует антителообразование, продукцию IgE, активирует Т-хелперы 2 типа, способствует формированию ИЛ-5 и ИЛ-10, подавляющих активность Т-хелперов 1 типа и, следовательно, формирование клеточных реакций иммунитета.

Интерферон. Интерферон открыт в 1957 г. А. Айзексом и Ж. Линдеманом при изучении интерференции вирусов (лат. inter – между и ferens – несущий), т.е. явления, когда

животные или культуры клеток, инфицированные одним вирусом, становились нечувствительными к заражению другим вирусом. Оказалось, что интерференция обусловлена образующимся при этом белком, обладающим защитным противовирусным свойством. Этот белок назвали интерфероном. В настоящее время, интерферон достаточно хорошо изучен, известны его структура и свойства, и он широко используется в медицине, как лечебное и профилактическое средство.

Интерферон представляет собой семейство белков-гликопротеидов с молекулярной массой от 15 до 70 кДа, которые синтезируются клетками иммунной системы и соединительной ткани. В зависимости от того, какими клетками синтезируется интерферон, выделяют три типа: α, β и γ-интерфероны.

Лейкоцитарный альфа-интерферон, продуцируемый лейкоцитами, обладает преимущественно противовирусным, антипролиферативным и противоопухолевым действием; фибробластный бета-интерферон, образуемый фибробластами (клетками соединительной ткани), обладает преимущественно противоопухолевым, а также противовирусным действием; иммунный гамма-интерферон вырабатывается активированными Т-лимфоцитами, макрофагами, естественными киллерами, т.е. иммунными клетками, он обладает преимущественно иммуномодулирующим (стимулирует фагоцитоз, естественные киллеры, регулирует антителообразование В-клетками, активирует экспрессию главного комплекса гистосовместимости) и слабым противовирусным эффектом.

Интерферон синтезируется в организме постоянно и его концентрация в крови держится на уровне примерно 2 МЕ/мл (1 международная единица – МЕ – это количество интерферона, защищающее культуру клеток от 1 $ЦПД_{50}$ вируса). Выработка интерферона резко возрастает при инфицировании вирусами, а также при воздействии индукторов интерферона, например РНК, ДНК, сложных полимеров. Такие индукторы интерферона получили название интерфероногенов.

Механизм действия интерферонов.

1. Противовирусная активность интерферонов (ИФ): а) подавление репликации вирусов. Благодаря воздействию ИФ, в клетках синтезируется 2'5'-олигоаденилатсинтетаза, которая, в свою очередь, активирует эндорибонуклеазу, расщепляющую вирусную РНК; б) воздействие на инфицированные клетки, в результате чего, они становятся более доступными для атаки клетками иммунитета. Под влиянием ИФ в клетках усиливается экспрессия молекул МНС класса I. Благодаря этому, на мембране клеток появляется больше молекул МНС со встроенными в них пептидными фрагментами вирусных или опухолевых белков, распознаваемых Т-киллерами. Кроме того, ИФ всех типов повышает активность ЕК. Возможно, именно с этим эффектом и связано положительное влияние ИФ при инфекциях, сопровождающихся внутриклеточным персистированием возбудителя.

2. Противоопухолевые эффекты: а) они активируют фермент аденилатциклазу, вследствие чего, возрастает содержание внутриклеточного цАМФ, что подавляет рост опухолевых клеток; б) под влиянием ИФ активируется ЕК-клетки, цитотоксические Т-клетки и макрофаги; в) усиливает экспрессию молекул МНС класса I на поверхности опухолевых клеток; это способствует успешному распознаванию и уничтожению опухолевых клеток цитотоксическими Т-клетками.

Действие интерферона тем эффективнее, чем раньше он начинает синтезироваться или поступать в организм извне. Поэтому его используют с профилактической целью при многих вирусных инфекциях, например, гриппе, а также с лечебной целью при хронических вирусных инфекциях, таких как парентеральные гепатиты (B, C, D), герпес, цитомегаловирус, рассеянный склероз и др. Интерферон дает положительные ре-

зультаты при лечении злокачественных опухолей и заболеваний, связанных с иммунодефицитами.

Получают интерферон двумя способами: а) путем инфицирования лейкоцитов или лимфоцитов крови человека безопасным вирусом, в результате чего, инфицированные клетки синтезируют интерферон, которые затем выделяют и конструируют из него препараты интерферона; б) генно-инженерным способом – путем выращивания в производственных условиях рекомбинантных штаммов бактерий, способных продуцировать интерферон. Обычно используют рекомбинантные штаммы псевдомонад, кишечной палочки со встроенными в их ДНК генами интерферона. Интерферон, полученный генно-инженерным способом, носит название рекомбинантного. Производство этого препарата во многом эффективнее и дешевле, чем лейкоцитарного.

Рекомбинантный интерферон нашел широкое применение в медицине как профилактическое и лечебное средство при вирусных инфекциях, новообразованиях и при иммунодефицитах.

Цитокины. Такое название получили цитокины группы факторов некроза опухолей (ФНО). ФНО служит медиатором ответа организма на микробную инвазию. Эндотоксины (ЛПС) микробов стимулируют клетки-продуценты к образованию ФНО, который, в свою очередь, обеспечивают хемотаксис фагоцитов в инфицированную ткань и усиливают фагоцитоз возбудителей. В настоящее время, известно два вида ФНО α и β, они синтезируются активированными макрофагами, естественными киллерами, а также лимфоцитами, нейтрофилами и тучными клетками (табл. 10.2).

ФНО-α вызывает некроз опухолей и нарушает обменные процессы, т.е. вызывает кахексию. Он обладает пирогенностью, активирует воспалительные клетки, стимулирует экспрессию на клетках структур комплекса МНС, молекул адгезии. Кроме того, ФНО-α повышает активность антиген-представляющих дентритных клеток и макрофагов.

ФНО-β, продуцируемый преимущественно Т-лимфоцитами, обладает свойствами лимфотоксина, обуславливающего цитотоксическое действие лимфоцитов – эффекторов иммунологических реакций.

Колониестимулирующие факторы – это цитокины, обеспечивающие активацию гемопоэтических функций у клеток миелоидного и моноцитарного рядов. Обычно вырабатываются клетками эндотелия и фибробластов. В настоящее время, различают три таких фактора: 1. Макрофагальный колониестимулирующий фактор (от англ. M-CSF – macrophages coloniastimulating factor) – гликопротеиновый димер с молекулярной массой 70-76 кДа. Основные мишени предшественники моноцитов, стволовые клетки. Усиливает пролиферацию моноцитов.

2. Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (от англ. GM-CSF – granulocytes-macrophages coloniastimulation factor) – 21-25 кДа. Основные мишени гематопоэтические клетки. Влияет на пролиферацию как гранулоцитов, так и макрофагов.

3. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (от англ. G-CSF – granulocytes coloniastimulating factor) – гликопротеин с молекулярной массой 19-25 кДа. Основные мишени предшественники гранулоцитов. Усиливает пролиферацию гранулоцитов.

Таким образом, среди различных факторов неспецифической защиты организма, основная роль отводится воспалению. При этом острый воспалительный процесс может благополучно завершиться в случае полного уничтожения индуктора воспаления (возбудителя инфекции и его антигенов). Если организм не способен ликвидировать антигенный стимул, то развивается хронизация воспалительного процесса.

В первом случае, в очаге начинают преобладать цитокины, которые ингибируют миграцию новых клеток и препятствуют распространению воспалительной реакции. Одновременно, они подавляют активность респираторного взрыва и дегрануляцию клеток.

В случае длительной персистенции антигена в очаге воспаления, процесс переходит в хроническую стадию. Изменяется состав клеточного эксудата. В нем почти отсутствуют нейтрофилы, однако, довольно много лимфоцитов и макрофагов.

В условиях постоянного антигенного раздражения и выделения, все новых порций цитокинов, происходит дифференцировка макрофагов в эпителиоидные клетки. Они секретируют большое количество TNFα. Иногда они сливаются, формируя гигантские клетки. Хроническое воспаление часто завершается формированием гранулем.

Длительная реакция воспаления часто приводит к срыву толерантности на собственные антигены и развитию аутоиммунных процессов.

Таблица 10. 2.

Цитокины

Цитокин	Основные источники	Основные функции
ИЛ-1	Макрофаги, В-лимфоциты, фибробласты	Участвует в иммунных и воспалительных реакциях. Стимулирует продукцию белков острой фазы воспаления. Активирует покоящихся Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, ЕК и макрофагов
ИЛ-2	Т-лимфоциты	Пролиферация и дифференциация Т-лимфоцитов, активация Т-киллеров, макрофагов и Th1-клеток
ИЛ-3	Т-лимфоциты, стволовые, эпителиальные клетки	Полипотентный колониестимулирующий фактор – стимулирует все ростки кроветворения. Стимулирует O_2 взрыв и адгезию
ИЛ-4	Т-лимфоциты	Фактор роста и дифференцировки В-лимфоцитов. Стимулирует синтез IgE и IgG1, активация Th2-лимфоцитов и созревание тучных клеток
ИЛ-5	Т-лимфоциты	Фактор роста и дифференцировки В-лимфоцитов. Стимулирует синтез IgA. Фактор роста и дифференцировки эозинофилов. Активация Th2-клеток
ИЛ-6	Макрофаги, Т- и В-лимфоциты, фибробласты	Фактор дифференцировки В-лимфоцитов. Участвует в воспалительных реакциях. Стимулирует продукцию белков острой фазы воспаления. Пролиферация и дифференциация Т-лимфоцитов
ИЛ-7	Стромальные клетки костного мозга и тимуса	Фактор роста предшественников В- и Т-лимфоцитов
ИЛ-8	Макрофаги, фибробласты	Фактор хемотаксиса нейтрофилов. O_2-взрыв, адгезия, дегрануляция

ИЛ-9	Т-лимфоциты	В сочетании с ИЛ-2, -3, -4 и эритропоэтином стимулирует кроветворение. Регулятор пролиферации Т-лимфоцитов. Активирует тучные клетки
ИЛ-10	Т-лимфоциты, макрофаги	Угнетает синтез γИФ, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, экспрессию антигенов HLA класса II, синтез медиаторов воспаления. Ингибирование Th1-клеток, стимуляция гуморального иммунного ответа
ИЛ-11	Стромальные клетки костного мозга, фибробласты легких плода	В сочетании с ИЛ-3 и -4 стимулирует пролиферацию полипотентных стволовых клеток. Фактор роста и дифференцировки мегакариоцитов. Стимулирует продукцию белков острой фазы воспаления. Образование остеокластов, колониестимулирующий фактор, ингибирование синтеза провоспалительных цитокинов
ИЛ-12	В-лимфоциты, моноциты и макрофаги	Стимулирует пролиферацию Th1 и продукцию ими γИФ. Активирует ЕК. Функциональный антагонист ИЛ-10. Супрессия В-лимфоцитов, стимуляция клеточного ответа
ИЛ-13	Т-лимфоциты	Стимулирует экспрессию CD23, CD72 и антигенов HLA класса II на В-лимфоцитах. Стимулирует пролиферацию и дифференциацию В-лимфоцитов, синтез IgE, ингибиция провоспалительных цитокинов, переключение Ig
ИЛ-14	Т-лимфоциты	Пролиферация В-лимфоцитов, формирования В-клеток памяти. Ингибирует секрецию Ig
ИЛ-15	Мононуклеарные клетки	Фактор роста Т- и В-лимфоцитов и ЕК
ИЛ-16	CD8+-лимфоциты, эозинофилы	Хемотаксис Т-хелперов, активация и пролиферация В-лимфоцитов. Подавляет репликацию вирусов
ИЛ-17	CD4+-лимфоциты	Способствует продукции ИЛ-6, ИЛ-8, PGE-2 и молекул адгезии
ИЛ-18	Гепатоциты	Активация ЕК, индукция γИФ
Фактор некроза опухолей (TNFα)	Моноциты и макрофаги, Т-лимфоциты, тучные клетки	Участвует в иммунных и воспалительных реакциях. Активация макрофагов, гранулоцитов, ЕК. Активация пролиферации и дифференцировки В-клеток. Стимулирует продукцию белков острой фазы воспаления. Активирует свертывающую систему крови
αИФ	Лейкоциты и макрофаги	Обладает противовирусной и противоопухолевой активностью. Стимуляция Th1 и клеточного ответа, ЕК. Усиление продукции ИЛ-12, антипролиферативный эффект. Индукция синтеза МНС I. Активирует свертывающую систему крови. Фактор хемотаксиса моноцитов

βИФ	Фибробласты и эпителиальные клетки	Тот же функции, что у αИФ
γИФ	Т-лимфоциты, ЕК	Активация Th1 и В-клеток, индукция синтеза МНС I и МНС II. Антагонисты ИЛ-4 – подавляет экспрессию CD23 и IgE. Мощный активатор макрофагов и O_2-взрыва, переключение Ig
Трансформирующий фактор роста (βТФР)	Т- и В-лимфоциты, моноциты, тромбоциты	Регулятор роста и дифференцировки разных типов клеток. Стимулирует синтез IgA. Подавляет пролиферацию лимфоцитов и активность цитотоксических лимфоцитов всех типов
Макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF)	Макрофаги, лимфоциты	Усиливают пролиферацию моноцитов
Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF)	Макрофаги, фибробласты	Усиливает пролиферацию гранулоцитов
Гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)	Т-лимфоциты, макрофаги, фибробласты и эндотелиальные клетки	Фактор роста колоний гранулоцитов и моноцитов. Активирует фагоцитоз. Стимулирует цитотоксическую функцию эозинофилов. Индуцирует высвобождение гистамина базофилами и нейротоксина эозинофилами

ГЛАВА 11. АНТИГЕНЫ И ИММУННАЯ СИСТЕМА ЧЕЛОВЕКА

Антигенами – называются те вещества, которые несут признаки генетически чужеродной информации и при введении организм вызывают специфические иммунологические реакции (Р. В. Петров, 1982). Термин *антиген* получил название от греч. *anti* – против и *genos* – создавать. Слово антиген обычно используется в двух смыслах. Во первых, так называют молекулы, которые индуцируют иммунный ответ (эти молекулы еще называют иммунногенами). Во вторых, антигенами называют молекулы, реагирующие с антителами или специфическими Т- лимфоцитами.

Антигенными свойствами обладают чужеродные для иммунизируемого организма вещества, белки, полисахариды, липо-, глюкопротеиды, химические соеденения, синтетические полипептиды и др. Теоретически антигеном может быть молекула любого органического вещества, как вредного для макроорганизма, так и безвредного, в частности, антигенами являются компоненты и продукты жизнедеятельности бактерий, грибов, простейших, вирусных частиц, организмов животных и растений.

Антигены имеют самое разнообразное происхождение. В сущности, они являются продуктом природного биологического синтеза любого чужеродного организма. В ряде случаев, антигены могут образовываться в собственном организме при структурных изменениях у уже синтезированных молекул при биодеградации, нарушении их нормального биосинтеза (эпигенетическая мутация) или генетической мутации клеток. Кроме того, антигены могут быть получены искусственно в результате научной или производственной деятельности человека, в том числе, путем направленного химического синтеза. Однако, в любом случае, молекулу антигена будет отличать генетическая чужеродность по отношению к макроорганизму, в который она попала. Антигены могут проникать в макроорганизм самыми различными путями: через кожные покровы или слизистые, непосредственно во внутреннюю среду организма, минуя покровы, – или образовываясь внутри него. Антигены распознаются иммунокомпетентными клетками и вызывают каскад разнообразных иммунных реакций, направленных на их инактивацию, разрушение и удаление.

По современным представлениям, учение об антигенах является ключевым для понимания основ молекулярно-генетических механизмов иммунной защиты макроорганизма, а также принципов иммунотерапии и иммунопрофилактики.

СВОЙСТВА АНТИГЕНОВ

Антигены обладают рядом характерных свойств: *антигенностью, специфичностью* и *иммуногенностью.*

Антигенность

Под *антигенностью* понимают потенциальную способность молекулы антигена активировать компоненты иммунной системы и специфически взаимодействовать с факторами иммунитета (антитела, клон эффекторных лимфоцитов). Иными словами, антиген должен выступать специфическим раздражителем по отношению к иммунокомпетентным клеткам. При этом взаимодействие компонентов иммунной системы происходит не со всей молекулой одновременно, а только с ее небольшим участком, который получил название *«антигенная детерминанта»* или *«эпитоп»*. Различают *линейные* или *секвенциальные,* антигенные детерминанты (например, первичная аминокислотная последовательность пеп-

тидной цепи) и *поверхностные* или *конформационные* (расположенные на поверхности молекулы антигена и возникшие в результате вторичной или более высокой конформации). Если антиген – линейный пептид или полисахарид, то во взаимодействии с антителом принимают участие около 5-6 аминокислотных остатков или молекул гексозы соответственно. Если же антиген конформационная детерминанта по сравнению с линейной несколько больше – для ее образования требуется 6–16 аминокислотных остатков. Например, глобулярный белок, то с антителом может контактировать до 16 аминокислотных остатков. Например, антигенсвязывающий участок молекулы иммуноглобулина (как сывороточного, так и рецептора В-лимфоцита) способен распознать линейную антигенную детерминанту, образованную всего лишь 5 аминокислотными остатками. Рецепторный аппарат Т-лимфоцитов ориентирован на иные по строению и размеру антигенные детерминанты. В частности, Т-киллеру для определения чужеродности требуется нанопептид, включенный в состав МНС I класса; Т-хелперу при распознавании «свой-чужой» необходим олигопептид размером 12–25 аминокислотных остатков в комплексе с МНС II класса.

Антитела, образующиеся в ответ на введение нативного глобулярного белка (в случае фибриллярного белка ситуация иная), слабо взаимодействуют с денатурированными препаратами этого же белка. Данный факт хорошо согласуется с тем представлением, что большинство антител распознает топографические структуры на поверхности белка (т.е. эпитопы), определяемые конформацией нативной молекулы. Поэтому не удивительно, что антитела к нативным белкам обычно гораздо слабее взаимодействуют с пептидами, имеющими ту же первичную структуру. Кроме того, существуют *концевые эпитопы* (расположенные на концевых участках молекулы антигена) и *центральные*. Определяют также *«глубинные»* или *скрытые* антигенные детерминанты, которые проявляются при разрушении биополимера.

С помощью индивидуальных антител, входящих в состав антисыворотки выявляют поверхность белкового антигена и схематически изобразив, отметив на ней центры эпитопов можно получит карту распределения эпитопов, т. е участки антигена, в которых особенно часто происходит взаимодействие антителами (кластеры доминантных эпитопов). Именно эти кластеры, пожалуй, ближе всего к тому, что принято понимать под антигенными детерминантами. Важно иметь в виду, что на поверхности антигена может находиться несколько антигенных детерминант различной структуры. Моноклональные антитела, реагирующие с одной детерминантой данного антигена, не будут реагировать с другими, если конечно молекула антитела не имеет осей симметрии.

Химическая структура и состав антигенных детерминантов эпитопа имеют критическое значение. Замена хотя бы одного структурного элемента молекулы эпитопа, приводит к образованию принципиально новой антигенной детерминанты с иными свойствами. Нужно также отметить, что денатурация приводит к полной или частичной потере антигенных детерминант или появлению новых, при этом теряется специфичность антигена.

Так как молекулы большинства антигенов имеют довольно большие размеры, в их структуре определяется множество антигенных детерминант, которые распознаются разными по специфичности антителами и клонами лимфоцитов. Поэтому антигенность вещества зависит от наличия и числа антигенных детерминант в структуре его молекулы.

Чужеродность – неотделимое от антигена понятие. Без чужеродности нет антигена применительно к данному организму. Если взять альбумин морской свинки, то для этой особи он не будет антигеном, так как по отношению к данному организму в этом веществе отсутствует отпечаток генетической чужеродности; для кролика он будет антигеном, так как для нее он чужероден. Понятие «чужеродность» относительное, так как иммунокомпетен-

тные клетки не способны напрямую анализировать чужеродный генетический код. Они воспринимают лишь опосредованную информацию, которая, как в зеркале, отражена в молекулярной структуре веществ.

В норме иммунная, система невосприимчива к собственным биополимерам. Если на какой-либо биополимер в макроорганизме возникла реакция, то, соответственно, он приобрел черты чужеродности и перестал восприниматься иммунной системой как *«свой»*. Подобное событие может возникнуть при некоторых патологических состояниях как результат нарушения регуляции иммунного ответа (см. «аутоантигены», «аутоантитела», «аутоиммунитет», «аутоиммунные болезни»)

Чужеродность находится в прямой зависимости от «эволюционного расстояния» между организмом-реципиентом и донором антигенов. Чем дальше в филогенетическом развитии организмы стоят друг от друга, тем большей чужеродностью и, следовательно, иммуногенностью обладают их антигены по отношению друг к другу. Это свойство используют биологи и палеонтологи (при изучении филогенеза, уточнении классификации и т.д.), судебно-медицинские эксперты и криминалисты (установление кровного родства, принадлежности улик, фальсификации пищевых продуктов и т.д.).

Вместе с тем, антигенные детерминанты даже генетически неродственных животных или структурно различных биополимеров могут иметь определенное подобие. В этом случае, их антигены оказываются способными специфически взаимодействовать с одними и теми факторами иммунитета. Такие антигены получили название *перекрестно реагирующих*. Описанное явление характерно, например, для альбуминов, коллагенов, миоглобинов различных видов животных. Обнаружено также сходство антигенных детерминант стрептококка, сарколеммы миокарда и базальной мембраны почек, *Treponema pallidum* и липидной вытяжки из миокарда крупного рогатого скота, возбудителя чумы и эритроцитов человека О(1) группы крови. Явление, когда один микроб маскируется антигенами другого микроба или макроорганизма для «защиты» от факторов иммунитета, получило название *антигенная мимикрия*.

Иммуногенность

Иммуногенность – способность создавать иммунитет или потенциальная способность антигена вызывать специфическую защитную реакцию. Иммуногенность в значительной степени зависит от *природы* антигена. Известно, что наиболее выраженными иммуногенными свойствами обладают белки и полисахариды, а нуклеиновые кислоты и липиды, напротив, слабоиммуногенны. В то же время, их сополимеры: ЛПС, гликопротеиды, липопротеиды, – способны в достаточной мере активировать иммунную систему и поэтому занимают промежуточное положение по степени иммуногенности.

Основными носителями иммуногенности являются белки. У разных белков иммуногенные свойства проявляются в разной степени: наряду с сильными иммуногенами (микробные экзотоксины, сывороточные белки и др.) есть белки с очень слабой иммуногенной активностью – гемоглобин, желатин, инсулин и другие низкомолекулярные белки. Низкую иммуногенную активность инсулина обычно связывают с его небольшой молекулярной массой (менее 6 кДа). Однако, такие белки, как, например, гемоглобин и актин, имеют большую молекулярную массу (64,5 кДа и 50 кДа соответственно), но обладают слабыми антигенными свойствами. Иммуногенность полисахаридов и липополисахаридов имеет такой же механизм, как и антигенность белков, т.е. обусловлена необычностью структуры, определяющей свойства иммуногенности. Определенное влияние на степень иммуногенности оказывает *химический состав* молекулы антигена. В частности, для

иммуногенности белков важно разнообразие их аминокислотного состава. Отмечено также, что сополимеры, состоящие из нескольких аминокислот, иммуногеннее, чем из одной аминокислоты. «Монотонные» полипептиды, построенные из одной аминокислоты, практически не активируют иммунную систему. Наличие в структуре молекулы белка ароматических аминокислот, таких как тирозин, триптофан, существенно повышает иммуногенность.

Важна также оптическая изомерия аминокислот, составляющих молекулу белка. Пептиды, построенные из L-аминокислот, легко поддаются ферментативной деградации и высокоиммуногенны. Полипептидная цепочка, построенная из правовращающих изомеров аминокислот, напротив, медленно расщепляется ферментами макроорганизма и может проявлять лишь ограниченную иммуногенность при введении в очень малых дозах, так как высокие дозы таких соединений быстро приводят к развитию иммунологической толерантности. Несмотря на кажущуюся равноценность антигенных детерминант по иммуногенности, в их спектре существует определенная иерархия. Она проявляется тем, что эпитопы различаются по способности индуцировать иммунный ответ. Поэтому после иммунизации антигеном в полученном спектре антител будут преобладать иммуноглобулины, специфичные к отдельным антигенным детерминантам. Это явление получило название *иммунодоминантности*. По современным представлениям, иммунодоминантность обусловлена различиями в сродстве эпитопов к антигенпрезентирующим комплексам гистосовместимости.

Большое значение *имеет размер* и *молекулярная масса* антигена. Несмотря на то, что белки хорошо стимулируют иммунную систему, небольшие полипептидные молекулы с молекулярной массой менее 5 кДа, как правило, низкоиммуногенны. Минимальный расчетный размер олигопептида, способный индуцировать иммунный ответ, 6–12 аминокислотных остатков с молекулярной массой около 450 Да. С увеличением размера пептида возрастает его иммуногенность. Теоретически существует определенная зависимость между этими параметрами, однако на практике она не всегда выполняется из-за влияния посторонних факторов. Так, например, при равной молекулярной массе (около 70 кДа) альбумин является более сильным антигеном, чем гемоглобин. На степень иммуногенности также оказывает влияние *пространственная структура* антигена. Чрезвычайно важным оказалось наличие в структуре антигена ос-спирали, разветвленных боковых цепей, а также высокой плотности идентичных по строению эпитопов. Опытным путем было доказано, что высокодисперсные коллоидные растворы антигена плохо индуцируют иммунный ответ. Гораздо большей иммуногенностью обладают агрегаты молекул и корпускулярные антигены – цельные клетки (эритроциты, бактерии и т.д.). Это связано с тем, что корпускулярные и высокоагрегированные антигены лучше фагоцитируются, чем отдельные молекулы.

Важность пространственной структуры антигена подчеркивает и тот факт, что фибриллярный белок коллаген, имеющий большую молекулярную массу (около 330 кДа), обладает значительно меньшей иммуногенностью по сравнению с таким глобулярным белком, как альбумин, который почти в 5 раз его легче.

Еще одним важным условием иммуногенности является *растворимость* антигена. Например, такие высокомолекулярные белки, как кератин, меланин, натуральный шелк, как и другие высокополимерные соединения, не могут быть получены в виде коллоидного раствора в нормальном состоянии и они не являются иммуногенами. Благодаря этому свойству, конский волос, шелк, кетгут и другие применяются в клинической практике для восстановления целостности органов и тканей. Поэтому воспалительную реакцию в месте шва или репозиции не следует рассматривать как иммунологический конфликт, спровоцированный шовным материалом. На степень иммуногенности также оказывает влияние

антиген и *способ* его *введения.* Это свойство обусловлено анатомо-топографическими особенностями строения и развития иммунной системы в местах аппликации антигена, а также биологической природой иммуногена и в обязательном порядке, учитывается при вакцинации или иммунизации. Например, учитывая тропизм антигена, вакцину против полиомиелита вводят перорально, против сибирской язвы - накожно, БЦЖ – внутрикожно, АКДС – подкожно, против столбняка – внутримышечно.

На иммунный ответ влияет *количество* поступающего антигена: чем его больше, тем более выражен иммунный ответ. Однако, передозировка антигена вызывает обратную реакцию – иммунологическую толерантность. Между количеством антигена и силой иммунного ответа в определенном отрезке (интервале) доз существует логарифмическая зависимость, выражаемая *уравнением антигенности* (А. А. Воробьев, А. В. Маркович):

lgH = ос+3lgD, где ос+ и 3 – коэффициенты, характеризующие соответственно природу антигена и иммунореактивность макроорганизма; Н – сила иммунного ответа; D – количество антигена.

Следующие факторы, определяющие зависимость иммуногенности от состояния макроорганизма. В этой связи на первый план выступают наследственные факторы. Хорошо известно, что результат иммунизации в определенной мере связан с генотипом особи. Существуют чувствительные и нечувствительные к определенным антигенам роды и виды животных, которых используют в лабораторной работе. Например, кролики и крысы практически не реагируют на некоторые бактериальные антигены, которые могут вызывать у морской свинки или мыши чрезвычайно бурный иммунный ответ.

Даже внутри вида можно выделить группы близкородственных особей (например, инбредные линии животных), которые по-разному будут отвечать на вводимый антиген. В ходе гибридологического исследования установлено, что сила иммунного ответа на простой антиген у мышей детерминируется одним геном и имеет доминантный модус наследования. Иммунное реагирование на сложные по строению антигены имеет мультигенный контроль. Причем, у мышей и морских свинок четко прослеживается ассоциация силы иммунного ответа с генами главного комплекса гистосовместимости. В популяции людей также известны значительные (в десятки и сотни раз) межиндивидуальные различия в чувствительности к вакцинам – выделяют иммунологически реактивных и иммунологически инертных индивидуумов.

Однако, как показали исследования, наряду с генетической предрасположенностью немаловажное значение имеет также функциональное состояние макроорганизма – его психоэмоциональный и гормональный фон, интенсивность обменных процессов и пр. От этого зависит различный уровень чувствительности к одному и тому же антигену, как у одного индивидуума в разные возрастные периоды, так и популяционная гетерогенность в целом.

Таким образом, иммуногенность является важным свойством антигена, которую необходимо учитывать не только в научных исследованиях. С иммуногенностью, а точнее с индивидуальной реактивностью макроорганизма на введение антигена, связаны популяционные проблемы вакцинации. В виду сложности подбора индивидуальной дозы вакцинного препарата, применяют те дозы, способы и формы его введения, которые обеспечивают наибольший процент положительных реакций в популяции в целом. Считается, что для предотвращения или прекращения развития эпидемического процесса необходимо, чтобы иммунитетом в коллективе располагало 95% привитых, это является важным свойством антигена, которое необходимо учитывать не только в научных исследованиях. Существуют группы веществ: *адъювантов* и *иммуномодуляторов,* которые способны неспецифически усиливать это свойство антигена. Такой эффект широко используется

при создании вакцин, в иммунотерапии, иммунопрофилактике и научно-исследовательской работе.

Специфичность

Специфичностью называют способность антигена индуцировать иммунный ответ к строго определенному эпитопу и избирательно реагировать со строго определенными антителами или клонами лимфоцитов.

Независимо от происхождения антигенов, у них различают несколько уровней антигенной специфичности.

Видовая специфичность – антигенные особенности, присущие представителям данного вида. Отпечаток видовой специфичности имеют многие макромолекулы данного организма. Наличие видовой специфичности белков имеет, несомненно, большой биологичесий смысл. Полагают, что эволюция постоянно работает в двух напровлениях: совершенствование функциональной полноценности того или иного белка и его индивидуализирование, обеспечивающее от белков всех других видов, в часности, паразитирующих организмов (бактерии и вирусы). При этом видовая специфичность белков, сама по себе, независимо от функции, служит целесообразным защитным фактором, так как защитные реакции иммунитета основаны на антигенном различии белков и связанных с ними веществ разных видов.

Групповая специфичность – особенности антигенного строения, свойственные определенной группе особей внутри данного вида организмов.

Групповые антигены, позволяющие различить отдельных особей или группы особей внутри одного вида, называются изоантигенами. Например, в эритроцитах человека обнаружено, помимо изоантигенов АВО, ещё более 70 других, все они объединены в 14 изоантигенных систем. Около 40 антигенов найдено в сыворотке крови. Большой интерес представляют лейкоцитарные изоантигены, относящиеся к антигенам гистосовместимости.

Типоспецифичность – понятие, аналогичное предыдущему, но имеющее отношение, чаще всего, к микробным видам. Например, пневмококки по своим полисахаридным антигенам делятся на типы I, II, III, IV и т. д

Гетероспецифичность – антигенная специфичность, обусловленная наличием общих для представителей разных видов антигенов. Примером таких гетероантигенов является обнаруживаемый в эритроцитах овец, лошадей, мышей, кур, собак, кошек, но отсутствующий у человека, обезъян и некоторых других животных антиген Форсмана. Общие антигены встречаются у весьма отдаленных видов и обуславливают перекрестные иммунологические реакции. Описаны таковые для человека и возбудителя чумы. Антигены, определяющие человеческую группу крови А, обнаружены у вируса гриппа и некоторых других микроорганизмов. За счет гетероантигенов могут возникать перекрестные иммунологические реакции, приводящие к ошибочным диагностическим заключениям.

Биологическое значение гетероантигенов очень велика, в случаях наличия общих антигенов у млекопитающих и паразитирующих в них микробов, они могут быть следствием антигенной мимикрии паразита, облегчающего его инвазию и преодоление иммунитета. Эволюция неизбежно должна вести селекцию таких форм паразитов, которые все более и более уподобляются антигенам хозяина и становятся «невидимыми» для иммунитета (вирусы гепатита С, ВИЧ).

Гаптеноспецифичность – антигенная специфичность, обусловленная той или иной гаптенной группировкой.

Новую антигенную специфичность могут приобретать белки, комплексируясь с рядом лекарственных веществ, которые в этих случаях выступают в роли гаптенов, этим могут объясняться различные лекарственные аллергии, в том числе, и аллергические реакции на антибиотики, которые сами по себе неантигенны.

Помимо перечисленных типов антигенной специфичности, выделяют еще органоидную (антигенные различия клеточных органоидов), функциональную (специфичность белков, связанная с выполнением различных функций), патологическую («ожоговые», «лучевые», «раковые» антигены), стадия специфичность (антигены различных тканей, связанные с их морфогенезом) и т.п.

Классификация антигенов (А. А. Воробьева, 2004 г.)

Все многообразие антигенов, в зависимости от характерных для них свойства может быть подразделено на несколько классификационных групп:

- по происхождению,
- по природе,
- по молекулярной структуре,
- на отдельных характерных свойствах по степени иммуногенности,
- по степени чужеродности,
- по направленности активации и обеспеченности иммунного реагирования.

По происхождению различают экзогенные (возникшие вне организма) и эндогенные (возникшие внутри организма) антигены. Среди эндогенных особого внимания заслуживают *аутo-* и *неоантигены.*

Аутогенные антигены (аутоантигены) или антигены собственного организма, это вещества, обладающие способностью вызывать иммунные реакции в организме, из которого они получены. К ним относится мозг, хрусталик глаза, сперматозоиды, паращитовидные железы, гомогенаты семенных желез. В норме аутоантигены не вызывают реакцию иммунной системы вследствие сформировавшейся *иммунологической толерантности* (невосприимчивости) либо их недоступности для контакта с факторами иммунитета – это так называемые *забарьерные* антигены. При срыве толерантности или нарушении целостности биологических барьеров (наиболее частая причина – травма) компоненты иммунной системы начинают специфически реагировать на аутоантигены выработкой специфических факторов иммунитета (аутоантитела, клон аутореактивных лимфоцитов). Аутоантигены могут возникать также из клеток некоторых органов и тканей под влиянием охлаждения, медикоментозного воздействия, вирусных инфекций, бактериальных белков и токсинов, например, стрептококков, стафилококков, микобактерий туберкулёза и других факторов. Они образуются в этом случае, вследствие нарушения видовой специфичности собственных антигенов организма.

От аутоантигенов следует отличать *неоантигены,* которые возникают в организме в результате мутаций. После модификации молекулы приобретают черты чужеродности.

По степени иммуногенности: полноценные и неполноценные. *Полноценные* антигены обладают выраженной антигенностью и иммуногенностью – иммунная система чувствительного организма реагирует на их введение выработкой факторов иммунитета. Такие вещества, как правило, имеют достаточно большую молекулярную массу (более 10 кДа), большой размер молекулы (частицы) в виде глобулы и хорошо взаимодействуют с факторами иммунитета. (см. антигенность, иммуногенность).

Неполноценные антигены или *гаптены* (термин предложен К. Ландштейнером), напротив, не способны при введении в нормальных условиях индуцировать в организме иммунный ответ, так как обладают крайне низкой иммуногенностью. Однако, свойство антигенности они не утратили, что позволяет им специфически взаимодействовать с уже гото-

выми факторами иммунитета (антителами, лимфоцитами). Чаще всего, гаптенами являются низкомолекулярные соединения (молекулярная масса меньше 10 кДа). При определенных условиях удается заставить иммунную систему макроорганизма специфически реагировать на гаптен, как на полноценный антиген и вырабатывать факторы иммунитета. Для этого, необходимо искусственно укрупнить молекулу гаптена-соединить ее прочной связью с достаточно большой белковой молекулой. Молекула белка-носителя получила название *шлеппер* (от нем. schlepper – *буксир*). Синтезированный таким образом конъюгат, будет обладать всеми свойствами полноценного антигена и вызывать при введении в организм, выработку антител или клона лимфоцитов, специфичных к гаптенной части комплекса. При этом специфичность в составе молекулы конъюгата определяется гаптенной частью, а иммуногенность – белком-носителем.

По степени чужеродности: ксено-, алло- и изоантигены. *Ксеногенные* антигены (или гетерологичные) – общие для организмов, стоящих на разных ступенях эволюционного развития, например, относящиеся к разным родам и видам. Впервые феномен общности ряда антигенов у животных различных видов был отмечен Д. Форсманом (1911) (см. гетроспецифичность). Исследование гетероантигенов широко применяется в судебно-медицинской экспертизе, палеонтологии и других областях медицины и естествознания.

Аллогенные антигены (или групповые) – общие для генетически неродственных организмов, но относящихся к одному виду. На основании аллоантигенов общую популяцию организмов можно подразделить на отдельные группы. Примером таких антигенов у людей являются антигены групп крови (системы АВО и др.) и многие другие. Аллогенные ткани при трансплантации иммунологически несовместимы – они отторгаются или лизируются реципиентом. Микробы на основании групповых антигенов могут быть подразделены на серогруппы. Это имеет большое значение для микробиологической диагностики (например, классификация сальмонелл Кауфмана–Уайта) и эпидемиологического прогнозирования.

Изогенные антигены (или индивидуальные) – общие только для генетически идентичных организмов, например, для однояйцовых близнецов, инбредных линий животных. Изотрансплантаты обладают практически полной иммунологической совместимостью и не отторгаются реципиентом при пересадке. Примером таких антигенов в популяции людей являются антигены гистосовместимости, а у бактерий – типовые антигены, не дающие дальнейшего расщепления.

Отдельным критерием классификации является направленность активации и обеспеченность иммунного реагирования в ответ на внедрение антигена. В зависимости от физико-химических свойств вещества, условий его внедрения, характера реакции и реактивности макроорганизма различают *иммуногены, толерогены* и *аллергены.*

Иммуногены при попадании в организм способны индуцировать продуктивную реакцию иммунной системы, которая заканчивается выработкой факторов иммунитета (антитела, антигенреактивные клоны лимфоцитов).

Толероген является полной противоположностью иммуногену. При взаимодействии с системой приобретенного иммунитета он вызывает включение альтернативных механизмов, приводящих к формированию иммунологической толерантности или неотвечаемости на эпитопы данного организма. Толерогены используют для профилактики и лечения иммунологических конфликтов и аллергии путем наведения искусственной неотвечаемости на отдельные антигены.

Аллерген также воздействует на систему приобретенного иммунитета. Однако, в отличие от иммуногена, производимый им эффект формирует патологическую реакцию организма в виде *гиперчувствительности* немедленного или замедленного типа (см. разд. Аллер-

гии). По своим свойствам аллерген не отличается от иммуногена. В клинической практике аллергены применяют для диагностики инфекционных и аллергических заболеваний.

Среди иммуногенов выделяют две группы антигенов, различающихся по необходимости вовлечения Т-лимфоцитов в индукцию иммунного ответа. Это – *Т-зависимые* и *Т-независимые* антигены. Иммунная реакция в ответ на введение Т-зависимого антигена реализуется при обязательном участии Т-лимфоцитов (Т-хелперов). К Т-зависимым относится большая часть известных антигенов. В то же время, для развития иммунного ответа на Т-независимые антигены не требуется привлечение Т-хелперов. В-клетки, кроме тимус-зависимых отвечают на два различные типа антигенов: тимус-независимые типа 1 (поликлональные активаторы, А-белок стафилококков и М-белок стрептококков), для такой активации антигенная специфичность поверхностных рецепторов клетки роли не играет. При низкой концентрации подобных антигенов, неприводящей к поликлональной активации, те В-лимфоциты, у которых иммуноглобулиновые рецепторы специфичны по отношению к данным антигенам, будут пассивно фокусировать их на своей поверхности. При этом, за счет собственной митогенной активности эти антигены будут стимулировать пролиферацию В-клеток, тимус-независимые типа 2 (полимерные, недеградирующие, некоторые линейные антигены, медленно распадающиеся в организме и имеющие часто повторяющуюся, определенным образом, организованную детерминанту, например, полисахарид пневмококков). Они длительное время персистируют на поверхности специализированных макрофагов краевого синуса лимфатичекого узла и маргинальной зоны селезенки. Связывание этих антигенов с антигенспецифическими В-клетками происходит с высокой активностью и обусловлено перекрестным взаимодействием антигенных детерминант с иммуноглобулиновыми рецепторами. Тимус-независимые антигены обоих типов вызывают премущественный синтез IgM и индуцируемый ими иммунный ответ практически не сопроваждается формированием клеток памяти.

От тимус-независимых антигенов следует отличать *суперантигены.* Это условный термин, введенный для обозначения группы веществ, в основном, микробного происхождения, которые могут неспецифически вызывать поликлональную реакцию. В организме в обход естественного процессинга антигена цельная молекула суперантигена способна вмешиваться в кооперацию антигенпрезентирующей клетки и Т-хелпера и нарушать распознавание «свой-чужой». Установлено, что молекула суперантигена самостоятельно связывается с межклеточным комплексом «антиген гистосовместимости II класса–Т-клеточный рецептор» и формирует ложный сигнал распознавания чужеродной субстанции. В процесс неспецифической активации одновременно вовлекается огромное количество Т-хелперов (до 20% от общей массы и более), возникает гиперпродукция цитокинов, за которой следует поликлониальная активация лимфоцитов, их массовая гибель, вследствие апоптоза и развитие вторичного функционального иммунодефицита.

На сегодняшний день, свойства суперантигена обнаружены у стафилококкового энтеротоксина, белков вирусов Эпштейна–Барр, бешенства, ВИЧ и некоторых других микробных субстанций.

Антигены организма человека

С позиций клинической медицины, наиболее интересны и важны индивидуально специфические (изогенные) и группоспецифические (аллогенные) антигены. Начало изучению аллоантигенных свойств тканей было положено открытием системы групповых антигенов эритроцитов К. Ландштайнером в 1901 г. (система *АВО).* На сегодняшний день известно более 250 различных *эритроцитарных антигенов.*

Однако, наиболее важное клиническое значение имеют антигены системы *ABO* и *Rh* (резус-фактор): при проведении гемотрансфузионной терапии, пересадке органов и тканей, для предупреждения и лечения осложнений беременности и т.д.

Антигены системы ABO располагаются на наружной мембране всех клеток крови и тканей человека, но наиболее выражены на эритроцитах. Кроме того, у большинства людей (80%) эти антигены содержатся в плазме крови, лимфе, секретах слизистых оболочек и других биологических жидкостях. Антигены системы *ABO* синтезируются предшественниками эритроцитов и многими другими клетками организма. Они свободно секретируются в межклеточное пространство, поэтому могут появиться на мембране клетки либо как продукт клеточного биосинтеза, либо в результате сорбции из межклеточных жидкостей.

Антигены системы *ABO* представляют собой высокогликозилированные пептиды: 85% приходится на углеводную часть и 15% – на полипептидную. Пептидный компонент состоит из 15 аминокислотных остатков. Он постоянен для всех групп крови *ABO*. Иммуногенность этого гликопептида определяется его углеводной частью.

В системе антигенов *ABO* выделяют 3 варианта антигенов, различающихся по строению углеводной части – *H, A* и *B*. Базовой молекулой является антиген *H*, специфичность которого обусловливают 3 углеводных остатка. Антигены *A и B* имеют в структуре дополнительный, четвертый, углеводный остаток.

Антигены системы *ABO* наследуются независимо аллельно, что определяет наличие в популяции 4 групп крови: 0(I), *A*(II), B(III) и AB(IV). Кроме того, следует отметить, что антигены *A* и *B* имеют несколько аллотипов (например, *Ap A2, A3...* или *Bp BT B3...*), которые встречаются в популяции людей с различной частотой. Переливание пациенту несовместимой по группе крови, как правило, приводит к развитию острого состояния – гемолитического шока.

Второй важнейшей системой эритроцитарных антигенов является *система резус (Rh)*. Эти антигены синтезируются предшественниками эритроцитов и обнаруживаются, главным образом, на эритроцитах, так как они нерастворимы в биологических жидкостях. По химической структуре резус-антиген представляет собой термолабильный липопротеин. Выделяют 6 разновидностей этого антигена. Генетическая информация о строении резус-антигена находится в многочисленных аллелях 3 сцепленных между собой локусов *(D/d, C/c, E/e)*.

В зависимости от наличия или отсутствия резус-антигена в популяции людей различают две группы – резус-положительных и резус-отрицательных индивидуумов.

Совпадение по резус-антигену важно не только при переливании крови, но также для течения и исхода беременности. При беременности резус-отрицательной матери резус-положительным плодом может развиться *резус-конфликт*, который проявляется выработкой антирезусных антител и невынашиванием беременности или желтухой новорожденного (внутрисосудистый иммунный лизис).

Эпитопная плотность антигена на мембране эритроцитов невысока. Кроме того, его молекула недостаточно удобна для взаимодействия с антителами. Поэтому «резус-антигены» определяют на мембране эритроцитов в реакции непрямой агглютинации (реакция Кумбса).

Антигены гистосовместимости

Практически во всех клетках, имеющих ядра, экспрессируются антигены главного комплекса *гистосовместимости* или MHC (от англ. *Major Histocompatibility Complex).* У человека эти антигены обозначают *HLA* (от англ. *Human Leukocyte Antigens* – лейкоцитарные антигены человека). *HLA* играют важную роль в развитии иммунного ответа, отторжении трансплантата и других реакциях. По химической природе эти антигены представляют собой гликопротеины, которые прочно связаны с клеточной мембраной. В зависимости от строения и функции *HLA* подразделяют на два класса. Антигены MHC класса I, они широко представлены на лимфоидных клетак, в меньшей степени – клетках печени, легких и почек и редко встречаются на клетках мозга и склетных мышц. У человека на ворсинчатых клетках трофобласта компоненты HLA-A, B или C не экспрессируются. Распределение антигенов MHC класса II более ограничено, поскольку они ассоциированы только с B- лимфоцитами, антигенпрезентирующими клетками и макрофагами.

Антигены гистосовместимости. Условно принято, что MHC I класса индуцирует преимущественно клеточный иммунный ответ, а MHC II класса– гуморальный. Основные классы объединяют множество сходных по структуре антигенов, которые кодируются множеством аллельных генов. При этом на клетках индивидуума могут экспрессироваться не более двух разновидностей продуктов каждого гена MHC, что важно для поддержания популяционной гетерогенности и выживания как отдельной особи, так и всей популяции в целом.

Молекулы I класса состоят из двух нековалентно связанных полипептидных цепей с разной молекулярной массой: тяжелой α-цепи и легкой β–цепи (это – β_2-микроглобулин). *HLA* I класса находятся на мембранах всех клеток организма, за исключением эритроцитов. У человека, их биосинтез контролируется генами, картированными в 3 сублокусах хромосомы 6 – *HLA-A, HLA-B* и *HLA-C,* которые наследуются и проявляются независимо (рис.). В настоящее время различают более 100 вариантов этих антигенов гистосовместимости. Типирование индивидуума по *HLA* I класса производят серологически, в реакции микролимфоцитолиза со специфическими антисыворотками.

Гены главного комплекса гистосовместимости человека

Комплекс	HLA									
Класс MHC	II			III				I		
Продукты Гены	HLA-DP	HLA-DQ	HLA-DR	C2	B1	C4A	C4B	HLA-B	HLA-C	HLA-A

Благодаря независимому наследованию генов сублокусов, в популяции формируется бесконечное множество неповторяющихся комбинаций *HLA* I класса. Поэтому каждый человек строго уникален по набору антигенов гистосовместимости, исключение составляют только однояйцовые близнецы, которые абсолютно похожи по набору генов. Основная биологическая роль *HLA* I класса состоит в том, что они обуславливают биологическую индивидуальность *(«биологический паспорт»)* и являются маркерами «своего» для иммунокомпетентных клеток (Т-хелперы, Т-киллеры). Клетки, отличающиеся по *HLA* I класса, уничтожаются, как чужеродные. При заражении клетки вирусом или возникнове-

нии мутации изменяется структура *HLA* I класса. Это служит ориентиром для Т-киллеров и сигналом к уничтожению ставших «чужеродными» клеток.

HLA II класса имеют более сложное строение. Они состоят из двух примерно одинаковых по молекулярной массе полипептидных цепей, прочно связанных с цитоплазматической мембраной клетки. Эти антигены обнаруживаются на клеточной мембране антиген представляющих клеток: фагоцитов, В-лимфоцитов и др. Они участвуют в представлении чужеродного антигена иммунокомпетентным клеткам для их специфического распознавания. В состав *HLA* II класса входят *HLA-DR, DP* и *DQ,* генетическая информация о которых расположена также в хромосоме *6.* Семейство этих антигенов тоже достаточно многочисленно. Наличие и тип *HLA* II класса определяют в серологических (например, в микролимфоцитотоксическом тесте) и клеточных реакциях иммунитета.

Помимо описанных выше антигенов гистосовместимости, идентифицирован III класс молекул МНС. Локус, содержащий кодирующие их гены, вклинивается между I и II классом и разделяет их. К МНС III класса относятся некоторые компоненты комплемента (С2, С4), пропердина В1, белки теплового шока, факторы некроза опухоли и др.

Биологическая роль МНС классов чрезвычайно велика, хотя молекулы МНС первоначально идентифицировали по их способности вызывать отторжение трансплантата, они выполняют в организме и другие биологически важные функции. Кроме потенциальной роли, которую играют гены в возникновении полиморфизма, молекулы, кодируемые комплексом, вовлечены в процессы дифференцировки, особенно, у эмбриона, а возможно и в плаценте.

Опухолевые антигены

Первые указания на наличие в опухолях специфических антигенов датируются 40-ми годами XX в. В 1948–1949 гг. Л. А. Зильбер, видный русский микробиолог и иммунолог, при разработке вирусной теории рака, доказал существование антигена, специфичного для опухолевой ткани. Позже, в 60-х годах XX в., Г. И. Абелев (в опытах на мышах) и Ю. С. Татаринов (при обследовании людей) обнаружили в сыворотке крови больных первичным раком печени эмбриональный вариант сывороточного альбумина – *альфа-фетопротеин.* К настоящему моменту, опухольассоциированные антигены обнаружены и охарактеризованы для многих опухолей и были даже клонированы их гены. Однако, не все опухоли содержат специфические маркерные антигены и не все маркеры обладают строгой тканевой специфичностью.

Опухольассоциированные антигены классифицируют по локализации и генезу. По местонахождению различают *сывороточные,* секретируемые опухолевыми клетками в межклеточную среду и *мембранные.* Последние получили название *опухолеспецифических трансплантационных антигенов* или TSTA (от англ. *Tumor-specific transplantation antigens).*

В зависимости от природы выделяют *вирусные, эмбриональные, нормальные гиперэкспрессируемые* и *мутантные* антигены, ассоциируемые с опухолями. *Вирусные* опухольассоциированные антигены, по сути, являются белками онковирусов. *Эмбриональные* антигены в норме синтезируются в зародышевом периоде. Это, например, альфафетопротеин (см. выше); нормальный протеин тестикул, MAGE 1, 2, 3 и др. – маркеры нормальных семенников, а также меланомы, рака молочной железы и пр.; хорионический гонадотропин – в норме синтезируется в плаценте, а также при хориокарциноме и других опухолях. В меланоме в большом количестве синтезируется нормальный фермент тирозиназа.

Из *мутантных* белков следует отметить характерный для многих опухолей протеин Ras – ГТФ-связывающий белок, участвующий в трансмембранном проведении сигнала. Маркерами рака молочной и поджелудочной желез, карцином кишечника являются модифицированные муцины (MUC 1, 2 и др.).

Из общих свойств опухольассоциированных антигенов необходимо отметить, что в большинстве своем, они представляют собой продукты экспрессии генов, в норме включаемых только в эмбриональном периоде. Они являются слабыми иммуногенами, хотя в отдельных случаях, могут индуцировать реакцию цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеров) и распознаваться в составе молекул MHC (HLA) I класса. Направленные против опухольассоциированных антигенов, специфические антитела, в сущности, не угнетают рост опухолей, а наоборот, вызывают иммуннодепрессию.

CD-антигены.

На мембране клеток обнаруживаются групповые антигены, объединяющие клетки, имеющие сходные морфофункциональные характеристики или находящиеся на определенной стадии развития. Эти маркерные молекулы получили название антигенов кластеров дифференцировки клетки, или CD-антигенов (от англ. *Cell Differentiation Antigens или Cluster Definition).* По структуре они представляют собой гликопротеиды, многие из которых относятся к суперсемейству иммуноглобулинов.

CD-антигены используют для выявления отличий в группах клеток, из которых наиболее широкое распространение получили маркеры иммунокомпетентных клеток. Например, CD3 экспрессируется на популяции Т-лимфоцитов, CD4 характерен для субпопуляции Т-хелперов, а CD8–цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-киллеров. CD11a обнаруживается на цитоплазматических мембранах моно- и гранулоцитов, а CD11b– на естественных киллерах. CD19–22 являются макерами В–лимфоцитов.

Список CD-маркеров довольно обширный, он насчитывает около 200 вариантов. Информация о структуре закодирована в различных участках генома, а экспрессия зависит от стадии дифференцировки клетки и ее функционального состояния.

CD-антигены имеют диагностическое значение в клинике иммунодефицитных состояний, а также в научно-исследовательской работе. Типирование CD-маркеров осуществляется в серологических реакциях с использованием моноклональных антител (реакция иммунофлюоресценции, цитотоксический тест и др.).

Антигены микробов

В структуре микробов определяются несколько типов антигенов. Антигены бактерий, вирусов, грибов и простейших имеют принципиальные различия.

Микробные антигены могут быть и общими для отдельных систематических категорий. Так, существуют антигены, характерные для целых семейств, родов и видов. Внутри видов могут быть выделены серогруппы и серологические варианты *(сероварЫ).* Антигены микробов используют для получения вакцин и сывороток, необходимых для диагностики, профилактики и лечения.

Антигены бактерий. В структуре бактериальной клетки различают жгутиковые, соматические, капсульные и некоторые другие антигены . *Жгутиковые* или *Н-антигены,* локализуются в локомоторном аппарате бактерий – в жгутиках. Последние представляют собой сократительный белок флагеллин. При нагревании Н-антигены денатурируют и теряют свою специфичность. Фенол не действует на эти антигены.

Соматический* или *О-антиген, связан с клеточной стенкой бактерий. Его основу составляют липополисахариды. О-антиген проявляет термостабильные свойства: он не разрушается при длительном кипячении. Однако, соматический антиген подвержен действию альдегидов (например, формалина) и спиртов, которые нарушают его структуру.

Если иммунизировать животное живыми бактериями, имеющими жгутики, то будут вырабатываться антитела, направленные одновременно против О- и Н-антигенов. Введение животному прокипяченной культуры стимулирует биосинтез антител к соматическому антигену. Культура бактерий, обработанная фенолом, вызовет образование антител к жгутиковым антигенам.

Капсульные* или *К-антигены располагаются на поверхности клеточной стенки, встречаются у бактерий, образующих капсулу. Как правило, – антигены состоят из кислых полисахаридов (уроновые кислоты). В то же время, у бациллы сибирской язвы, этот антиген построен из полипептидных цепей. По чувствительности к нагреванию различают 3 типа К-антигена: *A, B* и *L*. Наибольшая термостабильность характерна для группы *A*. Они неденатурируют даже при длительном кипячении. Группа *B* невыдерживает непродолжительное нагревание (около 1 ч) до 60 °С, группа *L* быстро разрушается при этой температуре. В связи с этим, частичное удаление К-антигена возможно путем длительного кипячения бактериальной культуры.

Вариантом капсульного антигена является Vi-антиген. Этот антиген можно обнаружить на поверхности возбудителя брюшного тифа и некоторых других энтеробактерий, которые обладают очень высокой вирулентностью. Поэтому Vi-антиген получил название *антигена вирулентности.*

Антигенными свойствами обладают также бактериальные *белковые токсины, ферменты* и некоторые другие белки, которые секретируются бактериями в окружающую среду. При взаимодействии со специфическими антителами токсины, ферменты и другие биологически активные молекулы бактериального происхождения теряют свою активность. Столбнячный, дифтерийный и ботулинический токсины относятся к числу сильных полноценных антигенов, поэтому их используют для получения анатоксинов для вакцинации людей.

В антигенном составе некоторых бактерий выделяется группа антигенов с сильно выраженной иммуногенностью. Наличие такой группы может полностью обеспечивать иммунитет макроорганизма ко всему инфекционному агенту. Эти антигены названы *протективными.* Впервые протективный антиген был обнаружен в гнойном отделяемом карбункула, вызванного бациллой сибирской язвы.

В структуре вирусной частицы различают несколько групп антигенов: *ядерные* (или корковые), *капсидные* (или оболочечные) и *суперкапсидные.* На поверхности некоторых вирусных частиц встречаются особые *V-антигены* – гемагглютинин и фермент нейраминидаза. Антигены вирусов различаются по происхождению. Часть из них – вирусоспецифические. Информация об их строении картирована в нуклеиновой кислоте вируса. Другие антигены вирусов являются компонентами клетки хозяина (углеводы, липиды), они захватываются во внешнюю оболочку вируса при его рождении путем почкования.

Антигенный состав вириона зависит от строения самой вирусной частицы. Антигенная специфичность просто организованных вирусов связана с рибо- и дезоксирибонуклеопротеинами. Эти вещества хорошо растворяются в воде и поэтому обозначаются как S-антигены (от лат. *solutio* – раствор). Например, вирус гепатита А, РНК – содержащий вирус, просто организованный, имеет диаметр 27-28 нм и один вирусспецифический антиген. У сложно организованных вирусов часть антигена связана с нуклеокапсидом, а другая – локализуется во внешней оболочке – суперкапсиде. Например, вирус гепатита В облада-

ет сложной антигенной структурой. В суперкапсиде вируса находится HBs-антиген, состоящий из S. preS1 и preS2- полипептидов в гликозилированной форме, которые различаются по антигенной специфичности. Существует 4 антигенных серотипа вируса. В сердцевине вируса находится HBc Ag (cor-антиген) и HBe Ag (e– антиген) и в отличие от HBc Ag, не только присутствует в составе вириона, но и циркулирует в крови в свободном виде или в виде комплекса с антителом анти-HBe Ag, четвертый HBe Ag.

Антигены многих вирусов отличаются высокой степенью изменчивости. Это связано с постоянным мутационным процессом, который претерпевает генетический аппарат вирусной частицы. Примером могут служить вирус гриппа, вирусы иммунодефицитов человека и гепатита С.

ГЛАВА 12. ПРИРОДА АНТИТЕЛ

Одной из форм реагирования иммунной системы в ответ на внедрение в организм антигена является биосинтез антител – белков, специфически реагирующих с антигенами. Антитела, так же как и фагоцитоз, – это одна из наиболее филогенетически древних форм иммунной защиты. Антительный ответ обнаруживается уже у некоторых видов рыб. Антитела относятся к γ-глобулиновой фракции белков сыворотки крови. На долю γ-глобулинов приходится 15–25% белкового содержания сыворотки крови, что составляет примерно 10–20 г/л. Поэтому антитела получили название иммуноглобулинов, и их обозначают символом Ig. Следовательно, антитела – это γ-глобулины, вырабатываемые в ответ на введение антигена, способные специфически связываться с антигеном и участвовать во многих иммунологических реакциях. Антитела синтезируются В-лимфоцитами и их потомками – плазматическими клетками.

Иммуноглобулины существуют в циркулирующей форме, в виде рецепторных молекул на иммунокомпетентных клетках и миеломных белках. Циркулирующие антитела подразделяются на сывороточные и секреторные. К антителам могут быть также отнесены белки Бенс-Джонса, которые являются фрагментами молекулы Ig (его легкая цепь) и синтезируются в избытке при миеломной болезни (рис. 12.1).

Строение и функцию антител изучали многие видные ученые. П. Эрлих (1885) предложил первую теорию гуморального иммунитета. Э. Беринг и С. Китазато (1887) получили первые антитоксические сыворотки к дифтерийному и столбнячному токсинам. А. Безредка (1923) разработал метод безопасного введения пациентам лечебных иммунных сывороток. Большая заслуга в расшифровке строения молекулы Ig принадлежит Д. Эдельману и Р. Портеру (1959), а разгадка многообразия антител – трудам Ф. Бернета (1953) и С. Тонегавы (1983).

Молекула антитела состоит из двух тяжелых H – (от англ. Heavy chains) и двух легких L – цепей, (англ. Light chains) связанных между собой дисульфидными мостиками (рис.). Как легкие, так и тяжелые цепи идентичны.

Молекулярная масса легких цепей составляет около 23 кДа и они состоят примерно из 214-220 аминокислотных остатков. Существуют легкие цепи двух типов, один из них обозначается греческой буквой каппа (χ), а другой – лямбда(λ). Соотношение каппа/лямбда у человека равно 70:30. Каппа- и лямбда-цепи обладают одинаковой способностью связываться с любой тяжелой цепью.

Молекулярная масса тяжелых цепей варьирует в пределах 50-73 кДа. Идентифицировано пять классов тяжелых цепей, их обозначают греческими буквами: альфа (α), гамма (γ), эпсилон (ε), мю (μ) и дельта (δ). Соответственно обозначению тяжелой цепи обозначается и класс молекул иммуноглобулинов. У человека класс IgG, в соответствии с подклассами гамма-цепи (γl, γ2, γ3 и γ4), делится на 4 подкласса: IgGl, IgG2, IgG3 и IgG4. Класс IgA делится на 2 подкласса: IgAl и IgA2, в соответствии с двумя подклассами альфа-цепи (αl и α2).

а) IgG (иммуноглобулин G составляет около 80% антител сыворотки крови)

1. Период полураспада 7-23 дня в зависимости от подкласса
2. Мономер: 2 эпитоп-связывающих участка
3. Fc-фрагмент может участвовать в классический пути активации комплемента
4. Fc-фрагмент может связываться с макрофагом, нейтрофилом и NK-клеткой
5. Единственное антитело, которое передаётся через плаценту

б) IgM (иммуноглобулин M составляет около 6% антител сыворотки крови)

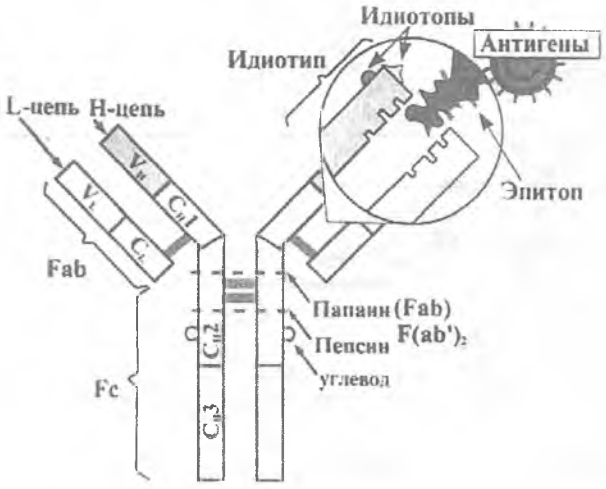


Рис. 12.1. Строение молекулы IgG1

1. Период полураспада – около 5 дней
2. Первое антитело, продуцируемое при иммунном ответе
3. Пентамер: 10 эпитоп-связывающих участков
4. Fc-фрагмент может участвовать в классическом пути активации комплемента
5. Мономерные формы имеются на поверхности В-лимфоцита в виде mIg

в) IgA (sIgA) находится на слизистой оболочке, в слюне, молозиве и грудном молоке, блокируя вирусы и бактерии. Димер и тример имеет секреторный компонент, защищающий антитело о разрушения ферментами; 4 и 6 эпитоп-связывающих участка

д) IgD (иммуноглобулин D составляет около 0,2% антител сыворотки крови)

1. Мономер: 2 эпитоп-связывающих участка
2. Находится на поверхности В-лимфоцита (наряду с мономерным IgM) в виде mIg, контролируя его активацию и супрессию

е) IgE (иммуноглобулин Е составляет около 0,002% антител сыворотки крови)

1. Период полураспада – около 2 дней
2. Мономер: 2 эпитоп-связывающих участка
3. Участвует в противопаразитарном иммунитете и в ответе на аллергены. Fc-фрагмент антител связывается с тучными клетками и базофилами; последующее взаимодействие с аллергеном запускает аллергическую реакцию

На тяжелых цепях в зависимости от класса иммуноглобулинов может быть различное число углеводных остатков (рис. 12.2).

Крупным шагом на пути выяснения структуры молекулы антитела явились опыты Р. Портера и Г. Эдельмана. Р. Портер показал, что при обработке папаином молекула IgG распадается на 3 фрагмента (рис. 12.1). Два из них оказались одинаковыми. Каждый из них имел молекулярную массу около 45 кДа и состоял из легкой цепи и половины тяжелой цепи и обладал способностью соединяться с антигеном. Поэтому эти два фрагмента обозначены как F(ab)l и F(ab)2, т.е. фрагменты, связывающие антитела (от англ. antigen binding). При этом, каждый из них обладал только одним активным центром и поэтому связывание с антигеном не сопровождалось образованием крупных конгломератов. Таким образом было установлено, что Fab-фрагменты определяют антительную специфичность иммуноглобулина. Третий фрагмент имел молекулярную массу около

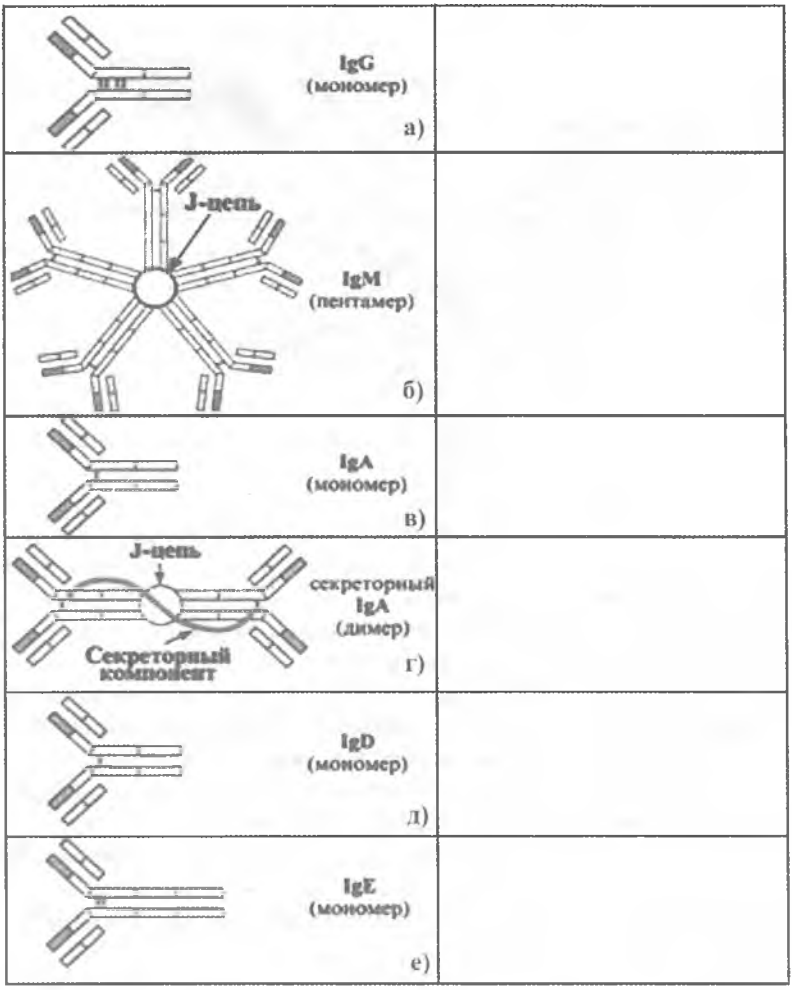


Рис. 12.2. Схема строения и функции иммуноглобулинов классов G, M, A, D и E

55 кДа и состоял из других половин H-цепей. В связи с тем, что он характеризовался постоянством аминокислотного состава, его обозначили как Fc-фрагмент (от англ. constant – постоянный). Fc-фрагмент не обладает способностью связывать антиген, но определяет ряд других важных видов биологической активности, необходимых для полного проявления всех функций антител. С Fc-фрагментом связана способность антител проходить через плаценту, усиливать фагоцитоз, связывать комплемент, фиксироваться на клетках и пр.

Г. Эдельман для разрушения дисульфидных связей в молекулах антител обрабатывал их меркапто-этанолом в концентрированном растворе мочевины. Это приводило к распаду молекул антител на две пары полипептидных цепей. Оказалось, что в полной мере активностью антител не обладает ни одна из цепей. Активные центры антител образуются только при совместном участии N-концевых половин тяжелой и легкой полипептидных цепей. Специфичность же активного центра определяется первичной структурой той и другой полипептидной цепи, т.е. генетически предопределена. Это подтверж-

дается следующим опытом. Если поместить IgG в концентрированный раствор гуанидинхлорида, то это приведет к полному развертыванию полипептидных цепей из-за разрушения вторичной и третичной структуры и к утрате антительных свойств. Однако, после длительного диализа и удаления таким путем гуанидинхлорида иммуноглобулин вновь приобретает первоначальную структуру и восстанавливает антительную активность.

Структурное разнообразие иммуноглобулинов оределяется последовательностями аминокислот. Популяция антител в любом организме невероятно гетерогенна, поэтому очевидно, что определить первичную структуру антител не удавалось до тех пор, пока не появилась возможность получения гомогенного продукта, синтезируемого отдельным клоном. Таким гомогенным продуктом служат миеломные белки. При заболевании человека, получившем название миеломатоза, отдельная клетка, синтезирующая иммуноглобулины одной определенной специфичности, начинает бесконтрольно делиться, как и все опухолевые клетки, независимо от потребностей организма в целом. У больных образуется огромное количество идентичных клеток (потомков одной) и все они синтезируют один и тот же иммуноглобулин – миеломный белок или М-белок, который накапливается в сыворотке, часто в очень высокой концентрации. Очистив миеломный белок, мы получим гомогенный препарат иммуноглобулина. Моноклональные антитела можно получить и слиянием отдельной клетки, продуцирующей антитела, с опухолевой В-клеткой; в результате, образуется клон непрерывно делящихся клеток, синтезирующих антитела одной определенной специфичности. При определении аминокислотных последовательностей целого ряда таких моноклональных иммуноглобулинов было установлено, что N-концевые участки как легких, так и тяжелых цепей довольно разнообразны, в то время, как остальные участки – относительно неизменны, и их можно разделить на ограниченное число доменов. Таким образом, принято говорить о вариабельных и константных областях легких и тяжелых цепей. Отдельные участки вариабельных областей отличаются особым разнообразием; после тщательного изучения было установлено, что эти гипервариабельные области локализованы на трех фрагментах легкой цепи и на трех фрагментах тяжелой.

В зависимости от строения константных областей тяжелых цепей иммуноглобулины разделяют на основные группы, называемые классами, которые, в свою очередь, подразделяются на подклассы. У человека, например, известны 5 классов иммуноглобулинов (Ig, от англ. Immunoglobulin): IgG, IgA, IgM, IgD и IgE. Они различаются не только по аминокислотным последовательностям, но и по антигенной специфичности. Так, инъекция человеческого миеломного IgG кролику вызывает образование антител. Содержащую их сыворотку крови обрабатывают смесью миеломных иммуноглобулинов других классов, чтобы удалить перекрестно реагирующие антитела, после чего, антисыворотка способна реагировать с IgG, но не с IgA, IgM, IgD или IgE. Поскольку в сыворотке крови каждого нормального индивидуума циркулируют иммуноглобулины, содержащие все структурные варианты константных областей тяжелых цепей (Сн), их обозначают как изотипы. Аналогично константные области легких цепей (CL) представлены двумя изотопическими формами-χ–λ; каждая из них может соединиться с любым изотипом тяжелых цепей. Так как легкие цепи в каждой молекуле антитела идентичны, иммуноглобулины содержат либо χ либо λ, но никогда-оба типа цепей (кроме молекул, созданных искусственно).

Аллотипы. Этот тип разнообразия антител обусловлен существованием аллельных форм (кодируемых аллельными генами одного локуса); таким образом, аллотипические детерминанты служат генетическими маркерами, подобно тому, как эритроциты у

генетически различных индивидуумов могут различаться по системам антигенов групп крови А, В, О, тяжелые цепи иммуноглобулинов различаются по экспрессии аллотипических групп и можно получить антитела, узнающие изотипические и аллотипические варианты; кроме того, можно получить антисыворотку, специфичную к конкретному антителу и способную отличить одно моноклональное антитело от другого, независимо от их изотипов и аллотипов. Такая антисыворотка определяет индивидуальные особенности, характерные для каждого антитела, в совокупности названные идиотипом (Kunkel, Oudin). Неудивительно, что идиотипические детерминанты локализованы в вариабельной области антитела и ассоциированы с гипервариабельными участками.

Антиидиотипические иммуноглобулины, реагирующие только с одним определенным антителом, узнают частные (private) идиотипы, что подтверждает наличие у каждого антитела уникальной структуры. Часто молекулы антител с похожими аминокислотными последовательностями вдобавок обладают одним и тем же идиотипом, и тогда мы говорим об общих (public) или перекрестно реагирующих идиотипах.

Антиидиотипическая сыворотка служит удобным реагентом для обнаружения одной и той же вариабельной области на разных тяжелых цепях и в разных клетках, для идентификации специфических иммунных комплексов в сыворотке больных, для выявления амилоида AL-типа у особей, экскретирующих белки Бенс-Джонса, для определения остаточных моноклональных белков после проведения иммунотерапии и, возможно, для отбора лимфоцитов с определенными поверхностными рецепторами.

Вторичная структура полипептидных цепей молекулы Ig обладает доменным строением. Это означает, что отдельные участки цепи свернуты в глобулы (домены), которые соединены линейными фрагментами. Домены стабилизированы внутренней дисульфидной связью. Таких доменов в составе тяжелой цепи Ig бывает 4-5, а в легкой – 2. Каждый домен состоит примерно из 110 аминокислотных остатков.

Домены различаются по постоянству аминокислотного состава. Выделяют С-домены (от англ. constant – постоянный), с неизменной, или постоянной, структурой полипептидной цепи и V-домены (от англ. variable – изменчивый), с переменной структурой. В составе легкой цепи есть по одному V- и С-домену, а в тяжелой – один V- и 3–4 С-домена. Примечательно, что не весь вариабельный домен изменчив по своему аминокислотному составу, а лишь его незначительная часть – гипервариабельная область, на долю которой приходится около 25%. Вариабельные домены легкой и тяжелой цепи совместно образуют участок, который специфически связывается с антигеном. Это антигенсвязывающий центр молекулы Ig или паратоп. Гипервариабельные области тяжелой и легкой цепи определяют индивидуальные особенности строения антигенсвязывающего центра для каждого клона Ig и многообразие их специфичностей.

Помимо вышеописанных, в структуре молекул Ig обнаруживают дополнительные полипептидные цепи. Так, полимерные молекулы IgM и IgA содержат j-пептид (от англ. joining – соединяю). Он объединяет отдельные мономеры в единое макромолекулярное образование и обеспечивает превращение полимерного Ig в секреторную форму.

Молекулы секреторных Ig в отличие от сывороточных обладают особым s-пептидом (от англ. secret – секрет). Это, так называемый, секреторный компонент. Его молекулярная масса составляет 71 кДа и он является β-глобулином. Секреторный компонент – продукт деградации рецептора эпителиальной клетки к j-пептиду. Он обеспечивает перенос молекулы Ig через эпителиальную клетку в просвет органа (трансцитоз) и предохраняет ее в секрете слизистых от ферментативного расщепления. Рецепторный Ig, который лока-

лизуется на цитоплазматической мембране В-лимфоцитов и плазматических клеток, имеет дополнительный гидрофобный трансмембранный м-пептид (от англ. membrane – мембрана). Благодаря гидрофобным свойствам, он удерживается в липидном бислое цитоплазматической мембраны, прочно, как якорь, фиксирует рецепторный Ig на мембране иммунокомпетентной клетки и проводит рецепторный сигнал через цитоплазматическую мембрану внутрь клетки.

j- и м-пептиды присоединяются к молекуле Ig в процессе ее биосинтеза. s-пептид является продуктом эпителиальной клетки– он присоединяется к полимерной молекуле Ig при ее транслокации через эпителиальную клетку.

Генетика иммуноглобулинов

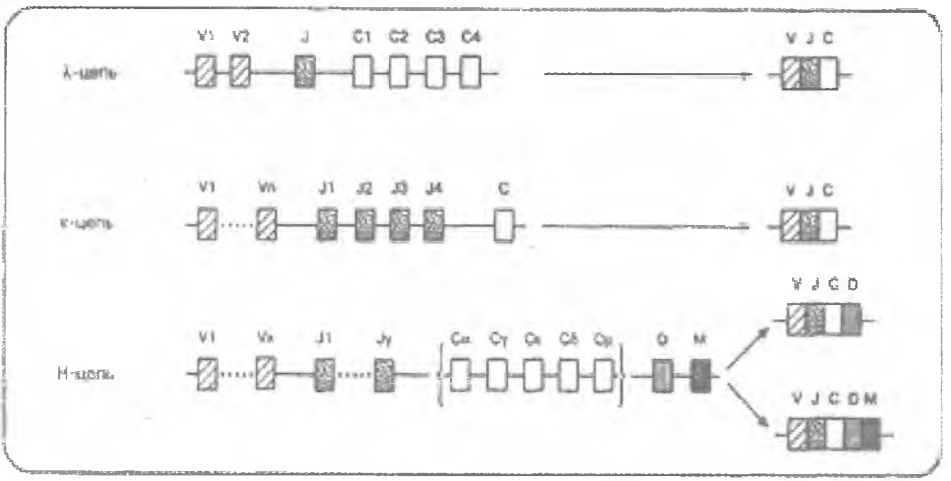


Рис. 12.3. Схема строения генов иммуноглобулинов

Молекулам Ig присуще не только уникальное строение, но также и своеобразное генетическое кодирование. Методами молекулярной генетики было доказано, что, в отличие от других белков, структура молекулы Ig изначально контролируется не одним, а большим числом генов. Гены иммуноглобулинов имеют фрагментарную организацию и образуют три группы, которые располагаются в трех различных хромосомах и наследуются независимо (рис. 12.3).

Первая группа генов содержит информацию о первичной аминокислотной последовательности легкой цепи χ-типа, вторая – легкой цепи λ-типа, а третья – всех типов тяжелых цепей (α, γ, μ, δ, и ε). Гены, относящиеся к каждой группе, находятся на соответствующей хромосоме в непосредственной близости друг от друга. Они располагаются последовательно и разделены интронами (некодирующие области).

Участок ДНК, кодирующий строение легкой цепи λ-типа, содержит 2 V-сегмента (контролируют структуру V-доменов) и 4 С-сегмента (контролируют структуру С-доменов). Между С- и V-сегментами располагается J-сегмент (от англ. joining – соединяющий). Легкая цепь к-типа кодируется несколькими сотнями V-сегментов ДНК, 4 J-сегментами и одним С-сегментом. Группа генов, контролирующая структуру тяжелых цепей, имеет еще более сложное строение. Наряду с V-, С- и J- сегментами ДНК в их состав

входят 20 D-сегментов (от англ. diversity– разнообразие). Кроме того, имеется M-сегмент, который кодирует биосинтез мембранно-ассоциированного участка молекулы рецепторного Ig.

При созревании пре-В-лимфоцитов наблюдаются мощные перестройки в их генетическом аппарате. Происходит произвольное сближение отдельных фрагментов ДНК и сборка в пределах соответствующих хромосом единых функциональных генов. Пропущенные участки ДНК исключаются из дальнейшего считывания. Этот процесс называется сплайсинг (англ. splicing – сращивание, состыковывание). С функциональных генов, в дальнейшем, транскрибируется про-м РНК, а затем – окончательная мРНК, кодирующая первичную аминокислотную последовательность L- и H-цепей молекулы Ig. Параллельно со сплайсингом в отдельных участках V-сегментов генов иммуноглобулинов наблюдается мутационный процесс и нематричная достройка олигонуклеотидов. Эти участки ДНК получили название гипермутабельные области.

Сплайсинг и мутационный процесс в генах Ig носят случайный, стохастический характер и происходят в каждом лимфоците независимо друг от друга. Явления, происходящие в генах Ig при их созревании, в бесконечное количество раз повышают разнообразие V-доменов молекулы Ig. Они являются причиной неповторимой уникальности структуры паратопов и идиотипических антигенных детерминант молекулы Ig, а также множественности антигенной специфичности рецепторов В-лимфоцитов и синтезируемых ими антител.

Таким образом, учитывая непрерывность лимфогенеза, в пределах организма уже предсуществуют или в любой момент могут возникнуть В-лимфоциты, специфичные к практически любому антигену. Молекулярно-генетическая теория происхождения многообразия специфичностей антител была подробно разработана С. Тонегавой (1983).

Дальнейшая дифференцировка В-лимфоцитов, которая возникает при их продуктивной активации в процессе первичного иммунного ответа, идет параллельно с их размножением. Она также сопровождается рекомбинационными перестройками в пределах иммуноглобулиновых генов, но уже в пределах С-сегментов. Этот процесс проявляется последовательной сменой класса Ig: если на ранних этапах дифференцировки В-лимфоциты синтезируют Ig классов M и D, то на более поздних – классов G, A или E (редко). Параллельно наблюдается «дрейф» (точечные перестройки) в V-сегментах. Это ведет к появлению вариаций в специфичности BCR и субклонированию В-лимфоцитов.

Классы и подклассы иммуноглобулинов

Физические и биологические свойства пяти основных классов иммуноглобулинов человека

Свойства	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Коэффициент седиментации, S	7	7, 9, 11	19	7	8
Молекулярная масса, кДа	150	160-500	900	180	190
Количество мономеров	1	1, 2, 3	5	1	1
Тяжелые цепи (H)	γ	α	μ	δ	ε
Подклассы	γ1, γ2, γ3, γ4	α1, α2	μ1, μ2	нет	нет
Легкие цепи (L)	χ или λ	χ или λ	χ или λ	χ или λ	χ или λ
Валентность	2	2, 4, 6	10	2	2
Концентрация в сыворотке крови, /л	8,0–16,0	1.4–4,0	0,5–2,0	0,03–0.04	0.0008
Относительное содержание от общего количества Ig, %	80	13	6	0,2	0,002
Время полураспада, сутки	23	6	5	3	2
Скорость биосинтеза, мг/кг массы в день	33,0	24,0	7,0	0,4	0,02
Агглютинация и преципитация антигена	+	+	++	-	-
Связывания комплемента	++	+	++++	-	-
Бактериолиз	+	-	+	-	-
Опсонизация	+	-	+	-	-
Нейтрализация токсинов	+	+	+	-	-
Прохождение через плаценту	+	-	-	-	-
Прохождение через материнское молоко	+	+	+	-	-
Цитофильность	+	-	-	-	+
Рецепторы на лимфоцитах	+	+	+	+	+
Секреция на					

слизистых	-	+	-	-	+

Иммуноглобулин G. Вероятно, при вторичном иммунном ответе синтезируются в основном IgG. Поскольку IgG способен преодолевать плацентарный барьер, ему принадлежит главная роль в защите от инфекций в течение нескольких месяцев жизни. У новорожденных защищенность усиливается благодаря поступлению в кровоток содержащегося в молозиве IgG через слизистую кишечника. IgG с большей легкостью, чем иммуноглобулины других классов, распространяется в тканевой жидкости, где доминирует среди антител других изотипов и имеет наибольшее значение для нейтрализации бактериальных токсинов и связывания микроорганизмов с целью их опсонизации. IgG, образуя комплексы с бактериями, активирует комплемент и вызывает хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов. Бактерии, нагруженные антителами и комплементом, прилипают к лейкоцитам благодаря наличию у последних рецепторов для комплемента и Fc-участков. Аналогично внеклеточное уничтожение клеток-мишеней, нагруженных IgG, в основном обусловлено узнаванием поверхностных Fcγ нормальными киллерами, обладающими соответствующими рецепторами. Взаимодействие между Fc-рецепторами тромбоцитов и IgG в составе комплексов, возможно, приводит к агрегации и высвобождению вазоактивных аминов, однако, физиологическое значение рецепторов для Fcγ, расположенных на других типах клеток, в особенности на лимфоцитах, до сих пор не установлено. IgG не способен прочно связываться с тучными клетками кожи человека, но тем не менее, это единственный среди всех классов человеческих иммуноглобулинов, который обладает бесполезной способностью связываться с антигенами в коже морской свинки. В пользу предположения о том, что биологическая индивидуальность различных классов иммуноглобулинов обусловлена константными областями тяжелых цепей, особенно Fc-участками, свидетельствуют описанные выше свойства иммуноглобулинов, а именно преодоление плацентарного барьера, фиксация комплемента, связывание с различными типами клеток, которые, очевидно, опосредованы Fc-участками молекулы Ig.

Иммуноглобулин А существует в сывороточной и секреторной формах. Около 60% всех IgA содержится в секретах слизистых, преимущественно в выделениях слизистых оболочек-в слюне, слезной жидкости, носовых выделениях, поте, молозиве и в секретах легких, мочеполовых путей и желудочно-кишечного тракта, где обеспечивает защиту поверхностей, сообщающихся с внешней средой от микроорганизмов. Секреторный IgA в основном существует в виде димера и тримера, который защищен от протеолиза путем образования комплекса с другим белком – секреторным компонентом. Последний синтезируется локально клетками эпителия и состоит из одной полипептидной цепи с мол. массой 60 000. Период полураспада IgA – 6 дней.

IgA – мономер, имеет 2 антигенсвязывающих центра (т.е. 2-валентный), молекулярную массу около 160 кДа и константу седиментации 7S. Различают подтипы A1 и A2. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Хорошо определяется в сыворотке крови на пике первичного и при вторичном иммунном ответе.

IgA синтезируется плазматическими клетками и димеризуется внутри клетки, соединяясь с обогащенным цистеином полипептидом, называемым j-цепью (мол. масса 15 000). В тех редких случаях, когда образование димера происходит после секреции, димеры со смешанной специфичностью будут образовываться менее эффективно, чем нормальные молекулы, связывающие один антиген. Димер IgA прочно соединяется с предшественником секреторного компонента, расположенным на поверхности синтезировавшей его клетки, затем образовавшийся комплекс поступает в клетки с помощью эндоцитоза, перемещается в цитоплазме и попадает в секретируемые жидкости.

IgA ингибирует связывание нагруженных Ig микроорганизмов с поверхностью клеток

слизистых оболочек и предотвращает проникновение микроорганизмов в ткани. Агрегированные иммуноглобулины соединяются с нейтрофилами и могут запустить альтернативный, отличающийся от классического, путь активации комплемента который, возможно, обусловливает возникновение синергизма между IgA, комплементом и лизоцимом при уничтожении конкретных колиформных организмов. В сыворотке крови человека, IgA представлен преимущественно мономерной формой, концентрация IgA в сыворотке сравнительно высока, биологическая функция до конца не установлена.

Иммуноглобулин М. Наиболее крупная молекула из всех Ig. Это пентамер, который имеет 10 антигенсвязывающих центров, т.е. его валентность равна 10. Молекулярная масса его около 900 кДа, константа седиментации 19S. Различают подтипы μl и μ2. Тяжелые цепи молекулы IgM в отличие от других изотипов построены из 5 доменов. Период полураспада IgM – 5 дней.

На его долю приходится около 5–10% всех сывороточных Ig. Среднее содержание IgM в сыворотке крови здорового взрослого человека составляет около 1 г/л. Этот уровень у человека достигается уже к 2–4-летнему возрасту.

При электронной микроскопии с применением негативного контрастирования свободные молекулы IgM в растворе имеют форму звезды, а при связывании с поверхностными антигенами мембраны они приобретают крабовидную форму. Теоретически такая молекула может связать 10 антигенов, но на практике это наблюдается лишь при взаимодействии с небольшими гаптенами; для более крупных антигенов эффективная валентность падает до 5, что можно объяснить стерическими ограничениями, возникающими из-за недостаточной гибкости молекулы. Каждый антигенсвязывающий центр IgM обладает относительно низкой аффинностью (как это было измерено с помощью гаптенов), но благодаря поливалентности молекула IgM со значительной авидностью связывает антигены с множественными эпитопами. По этой же причине IgM легко вызывает агглютинацию и лизис клеток. Поскольку IgM появляется на ранних стадиях ответа на инфекцию и в значительной степени привязан к кровяному руслу, похоже, что именно он играет главную роль при бактериемии. Изогемагглютинины (анти-А, анти-В) и многие из «нормальных» антител к микроорганизмам, как правило, относятся к иммуноглобулинам класса М; антитела к тифозному О-антигену (эндотоксин), и «WR»-антитела при сифилисе, чаще всего, тоже принадлежат к этому классу. Очевидно, в филогенезе иммунного ответа позвоночных IgM появились раньше, чем IgG. Рецепторы В-лимфоцитов, узнающие антиген, как правило, представляют собой мономерный IgM (т.е. отдельную единицу из четырех полипептидных цепей). Эта молекула имеет гидрофобную последовательность, расположенную в С-концевом участке тяжелой цепи и предназначенную для фиксации молекулы на клеточной мембране

Иммуноглобулин D. Этот класс иммуноглобулинов был обнаружен в результате изучения миеломного белка, который не обладал антигенной специфичностью IgG, IgA или IgM, хотя и связывался с антителами к легким цепям иммуноглобулинов и имел характерную структуру из четырех цепей. Шарнирная область иммуноглобулинов класса D отличается особой протяженностью, и, хотя она в некоторой степени защищена углеводами, возможно, именно благодаря ей IgD по сравнению с другими классами иммуноглобулинов обладает повышенной чувствительностью к протеолитическому расщеплению, а период его полураспада в плазме крови очень невелик (3 сут). Неожиданным оказался тот факт, что почти весь IgD вместе с IgM находится на поверхности лимфоцитов крови, и похоже, что эти антигенные рецепторы могут взаимодействовать между собой, осуществляя контроль за активацией и супрессией лимфоцитов. Возрастающая чувствительность IgD к протеолизу после связывания с антигеном может объяс-

няться этими функциями.

Иммуноглобулин Е. Концентрация IgE в сыворотке крови невелика и лишь небольшая часть плазматических клеток организма синтезирует иммуноглобулины этого класса. Поэтому неудивительно, что на сегодняшний день, обнаружено всего 6 вариантов миеломных IgE, в то время как для IgG известны десятки тысяч случаев парапротеинемии. При подкожной инъекции человеку IgE задерживается в коже на длительное время, вероятно, связываясь с тучными клетками. Взаимодействие с антигеном приводит к дегрануляции тучных клеток и сопровождается высвобождением вазоактивных аминов. Этот процесс обусловливает симптомы сенной лихорадки и бронхиальной астмы при контакте с аллергеном (например, пыльцой трав) у людей, страдающих аллергией.

Основная физиологическая функция IgE-очевидно, защита внешних слизистых оболочек организма путем локальной активации факторов плазмы и эффекторных клеток, благодаря индукции острой воспалительной реакции. Инфекционные агенты, способные прорвать линию обороны, образованную IgA, будут связываться со специфическими IgE на поверхности тучных клеток, в результате чего, последние получат сигнал к высвобождению вазоактивных аминов и хемотаксических факторов, а это, в свою очередь, вызовет приток циркулирующих в крови IgG, комплемента, нейтрофилов и эозинофилов. В этих условиях способность эозинофилов повреждать гельминтов, нагруженных IgG, и усиленная продукция IgE в ответ на проникновение этих паразитов в организм будут обеспечивать эффективную защиту.

Рецепторные иммуноглобулины. Рецепторные, или мембраные Ig, локализуются на цитоплазматической мембране В-лимфоцитов. Выполняют функции антигенспецифических рецепторов. Рецепторные Ig имеют те же изотип и специфичность, что и синтезируемые в межклеточную среду антитела. Структурное отличие от секретируемых антител заключается в особом, дополнительном М-пептиде, благодаря которому, молекула рецепторного Ig фиксируется в цитоплазматической мембране иммунокомпетентной клетки.

Нормальные антитела. В сыворотке крови человека всегда определяется базальный уровень иммуноглобулинов, которые получили название нормальных или естественных антител. К нормальным антителам относят изогемагглютинины – антитела различной аффинности и специфичности направленные против эритроцитарных антигенов групп крови (система АВО), а также против бактерий кишечной группы, кокков и некоторых вирусов. Эти антитела постоянно образуются в организме без явной антигенной стимуляции. С одной стороны, они отражают готовность макроорганизма к иммунному реагированию, а с другой – могут свидетельствовать об отдаленном контакте с антигеном.

Моноклональные антитела. Каждый В-лимфоцит и его потомки, образовавшиеся в результате пролиферации (т.е. клон), способны синтезировать антитела с паратопом строго определенной специфичности. Такие антитела получили название моноклональных. В природных условиях макроорганизма получить моноклональные антитела практически невозможно. Дело в том, что на одну и ту же антигенную детерминанту одновременно реагируют до 100 различных клонов В-лимфоцитов, незначительно различающихся антигенной специфичностью рецепторов и естественно, аффинностью. Поэтому в результате иммунизации даже монодетерминантным антигеном мы всегда получаем поликлональные антитела.

Принципиально получение моноклональных антител выполнимо, если провести предварительную селекцию антителопродуцирующих клеток и их клонирование (т.е. выделение отдельных клонов в чистые культуры). Однако, задача осложняется тем, что В-лимфоциты, как и другие эукариотические клетки, имеют ограниченную продолжительность

жизни и число возможных митотических делений.

Проблема получения моноклональных антител была успешно решена Д. Келлером и Ц. Мильштейном (1975). Авторы получили гибридные клетки путем слияния иммунных В-лимфоцитов с миеломной (опухолевой) клеткой. Полученные гибриды обладали специфическими свойствами антителопродуцента и «бессмертием» раковотрансформированной клетки. Такой вид клеток получил название гибридом. Гибридома хорошо размножается в искусственных питательных средах и в организме животных и в неограниченном количестве вырабатывает антитела. В результате дальнейшей селекции, были отобраны отдельные клоны гибридных клеток, обладавшие наивысшей продуктивностью и наибольшей аффинностью специфических антител.

Гибридомные моноклональные антитела нашли широкое применение при создании диагностических и лечебных иммунобиологических препаратов.

Полные и неполные антитела. Среди многообразия Ig выделяют полные и неполные антитела. Деление основано на способности образовывать в реакции агглютинации или преципитации (in vitro) хорошо различимую глазом макромолекулярную структуру гигантского иммунного комплекса. Таким свойством обладают полные антитела. К ним относятся полимерные молекулы Ig (изотип М), а также некоторые IgA и IgG.

Неполные антитела лишены такой способности, несмотря на то, что они специфически связываются с антигеном. В связи с этим, их еще называют непреципитирующими или блокирующими антителами. Причиной этого явления может быть экранирование одного из антигенсвязывающих центров мономерной молекулы Ig, а также недостаточное число или малая доступность антигенных детерминант на молекуле антигена. Выявить неполные антитела можно при помощи реакции Кумбса – путем использования «вторых», антииммуноглобулиновых антител.

Другие виды антител. Помимо вышеприведенных различают тепловые и холодовые антитела. Первые взаимодействуют с антигеном при температуре +37 °С. Для вторых наибольшая эффективность связывания проявляется в диапазоне +4 – +10 °С. Понижение температуры реакционной смеси позволяет в ряде случаев (например, при отсутствии специфического антигена), ограничить низкоаффинные взаимодействия и повысить специфичность реакции.

По способности активировать комплемент (классический путь) антитела подразделяются на комплементсвязывающие (IgM, IgG1 и IgG3) и комплементнесвязывающие.

В последние годы, открыт вид антител, которые выполняют функции катализаторов биохимических процессов – обладают протеазной или нуклеазной активностью. Это реликтовые свойства антител. Такие антитела получили название абзимы.

Большим достижением молекулярной биологии в области иммунологии, помимо гибридов, явилось получение белков со свойствами антител – это одноцепочечные антитела, бифункциональные антитела и иммунотоксины. Они синтезируются живыми биологическими системами. Одноцепочечные антитела представляют собой фрагмент вариабельного домена Ig, который обладает определенной специфичностью и аффинностью и способен к блокирующему действию. Размер такой молекулы очень мал и практически не обладает иммуногенностью. Бифункциональные антитела имеют антигенсвязывающие центры разной специфичности, т.е. направлены к различным антигенным детерминантам. Иммунотоксины представляют собой гибрид молекулы иммуноглобулина и токсина. Они способны направленно доставить молекулу токсина к клетке-мишени, убить ее или нарушить в ней метаболические процессы.

Иммунотоксины и бифункциональные антитела имеют большое будущее. В перспективе их будут использовать для иммунодиагностики, а также профилактики и лечения

инфекционных, онкологических, аллергических и других заболеваний.

Механизм взаимодействия антитела с антигеном. В процессе взаимодействия с антигеном принимает участие не вся молекула Ig, а лишь ее ограниченный участок – антигенсвязывающий центр или паратоп, который локализован в Fab-фрагменте молекулы Ig. Со своей стороны, антитело взаимодействует не со всей молекулой антигена сразу, а лишь с ее антигенной детерминантой. Антитела отличает специфичность взаимодействия, т.е. способность связываться со строго определенной антигенной детерминантой. Наиболее доступные для взаимодействия эпитопы располагаются на поверхности молекулы антигена.

Связь антигена с антителом осуществляется за счет слабых взаимодействий (вандерваальсовы силы, водородные связи, электростатические и гидрофобные взаимодействия) в пределах антигенсвязывающего центра. Такая связь отличается неустойчивостью – образовавшийся иммунный комплекс (ИК) может легко диссоциировать на составляющие его компоненты. Поэтому взаимодействие антигена и антитела может быть представлено в виде уравнения:

$$[АГ] + [АТ] \rightleftarrows [ИК].$$

Продолжительность существования иммунного комплекса определяется целым рядом факторов. При этом важное значение имеют особенности антитела, антигена и условия, в которых происходит их взаимодействие.

К особенностям антитела следует отнести его аффинность и авидность.

Аффинность – сила специфического взаимодействия антитела с антигеном (или энергия их связи). Эта характеристика зависит от степени стерического или пространственного соответствия (комплементарности) структуры антигенсвязывающего центра и антигенной детерминанты. Чем выше их комплементарность, т.е., чем больше они подходят друг другу, тем больше образуется межмолекулярных связей и тем выше будет устойчивость и продолжительность жизни образовавшегося иммунного комплекса. Структурные несоответствия антигенсвязывающего центра и антигенной детерминанты существенно снижают число образующихся связей и прочность взаимодействия антитела с антигеном. Иммунный комплекс, образованный низкоаффинными антителами, чрезвычайно неустойчив, имеет малую продолжительность существования и быстро распадается на исходные компоненты.

Установлено, что в условиях макроорганизма с одной и той же антигенной детерминантой, способны одновременно прореагировать и образовать иммунный комплекс около 100 различных клонов антител. Все они будут отличаться структурой антигенсвязывающего центра и аффинностью. Аффинность антител существенно меняется в процессе иммунного ответа в связи с селекцией наиболее специфичных клонов В-лимфоцитов. Наименее аффинными считаются нормальные антитела. По расчетам, общее число различных антигенспецифических клонов В-лимфоцитов достигает 10^6-10^7.

Под термином «авидность» понимают прочность связывания антитела и антигена. Эта характеристика определяется аффинностью Ig и числом антигенсвязывающих центров. При равной степени аффинности наибольшей авидностью обладают антитела класса М, так как они имеют 10 антигенсвязывающих центров.

Особенности антигена также влияют на эффективность его взаимодействия с антителом. Так, важное значение имеют стерическая (пространственная) доступность антигенной детерминанты для антигенсвязывающего центра молекулы Ig и число эпитопов в составе молекулы антигена.

Эффективность взаимодействия антитела с антигеном существенно зависит от условий, в которых происходит реакция и, прежде всего, от pH среды, осмотической плотнос-

ти, солевого состава и температуры среды. Оптимальными для реакции антиген–антитело являются физиологические условия внутренней среды макроорганизма: близкая к нейтральной реакция среды, присутствие фосфат-, карбонат-, хлорид- и ацетат-ионов, осмолярность физиологического раствора (концентрация раствора 0.15 М), а также температура (36-37 °С).

Свойства антител

Благодаря уникальной способности специфически связываться с антигенными детерминантами, антитела выполняют в организме ряд важнейших функций, как форма иммунного реагирования и фактор регуляции иммунореактивности. При этом необходимо дифференцировать эффекты специфического, высокоаффинного взаимодействия и неспецифического, низкоаффинного.

В результате специфического взаимодействия эпитопа молекулы антигена с паратопом молекулы антитела может образоваться устойчивый иммунный комплекс продолжительностью жизни, достаточной для проявления эффекторных свойств молекулы иммуноглобулина. Это означает, что благодаря своим уникальным способностям, антитела могут оказывать прямое или опосредованное воздействие на молекулы антигена: нейтрализовать или маркировать антиген, вызвать его деструкцию или элиминацию.

К прямым эффектам антител относится нейтрализация. Она достигается путем связывания и блокирования паратопом иммуноглобулина активного центра биологически активной молекулы, например, токсина, рецептора, лекарственного препарата и пр. Эффект имеет обратимый характер в случае распада иммунного комплекса и требует подключения других механизмов иммунной защиты (фагоцитоз, лизис). На принципе нейтрализации основан механизм действия антитоксических, противовирусных и многих других лечебных иммунных сывороток.

Энзиматическое действие антител также относится к прямым эффектам. Они связаны со стабильной областью V-домена L-цепи. Благодаря реликтовой протеазной или нуклеазной активности, иммуноглобулины способны вызывать деструкцию молекулы антигена (например, расщепление отдельных пептидов или ДНК).

В большинстве случаев, взаимодействие антител с антигеном в организме не влечет за собой непосредственно нейтрализацию биологического действия последнего, а также его разрушение или утилизацию. Прочно связываясь с эпитопом, антитела «маркируют» молекулу антигена – обозначают его как мишень для факторов элиминации или деструкции (фагоцитоз, лизис).

К непрямым эффектам относятся:

- активация комплемента по классическому пути и индукция комплемент-опосредованного лизиса чужеродных клеток, наилучшими свойствами обладает IgM (IgM> IgG3> IgG1);
- запуск антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности;
- опосредование гиперчувствительности немедленного типа или I типа, индукция иммунного фагоцитоза, приводящая к элиминации любых форм антигена из организма.

Клеточно-опосредованные эффекты иммуноглобулинов реализуются благодаря экспрессии на мембране иммунокомпетентных клеток рецепторов к Fc-фрагменту молекулы иммуноглобулина (FcR). Эти рецепторы являются трансмембранными белковыми молекулами и различаются по специфичности и аффинности. FcR всегда специализирован к определенному изотипу тяжелой цепи молекулы Ig. Различают высокоаффинные и низкоаффинные FcR. Первые могут взаимодействовать с интактной молекулой иммуноглобу-

лина, используя ее в дальнейшем как корецепторный фактор (базофилы, тучные клетки); вторые – связываются с молекулой Ig в составе иммунного комплекса. Поэтому FcR называют непрямыми иммунорецепторами.

Помимо обладания эффекторными свойствами, антитела являются активными регуляторами иммунореактивности. Так, Ig служат антигенспецифическими рецепторами В-лимфоцитов. Благодаря выраженной цитофильности, они также выполняют функцию специфических корецепторных факторов базофилов и тучных клеток (см. выше).

Согласно теории «идиотип-антиидиотипического взаимодействия», антитела, специфичные к идиотипическим антигенным детерминантам Ig, могут управлять силой антительного иммунного реагирования.

Активное специфическое связывание высокоиммуногенных эпитопов специфическими антителами может блокировать развитие как гуморального, так и клеточного иммунного ответа. Этот эффект используется в клинической практике, например, для профилактики гемолитической болезни новорожденных в результате резус-конфликта.

Вместе с тем, антитела могут неспецифически взаимодействовать с молекулой антигена за счет неспецифической адсорбции или низкоаффинного связывания. Это позволяет антителам наряду с другими веществами участвовать в опсонизации антигена и таким образом, неспецифически ингибировать его биологическое действие.

К неспецифическим свойствам антител относится также их способность захватывать ионы некоторых металлов – микроэлементов или тяжелых металлов, таких как ртуть и свинец. Кроме того, антитела могут взаимодействовать с рядом суперантигенов. Однако, их связывание происходит нетипично – без участия паратопа. В настоящий момент достоверно известно существование трех таких суперантигенов: протеина А стафилококка (SpA), gp 120 ВИЧ-1 и кишечного сиалопротеина. Перечисленные суперантигены могут нейтрализовать биологическую активность антител и потенцировать иммунодефицитные состояния.

Динамика антителопродукции

Способность синтезировать антитела, макроорганизм приобретает довольно рано. Уже во внутриутробном периоде развития плода возникают В-лимфоциты, синтезирующие IgM, а на 20-й неделе, этот Ig можно определить в сыворотке крови. С этого момента в организме начинается процесс непрерывного появления новых антителопродуцирующих клеток с различной специфичностью, которые исходно формируют базальный уровень антител, преимущественно изотипа М – это нормальные антитела. Содержание Ig в сыворотке крови существенно меняется с возрастом, а также зависит от состояния макроорганизма. Концентрация антител достигает максимума к периоду полового созревания и сохраняется на высоких цифрах в течение всего репродуктивного периода (период половой зрелости до старости). В старческом возрасте содержание антител снижается. Повышение количества Ig наблюдается при инфекционных заболеваниях, аутоиммунных расстройствах; снижение его отмечено при некоторых опухолях и иммунодефицитных состояниях. При появлении во внутренней среде макроорганизма антигена иммунная система реагирует усилением биосинтеза специфических антител, что достигается путем размножения клонов антигенспецифичных клеток-антителопродуцентов.

При этом, антиген выступает в роли не только триггерного, но и селектирующего фактора.

Преимущество получают клоны с наивысшей специфичностью, т.е. наибольшей аффинностью рецепторных молекул Ig. Параллельно с размножением идет процесс диффе-

ренцировки В-лимфоцитов. Наблюдается перестройка в геноме клеток и переключение их биосинтеза с крупной высокоавидной молекулы IgM на более легкие и экономичные высокоаффинные IgG или IgA (редко IgE).

Антителопродукция в ответ на антигенный стимул имеет характерную динамику. Ее можно проследить на примере сывороточных Ig. Выделяют латентную (индуктивную), логарифмическую, стационарную фазы и фазу снижения. В латентную фазу антителопродукция практически не изменяется и остается на базальном уровне. В этот период происходит переработка и представление антигена иммунокомпетентным клеткам и запуск пролиферации антигенспецифичных клонов клеток-антителопродуцентов. Ввиду того, что клетки делятся дихотомически (т.е. надвое), прирост их численности происходит в логарифмической зависимости. Поэтому после первых циклов деления прирост числа клеток в общей массе невелик и титры специфических антител практически не изменяются. Параллельно происходит созревание пре-В-лимфоцитов в зрелые формы, включаются процессы дифференцировки антителопродуцентов в плазматические клетки и переключение синтезируемых изотипов Ig.

Во время логарифмической фазы наблюдается интенсивный прирост количества антигенспецифичных В-лимфоцитов, что находит отражение в существенном нарастании титров специфических антител.

В стационарной фазе количество специфических антител и синтезирующих их клеток достигает максимума и стабилизируется. Освобождение макроорганизма от антигена устраняет антигенный стимул, поэтому вслед за стационарной фазой начинается фаза снижения. В этот период наблюдается постепенное уменьшение численности клонов специфических антителопродуцентов и титров соответствующих антител.

Динамика антителообразования имеет характерную временную зависимость. Она также существенно зависит от первичности или вторичности контакта с антигеном. При первичном контакте с антигеном развивается первичный иммунный ответ. Для него характерны длительная латентная (3–5 суток) и логарифмическая (7–15 суток) фазы. Первые диагностически значимые титры специфических антител регистрируются на 10-14-е сутки от момента иммунизации. Стационарная фаза продолжается 15–30 суток, а фаза снижения– 1–6 месяцев.

В течение первичного иммунного ответа под влиянием цитокинов Т2-хелпера происходит созревание и размножение клонов антигенспецифичных В-лимфоцитов. Их дифференцировка приводит к образованию плазматических клеток. Происходит также переключение биосинтеза Ig с изотипов M и D на G, A или E. В итоге первичного иммунного реагирования формируются многочисленные клоны антигенспецифичных В-лимфоцитов: антителопродуцирующих клеток и В-лимфоцитов иммунологической памяти, а во внутренней среде макроорганизма в высоком титре накапливаются специфические IgG и/или IgA (а также IgE). Таким образом, обеспечивается активное противодействие иммунной системы внедрению в макроорганизм антигена и высокая готовность к повторной встрече с ним.

Со временем антительный ответ угасает. Накопление в избытке свободных IgG/IgA потенцирует гибель активных антителопродуцентов. Элиминация антигена исключает новое стимулирование и клонообразования, а появившиеся ранее плазматические клетки имеют короткую продолжительность жизни. Вместе с тем, В-лимфоциты иммунологической памяти надолго остаются циркулировать в организме.

Повторный контакт иммунной системы с тем же антигеном ведет к формированию вторичного иммунного ответа. В отличие от первичного, для вторичного ответа характерна укороченная латентная фаза – от нескольких часов до 1–2 суток. Логарифмическая фаза отличается более интенсивной динамикой прироста и более высокими титрами специ-

фических антител. Для стационарной фазы и фазы снижения свойственна затяжная динамика (несколько месяцев или даже лет). При вторичном иммунном ответе организм сразу же, в подавляющем большинстве, синтезирует IgG. Характерная динамика антителопродукции обусловлена подготовленностью иммунной системы к повторной встрече с антигеном за счет формирования иммунологической памяти. В результате этого, клоны антигенспецифичных В-лимфоцитов, оставшиеся после первичного иммунного реагирования, быстро размножаются и интенсивно включаются в процесс антителогенеза.

Для развития гуморального иммунитета слизистых характерны те же процессы и динамика антителообразования. Однако, в данном случае в слизистых в подавляющем большинстве созревают и размножаются В-лимфоциты, продуцирующие полимерные молекулы IgA.

Явление интенсивного антителообразования при повторном контакте с антигеном широко используется в практических целях, например, при вакцинопрофилактике. Для создания и поддержания иммунитета на высоком защитном уровне схемы вакцинации предусматривают первичное введение антигена для формирования иммунологической памяти и последующие ревакцинации через различные интервалы времени.

Этот же феномен используют при получении высокоактивных лечебных и диагностических иммунных сывороток (гипериммунных). Для этого, животным или донорам производят многократные введения препаратов антигена по специальной схеме.

Динамика и интенсивность антителообразования в значительной степени зависят от иммуногенности антигена (дозы, способа и кратности его введения), а также от состояния макроорганизма. Попытка повторного введения антигена в латентной фазе может привести к иммунологическому параличу – иммунологической неотвечаемости на антиген в течение определенного периода времени.

Теории образования антител

Для объяснения механизмов антителопродукции и разнообразия специфичности антител было высказано множество гипотез и теорий, однако, лишь немногие из них получили практическое подтверждение. Большинство теорий имеют чисто историческое значение.

Первой принципиально важной концепцией была теория «боковых цепей», которую выдвинул П. Эрлих (1898). Согласно этой теории, клетки органов и тканей имеют на своей поверхности рецепторы, способные в силу химического сродства связывать антиген и инактивировать его; связанные с антигеном рецепторные молекулы отделяются с поверхности клетки и замещаются вновь синтезированными. Эта теория заложила основные представления о гуморальном иммунитете и о рецепторах иммунокомпетентных клеток.

Заслуживают внимания «матричные» теории. Согласно концепциям, предложенным Ф. Брейнлем и Ф. Гауровитцем (1930), Л. Полингом (1940), антиген является матрицей, с которой штампуется молекула антител. Эти теории оказались тупиковыми в связи с открытием Д. Уотсоном и Ф. Криком (1953) механизма кодирования в ДНК генетической информации.

Ряд теорий исходили из предположения о предсуществовании в организме антител практически ко всем возможным антигенам (Н. Ерне, 1955; Ф. Бернет, 1959). В настоящее время наиболее обоснованной считается теория Ф. Бернета, которая получила название клонально-селекционной. Согласно данной теории, лимфоидная ткань состоит из огромного числа клонов антигенреактивных клеток (лимфоцитов), которые специализируются на выработке антител к разнообразным антигенам. Клоны возникли в ходе эволюции в результате мутаций и селекции под влиянием антигенов и уже предсуществуют в новорож-

денном организме. Попавший в организм антиген селективно (избирательно) активирует специфичный к нему клон лимфоцитов, который размножается и начинает вырабатывать специфичные к данному антигену антитела. Если доза антигена велика, то клон реагирующих на него лимфоцитов устраняется (элиминируется) из организма. В соответствии с теорией Бернета, этот путь ведет к формированию в эмбриональном периоде иммунологической толерантности (нечувствительности) к собственным антигенам.

Теория Бернета объясняет многие иммунологические реакции (антителообразование, гетерогенность антител, иммунологическую память, толерантность), однако, она не способна объяснить происхождение всего многообразия специфичности антител. Бернет предположил, что в организме существует около 10 тыс. клонов специфических антителопродуцирующих клеток. Однако, как показывает практика, мир антигенов на 2–3 порядка обширнее и организм отвечает на практически любой из них, в том числе, и на искусственно полученный антиген, который не существует в природе.

Значительную ясность в представление о разнообразии специфичности антител внес С. Тонегава (1983), который дал этому явлению генетическое обоснование. Молекулярно-генетическая теория С. Тонегавы исходит из того, что в генах иммуноглобулинов постоянно происходят мощные рекомбинационные и мутационные процессы. В результате, возникает огромное количество вариантов и комбинаций генов, которые кодируют разнообразные по специфичности иммуноглобулины. Каждый клон антителопродуцирующих лимфоцитов обладает своим уникальным вариантом гена иммуноглобулина.

Следует также упомянуть теорию сетевой регуляции иммунной системы. Ее основой является выдвинутая Н. Ерне (1974) идея идиотип-антиидиотипического взаимодействия. Согласно этой теории, иммунная система представляет собой бесконечную цепь взаимодействующих антигенных идиотипов иммуноглобулинов и направленных к ним антиидиотипических антител. Введение антигена вызывает каскадную реакцию образования антител 1-го порядка. Это антитело, действуя как антиген, вызывает образование к своему идиотипу антител 2-го порядка. К идиотипу антител 2-го порядка синтезируются антитела 3-го порядка и т.д. При этом антитело каждого порядка как бы несет «внутренний образ» антигена, который передается эстафетно в цепи образования антиидиотипических антител. Доказательством этой теории является обнаружение антиидиотипических антител, способных вызвать в организме иммунитет к соответствующему антигену, а также существование лимфоцитов, сенсибилизированных к антиидиотипическим антителам. С помощью теории Ерне можно понять формирование иммунологической памяти и возникновение аутоиммунных реакций. Однако, она не способна объяснить многие другие явления иммунитета: механизм иммунологического распознавания «свой-чужой», управление каскадом идиотип-антиидиотипических реакций и т.д. Данная теория не получила дальнейшего развития.

В 60-е годы XX в. выдающийся иммунолог П. Ф. Здродовский сформулировал физиологическую концепцию иммуногенеза – гипоталамо-адреналовую теорию регуляции иммунитета. Основная идея этой теории сводилась к тому, что продукция антител подчиняется общим физиологическим законам. Ведущая роль в этом процессе принадлежит гормонам и нервной системе.

ГЛАВА 13. ИММУНОДЕФИЦИТЫ (ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ)

Иммунодефицитами (ИД) обозначают нарушения иммунного статуса, обусловленные дефектами клеточного или гуморальных механизмов иммунного ответа. Подобные нарушения-иммунодефициты- разделяют на первичные (врожденные) и вторичные (приобретённые).

Первичные иммунодефициты

В их основе лежит генетически обусловленная неспособность организма реализовать какие-либо звенья иммунного ответа. Как правило, ИД проявляются на ранних этапах постнатального периода (сразу после рождения), наследуются по по аутосомиому–рецессивному типу. Расстройства иммунной системы могут затрагивать, как основные специфические звенья в функционировании иммунной системы, так и факторы, определяющие неспецифическую резистентность. Возможны комбинированные и селективные варианты иммунных расстройств. В зависимости от уровня и характера нарушений различают гуморальные, клеточные и комбинированные иммунодефициты (табл. 13.1).

Таблица 13. 1

Классификация и характеристика первичных иммунодефицитных состояний.

Тип дефицита	Пример	Иммунный ответ		Клинические проявления	Лечение
		клеточный	гуморальный		
Недостаточность системы фагоцитоза	Хронический грануле матоз	В норме	В норме	Начало симтомов в возрасте 1 года, дерматит, гранулёмы, афтозный стоматит, себорейный дерматит	Антибиотики
Недостаточность системы комплемента	Дефицит компонента комплемента С3	В норме	В норме	Рецидивирующие тяжёлые инфекции, вызванные пиогенной флорой	Антибиотики
Недостаточность гуморального иммунитета	Агаммаглобулинемия Брутона	В норме	Дефицит	Рецидивирующие тяжёлые инфекции, диарея. вызываемая Giardia lamblia; хронический менингоэнцефалит, аутоиммунный артрит	Антибиотики, гаммаглобулин
Недостаточность клеточного иммунитета	Гипоплазия тимуса. Синдром Ди-Джорджи	Дефицит	В норме или выше	Аномалии крупных сосудов: неонатальная тетания; вялотекущие или оппортунистические инфекции	Трансплантация тимуса
Комбинированные иммунодефициты	Тяжелый комбинированный дефицит (агаммаглобулинемия швейцарского типа)	Дефицит	Дефицит	Кожные инфекции. сепсис, пневмания и диарея. задержка роста: тяжёлые оппортунистичекие инфекции	Трансплантация костного мозга

Недостаточность системы фагоцитоза

Обусловлена или уменьшением числа фагоцитов, или их функциональной неполноценностью. Периодическая нейтропения лежит в основе циклических нарушений гемопоэза в целом. В первую очередь, этот процесс проявляется в уменьшении количества гранулоцитов, а также в изменении числа моноцитов. Нарушения фагоцитарной активности 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, легочные инфекции и хроническое воспаление полости рта.

К первичным иммунодефицитам системы фагоцитоза относятся:

Хронический гранулематоз. Дефицит НАДФН-оксидазы, приводящий к невозможности «Дыхательного взрыва». Клинические проявления: начало симптомов в возрасте 1 года; гранулемы (гепатоспленомегалия, лимфаденит); афтозный стоматит; себорейный дерматит. Синдром Чедиака–Хигаси, нарушение хемотаксиса, внутриклеточного бактериолиза и миграции нейтрофилов. Клинические проявления, частые вирусные и кишечные бактериальные инфекции; частичный альбинизм кожи и радужки; нистагм, нейтропения.

Заболевание – дефицит молекул адгезии лейкоцитов (поверхностные гликопротеины). Характер дефекта, нарушение хемотаксиса, миграции нейтрофилов и поглощения объектов фагоцитоза, связывающих iC3b. Клинические проявления замедленное отделение пуповины с последующим омфалитом; холодные кожные абсцессы; глубокие некротизирующие абсцессы мягких тканей.

Заболевание – синдром Йова (гипериммуноглобулинемия Е, рецидивирующая инфекция). Характер дефекта – нарушение хемотаксиса. Клинические проявления: частые стафилококковые инфекции: холодные абсцессы кожи; грубые черты лица, кандидоз.

Заболевание – недостаточность комплемента – встречается редко. Наиболее часто наблюдается дефект синтеза компонентов комплемента, обусловленный наследственной недостаточностью ингибитора эстеразы С1, которая клинически проявляется ангионевротическим отеком. Низкая концентрация ингибитора эстеразы С1 допускает непрерывную частичную активацию С1 с последующим потреблением С4 и С2. При ряде заболеваний, особенно, при тех, которые протекают с образованием иммунных комплексов, активация комплемента приводит к его избыточному потреблению. При этом, наиболее сильно уменьшается количество С1, С4, С2 и С3.

Болезни системы комплемента

Нарушения системы комплемента обусловлены недостатками синтеза или функциональных свойств компонентов комплемента, либо механизмов регуляции системы.

Дефектный компонент C1r, C1q, C2. В редких случаях, отмечается неспособность к образованию С3 – конвертазы, связанная с дефицитом компонентов C1r, C1q, C2. Характер нарушений – нарушение элиминации иммунных комплексов. Клинические проявления – васкулиты, волчаночно–подобный синдром, полимиозит, пойкилодерма. Для данного заболевания характерна необычайно высокая частота синдромов системной красной волчанки (СКВ), это обусловлено либо пониженной способностью организма

сопротивляться инфекции, либо пониженной способностью к элиминации комплексов антиген-антитело.

Дефектный компонент С4. Характер нарушений нарушение элиминации иммунных комплексов. Клинические проявления-СКВ и волчаночно–подобный синдром, синдром Шегрена-Геноха.

Дефектный компонент С3. Характер нарушений – нарушения опсонизации. Клинические проявления – рецидивирующие тяжелые инфекции, вызванные пиогенной и грамотрицательной флорой.

Дефектный компонент С5-С9. Характер нарушений – нарушения образования мембраноповреждающего комплекса, опосредующего бактериолиз. Клинические проявления – рецидивирующие менингококковые и гонококковые инфекции, некоторые вирусные инфекции, ревматические болезни.

Дефекты факторов Н, I. Характер нарушений – нарушения опсонизации. Клинические проявления – рецидивирующие пиогенные инфекции.

Недостаточность В-лимфоцитов. Недостаточности гуморального иммунитета связаны с утратой способности к синтезу АТ. Заболевания могут быть вызваны множеством причин, в том числе, нарушениями структуры генов тяжёлой цепи IgA, врожденными инфекциями. Наиболее распространены:

Заболевание агаммаглобулинемия Брутона. Фенотип – фактор, блокирующий дифференцировку преВ-клеток. При врожденной агаммаглобулинемии Брутона, встречающейся только у мужчин, подавлен синтез иммуноглобулинов и при биопсии лимфоузлов обнаруживается незначительное число лимфоидных молекул и плазматических клеток. Клиническая картина- рецидивирующие тяжелые пиогенные инфекции, начинающиеся с 9-12 месяцев; диарея, вызываемая Giardia lamblia; хронический менинго-энцефалит (ECHO – вирусный); аутоиммунный артрит. У данных больных не нарушены реакции клеточного иммунитета и поэтому такие вирусные инфекции, как корь и оспа, протекают без осложнений.

Заболевание – общий вариабельный иммунодефицит. Фенотип – нарушенная терминальная дифференцировка В-клеток. Данное заболевание может быть обусловлено несколькими причинами. Костный мозг больных содержит нормальное число незрелых В-клеток, но у трети пациентов в крови отсутствуют В-клетки с поверхностными иммуноглобулиновыми рецепторами, а еще у трети их число ниже нормы. Такие В-лимфоциты либо не способны дифференцироваться в плазматические клетки, либо секретировать антитела. При этом, изменения затрагивают и Т-лимфоциты. У 30% больных снижена реакция Т-клеток на поликлональный активатор фитогемагглютинин, а у небольшой части пациентов обнаруживаются Т-лимфоциты, несущие молекулы СД8 и МНС класса II и обладающие заметной супрессорной активностью по отношению к В-клеткам. Клиническая картина пиогенные инфекции средней тяжести, начинающиеся между 20 и 40 годами; лямблиоз; спру–подобный синдром; нодулярная лимфоидная гиперплазия; лимфоретикулярные опухоли; пернициозная анемия.

Заболевание – селективный дефицит IgA (наследственный или спорадический). Фенотип – блок созревания IgA–несущих клеток. Клиническая картина: рецидивирующие бактериальные инфекции дыхательного и пищеварительного трактов, более тяжелые у больных с концентрацией IgA < 5 мг%, аутоиммунные и аллергические заболевания; в 30% случаев, отсутствие симптомов; недостаточность IgA, иногда транзиторная.

Транзиторная гипогаммагобулинемия детского возраста, для которой характерны повторяющиеся инфекции дыхательных путей, обусловлена низким уровнем IgG, который часто возвращается к норме по достижении четырехлетного возраста.

Недостаточность Т-лимфоцитов. Т-клеточная недостаточность (частичная или полная) приводит к более тяжелым рецидивирующим инфекциям, чем гуморальная недостаточность.

Заболевание Ди Джорджи. Фенотип – дисморфогенез производных третьего и четвертого глоточных карманов; гипоплазия тимуса и паращитовидных желез. Клинические проявления: аномалии крупных сосудов; неонатальная тетания; гипоплазия нижней челюсти, вялотекущие или оппортунистические инфекции.

Заболевание – синдром Незелофа. Фенотип рудиментарный тимус: малое количество тимоцитов; отсутствие тельца Хассела. Клинические проявления – замедление роста; рецидивирующие инфекции кожи и легких; сепсис, вызванный грамотрицательной флорой: локальный кандидоз; гипоплазия лимфоидной ткани.

Тяжелый комбинированный иммунодефицит.

Фенотип – приобретенный иммунитет отсутствует; рудиментарный тимус; мало тимоцитов и телец Хассела. Клинические проявления – кожные инфекции, сепсис, пневмония и диарея, начинающиеся в возрасте 3 мес.; задержка роста; тяжелые оппортунистические инфекции (например, Pneumocystis, Candida) гипоплазия лимфоидной ткани; хондродисплазия; вероятен летальный исход в возрасте 2 лет (без лечения).

Заболевание – синдром Вискотта–Олдрича. Фенотип – ускоренный синтез и катаболизм всех Ig, врожденный дефект тромбоцитов. Клинические проявления – экзема; тромбоцитопения: рецидивирующие инфекции, пневмоцистная и герпетическая инфекции в подростковом периоде; злокачественные опухоли в 10 -12% случае.

Заболевание – атаксия-телеангиэктазия. Фенотип гипоплазия тимуса, мало телец Хасселла; врожденные дефекты Т- и В-лимфоцитов. Клинические проявления – прогрессирующая мозжечковая атаксия; телеангиэктазии; рецидивирующие инфекции, часты злокачественные новообразования.

Вторичные или приобретенные иммунодефициты

Вторичные иммунодефициты, в отличие от первичных, развиваются у лиц с нормально функционировавшей от рождения иммунной системой. Приобретенные формы ИД связаны:

- с вирусными инфекциями (в том числе, ВИЧ);
- с бактериальными инфекциями;
- с протозойными и глистными болезнями;
- нарушениями питания;
- влиянием химиопрепаратов, иммунодепрессантов;
- действием ионизирующей радиации и иммунотоксинов (в том числе, ксенобиотиков);
- продолжительными стрессорными воздействиями;
- патологией обмена веществ (сахарный диабет, недостаточность карбоксилазы, дефицит микроэлементов, гипербилирубинемия и др.).

При вторичных иммунодефицитах могут поражаться Т- и В-системы иммунитета, факторы неспецифической резистентности, возможны также их сочетания. Вторичные иммунодефициты встречаются значительно чаще, чем первичные. Вторичные иммунодефициты, как правило, преходящи и поддаются иммуннокоррекции, т.е. восстановлению нормальной деятельности иммунной системы.

Вторичные иммунодефициты могут быть: при ожоговой болезни; при уремии; при опухолях; при нарушении обмена веществ и истощении; при дисбиозах; при тяжелых трав-

мах, обширных хирургических операциях, особенно выполняемых под общим наркозом; при облучении, действии химических веществ; при старении, а также медикаментозные, связанные с приемом лекарств.

По времени возникновения выделяют *антенатальные* (например, ненаследственные формы синдрома Ди Джорджи), *перинатальные* (например, нейтропения новорожденного).

По клиническому течению выделяют *компенсированную, субкомпенсированную* и *декомпенсированную* формы вторичных иммунодефицитов. Компенсированная форма сопровождается повышенной восприимчивостью организма к инфекционным агентам, вызывающим оппортунистические инфекции. Субкомпенсированная форма характеризуется склонностью к хронизации инфекционных процессов. Декомпенсированная форма проявляется в виде генерализованных инфекций, вызванных условно-патогенными микробами (УПМ) и злокачественными новообразованиями.

Иммунодефициты, как первичные, так и особенно вторичные, широко распространены среди людей. Они являются причиной проявления многих болезней и патологических состояний, поэтому требуют профилактики и лечения с помощью иммунотропных препаратов.

Аутоиммунные заболевания

Аутоиммунные заболевания интересны и с практической, и с теоретической точки зрения. Изучение аутоиммунитета заложило основу для достижений в области диагностики и терапии и до сих пор прогресс заметен во многих областях. Исследование аутоиммунитета имеет и большое теоретическое значение захватывающей проблемы иммунологической толерантности.

Аутоиммунные болезни можно охарактеризовать как заболевания, при которых, в результате гуморальных и клеточных иммунных реакций с нормальными компонентами тела, происходит структурное или функциональное повреждение. Вовлеченные в реакцию антигены, обычно присутствующие у человека или животного и характерные для них, называются аутоантигенами, а антитела, способные реагировать с ними – аутоантителами.

Аутоиммунные реакции наблюдаются в норме у здоровых лиц, а также при патологии. В первом случае, они протекают непрерывно и их действие сводится к удалению отмирающих, стареющих, больных, модифицированных какими-либо воздействиями клеток. Они являются начальным компонентом развертывания иммунного ответа на различные антигены. Эти реакции полезны для организма и не перерастают в болезнь.

Аутоиммунные болезни или аутоаллергии, встречаются реже. В основе этих патологических состояний лежат аутоиммунные реакции с забарьерными перекрестно-реагирующими антигенами, образование «запретных» клонов иммунокомпетентных клеток, реагирующих с собственными нормальными тканями, генетически запрограммированная слабость иммунного ответа на конкретный антиген, недостаточность Т-супрессоров, блокада рецепторов лимфоцитов и другие причины. Они могут быть также следствием приема лекарственных препаратов (табл. 13.2).

Аутоиммунные заболевания бывают *органоспецифическими, неорганоспецифическими* и *смешанными*. К органоспецифическим относят болезни, при которых аутоантитела специфичны к одному или группе обладающих антигенными свойствами структурных элементов клеток и тканей одного органа. Чаще всего, это забарьерные антигены, врожденная толерантность к которым отсутствует, например, в случае тиреоидита Хашимото,

первичной микседемы, тиреотоксикоза, пернициозной анемии и др.). К органонеспецифическим заболеваниям относятся патологические процессы, при которых аутоантитела реагируют, как указывалось, к структурным элементам клеток и тканей данного или даже другого организма, имеющего перекрестные антигенные структуры, примером которых могут служить антинуклеарные антитела при системной красной волчанке, ревматоидном артрите. Смешанные болезни включают оба вышеперечисленных механизма.

Несмотря на то, что в основе некоторых заболеваний может лежать аутоиммунные механизмы, в настоящее время очевидно, что слишком многим болезням с незначительной этиологией и патогенезом был приклеен ярлык «аутоиммунная болезнь», особенно, когда удавалось обнаружить ту или иную аутоиммунную реакцию.

Довольно часто можно обнаружить нормальные аутоантитела, не вызывающие видимых симптомов заболевания. Они встречаются у совершенно здоровых людей, например, ревматоидный и антинуклеарные факторы. Довольно трудно бывает доказать, что видимая клиническая картина заболевания представляет собой следствие аутоиммунного процесса. Обнаружение антител к аутоантигенам еще не позволяет сделать вывод о причинно-следственной связи заболевания с аутоиммунными реакциями. Для подтверждения этого необходимо: выявить иммунный ответ на аутоантиген, имеющий отношение к заболеванию; идентифицировать его; пассивно перенести заболевание и спровоцировать болезнь соответствующим антигеном в эксперименте на животных. В табл. 13. 2 представлены основные аутоиммунные заболевания человека.

Таблица 13. 2

Некоторые болезни человека, сопровождающиеся аутоиммунными реакциями.

Болезнь	Аутоиммунные реакции	Аутоантигены	Установленность аутоиммунной природы	Клинические проявления
Тиреоидит Хошимото	Гуморальные и клеточные	Органоспецифические щитовидной железы (тиреоглобулин и микросомальный)	Установлено	Диффузное увеличение щитовидной железы, которое сопровождается снижением ее функции. Женщин заболевание поражает чаще, чем мужчин.
Аутоиммунная гемолитическая анемия	Гуморальные	Неорганоспецифические (зрелых эритроцитов и их предшественников на разных стадиях созревания)	Установлено	Приобретенное хроническое заболевание с чередующимися обострениями и ремиссиями, характеризующееся снижением количества эритроцитов при нормальном состоянии костного мозга

Системная красная волчанка	Гуморальные	Неорганоспецифические (нуклеарные)	Установлено	Заболевание кожи и соединительной ткани внутренних органов, в основе которого лежит васкулит, обусловленный иммунными комплексами.
Ревматоидный артрит	Гуморальные	Неорганоспецифические IgG	Установлено	Общее хроническое воспалительное заболевание с преимущественным поражением суставов. Оно протекает с повторными обострениями и ремиссиями или постоянно прогрессирует, приводя к тугоподвижности суставов, прежде всего кистей и стоп.
Хронический гломерулонефрит	Гуморальные	Базальной мембраны почки	Установлено	Гломерулонефрит: общее хроническое воспалительное заболевание с преимущественным поражением базальной мембраны почки.
Неспецифический язвенный колит	Гуморальные и клеточные	Органоспецифические ободочной кишки	Не установлено	Заболевание, развивающееся по типу диффузного хронического воспаления слизистой оболочки кишечника с образованием обширных неглубоких язв.
Злокачественная миастения	Гуморальные и клеточные	Тканеспецифические поперечнополосатых мышц (рецепторы ацетохолина)	Установлено	Прогрессирующая атрофия мышц.
Болезнь Аддисона	Гуморальные и клеточные	Органоспецифические коры надпочечников (микросомальные)	Установлено	Проявляется в гормональной недостаточности коры надпочечников с хроническим течением. Характерны гипотония, адинамия, снижение уровня сахара в крови, 17-ОКС – в моче.
Болезнь Бехчета	Гуморальные	Органоспецифические (слюнных желез) и неорганоспецифические (нуклеарные)	Установлено	Для заболевания характерна триада симптомов: поражение слизистой оболочки рта (стоматит), конъюнктивы глаз, сосудистой оболочки глаз (увеит), а также половых органов. У больных образуются афты, язвы с рубцеванием.
Аутоиммунная нейтропения	Гуморальные	Неорганоспецифические (лейкоцитарные)	Не установлено	Характеризуется полным или почти полным отсутствием у пациента полиморфно-ядерных лейкоцитов при нормальных показателях уровня лимфоцитов и других форменных элементов крови. Хронические инфекции

Неспецифический язвенный колит	Гуморальные	Органоспецифические (эритроцитам толстой кишки).	Не установлено	Заболевание, развивающееся по типу диффузного хронического воспаления слизистой оболочки кишечника с образованием обширных неглубоких язв
Хронический активный гепатит	Гуморальные и клеточные	Тканеспецифические (гладких мышц) и не органоспецифические (нуклеарные)	Установлено	
Пернициозная анемия	Гуморальные	Органоспецифические (париетальные клетки желудка и внутреннего фактора Кастла)	Не установлено	Заболевание, характеризующееся нарушением эритропоэза, развитием гемобластического типа кроветворения эритрофагии, анемии. Пернициозной анемии часто предшествует атрофический гастрит

Аллергические болезни

На первичный контакт с антигеном организм отвечает образованием антител и сенсибилизированных лимфоцитов. При повторном контакте антиген вступает в реакцию с антителами и сенсибилизированными лимфоцитами. Эти реакции направлены на устранение антигена, но при определенных условиях могут привести к патологическим последствиям. Заболевание возникает лишь при значительном отклонении иммунореактивности от нормы. При повышенном уровне индивидуальной реактивности в отношении данных антигенов речь идет об аллергии, которая проявляется в виде тяжелых реакций.

С. Рише и Г. Портье в 1902 г. высказали предположение, что такое повышение чувствительности к сыворотке, обусловлено наличием в ней чужеродного белка. Своими опытами они показали, что первичное введение собакам экстрактов из морских актиний не вызывает у них каких-либо токсических проявлений. Однако, повторное введение, сделанное через 2-9 нед, сразу же вызывало резкое ухудшение состояния собак. У них наблюдались слабость, нарушение дыхания, а некоторые собаки погибали. Смерть наступала даже в том случае, когда повторная доза была во много раз меньше первоначальной. С. Рише назвал эту реакцию анафилаксией (от греч. ana – обратно, phylaxis – защита), т.е. состоянием беззащитности против данного яда. Сходные результаты были получены Г. П. Сахаровым в 1905 г. в опытах с повторным введением чужеродного сывороточного белка морским свинкам. Морские свинки, сенсибилизированные первичным введением лошадиной сыворотки, на ее повторное введение также отвечали резко повышенной чувствительностью, крайняя степень проявления которой получила название анафилактического шока. Особенностью этой формы повышенной чувствительности является немедленность ее проявления на повторное введение антигена.

В 1890 г. Р. Кох обнаружил другой тип реакций повышенной чувствительности. Он показал, что при подкожном введении больному туберкулезом туберкулина (антигенный

препарат, представляющий собой фильтрат автоклавированной бульонной культуры возбудителя туберкулеза), через 6-12 ч на месте введения развивается туберкулиновая реакция: краснота, уплотнение, иногда припухлость. Своего максимального развития реакция достигает через 24-48 ч.

Таким образом, различают два типа повышенной чувствительности: гиперчувствительность немедленного и замедленного типов. Поскольку эти реакции на повторное введение антигена отличаются от обычных реакций иммунитета, они получили название аллергических (от греч. allos – другой, ergo – реакция, действие). Старые названия аллергических реакций немедленного и замедленного типов (ГНТ и ГЗТ) не отражают биологической сути феномена, хотя продолжают удерживаться (табл. 13.3).

В этой главе мы будем применять термины *реакция гиперчувствительности* и *состояние гиперчувствительности*. Кумбс и Джелл выделили четыре типа гиперчувствительности. Реакции I, II, III обусловлены взаимодействием антигена с гуморальными антителами и их принято относить к реакциям «немедленного» типа, хотя, одни развиваются быстрее, чем другие. Реакции типа IV основаны на взаимодействии поверхностных лимфоцитарных рецепторов со своими лигандами и, поскольку, для их развития требуется больше времени, они уже давно получили название «гиперчувствительность замедленного типа».

Таблица 13. 3

Свойства ГНТ и ГЗТ (по Р. Куку, 1947)

Показатель	ГНТ	ГЗТ
Время развития реакции	Менее 20-30 мин.	Более 6-8 ч.
Фактор	Антитела	Т-лимфоциты
Фактор переноса в интактный организм	Пассивный (антителами) и адаптивный (иммунокомпетентными клетками)	Адаптивный (иммунокомпетентными клетками)
Десенсибилизация	Возможна	Невозможна

Реакции типа I (анафилактические)

Феномен анафилаксии, как и другие реакции гиперчувствительности немедленного типа, являются иммунологически специфичными и проявляются в отношении того антигена, к которому организм сенсибилизирован. Для возникновения состояния сенсибилизации, достаточно введения очень малых доз антигена (аллергена). В частности, первичная сенсибилизирующая доза лошадиной сыворотки для морской свинки составляет 0, 000001мл. Состояние повышенной чувствительности развивается через 7-14 дней после введения антигена и сохраняется месяцами и годами. Для его выявления вводят внутривенно вторую, разрешающую дозу антигена. Если разрешающую дозу ввести не внутривенно, а внутрикожно, то развивается местная анафилаксия (феномен Артюса). Она характеризуется появлением через 30-60 мин. на месте введения отека и развитием гиперемии. В последующем воспалительный очаг уплотняется, подвергается некрозу и рубцеванию.

Реакция анафилаксии характеризуется следующими особенностями: иммунологической специфичностью, немедленностью проявления (анафилактический шок развивается через несколько минут после введения разрешающей дозы) и опосредованностью антите-

лами. Доказательством ведущей роли антител в реакциях гиперчувствительности немедленного типа является возможность переноса состояния повышенной чувствительности от сенсибилизированного донора с помощью его сыворотки или чистой фракции антител несенсибилизированному реципиенту. Такой пассивный перенос анафилаксии с помощью антител приводит к развитию состояния повышенной чувствительности у реципиента, которая может быть выявлена введением ему разрешающей дозы антигена

Анафилаксия может проявляться в виде местной (на коже и слизистых) или системной (анафилактический шок) реакции. Местные анафилактические реакции в зависимости от локализации могут выражаться уртикарной сыпью, вазомоторным насморком, бронхиальной астмой или кишечными расстройствами. Так как тучные клетки и базофилы встречаются в организме повсеместно, поэтому анафилактическая реакция может протекать в любом органе, однако, для каждого вида животных характерны определенные органы, поражаемые чаще, чем другие (шок-органы). У человека чаще поражаются артериолы и бронхи. К анафилактическим реакциям человека, которые вызываются IgE, относятся приступы бронхиальной астмы, сенная лихорадка, крапивница, реакции на укусы ос и пчел (табл. 13.4).

Таблица 13. 4

Примеры веществ. способных вызвать анафилаксию

Аллергены	Вещества, способные вызвать анафилаксию
Ксеногенные сыворотки	Антилимфоцитарная сыворотка Противостолбнячная сыворотка Противогангренозная сыворотка Противодифтерийная сыворотка Другие белковые препараты Пыльца растений и цветы
Природные яды	Пчелиный яд Яд ос Змеиный яд
Лекарственные препараты	Антибиотики (пенициллин) Салицилаты Белковые гормоны Вакцины (коревая, гриппозная и др.)

Основная роль анафилаксии обусловлена образованием цитофильных антител против аллергенов, и в первую очередь, класса IgE (реагинов). Особенностью антител IgE является отсутствие у них способности фиксировать комплемент и проникать через плаценту. Полагают, что помимо участия в реакциях ГНТ, антителам IgE принадлежит определенная роль в формировании местного иммунитета.

Цитофильные свойства этих иммуноглобулинов связаны с наличием особых рецепторов, которые располагаются в области Fc-компонента молекулы антитела. Иногда это свойство (цитофильность) называют гомоцитотропностью, т.е. сродством к клеткам собственного вида или гетероцитотропностью, когда это сродство проявляется по отношению к клеткам другого вида животного. У человека и у некоторых животных антитела,

относящиеся к классу IgE, обладают гомоцитотропностью, а гетероцитотропностью – иммуноглобулины IgG-1, IgG-3, IgG-4.

В самом общем виде механизм анафилаксии может быть описан следующим образом. Введение сенсибилизирующей дозы антигена индуцирует образование специфических антител, в том числе, относящихся к классу IgE. Благодаря своей цитофильности, последние фиксируются на поверхности тучных клеток и базофилов. Этот процесс и лежит в основе сенсибилизации организма к данному антигену. Попадая повторно в организм, он распознается антителами, фиксированными на клетках и быстро вступает во взаимодействие с ними. Образуется иммунный комплекс реагин-аллерген. Это приводит к дегрануляции мастоцитов, связанной с изменением их мембран и выделением гранул, содержащих гистамин, серотонин, ацетилхолин, медленно реагирующую субстанцию. Они провоцируют спазм гладкой мускулатуры, повышение проницаемости капилляров и другие эффекты. В аллергических реакциях немедленного типа также участвуют эозинофильный и нейтрофильный хемотаксический факторы, гепарин, тромбоцитактивирующие факторы, фосфолипаза, простагландины.

Таким образом, одним из необходимых условий развития анафилаксии является наличие доступа антигена к антителам, фиксированным на клетках. Если в крови циркулирует достаточное количество антител, обладающих такой же специфичностью, но относящихся к другим классам иммуноглобулинов (IgG, IgM), они распознают и блокируют его активные центры. Такой нейтрализованный антиген уже не может взаимодействовать с антителами IgE, фиксированными на клетках, поскольку его детерминантные группы блокированы. В случае, если специфичных к данному антигену и свободно циркулирующих в крови антител мало, антиген беспрепятственно достигает клеток, на которых располагаются антитела IgE. Следовательно, для предотвращения реакции ГНТ необходимо индуцировать образование антител, которые бы препятствовали доступу соответствующего антигена к антителам, фиксированным на клетках, т.е. антител классов IgG и IgM.

Развитие анафилактического шока можно предупредить с помощью различных лекарственных препаратов, например, атропина, димедрола, эфирного наркоза, а также других веществ с различным механизмом действия (сапонин, желчнокислотные соли и т.п.). Вместе с тем, установлено, что если животное благополучно перенесло анафилактический шок, оно утрачивает на некоторое время (2-3 нед.) чувствительность к данному антигену. Такое же состояние десенсибилизации может быть достигнуто путем введения сенсибилизированному животному небольших разрешающих доз специфического антигена. В связи с этим, А. М. Безредка предложил для предупреждения сывороточного анафилактического шока, перед введением большой дозы сыворотки, вводить сначала небольшую ее часть (0,5-1,0 мл) подкожно или несколько более мелких, но постепенно возрастающих доз внутривенно, с интервалом 15–30 мин.

Реакции типа II (цитотоксическая гиперчувствительность)

Аллергические реакции II типа опосредованы антителами к поверхностным антигенам клетки или к вторично связанным с клеточной поверхностью антигенам. Решающую роль в этом случае, играют антитела, способные активировать комплемент IgG1–3, IgM. В качестве антител могут быть иммуноглобулины классов M, G. Для индукции реакции 2 типа необходимо, чтобы клетка приобрела аутоаллергенные свойства, например, при повреждении ее лекарствами, бактериальными энзимами, вирусами. В реакции принимают участие некоторые клетки, например, Т-лимфоциты, несущие Fc-фрагмент. Различают три механизма лизиса клеток мишеней:

- комплементарный, происходящий при участии активизированного комплемента, что приводит к прободению мембран и выходу наружу белков и других веществ;

- внутриклеточный цитолиз опсонизированного антигена внутри макрофага и других веществ;

- антителозависимая клеточная цитотоксичность, обусловленная К-клетками при участии IgG.

Антитела, принимающие участие в цитотоксических реакциях, специфичны к детерминантам клеточной мембраны. Это можно наблюдать при некоторых формах лекарственной аллергии, когда молекулы лекарственного препарата адсорбируются на поверхности клеток крови. Следствием этого могут быть гемолитическая анемия, лейкоцитопения, тромбоцитопения, агранулоцитоз. Наибольшее значение для клиники имеют те гуморальные цитотоксические реакции, которые затрагивают эритроциты. Реакция, направленная против эритроцитов другого индивида называется изоиммунной, а реакция против собственных эритроцитов – аутоиммунной. У каждого человека в сыворотке имеется высокий титр антител против тех антигенов системы АВО, которые отсутствуют на собственных эритроцитах. При переливании несовместимой крови эти изогемагглютинины вызывают цитотоксическую иммунную реакцию, которая сопровождается гемолизом крови. При повторных беременностях резус-положительным плодом у резус-отрицательных женщин в крови образуются антирезус-IgG, способные проходить через плаценту и оказывая цитотоксическое действие на эритроциты плода, разрушать их. Это ведет к развитию гемолитической болезни новорожденных. При аутоиммунной гемолитической анемии у больного образуются аутоантитела к собственным эритроцитам. Эритроциты, нагруженные такими антителами, имеют короткий срок жизни и устраняются в основном, с помощью фагоцитоза. Сходные механизмы приводят к анемии у пациентов, в сыворотке которых содержатся холодовые агглютинины и после инфекции *Mycoplasma pneumoniae* синтезируются моноклональные антитела-I. То же самое наблюдается в некоторых случаях пароксизмальной гемоглобинурии, вызванной литическими антителами Доната – Ландштайнера, специфичными к антигенам группы крови А(II).

Сыворотка больных тиреоидитом Хасимото содержит антитела, которые в присутствии комплемента обладают непосредственной цитотоксичностью по отношению к изолированным клеткам щитовидной железы в культуре. При синдроме Гудпасчера в крови обнаруживаются антитела к базальной мембране почечных клубочков. При исследовании биоптатов обнаруживается, что эти антитела вместе с компонентами комплемента связываются с базальными мембранами и активация всей системы комплемента приводит к серьезному повреждению клеток почечных клубочков.

Лекарственная непереносимость, обусловленная аллергическими реакциями типа II. Это довольно сложное явление. Лекарства могут присоединяться к различным компонентам организма и тем самым, из гаптена превращаться в полноценный антиген, способный сенсибилизировать определенных людей. Если при этом образуются IgE, то возможно развитие анафилактических реакций.

Реакции типа III (образование иммунных комплексов)

Во многих случаях, организм длительное время контактирует с избытком антигена. Это-персистентная инфекция, вызванная микроорганизмом, аутоиммунореактивность к компонентам собственного организма или повторяющийся контакт с внешним антигеном. В этих случаях, взаимодействие между антигенами и антителами может привести к образованию нерастворимых иммунных комплексов, которые способны откладываться в оп-

ределенных тканях и вызывать острые воспалительные реакции. Если с такими комплексами связываются компоненты комплемента, то образуются продукты расщепления C_3 и C_5, представляющие собой анафилотоксины.

Данные медиаторы приводят к высвобождению биологически активных факторов тучных клеток, которые повышают проницаемость сосудов и привлекают в зону воспаления полиморфноядерные лейкоциты, фагоцитирующие иммунные комплексы. Это, в свою очередь, приводит к выбросу содержимого лейкоцитарных гранул – процесс особенно активен в том случае, когда иммунные комплексы соединены с базальной мембраной и не могут быть фагоцитированы. Протеолитические ферменты (в том числе, нейтральные протеиназы и коллагеназа), ферменты, образующие кинины, и поликатионные белки, высвобождающиеся из гранул, вызывают локальное повреждение тканей и стимулируют развитие воспаления. Дополнительное повреждение происходит в результате так называемого реактивного лизиса, когда активированные компоненты С5-С7 случайно присоединяются к поверхности соседней клетки, а затем связывают I компоненты С8 и С9. В некоторых случаях, происходит и агрегация тромбоцитов с двумя важными последствиями: во-первых, тромбоциты служат дополнительным источником вазоактивных аминов, а во-вторых, могут формировать микротромбы, что приводит к развитию локальной ишемии. Нерастворимые комплексы, поглощенные макрофагами, долго не перевариваются и служат причиной активации этих клеток.

Эффект, вызываемый образованием иммунных комплексов in vivo, зависит не только от абсолютного количества антигена и антител, определяющего интенсивность реакции, но и от их *взаимного* соотношения. Последнее обуславливает структуру комплексов и их распределение в организме. При *избытке антител* или *небольшом избытке антигена* комплексы быстро преципитируют и обычно локализуются в месте проникновения антигена в организм. По мере увеличения избытка антигена образуются растворимые комплексы.

Иммунные комплексы могут образовываться либо в кровотоке, когда антиген и антитела одновременно находятся в плазме крови, либо в тканях, когда антиген введен в ткань, а антитела находятся в крови и происходит их встречная взаимная диффузия. В первом случае, развивается обусловленный иммунными комплексами васкулит, во втором – феномен Артюса. При аллергическом васкулите образование иммунных комплексов происходит при небольшом избытке антигена, непосредственно в просвете сосуда. Местом их нахождения может стать любой кровеносный сосуд и тогда в результате активации комплемента и лейкотаксиса, происходит повреждение ткани и даже запустение сосуда. Чаще поражаются сосуды нижних конечностей и капилляры почечных клубочков.

Типичный пример аллергического васкулита – гломерулонефрит. Решающее значение при данном виде патологии имеет сам факт персистенции антигена и его концентрация. Так, некоторые микробы, особенно стрептококки группы А и продукты их распада способствуют развитию хронического гломерулонефрита. Как особый случай васкулита, обусловленного иммунными комплексами, можно рассматривать сывороточную болезнь, которая развивается через 8-10 дней после однократного введения чужеродной сыворотки и сопровождается повышением температуры, увеличением селезенки и лимфатических узлов, лейкоцитозом и снижением активности комплемента.

Симптомы сывороточной болезни возникают с появлением в кровотоке антител и сохраняются до тех пор, пока в кровотоке находится свободный антиген. После иммунной элиминации антигена симптомы исчезают. При феномене Артюса, иммунная реакция первично направлена только на чужеродный антиген, однако, высвобождение лизосомальных ферментов в местах отложения иммунных комплексов приводит к вторичному по-

вреждению тканей. Классическая реакция Артюса у человека наблюдается, прежде всего, при воздействии некоторых ингаляционных аллергенов, особенно, при регулярных повторных воздействиях. К подобным заболеваниям относится аллергический альвеолит, при котором в сыворотке больных часто обнаруживаются преципитирующие антитела к промышленным аллергенам.

Реакции IV типа (опосредованные Т-лимфоцитами)

Существует ряд антигенов, которые стимулируют преимущественно Т-лимфоциты и вызывают, благодаря этому, формирование, главным образом, клеточного иммунитета. К ним относятся антигены внутриклеточных паразитов (бактерий, грибов, вирусов, простейших), чужеродных тканей (трансплантатов), природные и синтетические гаптены (лекарственные препараты, пищевые красители и др.). Таким образом, ГЗТ может вызываться практически всеми известными антигенами, но наиболее ярко она проявляется на полисахариды и низкомолекулярные пептиды, т.е. низкоиммуногенные антигены. При этом реакцию вызывают малые дозы аллергенов и особенно, при внутрикожном введении, что вызывает сенсибилизацию Т-хелперов. Сенсибилизированные лимфоциты выделяют медиаторы, в том числе, интерлейкин-2, которые активируют макрофаги и вовлекают их в процесс разрушения антигена, вызвавшего сенсибилизацию. Цитотоксичность проявляют и сами Т-лимфоциты. О роли лимфоцитов в возникновении ГЗТ свидетельствует возможность адаптивной передачи аллергии от сенсибилизированного организма несенсибилизированному с помощью введения лимфоцитов, а также подавления этой реакции антилимфоцитарной сывороткой.

Морфологическая картина при ГЗТ носит воспалительный характер, обусловленный реакцией лимфоцитов и макрофагов на образующийся комплекс антигена с сенсибилизированными лимфоцитами и проявляется через 24-48 ч. Ее типичным примером служит туберкулиновая реакция. Внутрикожное введение туберкулина сенсибилизированному индивиду вызывает покраснение и отек на месте инъекции, достигающие максимума через 24-48 ч. с момента введения аллергена. Образуется плотная гиперемированная папула с некрозом в центре. Некротизированная ткань иногда отторгается, оставляя после себя изъязвление, которое медленно заживает. Гистологически обнаруживают скопление макрофагов и лимфоцитов.

Введение лекарственных препаратов или даже просто контакт с некоторыми низкомолекулярными веществами может вызвать ГЗТ. Низкомолекулярные соединения обладают свойствами гаптенов и присоединившись к носителям, которыми являются собственные белки организма, индуцируют развитие ГЗТ. Типичный пример опосредованной клетками гиперчувствительности кожи представляет контактная экзема. При встрече сенсибилизированного индивида с гаптеном происходит локальная активация Т-лимфоцитов и макрофагов. Происходящее при этом высвобождение лимфокинов запускает патологический процесс, который клинически проявляется экземой. Наиболее часто контактную аллергию вызывают синтетические моющие средства, соединения хрома, никеля, ртути, пара-фенилендиамин, динитрохлорбензол, многие консерванты и медикаменты.

Трансплантационный иммунитет. Под трансплантационным иммунитетом понимают отторжение генетически отличающегося от хозяина трансплантата. Хотя по отношению к антигенам трансплантата организм также может вырабатывать антитела, главная роль в механизме трансплантационного иммунитета, как и всех реакций гиперчувствительности замедленного типа, принадлежит популяции Т-лимфоцитов, которые получили название

Т-цитотоксических лимфоцитов или Т-киллеров. Ведущая роль лимфоцитов в реакциях трансплантационного иммунитета подтверждается следующими феноменами:

1. Феномен «трансплантат против хозяина». Клетки лимфоидной ткани, пересаженные в генетически отличающийся организм, продолжают вести себя так же, как и в собственном организме в соответствии со своей главной функцией они распознают клетки нового хозяина, как генетически чужеродные, атакуют и разрушают их.

2. Трансфер-реакция (местное проявление реакции «трансплантат против хозяина»). Суть реакции в том, что если организму, который был предварительно сенсибилизирован трансплантатом аллогенного донора, ввести внутрикожно лимфоциты того же донора, через 24-48 ч. на месте введения возникает кожная реакция, аналогичная туберкулиновой. Подобная реакция может быть воспроизведена, но не в столь резкой форме, при внутрикожном введении и неиммунных лимфоцитов, но обязательно от генетически чужеродного донора.

В основе этой реакции лежит одно и то же свойство Т-лимфоцитов – способность распознавать чужеродные антигены и реагировать на них. Из экстрактов сенсибилизированных Т-лимфоцитов выделен фактор переноса гиперчувствительности замедленного типа – трансфер фактор (от англ. transfer factor) – фактор переноса. Трансфер фактор, ответственный за перенос ГЗТ от иммунных доноров к неиммунным реципиентам, имеет м. м. около 10 кДа и содержит два противоположно действующих фактора, индуцирующих хелперную и супрессорную активность.

ГЛАВА 14. ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА

Иммунный статус (ИС) – это структурное и функциональное состояние иммунной системы индивидуума, определяемое комплексом клинических и лабораторных иммунологических показателей. ИС (син. иммунитет, иммунореактивность) характеризует анатомо-функциональное состояние иммунной системы, т.е. ее способность к иммунному ответу на определенный антиген в данный момент времени.

Наличие у человека иммунной системы автоматически подразумевает его способность к иммунному ответу, но сила и форма иммунного ответа на один и тот же антиген у разных людей могут варьировать в широких пределах. Поступление антигена в организм у одного человека вызывает преимущественно антителообразование, у другого – развитие гиперчувствительности, у третьего – в основном формирование иммунологической толерантности и т.д. Иммунный ответ на один и тот же антиген у разных лиц может варьировать не только по форме, но и по силе, т.е. по степени выраженности, например, по уровню антител, устойчивости к инфекции и др.

По иммунореактивности различаются не только отдельные индивидуумы, но у одного и того же человека иммунореактивность может колебаться в различные периоды его жизни. Так, иммунный статус взрослого и ребенка, особенно новорожденного или первого года жизни, когда иммунная система еще функционально незрелая, существенно различается. У детей легче индуцировать иммунологическую толерантность, у них ниже титры сывороточных антител при иммунизации. Иммунный статус молодого и пожилого человека также различен. Это частично связано с состоянием тимуса, который рассматривается как «биологические часы» иммунной системы. Возрастная инволюция тимуса ведет к медленному угасанию Т-клеточных реакций по мере старения, снижению способности к распознаванию «своего» и «чужого», поэтому в старости, в частности, выше частота злокачественных новообразований. С возрастом нарастает также частота обнаружения аутоантител, в связи с чем, старение иногда рассматривается как хронически текущая аутоагрессия.

Иммунный статус подвержен не только возрастным, но и суточным колебаниям, в зависимости от биоритма. Эти колебания обусловлены изменениями гормонального фона и другими причинами. Таким образом, при оценке иммунного статуса следует учитывать значительную индивидуальную вариабельность иммунологических показателей даже в норме.

Иммунная система филогенетически относится к числу молодых (наряду с нервной и эндокринной) и очень лабильных к различным внешним воздействиям. Практически любое, даже самое незначительное, внешнее воздействие на организм человека ведет к изменению состояния его иммунной системы. На иммунный статус оказывают влияние следующие факторы:

- климато-географические;
- социальные;
- экологические (физические, химические и биологические);
- «медицинские» (влияние лекарственных веществ, оперативные вмешательства, стресс и т.д.).

Среди климато-географических факторов на иммунный статус оказывают влияние температура, влажность, солнечная радиация, длина светового дня и др. Например, фагоцитарная реакция и кожные аллергические пробы менее выражены у жителей северных регионов, чем у южан. Вирус Эпштейна-Барр у людей белой расы вызывает инфекционное заболевание – мононуклеоз, у лиц негроидной расы – онкопатологию (лимфома Беркит-

та), а у лиц желтой расы – совсем другую онкопатологию (назофарингеальная карцинома), причем, только у мужчин.

К социальным факторам, оказывающим влияние на иммунный статус, относятся питание, жилищно-бытовые условия, профессиональные вредности и т.п. Важное значение имеет сбалансированное и рациональное питание, поскольку с пищей в организм поступают вещества, необходимые для синтеза иммуноглобулинов, для построения иммунокомпетентных клеток и их функционирования. Особенно важно, чтобы в рационе присутствовали незаменимые аминокислоты и витамины, особенно А и С.

Значительное влияние на иммунный статус организма оказывают жилищно-бытовые условия. Проживание в плохих жилищных условиях ведет к снижению общей физиологической реактивности, соответственно иммунореактивности, что нередко сопровождается повышением уровня инфекционной заболеваемости.

Большое влияние на иммунный статус оказывают профессиональные вредности, поскольку человек проводит на работе значительную часть своей жизни. К производственным факторам, которые могут оказывать неблагоприятное воздействие на организм и снижать иммунореактивность, относят ионизирующую радиацию, химические вещества, микробы и продукты их жизнедеятельности, температуру, шум, вибрацию и т.д. Источники радиации получили в настоящее время очень широкое распространение в различных отраслях промышленности (энергетика, горно-химическая, аэрокосмическая и др.).

Неблагоприятное влияние на иммунный статус оказывают соли тяжелых металлов, ароматические, алкилирующие соединения и другие химические вещества, в том числе, моющие средства, дезинфектанты, пестициды, ядохимикаты, широко применяемые в практике. Таким профессиональным вредностям подвержены работники химических, нефтехимических, металлургических производств и др.

Неблагоприятное влияние на иммунный статус организма оказывают микробы и продукты их жизнедеятельности (чаще всего, белки и их комплексы) у работников биотехнологических производств, связанных с производством антибиотиков, вакцин, ферментов, гормонов, кормового белка и др.

Такие факторы, как низкая или высокая температура, шум, вибрация, недостаточная освещенность, могут снижать иммунореактивность, оказывая опосредованное действие на иммунную систему через нервную и эндокринную системы, которые находятся в тесной взаимосвязи с иммунной системой.

Глобальное действие на иммунный статус человека оказывают экологические факторы, в первую очередь, загрязнение окружающей среды радиоактивными веществами (отработанным топливом из ядерных реакторов, утечка радионуклидов из реакторов при авариях), широкое применение пестицидов в сельском хозяйстве, выбросами химических предприятий и автотранспорта, биотехнологических производств.

На иммунный статус оказывают влияние различные диагностические и лечебные медицинские манипуляции, лекарственная терапия, стресс. Необоснованное и частое применение рентгенографии, радиоизотопного сканирования может влиять на иммунную систему. Иммунореактивность изменяется после травм и хирургических операций. Многие лекарственные препараты, в том числе, антибиотики, способны оказывать побочное иммунодепрессивное действие, особенно, при длительном приеме. Стресс приводит к нарушениям в работе Т-системы иммунитета, действуя, в первую очередь, через ЦНС.

Несмотря на вариабельность иммунологических показателей в норме, иммунный статус можно определить путем постановки комплекса лабораторных тестов, включающих оценку состояния факторов неспецифической резистентности, гуморального (В-система) и клеточного (Т-система) иммунитета.

Оценка иммунного статуса проводится в клинике при трансплантации органов и тканей, аутоиммунных заболеваниях, аллергиях, для выявления иммунологической недостаточности при различных инфекционных и соматических заболеваниях, для контроля эффективности лечения болезней, связанных с нарушениями иммунной системы. В зависимости от возможностей лаборатории оценка иммунного статуса чаще всего базируется на определении комплекса следующих показателей:

1) общего клинического обследования;
2) состояния факторов естественной резистентности;
3) гуморального иммунитета;
4) клеточного иммунитета;
5) дополнительных тестов.

При общем клиническом обследовании учитывают жалобы пациента, анамнез, клинические симптомы, результаты общего анализа крови (включая абсолютное число лимфоцитов), данные биохимического исследования.

Знакомство врача с пациентом начинается, как правило, с ознакомления с его паспортными данными (возраст) и предъявляемыми жалобами. Уже на этом этапе врач может узнать о профессии и стаже работы пациента (наличие профессиональных вредностей). Из высказываемых жалоб следует обратить внимание на рецидивирующую оппортунистическую инфекцию, аллергию.

При сборе анамнеза важно выяснить, какие заболевания перенес пациент в детстве, особенно вирусные и паразитарные, часто оставляющие после себя иммунодефициты. Учитывают наличие наследственных заболеваний, аллергий, злокачественных новообразований. Полезно также расспросить пациента о перенесенных травмах и операциях, о наличии хронических соматических заболеваний и тех лекарственных препаратах, которые он принимает.

При осмотре больного обращают внимание на чистоту кожных покровов и слизистых, на которых можно обнаружить проявления оппортунистических инфекций, аллергии.

При пальпации и перкуссии уделяют внимание состоянию центральных (тимус) и периферических (лимфатические узлы, селезенка) органов иммунной системы, их размерам, спаянности с окружающими тканями, болезненности при пальпации.

В процессе перкуссии и аускультации фиксируют симптомы, характерные для оппортунистических инфекций при поражении внутренних органов.

Заканчивается клинический раздел обследования общим анализом крови, который дает представление о состоянии иммунокомпетентных клеток (абсолютное число лимфоцитов, фагоцитов).

При оценке состояния факторов естественной резистентности определяют фагоцитоз, комплемент, интерфероновый статус, колонизационную резистентность. Функциональную активность фагоцитов определяют по их подвижности, адгезии, поглощению, дегрануляции клеток, внутриклеточному киллингу и расщеплению захваченных частиц, образованию активных форм кислорода. С этой целью, используют такие тесты, как определение фагоцитарного индекса, НСТ-тест (нитросиний тетразолий), хемилюминесценцию и др. Состояние системы комплемента определяют в реакции гемолиза (результат учитывают по 50%-му гемолизу). Интерфероновый статус выявляют путем титрования на культуре клеток уровня интерферона в сыворотке крови. Колонизационную резистентность определяют по степени дисбиоза различных биотопов организма (чаще всего, толстой кишки).

Гуморальный иммунитет определяют по уровню иммуноглобулинов классов G, M, A, D, E в сыворотке крови, количеству специфических антител, катаболизму иммуноглобу-

линов, гиперчувствительности немедленного типа, показателю В-лимфоцитов в периферической крови, бласттрансформации В-лимфоцитов под действием В-клеточных митогенов и другим тестам.

Для определения концентрации иммуноглобулинов разных классов в сыворотке крови обычно используют радиальную иммунодиффузию по Манчини. Титр специфических антител (изогемагглютинины групп крови, антитела, образующиеся после вакцинации, естественные антитела) в сыворотке определяют в различных иммунологических реакциях (агглютинация, РПГА, ИФА и другие тесты). Для определения катаболизма иммуноглобулинов, используют радиоизотопные метки. Число В-лимфоцитов в периферической крови устанавливают путем определения специфических рецепторов на клетках с помощью моноклональных антител (кластерный анализ) или в реакции розеткообразования (ЕАС-РОК эритроциты в присутствии антител и комплемента образуют розетки с В-лимфоцитами). Функциональное состояние В-лимфоцитов определяют в реакции бласттрансформации, путем стимуляции клеток митогенами, такими, как лаконаса и др. При оптимальных условиях культивирования В-лимфоцитов с митогенами, показатель трансформации в бласты может достигать 80%. Подсчет бластов проводят под микроскопом, с использованием специальных гистохимических методов окраски или же с помощью радиоактивной метки – по включению в ДНК клетки тимидина, меченного тритием.

Состояние клеточного иммунитета оценивают по количеству Т-лимфоцитов, а также субпопуляций Т-лимфоцитов в периферической крови, бласттрансформации Т-лимфоцитов под действием Т-клеточных митогенов, определению гормонов тимуса, уровню секретируемых цитокинов, а также постановкой кожных проб с аллергенами, контактной сенсибилизацией динитрохлорбензолом. Для постановки кожных аллергических проб, используются антигены, к которым в норме должна быть сенсибилизация, например, проба Манту с туберкулином. Способность организма к индукции первичного иммунного ответа может дать контактная сенсибилизация динитрохлорбензолом.

Для определения числа Т-лимфоцитов в периферической крови используют реакцию розеткообразования Е-РОК, поскольку, эритроциты барана образуют с Т-лимфоцитами спонтанные розетки, а для определения числа субпопуляций Т-лимфоцитов – реакцию розеткообразования ЕА-РОК. Реакции розеткообразования используют в связи с тем, что на мембране Т-хелпера имеется рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулина М, а на мембране Т-супрессора – рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулина G, поэтому Т-хелперы образуют розетки с эритроцитами, связанными с антиэритроцитарными антителами класса IgM, а супрессоры образуют розетки с эритроцитами, связанными с антиэритроцитарными антителами класса IgG. Однако, реакции розеткообразования для дифференциации Т-лимфоцитов уступили место более точному и современному методу определения популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов. – кластерному анализу, основанному на использовании моноклональных антител к рецепторам лимфоцитов.

Бласттрансформацию Т-лимфоцитов, т.е. их функциональную активность, определяют путем стимуляции Т-клеточными митогенами, такими, как конканавалин А или фитогемагглютинин. Под влиянием митогенов зрелые лимфоциты трансформируются в лимфобласты, которые можно подсчитать под микроскопом или обнаружить по радиоактивной метке.

Для оценки состояния функции тимуса чаще всего применяют определение уровней тимозина и тимулина, являющихся отражением функции эпителиальных клеток стромы тимуса.

Для определения уровня секретируемых иммуноцитокинов (интерлейкины, миелопептиды и др.) используют иммуноферментные методы, основанные на применении монокло-

нальных антител к двум различным эпитопам цитокина. С этой целью, можно также применять реакцию торможения миграции лейкоцитов.

В качестве дополнительных тестов для оценки иммунного статуса, можно использовать такие тесты, как определение бактерицидности сыворотки крови, титрование С3-, С4-компонентов комплемента, определение содержания С-реактивного белка в сыворотке крови, определение ревматоидного фактора и других аутоантител.

Таким образом, оценка иммунного статуса проводится на основании постановки большого числа лабораторных тестов, позволяющих оценить состояние как гуморального и клеточного звеньев иммунной системы, так и факторов неспецифической резистентности. Очевидно, что некоторые из применяемых тестов сложны в исполнении, требуют дорогостоящих иммунохимических реагентов, современного лабораторного оборудования, а также высокой квалификации персонала, в связи с чем, они выполнимы ограниченным числом лабораторий. Поэтому по рекомендации Р. В. Петрова все тесты разделены на две группы: тесты 1-го и 2-го уровня. Тесты 1-го уровня могут быть выполнены в любой клинической иммунологической лаборатории первичного звена здравоохранения, они используются для первичного выявления лиц с явно выраженной иммунопатологией. Для более точной диагностики используются тесты 2-го уровня.

На первом уровне выявляют грубые дефекты клеточного и гуморального иммунитета, а также фагоцитарного звена. К ним относят: определение относительного и абсолютного количества лимфоцитов и абсолютного количества лейкоцитов, содержание Е-РОК (Т-лимфоциты) и ЕАС-РОК (В-лимфоциты); уровень сывороточных IgG, IgA, IgM; оценку фагоцитарной активности лейкоцитов; физические методы исследования лимфоидных органов (рентгенография, компьютерная томография и т.д.).

На втором уровне исследуют более сложные и информативные показатели: количество субпопуляций Т-лимфоцитов, спонтанную миграцию и торможение миграции лейкоцитов в присутствии митогенов; выраженность кожных реакций на аллергены; пролиферативную активность лимфоцитов; функциональную активность лимфоцитов; наиболее значимые медиаторы иммунной системы; определение компонентов системы комплемента; анализ стадии фагоцитоза; гистохимический анализ лимфоидных органов и т.д.

Таблица 14. 1

Нормальные иммунологические показатели жителей города Ташкента (% относительное и абсолютное количество в 1 мкл крови) (Ф. Ю. Гариб, М. В. Залялиева, 2004 г.)

Иммунологические показатели	Возрастные группы			
	Новорожденные (M±2d)	Дети до 3 лет (M±2d)	Дети от 3 до 14 лет (M±2d)	Взрослые 21-59 лет (M±2d)
Лимфоциты	27-35 2215-5595	32-61 3575-5293	22-53 1298-4478	25-30 1417-1937
Т-лимфоциты	24-53 1054-2014	40-74 1778-3267	46-80 1334-2304	58-69 864-1152
Т-хелперы	6-10 213-373	13-17 559-771	13-18 375-514	17-23 290-384
Т-супрессоры	2-10 80-330	8-15 341-660	7-14 199-407	7-12 121-214
Beac-лимфоциты	9-29 348-1128	20-40 899-1751	18-35 531-1016	15-26 243-429

Вем-лимфоциты	-	7-26 293-1143	6-15 173-450	5-19 84-318
Big+-лимфоциты	-	13-34 589-1511	13-36 364-1057	18-36 297-598
В-хелперы	-	5-7 213-337	3-10 75-306	2-6 40-107
В-супрессоры	-	4-8 164-359	2-10 32-323	2-8 33-134
IgA (мг%)	-	-	34-274	145-186
IgM (мг%)	18-114	-	49-149	52-239
IgG (мг%)	1198-1422	-	896-1276	546-1594

Примечание: Количество субпопуляций Т- и В-клеток относительно общему количеству лимфоцитов.

Трактовка иммунограмм. Иммунограмма является паспортом иммунного статуса пациента. Правильная её оценка позволяет установить характер и степень иммунных нарушений у больного, выявить ведущие маркерные показатели. На основании этого, выбирается или отвергается профильная иммуномодулирующая терапия и проводится коррекция традиционного лечения.

Количественное определение отдельных классов иммунных глобулинов, даёт возможность судить о функциональной активности различных по локализации лимфоидных органов. Так, селезенка и лимфатические узлы синтезируют в основном IgM и IgG. Лимфатические узлы брюшной полости – IgA, рассеянные лимфоидные элементы органов дыхания – IgE.

Оценка иммунограммы является основным методом идентификации иммунных расстройств. При анализе её данных необходимо учитывать следующие обстоятельства:

- многие лекарственные препараты обладают способностью изменять величины составляющих лейкограммы, что вызывает столь же выраженную вариацию тесно связанных с ним параметров иммунного статуса;

- необходимо учитывать характерные изменения лейкограммы при различных патологических процессах;

- следует принимать во внимание естественную динамику иммунных показателей при развитии инфекционно-воспалительных процессов.

При анализе иммунограмм необходимо помнить, что во многих случаях, наиболее важным является Т-звено иммунитета. Информативные регуляторные субпопуляции Т-клеток. Русскими учёными А. Н. Чередеевым и Л. В. Ковальчуком разработана шкала оценки вариантов иммунных расстройств, позволяющая диагностировать некоторые заболевания до их клинического проявления. Возможны следующие варианты:

- умеренное увеличение содержания Т-хелперов и умеренное снижение Т-супрессоров характерно для аутоиммунных и аллергических заболеваний;

- умеренное увеличение Т-супрессоров и умеренное снижение Т-хелперов свидетельствует об иммунодефицитных заболеваниях;

- накопление Т-супрессоров и почти полное отсутствие Т-хелперов встречается при злокачественных новообразованиях;

- снижение количества Т-хелперов и нормальное содержание Т-супрессоров регистрируется при СПИДе и ассоциированных с ним заболеваниях различной этиологии;

- повышение Т-хелперов и нормальное содержание Т-супрессоров наблюдается при аутоиммунных процессах и заболеваниях;

- нормальное содержание Т-хелперов и увеличение Т-супрессоров сопровождает иммунодефицитные состояния, реже опухоли и аутоаллергические заболевания;

- нормальное количество Т-хелперов и снижение Т-супрессоров присуще аллергическим и аутоиммунным процессам и заболеваниям;

- снижение числа Т-хелперов и Т-супрессоров бывает при интоксикациях, после проведения массивной иммуносупрессорной терапии, ионизирующего облучения, стрессов;

- увеличение количества Т-хелперов и Т-супрессоров маркирует начало вирусных инфекций, иногда задолго до клинической картины.

Таблица 14. 2

Трактовка данных иммунограммы (по А. М. Земскову)

Показатель	Динамика	Проявление
Т-звено иммунитета		
Т-клетки (CD3+)	Повышение	Лимфоцитоз, формирование клеточного иммунитета, стадия кризиса инфекционного процесса
	Понижение	Лимфопения, Т-клеточный иммунодефицит, инкубационный, продромальный, реконвалесцентный периоды инфекции
Т-хелперы (CD4+)	Повышение	Лимфоцитоз, формирование гуморального иммунитета, аллергические, аутоиммунные заболевания, начало вирусных инфекций
	Понижение	Т-клеточный иммунодефицит, злокачественные опухоли, СПИД, СПИД–подобные заболевания, интоксикация, массивная иммуносупрессорная терапия, ионизирующее облучение, стрессы
Т-супрессоры/ цитотоксические клетки (CD8+)	Повышение	Инфекции, злокачественные опухоли, поствакциональный период, аллотрансплантация, иммунодефицитные состояния, аллергия, инкубационный период вирусных нфекций
	Понижение	Аутоиммунные, аллергические заболевания, иммунодефицитные состояния, злокачественные опухоли, интоксинация, иммуносупрессорная терапия, облучение, стрессы
Т-клетки CD3+ CD4- CD8-	Появление	Нарушение созревания Т-лимфоцитов, аутоиммунные заболвания, ионизирующее облучение
Т-клетки CD3+ CD4+ CD8+	Повышение	Нарушение созревания Т-лимфоцитов, аутоиммунные заболевания, ионизирующее облучение
Носители маркера апоптоза (CD95+)	Повышение	Активированный иммунный ответ, острые вирусные инфекции, включая СПИД и вирусный гепатит
Т-клетки с рецептором для ИЛ-2 (CD25+)	Повышение	Активация иммунной системы
	Понижение	Первичный Т-клеточный иммунодефицит, СПИД
В-звено иммунитета		
В-клетки (CD19+, 20+)	Повышение	Формирование гуморального иммунитета, инфекционные, аутоиммунные, аллергические, лимфопролиферативные заболевания, трансплантация

	Понижение	Активное антителообразование, первичный В-иммунодефицит, накопление В-лимфоцитов в органе-мишени
Иммуноглобулины	Повышение	Иммунная реакция на антиген, митогенный эффект микрофлоры, снижение катаболической функции печени
IgG	Повышение	Инфекции, болезни печени, аутоиммунные заболевания, IgG-продуцирующие миеломы
	Понижение	У новорожденных, замедленное созревание иммунной системы, лимфоидные неоплазмы
IgM	Повышение	Инфекции у новорожденных, острый гепатит – макроглобулинемия
IgA	Повышение	Респираторные и кишечные инфекции, миеломы
	Понижение	Лимфоидные опухоли
IgE	Повышение	Аллергия (гиперчувствительность немедленного типа)
Факторы неспецифической резистентности		
Естественные киллеры (CD16+)	Повышение	Вирусные, бактериальные инфекции, злокачественные опухоли, аллергические, аутоиммунные заболевания
	Понижение	Хронические инфекции, аллергические заболевания, лимфолейкоз
Клетки с HLA маркером	Повышение	Активный иммунный ответ
	Понижение	Аутоиммунные, злокачественные заболевания
Фагоцитоз	Повышение	Хронические инфекции лёгких, кожи, мочевыводящих путей, ревматоидный артрит, системная красная волчанка
РТМЛ	Понижение	Первичный иммунодефицит, злокачественные новообразования, расстройства обмена веществ, острые вирусные инфекции, туберкулёз, сифилис, менингококковые поражения и др.
НСТ-тест	Повышение	Инфаркт миокарда, тяжёлые травмы, гемодиализ, лучевая терапия, ревматоидный артрит, острые бактериальные инфекции, туберкулёз легких
	Понижение	Гемофилия, лейкозы, гранулематозная болезнь, эритремия, железодефицитная анемия
Комплемент	Повышение	Амилоидоз, злокачественные опухоли, острое воспление, травма, обструкция жёлчных путей, послеоперационный период
	Понижение	Хронический гломерулонефрит, болезнь Рейно, ревматоидный артрит, сывороточная болезнь, системная красная волчанка, эндокардит, аутоиммунная гемолитическая анемия, острые вирусные, бактериальные инфекции, злокачественные опухоли

Таблица 14. 3

Трактовка динамики цитокинов (по А. М. Земскову)

Цитокин	Динамика	Проявления
ИЛ-1	Стимуляция	Острые аутоиммунные, аллергические, инфекционные заболевания
	Супрессия	Хронические аутоиммунные, аллергические, инфекционные заболевания
ИЛ-1 РА	Стимуляция	Воспаление
ИЛ-2	Стимуляция	Лимфопролиферативные, аутоиммунные заболевания,
	Супрессия	Т-иммунодефициты
ИЛ-4	Стимуляция	Формирование гуморального иммунитета, аллергия,
	Супрессия	Хронические аутоиммунные, аллергические процессы
ИФН-β	Стимуляция	Снижение реакции на антигены, хроническое инфекционное воспаление
ИФН-γ	Стимуляция	Стимуляция клеточного иммунитета, воспаление
ИЛ-6	Стимуляция	Формирование гуморального иммунитета
ИЛ-8	Стимуляция	Активация нейтрофильного звена
	Супрессия	Хронический инфекционный процесс
ИЛ-10	Стимуляция	Ремиссия аутоиммунных, аллергических заболеваний
ФНО-α, β	Стимуляция	Активация цитотоксичности, воспаление

ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Прогресс в области экспериментальной и клинической иммунологии позволил разработать множество методов лабораторной диагностики, основанных на применении антител и антигенов. Иммунологические методы широко применяются в диагностике, профилактике и терапии инфекционных и неинфекционных заболеваний:

1. Оценка состояния иммунной системы человека (иммунного статуса) по определению количественных и функциональных характеристик клеток иммунной системы и их продуктов.

2. Определение состава и характеристик тканей человека: групп крови, резус-фактора, трансплантационных антигенов.

3. Диагностика инфекционных болезней и резистентности к ним по обнаружению и установлению титров антител (серодиагностика), выявлению антигенов возбудителей в организме, определению клеточных реакций на эти антигены.

4. Сероидентификация культур бактерий и вирусов, выделенных из организма человека и животных.

5. Выявление в организме человека и во внешней среде любых веществ, обладающих антигенными или гаптенными свойствами (гормоны, ферменты, яды, лекарства, наркотики и т.п.).

6. Выявление иммунопатологических состояний, аллергий, трансплантационных и противоопухолевых реакций.

Вместе с тем, иммунологические методы лежат в основе создания вакцин, сывороточных препаратов для предупреждения и лечения инфекционных болезней, благодаря которым, были спасены миллионы человеческих жизней.

Одной из основных задач иммунодиагностики человека, является выявление наличия и особенностей иммунного ответа организма на антигенное воздействие.

Обнаружение антител к предполагаемому возбудителю служит одним из основных диагностических признаков инфекционного заболевания.

Реакции антиген-антитело

Реакции между антигенами и антителами in vitro или серологические реакции широко используются в микробиологических и серологических (иммунологических) лабораториях с самыми разнообразными целями: 1) серодиагностики бактериальных, вирусных, реже других инфекционных заболеваний; 2) сероидентификации выделенных бактериальных, вирусных и других культур различных микроорганизмов.

По результатам серодиагностических реакций судят о динамике накопления антител в процессе заболевания, о напряженности постинфекционного, либо поствакцинального иммунитета.

Серологические методы (от лат. serum – сыворотка и logos – учение), т.е. методы изучения антител и антигенов с помощью реакций антиген-антитело в сыворотке, плазме и цельной крови и в других биологических жидкостях организма. В серологических реакциях участвуют антитела, принадлежащие главным образом к иммуноглобулинам классов IgG и IgM.

В серологических реакциях механизм связывания детерминанты антигена (эпитопа) с активным центром Fab-фрагмента антител обусловлено вандерваальсовыми силами, водородными связями и гидрофобным взаимодействием. Прочность и количество связавшегося антигена антителами зависит от аффинности, авидности антител и их валентности.

При выделении микроба от больного проводят идентификацию возбудителя, путем изучения его антигенных свойств, с помощью иммунных диагностических сывороток, т.е. сывороток крови гипериммунизированных животных, содержащих специфические антитела. Это, так называемая, серологическая идентификация микроорганизмов.

В микробиологии и иммунологии широко применяются реакции агглютинации, преципитации, нейтрализации, реакции с участием комплемента, с использованием меченых антител и антигенов (радиоиммунологический, иммуноферментный, иммунофлюоресцентный методы). Перечисленные реакции различаются по регистрируемому эффекту и технике постановки, однако, все они основаны на реакции взаимодействия антигена с антителом и применяются для выявления как антител, так и антигенов. Каждая серологическая реакция характеризуется специфичностью и чувствительностью. Под чувствительностью понимают способность аналитической системы выявлять минимальное количество вещества, которое может быть обнаружено в исследуемом образце. Чувствительность определяют с помощью биологического стандарта и рассчитывают в весовых или условных единицах объема (например, нг/мл, МЕ/мл). Чем выше чувствительность, тем меньше ложноотрицательных результатов. Под специфичностью понимают способность аналитической системы измерять только одну, строго определенную субстанцию, т.е. способность антигенов или антител реагировать только с гомологичными антителами или антигенами, содержащимися в биологических жидкостях организма. Специфичность определяют с помощью референс-материалов, которые тождественны по своей биологической



Рис. 14.1. Ориентировочная реакция агглютинации на стекле

природе исследуемому образцу, но не содержат определяемую биологическую субстанцию. Чем выше специфичность, тем меньше ложноположительных результатов.

Все серологические реакции можно разделить на несколько групп:

1. Реакции, протекающие с укрупнением частиц антигена в растворе электролита (хлорида натрия) (реакции агглютинации, пассивной агглютинации, реакция преципитации с ее различными вариантами).

2. Реакции, протекающие с нейтрализацией антигена (реакция нейтрализации токсина антитоксином (флоккуляция), реакция нейтрализации вирусов, реакция торможения гемагглютинации).

3. Реакции, протекающие с участием комплемента (реакции связывания комплемента, гемолиза и их модификации).

4. Реакции, протекающие с участием фагоцитов (опсоно-фагоцитарная реакция и др.).

5. Реакции, протекающие с участием меченых антигенов или антител (реакции иммунофлюоресценции, радиоиммунный и иммуноферментный анализы, иммуноблот).

Реакция агглютинации и ее варианты – РА (от лат. agglutinatio – склеивание) – простая по постановке реакция, при которой происходит связывание антителами корпускулярных антигенов (бактерий, эритроцитов или других клеток, нерастворимых частиц с адсорбированными на них антигенами, а также макромолекулярных агрегатов). Она протекает при наличии электролитов, например, при добавлении изотонического раствора натрия хлорида. Механизм реакции агглютинации описывается теорией «решетки», согласно которой агглютинат образуется при соединении одного активного центра двухвалентного антитела с детерминантной группой одного антигена, а второго активного центра – с детерминантной группой другого антигена. Избыток или недостаток антител препятствует проявлению агглютинации. Иммуноглобулины известных классов обладают разными агглютинационными свойствами. Так, способность к агглютинации молекул IgM 160-180 раз выше, чем молекул IgG (рис. 14.1).

Применяются различные варианты реакции агглютинации: развернутая, прямая или ориентировочная, непрямая и др. Реакция агглютинации проявляется образованием хлопьев или осадка. РА используют для определения антител в сыворотке крови больных (например, при бруцеллезе – реакции Райта, Хеддельсона, брюшном тифе и паратифах – реакция Видаля и других инфекционных болезнях); определения возбудителя, выделенного от больного; определения групп крови с использованием моноклональных антител против аллоантигенов эритроцитов.

Для определения у больного антител ставят развернутую реакцию агглютинации: к разведениям сыворотки крови больного добавляют диагностикум (взвесь убитых микробов) и через несколько часов инкубации при 37 °С отмечают наибольшее разведение сыворотки (титр сыворотки), при котором произошла агглютинация, т.е. образовался осадок.



Рис. 14.2. Развернутая реакция агглютинации

Титром сыворотки называется то ее максимальное разведение, в котором наблюдается агглютинация антигена (рис. 14.2).

Характер и скорость агглютинации зависят от вида антигена и антител. Примером являются особенности взаимодействия диагностикумов (О- и Н-антигенов) со специфическими антителами. Реакция агглютинации с О-диагностикумом (бактерии, убитые нагреванием, сохранившие термостабильный О-антиген) происходит в виде мелкозернистой агглютинации. Реакция агглютинации с Н-диагностикумом (бактерии, убитые формалином, сохранившие термолабильный жгутиковый Н-антиген) – крупно-хлопьевидный и протекает быстрее. Если необходимо определить возбудитель, выделенный от больного, ставят ориентировочную реакцию агглютинации, применяя диагностические антитела (агглютинирующую сыворотку), т.е. проводят серотипирование возбудителя. Ориентировочную реакцию проводят на предметном стекле. К капле диагностической агглютинирующей сыворотки в разведении 1:10 или 1:20 добавляют чистую культуру возбудителя, выделенного от больного. Рядом ставят контроль: вместо сыворотки наносят каплю раствора натрия хлорида. При появлении в капле с сывороткой и микробами хлопьевидного осадка ставят развернутую реакцию агглютинации в пробирках с увеличивающимися разведениями агглютинирующей сыворотки, к которым добавляют по 2-3 капли взвеси возбудителя. Агглютинацию учитывают по количеству осадка и степени просветления жидкости. Реакцию считают положительной, если агглютинация отмечается в разведении, близком к титру диагностической сыворотки. Одновременно, учитывают контроли: сыворотка, разведенная изотоническим раствором натрия хлорида, должна быть прозрачной, взвесь микробов в том же растворе – равномерно мутной, без осадка.

Разные родственные бактерии могут агглютинироваться одной и той же диагностической агглютинирующей сывороткой, что затрудняет их идентификацию. Поэтому пользуются адсорбированными агглютинирующими сыворотками, из которых удалены перекрестно реагирующие антитела путем адсорбции их родственными бактериями. В таких сыворотках сохраняются антитела, специфичные только к данной бактерии. Получение таким способом монорецепторных диагностических агглютинирующих сывороток было предложено А. Кастелляни (1902).

Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА, РПГА) основана на использовании эритроцитов (или латекса) с адсорбированными на их поверхности антигенами или антителами, взаимодействие которых с соответствующими антителами или антигенами сыворотки крови больных вызывает склеивание и выпадение эритроцитов на дно пробирки или ячейки в виде фестончатого осадка. При отрицательной реакции эритроциты оседают в виде «пуговки». Обычно в РНГА выявляют антитела с помощью антигенного эритроцитарного диагностикума, который представляет собой эритроциты с

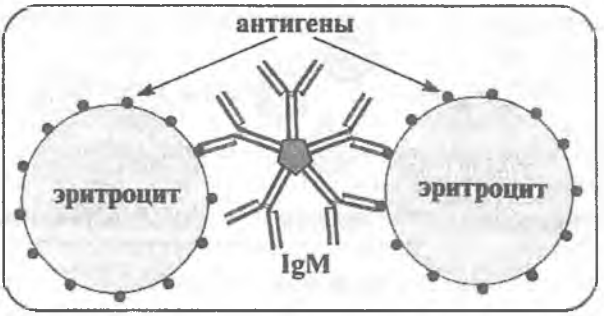


Рис. 14.3. Реакция непрямой (пассивной) агглютинации

адсорбированными на них антигенами. Иногда применяют антительные эритроцитарные диагностикумы, на которых адсорбированы антитела. Например, можно обнаружить ботулинический токсин, добавляя к нему эритроцитарный антительный ботулинический диагностикум (такую реакцию называют реакцией обратной непрямой гемагглютинации – РОНГА). РНГА применяют для диагностики инфекционных болезней, определения гонадотропного гормона в моче при установлении беременности, для выявления повышенной чувствительности к лекарственным препаратам, гормонам и в некоторых других случаях (рис. 14.3).

Реакция коагглютинации. Клетки возбудителя определяют с помощью стафилококков, предварительно обработанных иммунной диагностической сывороткой. Стафилококки, содержащие белок А, имеющий сродство к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, неспецифически адсорбируют антимикробные антитела, которые затем взаимодействуют активными центрами с соответствующими микробами, выделенными от больных. В результате коагглютинации образуются хлопья, состоящие из стафилококков, антител диагностической сыворотки и определяемого микроба.

Реакцию агглютинации для определения групп крови применяют для установления системы АВО с помощью агглютинации эритроцитов антителами иммунной сыворотки против антигенов групп крови А(II), В(III). Контролем служат: сыворотка, не содержащая антител, т.е. сыворотка АВ(IV) группы крови; антигены, содержащиеся в эритроцитах групп А(II), В(III). Отрицательный контроль не содержит антигенов, т.е. используют эритроциты группы О(I).

В реакции агглютинации для определения резус-фактора используют антирезусные сыворотки (не менее двух различных серий). При наличии на мембране исследуемых эритроцитов резус-антигена происходит агглютинация этих клеток. Контролем служат стандартные резус-положительные и резус-отрицательные эритроциты всех групп крови.

Реакцию агглютинации для определения антирезусных антител (непрямую реакцию Кумбса) применяют у больных при внутрисосудистом гемолизе. У некоторых таких больных обнаруживают антирезусные антитела, которые являются неполными, одновалентными. Они специфически взаимодействуют с резус-положительными эритроцитами, но не вызывают их агглютинации. Наличие таких неполных антител определяют в непрямой реакции Кумбса. Для этого, в систему антирезусные антитела + резус-положительные эритроциты добавляют антиглобулиновую сыворотку (антитела против иммуноглобулинов человека), что вызывает агглютинацию эритроцитов. С помощью реакции Кумбса диагностируют патологические состояния, связанные с внутрисосудистым лизисом эритроцитов иммунного генеза, например, гемолитическую болезнь новорожденных: эрит-

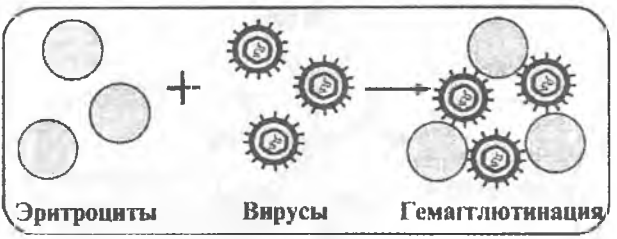


Рис. 14.4. Реакция гемагглютинации

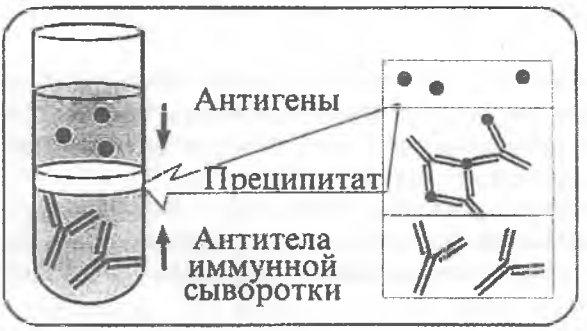


Рис. 14.5. Реакция кольцепреципитации

роциты резус-положительного плода соединяются с циркулирующими в крови неполными антителами к резус-фактору, которые перешли через плаценту от резус-отрицательной матери.

Реакция преципитации – РП (от лат. praecipito – осаждать) – это формирование и осаждение комплекса растворимого молекулярного антигена с антителами в виде помутнения, называемого преципитатом. Он образуется при смешивании антигенов и антител в эквивалентных количествах; избыток одного из них снижает уровень образования иммунного комплекса. Таким образом, преципитация и агглютинация – это довольно сходные реакции, которые различаются главным образом на основании физических свойств антигена. В первом случае, он представлен в растворимой, во втором – корпускулярных формах.

Реакции преципитации ставят в пробирках (реакция кольцепреципитации), в гелях, питательных средах и др. Широкое распространение получили разновидности реакции преципитации в полужидком геле агара или агарозы: двойная иммуннодиффузия по Оухтерлони, радиальная иммунодиффузия, иммуноэлектрофорез и др. Картину преципитата можно оценить макроскопически, но более точен учет реакции с помощью нефелометрии (по степени помутнения раствора).

Реакция кольцепреципитации. Реакцию проводят в узких преципитационных пробирках с иммунной сывороткой, на которую наслаивают растворимый антиген. При оптимальном соотношении антигена и антител на границе этих двух растворов образуется непрозрачное кольцо преципитата. Избыток антигена не влияет на результат реакции кольцепреципитации вследствие постепенной диффузии реагентов к границе жидкости. Если в качестве антигенов в реакции кольцепреципитации используют прокипяченные и профильтрованные водные экстракты органов или тканей, то такая реакция называется реакцией термопреципитации (реакция Асколи, при сибирской язве) (рис. 14.5).

Реакция двойной иммуннодиффузии по Оухтерлони. Для постановки реакции растопленный агаровый гель тонким слоем выливают на стеклянную пластинку и после его затвердевания в нем вырезают лунки размером 2-3 мм. В эти лунки раздельно помещают антигены и иммунные сыворотки, которые диффундируют навстречу друг другу. При эквивалентных дозах и сходных условиях диффузии антигена и антител образуется прямая линия посредине – между двумя стартовыми лунками (преципитат в виде белой полосы). При избытке одного из реагентов, эта линия перемещается в направлении к противоположной стартовой лунке. Особое преимущество метода состоит в возможности определения степени идентичности компонентов реакции. С этой целью, обычно в агаре делают три лунки. В одну из них вносят антисыворотку, в дургую – исследуемый антиген, а в третью – взятый для сравнительного анализа антиген (известный или неизвестный). У многокомпонентных систем между лунками с разными антигенами и антителами сыворотки появляется несколько линий преципитата; у идентичных антигенов линии преципитата сливаются; у неидентичных – пересекаются.

Реакция радиальной иммуннодиффузии (простая двухмерная диффузия) по Манчини. Иммунную сыворотку с расплавленным агаровым гелем равномерно наливают на стекло. После застывания в геле делают лунки, в которые помешают антиген в различных разведениях. Антиген, диффундируя в гель, образует с антителами кольцевые зоны преципитации вокруг лунок. Их миграция в агаре продолжается до тех пор, пока не произойдет полное связывание антигена. Диаметр кольца преципитации пропорционален концентрации антигена. Реакцию используют для определения содержания в крови иммуноглобулинов различных классов, компонентов системы комплемента и др.

Иммуноэлектрофорез – сочетание метода электрофореза и иммунопреципитации: смесь антигенов вносится в лунки геля и разделяется в геле с помощью электрофореза. Затем в канавку параллельно зонам электрофореза вносят иммунную сыворотку, антитела которой, диффундируя в гель, образуют в месте «встречи» с антигеном линии преципитации. Он особенно эффективен для исследования препаратов, содержащих смесь антигенов и антител. Локализация линии зависит от электрофоретической подвижности компонентов реакции.

Реакция флоккуляции (РФ) (от лат. floccus – хлопья шерсти) – способность токсина или анатоксина при смешивании в эквивалентных соотношениях с антитоксической сывороткой образовывать помутнение, а затем рыхлый осадок (флоккулят). Ее применяют для определения титрования антитоксических сывороток, токсинов и анатоксинов, а также для определения типа токсина (рис. 14.6).

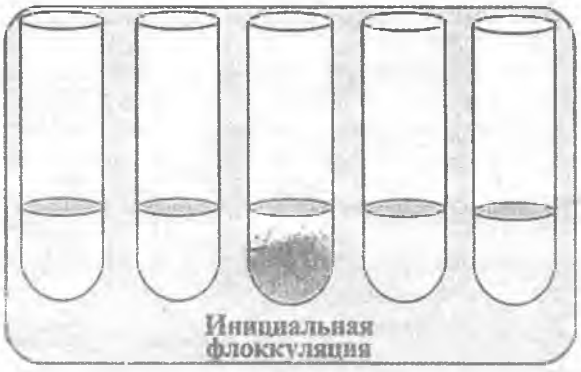


Рис. 14.6. Реакция флоккуляции

Реакции с участием комплемента основаны на активации комплемента комплексом антиген–антитело (реакция связывания комплемента, радиального гемолиза и др.).

Реакция связывания комплемента (РСК) заключается в том, что при соответствии друг другу антигены и антитела образуют иммунный комплекс, к которому через Fc-фрагмент антител присоединяется комплемент (С), т.е. происходит связывание комплемента комплексом антиген-антитело. Если же комплекс антиген-антитело не образуется, то комплемент остается свободным. РСК проводят в две фазы: 1-я фаза – инкубация смеси, содержащей три компонента антиген + антитело + комплемент; 2-я фаза (индикаторная) – выявление в смеси свободного комплемента путем добавления к ней гемолитической системы, состоящей из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к ним. В 1-й фазе реакции при образовании комплекса антиген-антитело происходит связывание им комплемента и тогда во 2-й фазе гемолиз сенсибилизированных антителами эритроцитов не произойдет; реакция положительная. Если антиген и антитело не соответствуют друг другу (в исследуемом образце нет антигена или антитела), комплемент остается свободным и во 2-й фазе присоединится к комплексу эритроцит–антиэритроцитарное антитело, вызывая гемолиз, реакция отрицательная (рис. 14.7).

Интенсивность задержки гемолиза оцениваются по четырех крестной системе, при этом, полное отсутствие гемолиза обозначается 4(+).

РСК применяют для диагностики многих инфекционных болезней, в частности, сифилиса (реакция Вассермана).

Реакцию радиального гемолиза (РРГ) ставят в лунках геля из агара, содержащего эритроциты барана и комплемент. После внесения в лунки геля гемолитической сыворотки (антител против эритроцитов барана) вокруг них (в результате радиальной диффузии антител) образуется зона гемолиза. Таким образом, можно определить активность комплемента и гемолитической сыворотки, а также антитела в сыворотке крови у больных гриппом, краснухой, клещевым энцефалитом. Для этого на эритроцитах адсорбируют соответствующие антигены вируса, а в лунки геля, содержащего данные эритроциты, добавляют сыворотку крови больного. Противовирусные антитела взаимодействуют с вирусными антигенами, адсорбированными на эритроцитах, после чего, к этому комплексу присоединяются компоненты комплемента, вызывая гемолиз.

Реакция локального гемолиза в геле (реакция Ерне). Она позволяет определить число антителообразующих клеток (АОК). Количество клеток, секретирующих антитела – гемолизины, определяют по числу гемолиза, возникающих в агаровом геле, содержащим эритроциты, суспензию клеток исследуемой лимфоидной ткани и комплемент.

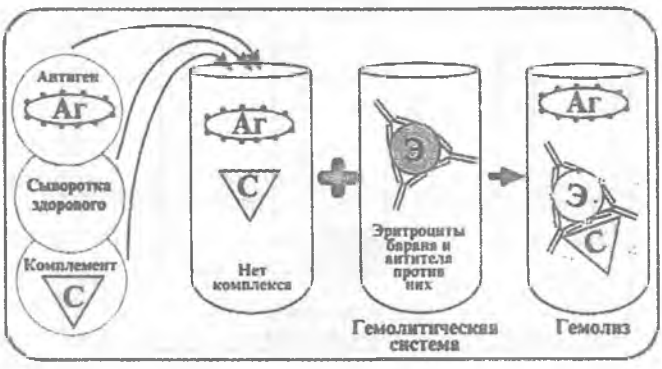


Рис. 14.7. Схема РСК с сывороткой здорового человека

Реакция иммобилизации (РИ). Способность антисыворотки вызывать иммобилизацию подвижных микроорганизмов связан с реакцией между микробными антигенами и специфическими антителами в присутствии комплемента. Иммобилизующие антитела обнаружены при сифилисе, холере и некоторых других инфекционных заболеваниях, возбудители которых являются подвижными микроорганизмами.

Реакция нейтрализации. Антитела иммунной сыворотки способны нейтрализовать повреждающее действие микробов или их токсинов на чувствительные клетки и ткани, что связано с блокадой микробных антигенов антителами, т.е. их нейтрализацией. Реакцию нейтрализации (РН) проводят путем введения смеси антиген-антитело животным или в чувствительные тест-объекты (культуру клеток, эмбрионы). При отсутствии у животных и тест-объектов повреждающего действия микроорганизмов или их антигенов, токсинов говорят о нейтрализующем действии иммунной сыворотки и, следовательно, о специфичности взаимодействия комплекса антиген-антитело.

Реакция нейтрализации in vivo может быть поставлена для выявления антитоксина в организме исследуемого человека. С этой целью в область предплечья внутрикожно вводят незначительное количество токсина. Отсутствие покраснения и припухлости в месте введения токсина свидетельствует о его нейтрализации циркулирующими в крови антитоксином. Данная реакция была предложена Шиком для выявления иммунитета к дифтерии и получила название кожной пробы Шика.

Реакция нейтрализации вирусов. Реакция нейтрализации вирусов нашла широкое применение в вирусологической практике для определения вида (типа) исследуемого вируса и титра вируснейтрализующих антител. В этих случаях используют соответствующие диагностические антисыворотки.

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА) является вариантом реакции нейтрализации вируса. Она основана на способности противовирусной антисыворотки подавлять вирусную гемагглютинацию эритроцитов определенных видов животных (кур, гусей и др.). Это объясняется способностью специфических антисывороток нейтрализовать вирусные гемагглютинины. РТГА применяют для диагностики многих вирусных болезней, возбудители которых (вирусы гриппа, кори, краснухи, клещевого энцефалита и др.) могут агглютинировать эритроциты различных животных.

Опсонофагоцитарная реакция протекает с участием фагоцитов. Она проводится для определения способности антител и комплемента усиливать фагоцитоз. Антитела, стимулирующие фагоцитоз, называют опсонинами. Опсонизация определяется тем, что антитела, присоединившиеся к микроорганизму, обуславливают его быстрое поглощение фагоцитом благодаря тому, что фагоцит обладает рецепторами для Fc-фрагмента иммуноглобулина, присоединившегося к микробной клетке. Комплемент тоже обладает опсонизирующими свойствами, так как фагоцит содержит рецепторы и к компонентам комплемента. Для количественной оценки опсонического эффекта определяют опсонический индекс – отношение показателей фагоцитоза неопсонированных микроорганизмов к показателям фагоцитоза (фагоцитарный индекс и фагоцитарное число) после обработки фагоцитоза антителами и/или комплементом.

Иммунологические методы с использованием меченных антител или антигенов

С помощью изотопной, флюоресцентной или ферментной меток можно значительно повысить чувствительность многих иммунологических методов, кроме того, эта техника способствует совершенствованию методов исследования.



Рис. 14.8. Прямая РИФ

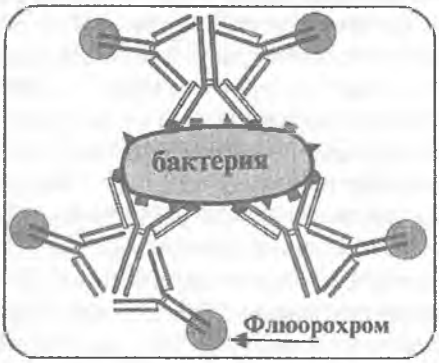


Рис. 14.9. Непрямая РИФ

Реакция иммунофлюоресценции – РИФ (метод Кунса). Различают три основные разновидности метода: прямой, непрямой, с комплементом. Реакция Кунса является методом экспресс-диагностики для выявления антигенов микробов или определения антител.

Прямой метод РИФ, включает обработку материала на предметном стекле (мазок мокроты, срез ткани и др.) меченой флорохромом диагностической антисывороткой. Если на предметном стекле был искомый антиген, антитела фиксируются на антигене, и после отмывки стекла от несвязавшихся антител антиген выявляется в люминесцентном микроскопе по яркому свечению. Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета (рис. 14.8).

Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген-антитело с помощью антиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченной флюорохромом. Для этого мазки из взвеси микробов обрабатывают антителами антимикробной кроличьей диагностической сыворотки. Затем антитела, не связавшиеся антигенами микробов, отмывают, а оставшиеся на микробах антитела выявляют, обрабатывая мазок антиглобулиновой (антикроличьей) сывороткой, меченной флюорохромами. В результате, образуется комплекс микроб + антимикробные кроличьи антитела + антикроличьи антитела, меченные флюорохромом. Этот комплекс наблюдают в люминесцентном микроскопе, как и при прямом методе (рис. 14.9).

Антикомплементарный метод. Используется меченная антикомплементарная сыворотка. Метод применяют для доказательства происходящих in vivo комплементзависимых реакций антиген-антитело, которые, как правило оказывают выраженное патогенное действие (гломерулонефрит, ревматоидный артирит, феномен Артюса).

Иммуноферментный метод или анализ (ИФА). ИФА – выявление антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом-меткой (пероксидазой хрена, бета-галактозидазой или щелочной фосфатазой). После соединения антигена с меченной ферментом иммунной сывороткой в смесь добавляют субстрат/хромоген. Субстрат расщепляется ферментом и изменяется цвет продукта реакции – интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител. Концентрацию антител или антигена в пробе определяют спектрофотометрически – по оптической плотности окрашенного раствора.

Твердофазный ИФА – наиболее распространенный вариант иммунологического теста, когда один из компонентов иммунной реакции (антиген или антитела) сорбирован на твердом носителе, например, в лунках планшеток из полистирола.

При определении антител в лунки планшеток с сорбированным антигеном последовательно добавляют сыворотку крови больного, антиглобулиновую сыворотку, меченную ферментом и субстрат (хромоген) для фермента. Каждый раз после добавления очередного компонента из лунок удаляют несвязавшиеся реагенты путем тщательного промывания. При положительном результате изменяется цвет раствора хромогена. Твердофазный носитель можно сенсибилизировать не только антигеном, но и антителами. Тогда в лунки с сорбированными антителами вносят искомый антиген, добавляют иммунную сыворотку против антигена, меченную ферментом, а затем субстрата для фермента.

Конкурентный вариант ИФА: искомый антиген и меченный ферментом антиген конкурируют друг с другом за связывание ограниченного количества антител иммунной сыворотки. Другой тест – искомые антитела и меченые антитела конкурируют друг с другом за антигены.

ИФА применяют для диагностики вирусных, бактериальных и паразитарных болезней, в частности, для диагностики ВИЧ-инфекций, вирусных гепатитов и др., а также определения цитокинов, гормонов, ферментов, лекарственных препаратов и других биологически активных веществ, содержащихся в исследуемом материале в минорных концентрациях – 10^{-10}–10^{-12} г/л.

Радиоиммунологический метод или анализ (РИА). Высокочувствительный метод, основанный на реакции антиген-антитело с применением антигенов или антител, меченных радионуклидом (^{125}I, ^{14}C, ^{3}H, ^{51}Cr и др.). После их взаимодействия отделяют образовавшийся радиоактивный иммунный комплекс и определяют его радиоактивность в соответствующем счетчике (бета- или гамма-излучение): интенсивность излучения прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител.

При твердофазном варианте РИА один из компонентов реакции (антиген или антитела) сорбирован на твердом носителе, например, в лунках микропанелей из полистирола. Другой вариант метода – конкурентный РИА: искомый антиген и меченный радионуклидом антиген конкурируют друг с другом за связывание ограниченного количества антител иммунной сыворотки. Этот вариант используют для определения количества антигена в исследуемом материале.

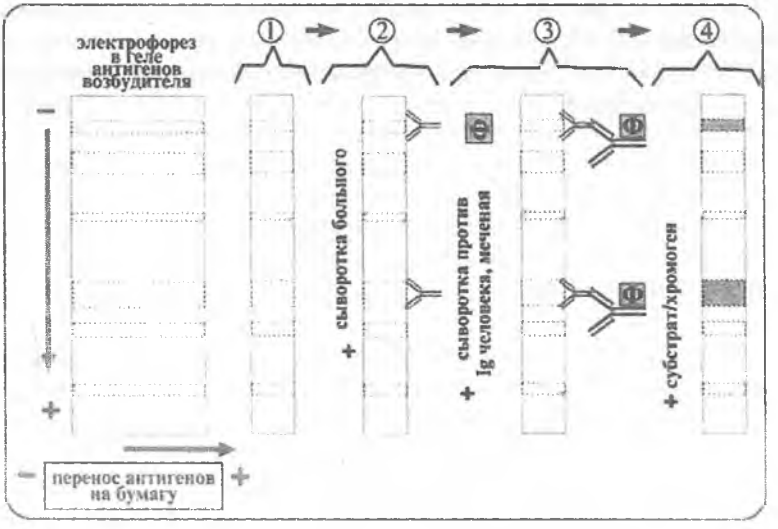


Рис. 14.10. Иммуноблоттинг

РИА применяют для выявления антигенов микробов, определения гормонов, ферментов, лекарственных веществ и иммуноглобулинов, а также иных веществ, содержащихся в исследуемом материале в минорных концентрациях – 10^{-12}–10^{-15} г/л. Метод представляет определенную экологическую опасность.

Иммунохроматографический метод. Тест-система иммуноферментная для выявления антител или антигенов инфекционной или неинфекционной природы (например, гормоны, онкомаркеры и т.д.). В этом методе в качестве иммуносорбента используется нитроцеллюлозная мембрана, на них сорбирован различными методами специфические белки. В настоящее время все экспресс методы основаны на этом методе (например, ранняя диагностика беременности, вирусных гепатитов, ВИЧ, онкомаркеров и т.д.). Результаты анализа выявляются максимально в течение 30 минут.

Иммуноблоттинг (ИБ) – высокочувствительный метод, основанный на сочетании электрофореза ИФА или РИА (рис. 14.10).

Антиген выделяют с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, затем переносят его (блоттинг – от англ. blot, пятно) из геля на активированную бумагу или нитроцеллюлозную мембрану и проявляют с помощью ИФА. Фирмы выпускают такие полоски с «блотами» антигенов. На эти полоски наносят сыворотку больного. Затем после инкубации отмывают от несвязавшихся антител больного и наносят сыворотку против иммуноглобулинов человека, меченную ферментом. Образовавшийся на полоске комплекс антиген + антитело больного + антитело против Ig человека выявляют добавлением субстрата/хромогена, изменяющего окраску под действием фермента. В настоящее время фирмы выпускают готовый набор ИБ, основанный на иммунохроматографическом методе.

ИБ используют как подтверждающий метод при ВИЧ-инфекции, вирусном гепатите С и др.

Определение поверхностных антигенов CD широко применяется в диагностике гемобластозов, иммунодефицитов и других заболеваний, обусловленных нарушением иммунитета, а также для контроля за приживлением трансплантата и эффективностью иммунотерапий. В настоящее время для определения поверхностных антигенов лимфоцитов применяются моноклональные антитела, меченные флюорохромом и проточный цитофлюориметр. Проточный цитофлюориметр – прибор, позволяющий быстро оценить состав клеточной популяции по флюоресценции и оптическим характеристикам клеток. С помощью этого прибора можно определить абсолютное и относительное число клеток разных популяций и субпопуляций.

ГЛАВА 15. ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ

Одним из важнейших направлений прикладной микробиологии и иммунологии является создание эффективных препаратов для иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных и неинфекционных заболеваний. Иммунопрофилактика и иммунотерапия являются разделами иммунологии, которые изучают и разрабатывают способы и методы специфической профилактики, лечения и диагностики инфекционных и неинфекционных болезней с помощью иммунобиологических препаратов, оказывающих влияние на функцию иммунной системы или действие которых основано на иммунологических принципах. Иммунопрофилактика направлена на создание активного или пассивного иммунитета к возбудителю инфекционной болезни или его антигену, а также патогену с целью предупреждения возможного заболевания путем формирования невосприимчивости к ним организма. Иммунотерапия направлена на лечение уже развившейся болезни, в основе которой лежит нарушение функции иммунной системы или же иммунной системе принадлежит ведущая роль в восстановлении гомеостаза, т.е. восстановлении здоровья. Иммунопрофилактика и иммунотерапия применяются в случаях, когда необходимо: а) сформировать, создать специфический иммунитет или активизировать деятельность иммунной системы; б) подавить активность отдельных звеньев иммунной системы; в) нормализовать работу иммунной системы, если имеются отклонения ее функции в ту или иную сторону.

Иммунопрофилактика и иммунотерапия находят широкое применение в различных областях медицины, в первую очередь, в профилактике и лечении инфекционных болезней, аллергий, иммунопатологических состояний, в онкологии, трансплантологии, при первичных и вторичных иммунодефицитах и других болезнях. При этом иммунопрофилактика, а иногда и иммунотерапия являются единственными или же ведущими способами среди других медицинских воздействий для предупреждения или лечения болезней. Например, профилактику полиомиелита, кори и других массовых инфекционных болезней невозможно себе представить без вакцинации. Только благодаря вакцинации, на земном шаре ликвидирована натуральная оспа, планируется ликвидировать полиомиелит, нет всеохватывающих эпидемий детских, особо опасных и других инфекционных болезней.

В лечении таких токсинемических инфекций, как ботулизм, столбняк, ведущее значение имеет серотерапия, т.е. применение антитоксических сывороток и иммуноглобулин.

В терапии онкологических болезней все более широкое применение находят иммуноцитокины. Диагностические иммунопрепараты стали неотъемлемой частью врачебного арсенала в клиниках инфекционных и неинфекционных болезней.

Как было сказано, принцип иммунопрофилактики и иммунотерапии сводится к тому или иному воздействию на иммунную систему, т.е. к активации, супрессии или нормализации ее работы. Это воздействие может быть активным или пассивным, специфическим или неспецифическим. Для такого дифференцированного действия на иммунную систему, которое используется в иммунопрофилактике и иммунотерапии, разработано множество препаратов, объединенных в группу под названием медицинские иммунобиологические препараты (МИБП).

МИБП имеют сложный состав, отличаются по своей природе, способам получения и применения, целевому назначению. Однако, как указывалось выше, их объединяет то, что они действуют или на иммунную систему или через иммунную систему или же механизм их действия основан на иммунологических принципах.

Действующим началом в МИБП являются или антигены, полученные тем или иным способом, или антитела, или микробные клетки и их дериваты, или биологически активные вещества типа иммуноцитокинов, иммунокомпетентные клетки и другие иммунореа-

генты. Кроме действующего начала, МИБП могут, в зависимости от их природы и характера, включать стабилизаторы, адъюванты, консерванты и другие субстанции, улучшающие качество препарата (например, витамины, адаптогены).

МИБП могут применяться парентерально, перорально, аэрозольно или другими способами, поэтому им придают соответствующую лекарственную форму: стерильные растворы и суспензии или лиофилизированные растворимые порошки для инъекций, таблетки, свечи, аэрозоли и т.д. Для каждого МИБП установлены строго регламентированные дозировки и схемы применения, показания и противопоказания, а также побочные эффекты.

В настоящее время выделяют 5 групп иммунобиологических препаратов (А. А. Воробьев): первая группа – МИБП, получаемые из живых или убитых микробов (бактерий, вирусов, грибов) или микробных продуктов и используемые для специфической профилактики или терапии. К ним относятся живые и инактивированные корпускулярные вакцины, субклеточные вакцины из микробных продуктов, анатоксины, бактериофаги, пробиотики;

вторая группа – МИБП на основе специфических антител. К ним относятся иммуноглобулины, иммунные сыворотки, иммунотоксины, антитела-ферменты (абзимы), рецепторные антитела, мини-антитела;

третья группа – иммуномодуляторы для иммунокоррекции, лечения и профилактики инфекционных и неинфекционных болезней, иммунодефицитов. Сюда относятся экзогенные иммуномодуляторы (адъюванты, некоторые антибиотики, антиметаболиты, гормоны) и эндогенные иммуномодуляторы (интерлейкины, интерфероны, пептиды тимуса, миелопептиды и др.);

четвертая группа – адаптогены – сложные химические вещества растительного, животного или иного происхождения, обладающие широким спектром биологической активности, в том числе, действием на иммунную систему. К ним относятся, например, экстракты женьшеня, элеутерококка и других растений, тканевые лизаты, различные биологически активные пищевые добавки (липиды, полисахариды, витамины, микроэлементы и другие микронутриенты);

пятая группа – диагностические препараты и системы для специфической и неспецифической диагностики инфекционных и неинфекционных болезней, с помощью которых можно обнаруживать антигены, антитела, ферменты, продукты метаболизма, биологически активные пептиды, чужеродные клетки и т.д. Разработкой и изучением МИБП занимается раздел иммунологии – иммунобиотехнология.

Вакцины. Термин «вакцина» произошел от французского vacca – корова. Его ввел Л. Пастер в честь Э. Дженнера, применившего вирус коровьей оспы (идентичный по антигенным свойствам вирусу натуральной оспы человека, но маловирулентной для человека) для иммунизации людей против натуральной оспы человека.

Вакцины используют, в основном, для активной специфической профилактики, а иногда и для лечения инфекционных болезней. Действующим началом в вакцинах является специфический антиген, в качестве которого используют:

- живые ослабленные микробы, лишенные патогенности, но сохранившие антигенные свойства;
- убитые или инактивированные физико-химическими методами цельные микробные клетки или вирусные частицы;
- субъединичные или субклеточные антигенные комплексы (протективные антигены), выделенные из микробов;
- микробные метаболиты (токсины, анатоксины), играющие основную роль в патогенезе инфекций и обладающие специфической антигенностью;

- химически или биологически синтезированные молекулярные антигены, в том числе, полученные с помощью рекомбинантных штаммов микробов, аналогичные природным антигенам.

Вакцина представляет собой сложный МИБП, в состав которого наряду со специфическим антигеном, исходя из природы и лекарственной формы препарата, включают стабилизаторы, консерванты, адъюванты. В качестве стабилизаторов, предохраняющих антиген от разрушения, например, при производстве или при длительном хранении вакцины, используют гомологичные белки (альбумин человека), сахарозо-агар-желатину и др. В качестве консервантов, не допускающих размножения случайно попавшей в препарат микрофлоры, применяют мертиолят (1:10000), формалин и другие антимикробные препараты. Для повышения иммуногенности антигена в некоторые вакцины добавляют адъюванты.

Живые вакцины представляют собой препараты, в которых действующим началом являются ослабленные тем или иным способом, потерявшие вирулентность, но сохранившие специфическую антигенность штаммы патогенных микробов (бактерий, вирусов), получившие название аттенуированных или авирулентных штаммов. Аттенуация (направленный снижение вирулентных свойств патогенного микроорганизма) возможна путем длительного воздействия на штамм химических (мутагены) или физических (температура, радиация) факторов или же длительные пассажи через организм невосприимчивых животных или другие биообъекты (эмбрионы птиц, культуры клеток). В результате таких воздействий на культуры патогенных бактерий или вирусов селекционируются штаммы со сниженной вирулентностью, но способные при введении в организм человека размножаться и вызывать вакцинный процесс (создавать специфический иммунитет), не вызывая инфекционного заболевания.

Аттенуацию патогенных бактерий с целью получения вакцинных штаммов впервые предложил Л. Пастер на примере вируса бешенства, холеры кур, бацилл сибирской язвы. В настоящее время, этот способ широко используется в вакцинологии. В качестве живых вакцин можно использовать дивергентные штаммы, т.е. непатогенные для человека микробы, имеющие общие протективные антигены с патогенными для человека возбудителями инфекционных болезней. Классическим примером дивергентных живых вакцин является вакцина против натуральной оспы человека, в которой используется непатогенный для человека вирус оспы коров. Эти два вируса имеют общий протективный антиген. К дивергентным вакцинам следует также отнести БЦЖ – вакцину, в которой используются родственные в антигенном отношении микобактерии бычьего типа.

В последние годы успешно решается проблема получения живых вакцин генно-инженерным способом. Принцип получения таких вакцин сводится к созданию непатогенных для человека безопасных рекомбинантных штаммов, несущих гены протективных антигенов патогенных микробов и способных при введении в организм человека размножаться, синтезировать специфический антиген и, таким образом, создавать иммунитет к патогенному возбудителю. Такие вакцины называют векторными. В качестве векторов для создания рекомбинантных штаммов чаще используют вирус осповакцины, непатогенные штаммы сальмонелл и другие микробы. Уже получены экспериментально и проходят клинические испытания рекомбинантные штаммы осповакцины и сальмонелл, продуцирующие антигены вируса гепатита В, клещевого энцефалита, ВИЧ и других патогенных микробов.

Живые вакцины независимо от того, какие штаммы в них включены (аттенуированные, дивергентные или векторные), получают путем культивирования штаммов на искусственных питательных средах (бактерии), в культурах клеток или в куриных эмбрионах

(вирусы) и из полученных чистых культур вакцинных штаммов конструируют вакцинный препарат. В живую вакцину, как правило, включают стабилизатор, не добавляют консервант, вакцину подвергают лиофильному высушиванию. Дозируют вакцину числом живых бактерий или вирусов в зависимости от способа применения: накожно, подкожно, внутримышечно, перорально. Обычно живые вакцины применяют однократно с периодическими ревакцинациями.

Динамика иммунного ответа на живые вакцины, как правило, растянута. Это связано с тем, что вакцинный штамм расселяется и длительно персистирует в организме. Титры антител начинают регистрироваться, как правило, с 8-10 дня и достигает своего максимума на 25-50 день после вакцинации. Затем титр постепенно снижается и может поддерживаться в течение нескольких лет.

Основные преимущества и недостатки живых вакцин. К преимуществам следует отнести: 1. Иммуногенность живых вакцин несравненно выше, чем у других групп вакцинных препаратов. Причина этого заключается в том, что в данном варианте, вакцинация является ослабленной моделью естественного течения болезни. При естественном пути введения вакцины развивается как общий, так и местный иммунитет.

2. Достаточность однократной вакцинации для создания длительного иммунитета.

3. Живые вакцины (большинство) – это сравнительно недорогие и технологичные препараты.

К существенным недостаткам живых вакцин следует отнести:

1. Возможность индукции так называемых вакцинно-ассоциированных заболеваний (т.е. проявления клинических признаков болезни). Причиной этого могут быть:

- реверсии вирулентных свойств (мутации) вакцинных штамм;
- остаточная вирулентность штамма.

2. Довольно высокая реактогенность и аллергизирующая активность, которая связана с остаточной вирулентностью и длительной персистенцией вакцинного штамма, а также с большим количеством «балластных» компонентов в паразитической клетке.

3. Ограниченный срок хранения.

4. Большое количество противопоказаний.

Инактивированные (убитые) вакцины в качестве действующего начала включают убитые химическим или физическим методом культуры патогенных бактерий или вирусов (цельноклеточные, цельновирионные вакцины) или же извлеченные из патогенных микробов (иногда вакцинных штаммов) комплексы, содержащие в своем составе протективные антигены (субклеточные, субвирионные вакцины). Для инактивации бактерий и вирусов применяют химические вещества (формалин, спирт, фенол) или физические методы (температурное воздействие, ультрафиолетовое облучение, ионизирующую радиацию).

Получают инактивированные вакцины путем выращивания на искусственных питательных средах патогенных бактерий или вирусов, которые затем подвергают инактивации, разрушению (в случае необходимости), выделению антигенных комплексов, очистке, конструированию в виде жидкого или лиофильно высушенного препарата. В препарат обязательно добавляют консервант, иногда – адъюванты.

Дозируют вакцину в антигенных единицах; применяют, как правило, подкожно, внутримышечно в виде нескольких инъекций на курс вакцинации.

Динамика иммунного ответа на убитые вакцины характеризуется быстротой развития реакций. Специфичные антитела можно обнаружить в крови вакцинированных уже на 6-7-й день, а своего максимума они достигают на 15-20-й день. Антитела могут регистрироваться в крови в течение 1-2 лет, а иногда и дольше.

К основным преимуществам этого вида вакцин относят:

1. Безопасность их применения, поскольку убитый возбудитель не представляет собой эпидемиологической опасности и не обладает вирулентными свойствами.

2. Изготовление убитых вакцин не требует сложного и дорогостоящего оборудования.

3. Стабильность и длительный срок хранения.

4. Возможность комбинации нескольких антигенов.

К основным недостаткам следует отнести:

1. Довольно высокую токсичность, реактогенность и аллергизующую активность. Это связано наличием токсинов в составе целой микробной клетки, а также других антигенов, не имеющих отношения к протективным свойствам.

2. Значительно менее выраженную иммуногенность по сравнению с живыми вакцинами. Особенно это выражено в случае таких инфекций, где необходимо развитие клеточного иммунного ответа.

3. Кратковременность создаваемого иммунитета и необходимость частых ревакцинаций.

Субъединичные и молекулярные (химические) вакцины. В субъединичных или молекулярных вакцинах антиген находится в молекулярной форме или же в виде фрагментов его молекул, определяющих специфичность антигенности, т.е. в виде эпитопов, детерминант. Протективный антиген в виде молекул можно получить биологическим синтезом в процессе культивирования природных патогенных микробов или выделение молекулы антигена с помощью различных химических методов. Развитие генной инженерии, создание рекомбинантных бактерий и вирусов, способных синтезировать молекулы несвойственных им антигенов, открыли возможности получения молекулярных антигенов в процессе культивирования рекомбинантных штаммов. Показано, что таким образом, можно получить антигены ВИЧ, вирусных гепатитов, малярии, кори, полиомиелита, гриппа, туляремии, бруцеллеза, сифилиса и других возбудителей болезней. В медицинской практике уже используется молекулярная вакцина против гепатита В, полученная из поверхностного антигена вируса (HBsAg), продуцируемого рекомбинантным штаммом дрожжей. В будущем способ получения молекулярных вакцин из антигенов, синтезируемых рекомбинантными штаммами, будет развиваться быстрыми темпами. Наконец, антиген в молекулярной форме, особенно детерминанты антигена, можно получить химическим синтезом, после расшифровки его структуры. Однако, химический синтез антигенов более трудоемок и имеет ограниченные возможности по сравнению с биосинтезом. Из полученных биосинтезом или химическим синтезом антигенов или его эпитопов конструируют молекулярные вакцины.

В связи с целенаправленным выделением протективных антигенов и их дальнейшей очисткой субъединичные или молекулярные вакцины, созданные на базе очищенных протективных антигенов, обладают довольно низкой реактогенностью, токсичностью и аллергизирующей активностью. Вместе с тем, их иммуногенность также слабее, чем у живых вакцин. Усиление иммуногенности этих вакцин достигается следующими способами:

1. Использования адъювантов. Это могут быть вводно-масляные эмульсии, липосомы, минеральные гели, различные иммуностимуляторы.

2. Конъюгацией протективных антигенов (особенно низкомолекулярных) на синтетических или биологических полимерных носителях. Например, столбнячный или дифтерийный токсин, синтетические полимеры – полиоксидоний.

3. Заключение протективных антигенов в микрокапсулы из полимеров и липидов (липосомы), которые могут служить в качестве «депо» антигена, представлять антиген иммунным клеткам, а также обеспечивать активацию фагоцитов.

Динамика иммунного ответа на молекулярные вакцины во многом сходна с динамикой ответа на убитые корпускулярные вакцины.

Основные преимущества субъединичных или молекулярных вакцин следует отнести: 1. Низкую токсичность и малую аллергизирующую активность, что достигается за счет дополнительной очистки препаратов. 2. Относительная безопасность при многократном использовании, ограниченное количество противопоказаний. 3. Стабильность и долгий срок хранения.

Основные недостатки: 1. Довольно невысокая иммуногенность в сравнении с живыми вакцинами. 2. Технологическая сложность и трудоемкость получения вакцин, соответственно высокая стоимость таких препаратов.

Анатоксины (токсоиды). Принцип получения анатоксинов (дифтерийный, столбнячный, ботулинический (типов А, В, Е), гангренозный (перфрингенс, нови и др.), стафилококковый, холерный) состоит в том, что образующийся при культивировании соответствующих бактерий токсин в молекулярном виде превращают в нетоксичную, но сохраняющую специфическую антигенность форму – анатоксин путем воздействия 0,3%-0,4% раствором формалина и тепла (37 °С) в течение 3-4 недель. Полученный анатоксин подвергают очистке и концентрированию физическими и химическими методами для удаления балластных веществ, состоящих из продуктов бактерий и питательной среды, на которой они выращивались. К очищенному и концентрированному анатоксину для повышения его иммуногенности добавляют адъюванты, обычно сорбенты – гели $Al(OH)_3$ и $Al(PO_4)$. Полученные таким образом препараты назвали очищенными сорбированными анатоксинами.

Дозируют анатоксины в антигенных единицах: единицах связывания (ЕС) анатоксина специфическим антитоксином или в единицах флокуляции (Ef). Анатоксины относятся к числу наиболее эффективных профилактических препаратов. Благодаря иммунизации дифтерийным и столбнячными анатоксинами резко снижена заболеваемость и ликвидированы эпидемии дифтерии и столбняка. Очищенные сорбированные анатоксины применяют подкожно или внутримышечно по схеме, предусмотренной календарем прививок.

Адъюванты. Как было сказано выше, для усиления иммуногенности вакцин применяют адъюванты (от лат. adjuvant – помощник) – неспецифические иммуностимулирующие компоненты. Они помогают усиливать иммунный ответ и придают ему нужную направленность (клеточного или гуморального типа). Отсюда и возникло их название помогающий. В качестве адъювантов используют минеральные сорбенты (гидрооксид алюминия, алюминиево-калиевые квасцы, фосфат алюминия и др.), полимерные вещества, сложные химические соединения (ЛПС, белково-липополисахаридные комплексы, мурамилдипептид и его производные и др.); бактерии и компоненты бактерий, например, вытяжки БЦЖ, из которых готовят адъювант Фрейнда; инактивированные коклюшные бактерии, липиды и эмульгаторы (ланолин); вещества, вызывающие воспалительную реакцию (сапонин, скипидар). Как видно, все адъюванты являются чужеродными для организма веществами, имеют различный химический состав и происхождение; сходство их состоит в том, что все они способны усиливать иммуногенность антигена. Механизм действия адъювантов сложный. Они действуют как на антиген, так и на организм. Действие на антиген сводится к укрупнению его молекулы (сорбция, химическая связь с полимерным носителем), т.е. превращению растворимых антигенов в корпускулярные. В результате, антиген лучше захватывается и активнее представляется фагоцитирующими и другими иммунокомпетентными клетками, т.е. превращается из тимусзависимого в тимуснезависимый антиген. Кроме того, адъюванты вызывают на

месте инъекции воспалительную реакцию с образованием фиброзной капсулы, в результате чего, антиген длительно сохраняется, депонируется на месте инъекции и поступая из «депо», длительное время действует по принципу суммации антигенных раздражений (ревакцинирующий эффект). В связи с этим, адъювантные вакцины называют депонированными. Адъюванты также непосредственно активируют пролиферацию клеток Т-, В-, А-систем иммунитета и усиливают синтез защитных белков организма. Адъюванты усиливают иммуногенность антигенов в несколько раз.

Масляные и минеральные адъюванты усиливают гуморальный тип иммунного ответа и обычно применяются для интенсификации выработки антител. Сюда же следует отнести и использование липосом и микрокапсул, которые реализуют похожие механизмы. Добавление же в масляные адъюванты некоторых микробных компонентов (коринебактерий, микобактерий) приводит к усилению клеточного иммунного ответа.

Комплексные вакцины. Комплексными вакцинами называют препараты, которые создают иммунную устойчивость сразу к нескольким инфекционным болезням. С целью сокращения числа вакцин и числа инъекций при проведении массовой вакцинопрофилактики создаются ассоциированные вакцины, т.е. препаратов, включающих несколько разнородных антигенов и позволяющих проводить иммунизацию против нескольких инфекций одновременно. Создание таких вакцин научно обосновано, так как, иммунная система может одновременно отвечать на десятки различных антигенов. Основная задача при создании ассоциированных вакцин состоит в сбалансированности входящих в ее состав антигенов, чтобы не было их взаимной конкуренции и чтобы препарат не вызывал повышенных поствакцинальных реакций. В состав ассоциированных препаратов могут входить как инактивированные, так и живые вакцины. Если в препарат входят однородные антигены, такую ассоциированную вакцину называют поливакциной. Примером может служить живая полиомиелитная поливакцина, в которую входят аттенуированные штаммы вируса полиомиелита I, II, III типа или полианатоксин, куда входят анатоксины против столбняка, газовой гангрены и ботулизма.

Если ассоциированный препарат состоит из разнородных антигенов, то его целесообразно называть комбинированной вакциной. Комбинированной вакциной является, например, АКДС-вакцина, состоящая из инактивированной корпускулярной коклюшной вакцины, дифтерийного и столбнячного анатоксинов. Возможна также комбинированная иммунизация, когда одномоментно раздельно вводят несколько вакцин в различные участки тела – например, против оспы (накожно) и чумы (подкожно).

Динамика иммунного ответа в комплексных вакцинах характерна для того типа моновакцин, которые используются в составе комплексной.

Преимущества комплексных вакцин: 1. Удобство применения. За одну вакцинацию удается создать иммунитет сразу к нескольким болезням. 2. Снижение стоимости вакцин за счет унификации адъювантов и снижения себестоимости изготовления в связи с увеличением масштаба продаж.

К основным недостаткам следует отнести: 1. Некоторое снижение эффективности по сравнению с моновакцинами. 2. Проблемы ревакцинации, которые возникают в связи с различной длительностью создаваемого иммунитета и токсичностью компонентов.

Способы вакцинации. В вакцинопрофилактике применяется несколько способов введения вакцин. К ним относятся накожная (скарификационная), подкожная шприцевая, безыгольная инъекция, пероральный и аэрозольный способы введения вакцин.

Безыгольный способ основан на введении вакцин с помощью безыгольных инъекторов пистолетного типа, в которых, благодаря высокому давлению, создаваемому в приборе с помощью гидравлики или инертного газа, формируется струя жидкой вакцины, проникающая в необходимой объемной дозе (0,5-1 мл) через кожу на заданную глубину (накожно, подкожно, внутримышечно).

Пероральный способ является самым быстрым, щадящим, привлекательным и адекватным, так как позволяет без насильственного нарушения наружных покровов, безболезненно прививать огромное число людей в любой обстановке (в поликлинике, дома, на вокзале, в поездах, самолетах и др.), без соблюдения правил асептики, без расходования медицинских материалов (спирт, йод, шприцы, вата), не требует электроэнергии и приспособленных помещений.

К сожалению, для перорального способа вакцинации пока разработано лишь ограниченное число вакцин (живая полиомиелитная, оспенная, чумная, противоэнцефалитная вакцины), хотя предпосылки для создания пероральных вакцин против других инфекций (корь, грипп, бруцеллез, туляремия и др.) имеются. Пероральные вакцины могут иметь различную лекарственную форму в зависимости от локализации в желудочно-кишечном тракте «входных ворот» для антигена: оральные (жидкие и таблетированные, в виде конфет-драже), энтеральные (таблетированные с кислотозащитным покрытием, в желатиновых капсулах) или орально-энтеральные (таблетированные). В последние годы внимание привлекают вакцины в виде суппозиториев для перректальной и первагинальной аппликации. Пероральные и перректальные вакцины обеспечивают не только местный иммунитет слизистых оболочек (мукозальный иммунитет), но и иммунитет всего организма; пероральные вакцины иногда называют мукозальными.

В вакцинопрофилактике иногда используют интраназальный способ аппликации живых вакцин, например, против гриппа, кори и других инфекций.

Условия эффективности применения вакцин. Эффективность вакцинации зависит от трех факторов: а) качества, т.е. иммуногенности, вакцины; б) состояния организма вакцинируемого; в) схемы и способа применения вакцины.

Качество вакцины, т.е. ее иммунизирующий эффект, побочные нежелательные реакции, которые она может вызывать, зависят от природы, т.е. иммуногенных свойств антигена, характера иммунитета (клеточный, гуморальный и т.д.), дозировки антигена. Между дозой антигена и напряженностью вызываемого иммунитета существует математическая зависимость установленная А. В. Марковичем и А. А. Воробьевым и названная уравнением антигенности:

$LgH = A + BlgД$, где Н – напряженность иммунитета; Д – доза антигена; А – коэффициент, характеризующий качество (иммуногенность) единицы антигена; В – коэффициент, характеризующий иммунореактивность (отвечаемость) организма.

По чувствительности к каждому антигену все люди существенно (в десятки и даже сотни раз) отличаются между собой, причем, это различие приближается к кривой нормального распределения. Поэтому при создании любой вакцины, в качестве иммунизирующей дозировки, подбирают дозу антигена, обеспечивающую при определенной схеме применения препарата развитие иммунитета не менее чем у 95% привитых. Обычно это достигается при 2-3-кратном введении вакцины. При такой схеме вакцинации максимально используется ревакцинирующий эффект. Безусловно, на эффективность вакцинации существенное влияние оказывает иммунореактивность вакцинируемого, т.е. его способность отвечать на антиген, которая зависит от состояния иммунной системы и физиологического состояния организма. Особенно влияет на эффективность вакцинации наличие первичных и вторичных иммунодефицитов, и это естественно, так как иммунная система

в этих случаях, не в состоянии отреагировать полноценной защитой. Однако, имеет значение и общефизиологическое состояние организма, которое оказывает влияние на общую и иммунологическую реактивность последнего. Известно, что на общую реактивность организма оказывают влияние полноценность питания (особенно белкового), наличие витаминов (особенно А и С), экологические и социальные условия жизни, профессиональные вредности, соматические и инфекционные болезни и даже климатогеографические условия. Понятно, что при неблагоприятных условиях, отражающихся на общей физиологической реактивности организма, способность иммунной системы отвечать полноценной реакцией на антиген существенно снижена, но возрастает риск увеличения нежелательных поствакцинальных осложнений. Поэтому существует перечень не только показаний, но и противопоказаний к вакцинации.

Для вакцинопрофилактики, в настоящее время, применяется примерно 40 вакцин, половина из которых – живые вакцины.

Существуют общие требования ко всем вакцинам. Любой рекомендуемый для вакцинации препарат должен быть: иммуногенным, безопасным, нереактогенным, не должен вызывать аллергических реакций, не обладать тератогенностью, онкогенностью; штаммы, из которых готовят вакцину, должны быть генетически стабильными, вакцина должна обладать длительным сроком хранения, производство ее должно быть технологичным, а способ применения – по возможности, простым и доступным для массового применения.

Показаниями к вакцинации являются наличие или угроза распространения инфекционных заболеваний, а также возникновение эпидемий среди населения. При массовом проведении профилактических прививок должны учитываться противопоказания к вакцинации, так как при введении практически любой вакцины могут быть нежелательные поствакцинальные осложнения у лиц, с теми или иными отклонениями в состоянии здоровья. Противопоказания определены для каждой вакцины в наставлении по ее применению. Общими противопоказаниями к вакцинации являются:

- острые инфекционные и неинфекционные заболевания;
- аллергические состояния;
- заболевания ЦНС;
- хронические заболевания паренхиматозных органов (печени, почек);
- тяжелые заболевания сердечно-сосудистой системы;
- выраженные иммунодефициты;
- наличие злокачественных новообразований.

Поствакцинальные реакции в виде кратковременного повышения температуры тела, местных проявлений (гиперемия, отек на месте инъекции), если они не превышают границу указанных в наставлении по применению вакцины, не являются противопоказанием к прививкам.

Календарь прививок. В каждой стране, в том числе и в Узбекистане, действует календарь прививок (утвержден Министерством Здравоохранения), в котором регламентируется обоснованное проведение во все возрастные периоды человека вакцинаций, против определенных инфекционных болезней. В календаре указывается, какими вакцинами и по какой временной схеме должен быть привит каждый человек в детском возрасте и во взрослом периоде. Так, в детском возрасте (до 10 лет) каждый человек должен быть привит против туберкулеза, кори, полиомиелита, коклюша, дифтерии, столбняка, гепатита В (табл. 15.1).

Таблица 15. 1.

Календарь профилактических прививок граждан Республики Узбекистан (Приказ № 494 от 12. 11. 2003 г. МЗ РУз)

Возраст	Название вакцинации	Примечание
В течение первых 24 часа	ВГВ-1	Против вирусного гепатита В
2-5 день	БЦЖ. ОПВ-0	Против туберкулеза и полиомиелита
2 месяца	АКДС-1. ОПВ-1. ВГВ-2	Против коклюша, дифтерии и столбняка
3 месяца	АКДС-2. ОПВ-2	
4 месяца	АКДС-3. ОПВ-3	
6 месяца	ВГВ-3	
12 месяца	Корь-1	
6 месяца	АКДС-4. ОПВ-4. Эпидпаротит	
6 лет	Корь-2	
7 лет (первый класс)	АДС-М-5. ОПВ-5. БЦЖ R-1	
14-15 лет (8 класс)	БЦЖ R-2	
16 лет	АДС-М-6	Против дифтерии и столбняка
26 лет	АДС-М-7	
46 лет	АДС-М-8	

Бактериофаги относятся к иммунобиологическим препаратам, созданным на основе вирусов, поражающих бактерии. Находят применение в диагностике, профилактике и терапии многих бактериальных инфекций (брюшной тиф, дизентерия, стафилококк, холера и т.д.). Механизм действия бактериофагов основан на специфичности фагов к размножению в соответствующих бактериях, что ведет к лизису клеток. Следовательно, лечение и профилактика с помощью бактериофагов носят специфический характер, так как направлен на уничтожение (лизис) бактерий. На этом же принципе основана фагодиагностика, специфическая индикация и идентификация бактерий с помощью фагов (фаготипирование). Бактериофаги применяют наряду с другими МИБП, в случае эпидемических вспышек инфекционных болезней, для предупреждения их распространения, а также для лечения больных с точно установленным диагнозом и фаготипированным возбудителем.

Бактериофаги получают культивированием пораженных фагом бактерий на питательных средах и выделением из культуральной жидкости фильтрата, содержащего фаги. Этот фильтрат подвергают лиофильному высушиванию и таблетированию. Возможно также получение бактериофага в виде суспензий. Активность бактериофага устанавливают путем титрования на соответствующих, чувствительных к фагу, культурах бактерий, выращенных на плотных или жидких питательных средах, и выражают числом частиц фага, содержащихся в 1 мл суспензии или в одной таблетке.

Назначают бактериофаги с профилактической и лечебной целью перорально или местно (например, орошение раневой поверхности, в случае стафилококковой или другой раневой инфекции) длительными курсами. Эффект фагопрофилактики и фаголечения умеренный.

Пробиотики относятся к иммунобиологическим препаратам, содержащим культуру живых непатогенных бактерий – представителей нормальной микрофлоры кишечника человека и предназначенным для коррекции, т.е. нормализации, качественного и количественного состава микрофлоры человека в случае их нарушения, т.е. при дисбактериозах.

Давно известно, что нормальная микрофлора кишечника, кожи и т.д. нередко подавляют активность патогенных бактерий, особенно, если они представляют собой новую для организма микрофлору. Это ингибирующее действие развивается в результате секреции нормальной микрофлорой различных бактерицидных субстанций (например, колицинов).

Другой механизм – конкуренция за рецепторы на поверхности клеток хозяина, а также создание низкого pH. Этот эффект обычно развивают молочнокислые бактерии. Образуемая ими молочная кислота снижает pH и действует токсично на многие слабовирулентные микроорганизмы.

Пробиотики применяют как с профилактической, так и с лечебной целью при дисбактериозах различной этиологии: при соматических и инфекционных болезнях, при экологических и профессиональных влияниях на организм и его микрофлору, при вторичных иммунодефицитах, при нерациональном питании, которые зачастую сопровождаются нарушением микрофлоры, особенно, желудочно-кишечного тракта.

В качестве пробиотиков, т.е. продуктов, содержащих живые культуры микроорганизмов, которые входят в нормальную микрофлору макроорганизма, используют: бифидумбактерии и молочнокислые бактерии; молочнокислые стрептококки; ацидофильную палочку; *B. subtilis; E. coli* и другие микроорганизмы.

К наиболее распространенным лекарственным пробиотикам относятся «Колибактерин», «Бифидумбактерин», «Лактобактерин», «Бификол», в состав которых входят соответственно – кишечная палочка, бифидобактерии, лактобактерии или их комбинации.

Препараты представляют собой лиофильно высушенные живые культуры соответствующих микроорганизмов с добавками стабилизаторов и вкусовых веществ и выпускаются в виде порошков или таблеток. Дозируются пробиотики по числу живых бактериальных клеток в таблетке или в 1 г; одна доза обычно содержит 10^7–10^9 живых бактерий.

В настоящее время широкое применение нашли пробиотики в виде молочнокислых продуктов: «Био-кефир», кефир «Бифидок» и другие, содержащие живые бактерии нормальной микрофлоры человека.

Учитывая, что пробиотики содержат живые микробные клетки, они должны храниться в щадящих условиях (определенный температурный режим, отсутствие солнечной радиации т.д.).

Пробиотики назначают перорально длительными курсами (от 1 до 6 месяцев) по 2-3 раза в день и, как правило, в сочетании с другими методами лечения.

Иммунобиологические препараты на основе специфических антител

Антитела относятся к числу основных иммунореагентов, участвующих во многих иммунологических реакциях, определяющих состояние иммунитета организма. Они разнообразны по своей структуре и функциям.

В зависимости от природы и свойств антигенов, к которым они образуются, антитела могут быть антибактериальными, противовирусными, антитоксическими, противоопухолевыми, антилимфоцитарными, трансплантационными, цитотоксическими, рецепторными и т.д. В связи с этим, на основе антител, создано множество иммунобиологических препаратов, применяемых для профилактики, терапии и диагностики как инфекционных (бактериальных, вирусных, токсинемических), так и неинфекционных болезней, а также для исследовательских целей в иммунологии и других науках.

К иммунологическим препаратам на основе антител относятся:

- иммунные сыворотки, иммуноглобулины (цельномолекулярные и доменные),
- моноклональные антитела,

- иммунотоксины, иммуноадгезины,
- абзимы (антитела-ферменты).

Иммунные сыворотки (иммуноглобулины). Иммунные лечебные и профилактические сыворотки известны уже более ста лет. Первые иммунные антитоксические противодифтерийные сыворотки получил Беринг. К настоящему времени разработаны и применяются не только антитоксические сыворотки для лечения и профилактики дифтерии, столбняка, газовой гангрены, ботулизма, но и множество противобактериальных (противотифозная, дизентерийная, противочумная и др.), а также противовирусных сывороток (гриппозная, коревая, против бешенства и др.).

Иммунные сыворотки получают путем гипериммунизации (т.е. многократная интенсивная иммунизация) животных (чаще всего лошади, ослы, иногда кролики) специфическим антигеном (анатоксином, бактериальными или вирусными культурами и их антигенами) с последующим, в период максимального антителообразования, кровопусканием и выделением из крови иммунной сыворотки. Иммунные сыворотки, полученные от животных, называют гетерогенными, так как они содержат чужеродные для человека сывороточные белки.

Для получения гомологичных нечужеродных иммунных сывороток используют сыворотки переболевших людей (коревая, паротитная, оспенная сыворотки) или специально иммунизированных людей-доноров (противостолбнячная, противоботулиническая и другие сыворотки) либо сыворотки из плацентарной, а также абортной крови, содержащие антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней вследствие вакцинации или перенесенного заболевания.

Естественно, что гомологичные сыворотки предпочтительнее гетерологичных. Поскольку нативные иммунные сыворотки содержат в своем составе ненужные балластные белки, например, альбумин, из этих сывороток выделяют и подвергают очистке и концентрированию специфические белки – иммуноглобулины.

Для очистки и концентрирования иммуноглобулинов используют различные физико-химические методы: осаждение спиртом или ацетоном на холоде, обработка ферментами, аффинная хроматография, ультрафильтрация.

Иногда, а именно, для повышения специфичности и активности антител, из молекулы иммуноглобулина выделяют только антигенсвязывающий участок (Fab-фрагменты); такие иммуноглобулины получили название доменных антител.

Активность иммунных сывороток и иммуноглобулинов выражают в антитоксических единицах, в титрах вируснейтрализующей, гемагглютинирующей, преципитирующей, агглютинирующей и т.д. активности, т.е. тем наименьшим количеством антител, которое вызывает видимую или регистрируемую соответствующим способом реакцию с определенным количеством специфического антигена.

Так, активность антитоксической противостолбнячной сыворотки и соответствующего иммуноглобулина выражают в антитоксических единицах (АЕ) или в международных антитоксических единицах (МЕ), т.е. количеством антитоксина, связывающего 100 Dlm или 1000 Dlm для белой мыши столбнячного токсина. Титр агглютинирующих или преципитирующих сывороток выражают в максимальных разведениях сыворотки, вызывающих соответствующие реакции с антигеном: вируснейтрализующие антитела – в разведениях, нейтрализующих определенное количество вируса при биопробах на культуре клеток, развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ) или животных.

Иммунные сыворотки и иммуноглобулины применяют с лечебной и профилактической целью. Особенно эффективно применение сывороточных препаратов для лечения токсинемических инфекций (столбняк, ботулизм, дифтерия, газовая гангрена), а также для ле-

чения бактериальных и вирусных инфекций (корь, краснуха, чума, сибирская язва и др.) в комплексе с другими способами лечения. С лечебной целью сывороточные препараты вводят как можно раньше внутримышечно (иногда внутривенно) в больших дозах.

Профилактические дозы сывороточных препаратов значительно меньше лечебных, а препараты вводят внутримышечно обычно лицам, имевшим контакт с больным или иным источником инфекции, для создания пассивного иммунитета. При введении сывороточных препаратов, иммунитет наступает через несколько часов и сохраняется 2-3 недели после введения гетерологичных, в течение 4-5 недель – гомологичных сывороточных препаратов.

После введения сывороточных препаратов, возможны осложнения в виде анафилактического шока и сывороточной болезни. Поэтому перед введением препаратов, ставят аллергическую пробу на чувствительность к ним пациента, а вводят их по Безредке.

В некоторых случаях, прибегают к пассивно-активной иммунизации, т.е. к одновременному введению сывороточных препаратов и вакцин, в результате чего, быстро наступающий, но кратковременный пассивный иммунитет, обусловленный вводимыми антителами, подменяется через 2-3 недели активным иммунитетом, возникающим в ответ на введение вакцины. К пассивно-активной иммунизации прибегают для профилактики столбняка у раненых, при профилактике бешенства и других инфекций.

Иммунотоксины. Иммуноадгезины. Иммунотоксинами называют молекулярные конструкции, в которых к молекулам специфически направленных антител присоединяют молекулы какого-либо токсина. Для создания таких конструкций в настоящее время используют моноклональные антитела (или их Fab-фрагменты) и молекулы клеточных токсинов или их фрагменты.

Антитела искусственно можно получить практически к любым структурам микробной, животной или человеческой клетки и тканям, обладающим антигенностью. Например, получены антитела к рецепторам клеток, в том числе, иммунокомпетентным, к адгезинам, клеточным компонентам, ферментам, комплементу, белкам крови, гормонам, иммуномодуляторам и т.д. Эти специфические антитела (в основном, моноклональные) к отдельным структурам клеток нашли применение в исследовательских работах, в частности, для маркировки клеток (например, CD-маркеры В-лимфоцитов), для изучения механизмов взаимодействия клеток в норме и патологии (иммуноадгезины), для адресной доставки лекарственных препаратов и подавления тех или иных биологических процессов (иммунотоксины). Основная цель использования таких препаратов состоит в том, чтобы целенаправленно уничтожить какие-либо конкретные клетки.

Имеются и другие варианты иммунотоксинов, когда вместо иммуноглобулина используются цитокины. Такие молекулы обеспечивают гибель клеток, несущих рецепторы к этому цитокину на своей поверхности.

К сожалению, данная группа препаратов не имеет широкого распространения в терапевтической практике. Это связано, как со сложностью получения моноклональных антител, так и с механизмами реализации целенаправленного цитотоксического эффекта.

Изредка, находит применение антилимфоцитарная сыворотка для подавления лимфопоэза при некоторых болезнях. Однако, применение иммунотоксинов и адгезинов ждет большое будущее.

Абзимы – антитела-ферменты. Это искусственно полученные иммуноглобулины, обладающие специфичностью антител к какому-либо промежуточному продукту биологической реакции, обладающему антигенными свойствами.

Абзимы действуют как ферменты-катализаторы и могут ускорять течение биохимических реакций в тысячи раз и более. Например, известно, что в сложном процессе свертыва-

ния крови и фибронолизисе последовательно участвует множество белков (факторы XII, XI, X, VIII и др.). Если к одному из этих антигенных белков получить антитела, то, по-видимому, эти антитела, действуя как ферменты-катализаторы, будут в состоянии ускорить или замедлить процесс свертывания крови.

Иммуномодуляторы. Под модуляцией (коррекцией) понимают стимуляцию заниженных и снижение завышенных показателей иммунного статуса. На функционирование иммунной системы могут оказывать влияние различные факторы и вещества или с которыми встречается организм в повседневной жизни (социальные, экологические, профессиональные факторы), или которые используются целенаправленно: для профилактики или лечения заболеваний и патологических состояний, связанных с нарушением иммунного статуса (первичные и вторичные иммунодефициты).

Вещества, оказывающие влияние на функцию иммунной системы, называют иммуномодуляторами. Их принято подразделять на экзогенные и эндогенные. К экзогенным иммуномодуляторам относится большая группа веществ различной химической природы и происхождения (из растительного, микробного, животного сырья, синтетические и др.), оказывающих неспецифическое активирующее или супрессивное действие на иммунную систему, но являющихся чужеродными для организма. Эндогенные иммуномодуляторы представляют собой достаточно большую группу олигопептидов, синтезируемых самим организмом, его иммунокомпетентными и другими клетками и способных активировать иммунную систему путем усиления пролиферации и функции иммунокомпетентных акцессорных клеток.

К экзогенным иммуномодуляторам можно отнести разнообразные адъюванты, природные или полученные синтезом химические вещества, физические воздействия (радиация, климатические факторы), а к эндогенным иммуномодуляторам – регуляторные пептиды: интерлейкины (ИЛ-1, 2, 6), интерфероны (α-, β-, γ-), миелопептиды (5 пептидов), пептиды тимуса (тактивин, тималин, тимоптин, тимозин, тимоген и др.), хемокины, ФНО, КСФ, ТФР. Как те, так и другие иммуномодуляторы могут оказывать на иммунную систему активирующее или супрессивное действие, которые могут быть специфическими и неспецифическими, направленными на активацию и подавление отдельных звеньев в работе иммунной системы.

Так, иммуностимулирующим действием обладают адъюванты: сорбенты, полимеры, полисахариды, ЛПС, комплексы, извлеченные из БЦЖ (адъювант Фрейнда) и других бактерий (продигиозан, сальмазан, мурамилдипептид); многие химические соединения (левамизол, циклоспорин, циметидин), а также иммуноцитокины (интерлейкины, интерфероны, пептиды тимуса, миелопептиды, ФНО и др.).

Иммуносупрессивным действием обладают все цитостатики, антагонисты пуринов (6-меркалтопурин, азатиоприн), антагонисты пиримидина (5-фторурацил, 5-бромдезоксиуридин), антагонисты фолиевой кислоты (аминоптерин, метотрексат), антиметаболиты, алкилирующие соединения (циклофосфан, хлорбутин), антибиотики, алкалоиды (колхицин, винбластин, винкристин), ферменты (рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза, ксантиноксидаза тормозят образование антител), а также кортикостероиды, антилимфоцитарная сыворотка, моноклональные антитела к рецепторам иммунокомпетентных клеток, облучение (рентгеновские лучи, гамма-излучение и др.).

Иммуномодуляторы нашли широкое применение при первичных и вторичных иммунодефицитах различного происхождения, при онкологических болезнях, при трансплантации органов и тканей, при лечении иммунопатологических и аллергических болезней, в иммунопрофилактике и лечении инфекционных болезней и т.д. Для этого, создано множество препаратов, обладающих иммуномодулирующем действием. К ним относятся препа-

раты интерферона (α-, β-, γ-) для парентерального и наружного применения, лейкоферон, рекомбинантный реаферон, виферон (свечевая форма реаферона с витаминами А и С) и др. На основе интерлейкинов создан ряд препаратов, в основном, полученных генноинженерным способом: интерлейкин-1 бета (бета-лейкин), ИЛ-2, -3, -6 и др. На основе пептидов тимуса, извлеченных из тимуса крупного и мелкого рогатого скота созданы препараты тактивин, тимозин, тимулин, тимпоэтин, тимоптин, иммуномодулин. В последнее время получены из природного сырья (костного мозга), а также рекомбинантные препараты на основе миелопептидов.

Из экзогенных иммуномодуляторов следует упомянуть препараты, созданные на основе субстанций, извлеченных из микробных клеток: пирогенал (ЛПС *P. aeruginosa)*, продигиозан (ЛПС *P. prodigiosum)*, сальмазан (ЛПС, извлеченный из сальмонелл), ликопид (модифицированный мурамилдипептид), рибомунил, который состоит из рибосом клебсиелл, диплококков с примесью мембранных протеогликанов; ЛПС микобактерий, нуклеонат натрия (натриевая соль низкомолекулярной РНК, выделенной из дрожжей) и др.

Требования к модуляторам: минимальная активность; не должны вызывать побочных действий (злокачественного перерождения клеток) и не потенцировать их свойства у других препаратов; не вызывать аллергизации и индукции аутоиммунных реакций; легко метаболизироваться и выводиться из организма; совместимость с другими препаратами; предпочтительно пероральный способ введения, естественное происхождение, наличие иммуномодулирующих свойств.

Адаптогены. Эта группа препаратов близко примыкает к иммуномодуляторам. Однако, в отличие от последних, она обладает, помимо иммуномодулирующего действия, более широким спектром влияния на функционирование различных органов и систем. К адаптогенам относятся сложные химические вещества растительного и животного происхождения, а также искусственно синтезированные или сконструированные из комплекса природных или синтезированных биологически активных веществ. Чаще всего, препараты адаптогенов конструируются на основе биологически активных веществ растительного происхождения (фитоадаптогенов) или из гидробионтов, т.е. обитателей морей и океанов. Уже давно известно стимулирующее действие женьшеня, элеутерококка, красавки, зверобоя, плодов шиповника, радиолы розовой, череды, мяты перечной, цветков липы, ромашки и т.д.

Наряду со стимуляцией иммунной системы, адаптогены способны вызвать ряд биологических процессов и реакций, способствующих повышению резистентности организма к неблагоприятным воздействиям.

Адаптогены, как правило, применяются с профилактической целью – для предупреждения развития того или иного заболевания или укрепления здоровья, повышения устойчивости организма к неблагоприятным воздействиям. Обычно, адаптогены назначаются длительными курсами, их принимают как биологически активные пищевые добавки. Разработано множество препаратов адаптогенов. При этом, направленность их действия отличается: одни из них предназначены для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний, другие – заболеваний печени, урогенитального тракта, нервной системы, онкологических болезней и т.д. Основным преимуществом адаптогенов, особенно фитоадаптогенов, является их безвредность (их можно применять годами), природная сбалансированность в них биологически активных веществ, простота приготовления и применения (экстракты и настои растений, микстура, капсулы, таблетки), экологическая чистота исходного для приготовления адаптогенов сырья.

Микробные, липополи- и полисахаридные препараты. К микробным препаратам относится рибомунил, бронхомунал и ИРС19. Рибомунил состоит из рибосом клебсиелл, дип-

лококков, стрептококков, гемофильных бактерий и протеогликанов клебсиелл. Препарат вызывает активацию макрофагов и нейтрофилов и синтез ими интерлейкинов 1, 6, 8, активацию гуморального иммунитета и В-клеток, индукцию α-интерферона и т.д. Широко применяется при рецидивирующих инфекциях дыхательных путей, ринофаринголарингитах, брохитах и их осложнениях и т.д. Бронхомунал – лиофилизированный лизат бактерий, обладающий способностью стимулировать клеточный и гуморальный иммунитет, фагоцитарные клетки, увеличивать уровень иммуноглобулинов, число Т- и В-клеток. Важно, что препарат вызывает повышение концентрации антител в дыхательных путях, местный иммунитет кишечника. Препарат ИРС19 представляет собой аэрозоль для интраназального применения, содержащий антигенные детерминанты микроорганизмов, которые являются наиболее частыми возбудителями инфекции дыхательных путей (19 штаммов). Препарат повышает фагоцитарную активность макрофагов, увеличивает содержание эндогенного лизоцима и интерферона, стимулирует продукцию секреторных IgA иммунокомпетентными клетками.

Группа липополисахаридных препаратов представляет сложные липидоглюцидные комплексы, основным ядром которых является липид А. К ним относится продигиозан и пирогенал.

Неприродные полиэлектролиты – представляют собой искусственные полимеры (полианионы, поликатионы). В ГНЦ – Институте иммунологии МЗ России создан синтетический препарат полиоксидоний (Р. В. Петров, Р. М. Хаитов, А. В. Некрасов), представляющий собой модификат гетероцепного алифатического полиамина. Он обладает выраженной иммуномодулирующей активностью – усиливает кооперативное взаимодействие Т- и В-лимфоцитов, их пролиферацию, функциональную активность фагоцитов, обладает противоопухолевой и детоксицирующей активностью, связывает свободные радикалы.

Немедикаментозная иммуномодуляция. Широкое применение иммунотропных препаратов, сдерживается ограниченностью выбора, дефицитом активных средств, в ряде случаев, их значительной дороговизной, побочными действиями, нередко, тяжёлым течением заболеваний, резситентностью к медикаментозной терапии с сопутствующей лекарственной непереносимостью.

Одним из путей выхода из создавшегося положения является использование немедикаментозных воздействий. Известен иммуностимулирующий эффект ультразвука, магнитного поля, лазерного облучения, плазмафереза, ультрафиолетового облучения крови, иглорефлексотерапии, электро- и лазероакупунктуры, электромагнитного излучения дециметрового и миллиметрового диапазона. Весьма перспективной является экстракорпоральная иммунофармакотерапия, когда производится активизация стимулятором клеток крови in vitro, затем они отмываются от препарата и реинфузируются больному.

Гемосорбция. как метод извлечения из крови токсичных веществ с помощью активированного угля, в последние годы стала применяться в лечении неспецифических воспалительных заболеваний лёгких и других патологических процессов. Вероятно, механизм действия гемосорбции основан на изменении функционального состояния рецепторов иммунокомпетентных клеток периферической крови, контактирующих в процессе гемоперфузии с гранулами активированного угля.

Иммуносорбция. удаление из периферической крови определенных патогенов или токсических веществ, с помощью специфических сорбентов, обладающих высоким сродством к ним, т.е. специфические антитела к токсичным или вредным веществам в крови фиксированы на нерастворимом носителе, через который перфузируется кровь, содержащая эти вещества.

Энтеросорбция основана на связывании и выведении из желудочно-кишечного тракта с лечебной или профилактической целью экзогенных и эндогенных веществ, надмолекулярных структур и клеток.

Спленосорбция является одним из вариантов немедикаментозной иммунокоррекции. В качестве биологического иммуномодулятора используется ксеноселезёнка. Как известно, этот орган является периферическим органом иммунной системы и участвует во многих иммунологических процессах и в удалении иммунных комплексов. Метод заключается в перфузии крови пациента через изолированную ксеноселезёнку, чаще селезёнку свиньи.

Плазмаферез – это дробная эксфузия крови, отделение её клеток от плазмы с последующей реинфузией форменных элементов крови больному. Плазма удалятся и восполняется донорской или плазмещающими растворами: низкомолекулярными декстранами, поливинилпирролидоном, 5% раствором альбумина и др.

Иммунокорригирующее действие плазмафереза связано с элиминацией избытка циркулирующих иммунных комплексов, молекул средней массы, продуктов тканевого и клеточного распада; усилением фагоцитарной активности нейтрофилов и альвеолярных макрофагов и т.д.

Для усиления положительного действия ЛПФ (лечебный плазмаферез) используют УФОК (ультрафиолетовое облучение крови). Среди множества механизмов этого немедикаментозного воздействия имеют значение: противовоспалительное, десенсибилизирующее, иммуностимулирующее, общеукрепляющее действие; активация клеточного и гуморального звеньев иммунитета, факторов неспецифической антиинфекционной резистентности и т.д.

Экстракорпоральная иммунофармакотерапия представляет собой активацию каким-либо стимулятором иммунокомпетентных клеток-регуляторов у больного с патологическими процессами in vitro. Эта методика используется в тех случаях, когда у пациента сформирована лекарственная непереносимость к иммунотропным средствам, но их назначение является жизненно необходимым.

Диагностические препараты. Для иммунодиагностики инфекционных, а также неинфекционных болезней, связанных со изменением функции иммунитета, для оценки иммунного статуса при выявлении влияния на организм неблагоприятных факторов, разработано и используется в медицинской практике множество диагностических препаратов и тест-систем. Механизм действия диагностических препаратов и систем основан на гуморальных и клеточных реакциях, выявляемых в опытах *in vitro* и *in vivo*. Комплекс этих реакций очень разнообразен и включает:

- реакции антиген-антитело на основе специфических природных антигенов и антител или же рекомбинантных белков, специфических пептидов и моноклональных антител;
- генетическое титрование на основе амплификации и молекулярной гибридизации (ПЦР);
- клеточные реакции по определению количественного и качественного состояния иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоцитов, фагоцитирующих клеток);
- определение факторов естественной резистентности (комплемента, интерферона, лизоцима и других защитных белков);
- определение иммуноцитокинов и других биологически активных веществ, принимающих участие в регуляции иммунитета;
- кожные пробы и реакции, например, аллергические.

Техника и технические средства для постановки упомянутых реакций весьма разнообразны, начиная от использования элементарных проб в пробирках или на предметном

стекле и кончая сложными автоматизированными и компьютеризированными методами (аппараты, анализаторы).

Для диагностики инфекционных, а также неинфекционных болезней (аллергий, иммунопатологических, опухолевых процессов, реакций отторжения трансплантата, толерантности и т.д.) разработаны сотни диагностических препаратов и систем. С их помощью диагностируют инфекции (чума, СПИД, сибирская язва, туляремия, вирусные гепатиты, брюшной тиф, дифтерия и др.), пищевые, профессиональные и другие виды аллергий, локализацию злокачественных опухолей (рак печени, легких, прямой кишки и др.); иммунные взаимоотношения матери и плода, беременность; совместимость органов и тканей при пересадках, иммунодефицитные состояния; влияние на организм и его иммунную систему экологических, социальных и других факторов.

Чувствительность, специфичность и информативность диагностических препаратов, основанных на иммунологических принципах, как правило, выше, чем других методов диагностики. Применение моноклональных антител и рекомбинантных антигенов, совершенствование техники регистрации реакций еще более повысили специфичность и информативность диагностических препаратов.

ЧАСТЬ III. СПЕЦИАЛЬНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

ГЛАВА 16. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

Организация микробиологической и иммунологической лабораторий

Вся работа с микробами проводится в лабораториях, которые в зависимости от основных задач могут быть научно-исследовательскими, диагностическими или производственными.

Лаборатория – это учебное, научное или производственное учреждение или же подразделение учреждения/предприятия, выполняющее экспериментальные, контрольные или аналитические исследования.

В системе органов здравоохранения имеются:

1. Клинико-диагностические лаборатории общего или специального (биохимическая, бактериологическая, иммунологическая, цитологическая и др.) типов, входящие в состав больниц, поликлиник, диспансеров и других лечебно-профилактических учреждений.
2. Бактериологические лаборатории Госсанэпиднадзора.
3. Санитарно-бактериологические лаборатории Госсанэпиднадзора.
4. Санитарно-химические лаборатории Госсанэпиднадзора.
5. Центральные (ЦНИЛ), проблемные, отраслевые, учебные лаборатории вузов.
6. Специализированные лаборатории (особо опасных инфекций и др.).

Углубление знаний о природе микробов и разделение инфекций на бактериальные, вирусные, грибковые, протозойные, хламидийные, **риккетсиозные** и другие отражается и на специфике работы микробиологических лабораторий. В настоящее время лаборатории и более крупные лабораторные учреждения (отделы, институты, производственные предприятия), как правило, специализированы и работают с той или иной группой микробов.

Все работы с вирусами проводятся в вирусологических лабораториях, оснащенных соответствующим оборудованием и использующих специальные методы исследования. Существуют микологические и протозоологические лаборатории. Специализированный характер приобретают и бактериологические лаборатории, в которых работа концентрируется на определенных группах бактерий, например: риккетсиозные, туберкулезные, лептоспирозные, анаэробные и др. Иммунологические исследования проводятся в иммунологических лабораториях, хотя отдельные виды исследований, например, серодиагностика инфекционных болезней, могут выполняться и в микробиологических лабораториях.

Лабораторная работа с патогенными микробами проводится в специально оборудованных лабораториях, обеспечивающих режим работы и технику безопасности, исключающие возможность заражения персонала и утечку микробов за пределы лаборатории.

Необходимость четкой регламентации условий работы с микробами, в различной степени опасными для сотрудников лабораторий, населения и окружающей среды, обусловила разработку классификации микробов, в которой последние подразделены на 4 группы по степени их биологической опасности (классификация Всемирной организации здравоохранения). В 1-ю группу включены микробы с низкой степенью опасности, т.е. микробы, которые в обычных условиях, как правило, не вызывают заболеваний людей и сельскохо-

зяйственных животных. Во 2-ю группу включены микробы со средней степенью опасности, т.е. микробы, способные вызывать заболевания людей или сельскохозяйственных животных, но в обычных условиях не представляющие опасности для работников лабораторий и для населения: лабораторные заражения и заболевания редко приводят к серьезным последствиям для заболевших, наличие эффективных средств профилактики и лечения исключает возможность распространения инфекций. К 3-й группе отнесены микробы с высокой степенью опасности для работников лабораторий, так как они часто вызывают тяжелые заболевания у людей, но возможность передачи возбудителя от человека человеку отсутствует или является незначительной. Наконец, в 4-ю группу включены микробы с высокой степенью опасности из-за возможного эпидемического распространения инфекции, поскольку эти микробы способны вызывать тяжелые заболевания у людей и могут легко передаваться другим людям путем прямого контакта или опосредованно. В России в соответствии с рекомендациями ВОЗ патогенные микробы также делят на 4 группы: 1-я группа – возбудители особо опасных инфекций; 2-я группа – возбудители высококонтагиозных эпидемических заболеваний человека; 3-я группа – возбудители инфекционных болезней, выделяемые в самостоятельные нозологические группы; 4-я группа – условно-патогенные микробы – возбудители оппортунистических инфекций. Нумерация групп микробов, принятая в России, отличается обратным порядком от классификации ВОЗ, где к 1-й группе отнесены микробы самой низкой патогенности, а к 4-й группе – особо опасные.

Таблица 16. 1.

Уровень опасности работы с микробами и категории лабораторий

Группа риска	Классификация лабораторий	Пример лабораторий	Пример микроба, с которым ведутся работы
1. Низкий индивидуальный и низкий общественный риск	Базовые (основные	Базовые (основные) учебные лаборатории медицинских вузов	Кишечная палочка, эпидермальный стафилококк
2. Умеренный индивидуальный и ограниченный общественный риск	Базовые (основные) с защитными устройствами и средствами	Лаборатории службы здравоохранения первичного звена, больницы первичного звена, диагностические лаборатории	Сальмонеллы, вирус гепатита В, микобактерии туберкулеза*, вирус лимфоцитарного хориоменингита**
3. Высокий индивидуальный и низкий общественный риск	Режимные (изолированные) или лаборатории удержания	Специальные диагностические лаборатории	Бруцеллы, вирус Ласса, гистоплазма
4. Высокий индивидуальный и высокий общественный риск	Особого режима (максимально изолированные) или лаборатории максимального удержания	Лаборатории особо опасных инфекций	Иерсинии чумы, вирусы Эбола и Марбург, вирус ящура, вирус натуральной оспы

**В случае больших объемов материала и высоких концентраций микробов в лаборато-*

рии или когда используемая техника может привести к образованию аэрозоля, эти и подобные им микробы должны быть отнесены к 3-й группе риска.

***Пример включает также исследовательские лаборатории при соответствующем уровне группы риска.*

В соответствии с делением микробов на группы по степени их биологической опасности лаборатории также делят на категории. По номенклатуре ВОЗ выделяют три категории микробиологических лабораторий:

базовые (основные или общего типа) лаборатории, которые в связи с конкретными особенностями работы могут быть оборудованы различными защитными устройствами:

режимные (изолированные) лаборатории или лаборатории удержания;

лаборатории особого режима (максимально изолированные) или лаборатории максимального удержания (табл. 16. 1).

Безопасность проведения работ в лабораториях всех категорий обеспечивается соблюдением распорядка и правил работы в лаборатории, выполнением требований к лабораторным помещениям и их оснащению, обеспечением лабораторий соответствующим оборудованием, медицинским наблюдением за состоянием здоровья сотрудников, обучением и тренировкой персонала технике безопасности в лаборатории.

Оснащение микробиологической и иммунологической лабораторий

Помещения *базовой лаборатории* должны быть достаточно просторными для обеспечения безопасного проведения лабораторной работы. Стены, потолок и пол должны иметь гладкую поверхность, легко моющуюся, непроницаемую для жидкостей, устойчивую к дезинфектантам, обычно используемым в лаборатории. Полы должны быть нескользкими. Трубы (вода, газ, вакуум и др.) должны отстоять от стен. Необходимо предусмотреть хорошую освещенность для всех видов работ в лаборатории, исключить бликующие поверхности и подвод света через стеклянные потолки. Поверхности рабочих столов должны быть водонепроницаемы, устойчивы к дезинфектантам, кислотам, щелочам, органическим растворителям и умеренному нагреванию. Лабораторная мебель должна быть прочной. Пространство под столами и между мебелью должно быть легкодоступным для уборки. Шкафы для хранения расходных материалов должны быть достаточно вместимыми, чтобы исключить загромождение рабочих столов и проходов. Для длительного хранения материалов оборудуется помещение вне рабочей зоны лаборатории. Каждая лаборатория оборудуется водопроводом и раковиной. Двери должны быть самозакрывающимися, иметь смотровые стекла и соответствовать противопожарным требованиям. В лаборатории должен находиться автоклав для обеззараживания отходов. Вне рабочей зоны лаборатории следует предусмотреть помещения для хранения верхней одежды и личных вещей сотрудников, а также для принятия пищи, питья и курения.

К механической вентиляции базовой лаборатории специальных требований не предъявляется; на форточках и окнах должны быть смонтированы сетки для защиты от проникновения насекомых.

Должны быть предусмотрены помещения и оборудование для безопасной работы и хранения радиоактивных изотопов, сжатых и сжиженных газов, горючих жидкостей и т.д. Предусматривается устройство систем противопожарной безопасности, защиты электросетей и приборов, аварийного душа и приспособлений для промывания глаз. Выделяется и оснащается помещение для оказания первой помощи. В системе водоснабжения не должно быть соединений между лабораторной и питьевой сетями, общая водопроводная сеть

должна быть защищена от обратного тока воды из лабораторной сети устройствами для разрыва струи.

Специального внимания требуют лабораторные отходы, сбросы и стоки. Автоклавы и другие стерилизующие устройства для твердых отходов нуждаются в специально проектируемых помещениях и в специальном обслуживании. Жидкие отходы лаборатории и стоки требуют специальной обработки. Для обеззараживания части отходов и выбросов лаборатории требуются устройства для сжигания, оборудованные приспособлениями для улавливания дыма.

Оснащение базовой лаборатории оборудованием следует проводить, исходя из следующих требований: оборудование должно способствовать ограничению или предупреждению контакта микробиолога с инфекционным материалом, должно быть изготовлено из материалов, непроницаемых для жидкостей, устойчивых к коррозии и прочных, без заусенец и острых краев; оборудование должно быть сконструировано, изготовлено и установлено так, чтобы использовать его было просто и чтобы можно было легко подвергать его чистке, обеззараживанию и проверке.

Каждую лабораторию оснащают, как минимум, микроскопом, автоклавом, термостатами, сушильными и стерилизационными шкафами, аппаратом для свертывания сыворотки, дистиллятором, центрифугами, лабораторными весами, pH-метром, ФЭК, магнитной мешалкой, моечной ванной.

Рабочие кабинеты лабораторий должны быть светлыми, просторными, теплыми, снабжены подводкой холодной и горячей воды, электричеством, вакуумом, кислородом, воздухом высокого давления и т.п. В некоторых кабинетах оборудуются боксы и вытяжные шкафы. В число обязательных помещений входят лаборатории кишечных, капельных инфекций, санитарно-бактериологическая, серологическая, а также вспомогательные помещения: средоварка, моечная, стерилизационная (чистая и грязная), регистратура, кладовые, санузел для сотрудников, виварий. В лабораториях с пунктами для обследования на носительство дополнительно оборудуют приемную, процедурную, туалеты для забора материала. Располагают помещения таким образом, чтобы «грязный» и «чистый» потоки не перекрещивались и не соприкасались.

В отношении помещений *режимных лабораторий* должны прежде всего соблюдаться те же требования, которые предусмотрены для лабораторий общего типа. Необходимыми дополнениями для режимных лабораторий являются следующие:

1) лаборатория должна быть отделена от тех частей здания, где передвижение сотрудников не ограничивается. Для отделения лаборатории от таких зон ее располагают в тупиковом конце этажа, а вход в лабораторию оборудуют воздушным шлюзом;

2) отверстия и щели в полу, стенах и потолке герметизируются. Устройства для мытья рук должны быть снабжены приспособлениями для открывания воды ножной педалью или локтем. Окна должны быть закрыты и заклеены. Входные двери в лабораторные помещения должны быть самозакрывающимися и запирающимися на замок;

3) в лаборатории должен находиться автоклав для обеззараживания лабораторных отходов. При необходимости переноса отходов для обеззараживания в другую часть того же здания, их помещают в закрытый влагонепроницаемый контейнер;

4) вытяжную вентиляцию проектируют так, чтобы наиболее низкое давление создавалось в помещениях самой высокой опасности инфицирования. В этом случае, движение воздуха будет происходить из вспомогательных помещений в направлении основного рабочего помещения. Отработанный воздух выбрасывается в окружающую среду только после фильтрации через бактериальные фильтры.

ХайМедиа Лабораториз Пвт. Лтд.

Для прекрасной жизни

Компания HiMedia Laboratories Pvt Ltd (Индия) - мировой лидер по производству высококачественной продукции для бактериологии и вирусологии предназначенной для организаций системы здравоохранения, санитарно-эпидемиологической службы, сертификационных центров, биотехнологических предприятий, научно-исследовательских институтов и для предприятий фармацевтической промышленности.



Система управления качеством сертифицирована по международным стандартам ISO 9001:2000, ISO 13485:2003, WHO GMP, Европейскому стандарту качества (CE).
Продукция зарегистрирована в Комиссии по контролю пищевых продуктов и лекарственных средств США (US FDA)

HIMEDIA®

Микробиология на службе человечеству

HIMEDIA

Микробиология на службе человечеству

ХайМедиа Лабораториз Пвт. Лтд.

Основанная в 1975 году компания, является одним из крупнейших в мире производителей экспортеров продукции для бактериологии и вирусологии. HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. - абсолютный лидер по ассортименту поставляемых питательных сред.

Система управления качеством компании **ХАЙМЕДИА ЛАБОРАТОРИЗ ПВТ. ЛИМИТЕД** сертифицирована по стандарту **ISO 9001:2000, ISO 13485:2003, WHO GMP**, Европейскому стандарту качества (CE). Продукция зарегистрирована в Комиссии по контролю пищевых продуктов и лекарственных средств США (US FDA), что свидетельствует о высочайшем качестве продукции и услуг компании. Это позволяет экспортировать продукцию более чем в 80 стран мира, включая США, Швейцарию, Россию, Голландию, Германию, Японию, Италию и многие другие страны. Выпускаемая компанией HiMedia продукция соответствует требованиям Фармакопеи США, Европейской Фармакопеи и Британской Фармакопеи. Продукцию HiMedia используют для своих нужд такие авторитетные международные организации как Всемирная Организация Здравоохранения и ЮНИСЕФ, а также всемирно известные компании – Nisshui Pharmaceuticals и Eiken Pharmaceuticals, Roche, Hoechst, Novartis, Pfizer, Wyeth laboratories, Proctor & Gambler, Nestle, Cadbury, Pepsi, Coca Cola Company и многие другие.

Продукция Himedia Laboratories Pvt. Ltd. - это несколько тысяч наименований. Вся основная продукция компании продукция зарегистрирована в Минздраве России, Беларуси, Украины, Казахстана, Узбекистана, Латвии и разрешена к применению. Девиз компании HiMedia Laboratories Pvt Ltd - "Для драгоценной жизни".

По ассортименту выпускаемых питательных сред компания Himedia Laboratories Pvt Ltd не имеет аналогов в мире. Общее количество выпускаемых сред составляет около полутора тысяч. Ко многим средам выпускаются стерильные, готовые к применению, добавки. Имеются как селективные, содержащие антибиотики, добавки, так и добавки с необходимыми для рост бактерий компонентами (сыворотка крови, витамины, факторы крови, некоторые соли типа пирувата, сукцината и т.д.). Всего выпускается около 200 различных добавок. HiMedia Laboratories Pvt Ltd поставляет различные виды сырья для биотехнологии, такие как пептоны (ферментативный, бактериологический, соевый, микологический, протеозный, специальный и т.д.), агары (бактериологический, ультра чистый, для иммуноэлектрофореза т.д.), экстракты (мясной, дрожжевой, печеночный), гидролизаты казеина и лактальбумина), а также другие компоненты питательных сред.



HIMEDIA

Микробиология на службе человечеству

ХайМедиа Лабораториз Пвт. Лтд.



Производитель диагностических и культуральных питательных сред, оборудования и расходных материалов для баклабораторий.
Экспортирует свою продукцию более чем в 80 стран мира.
Система управления качеством сертифицирована по международным стандартам
ISO 9001:2000.

Профиль продукции

- Сухие и готовые к употреблению питательные среды
- Компоненты: бактериологический агар, пептоны, желчь и соли желчных кислот, дрожжевой, мясной и другие экстракты
- Питательные среды для культур клеток
- Диски с антибиотиками и диспенсер для картриджей
- Индикаторные диски и полоски

- Система для выращивания анаэробов
- Полный спектр продукции для диагностики туберкулеза

- Пластиковая посуда и разные типы тампонов для биологических образцов
- Транспортные системы

- Флаконы для гемокультур

- Металлические и пластиковые бактериологические петли
- Лабораторные реактивы и биохимикаты высокой очистки
- Индикаторы и красители
- Полный спектр продукции для диагностики листериоза

Продукция зарегистрирована в Минздраве России, Беларуссии, Украины, Казахстана, Узбекистана, Латвии и разрешена к применению

Представительство в Республике Узбекистан
Офис: 700068, Ташкент, Жар-Арик,70[a]
Тел/Факс: Тел: 118-55-23, 118-52-96
(+998 90) 168 20 80 ; E-mail: himediauz@dostlink.net

ISO 9001:2000

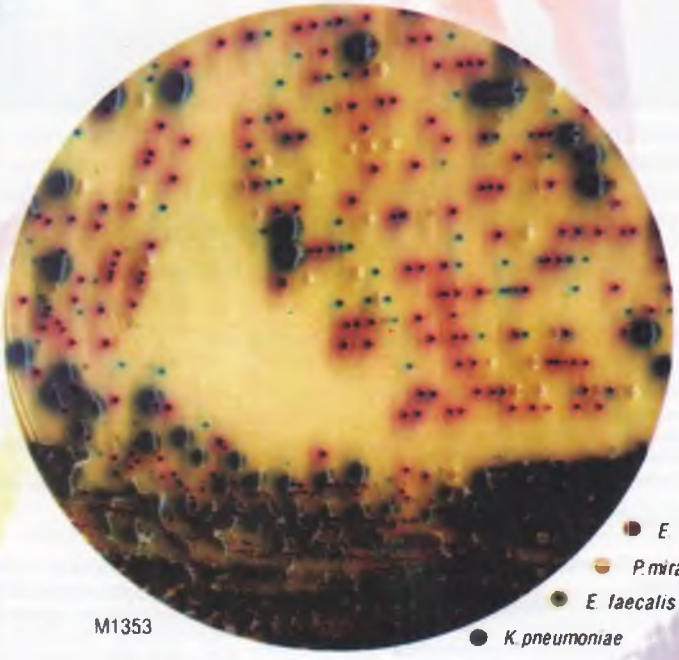
HiMedia Laboratories Pvt. Limited
A-406, Bhaveshwar Plaza, LBS Marg, Mumbai - 400 086, India.
Fax: 00-91-22-2500 5764, 2500 2468, 2500 2286 Phone: 2500 3747, 2500 0970, 2500 1607, 2500 0653
Email: info@himedialabs.com / saroj_w@giasbm01.vsnl.net.in Website: www.himedialabs.com

Экспресс-диагностика

Хромогенные среды от компании HiMedia

СЕРИЯ HiCrome™

Дифференциация микроорганизмов в первичном посеве



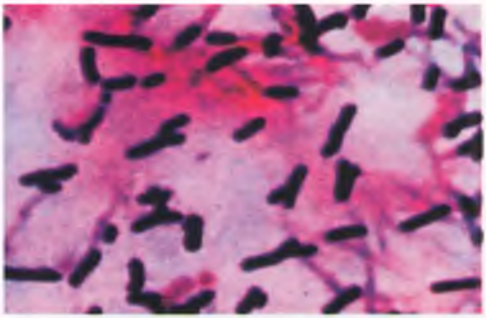
Результат в течение

24 ч

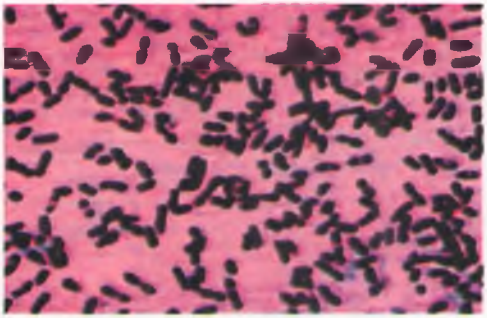
Самый широкий спектр хромогенных сред !

HIMEDIA

ДЛЯ ДРАГОЦЕННОЙ ЖИЗНИ



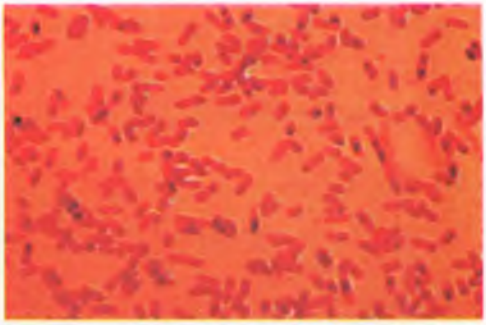
B. bifidum



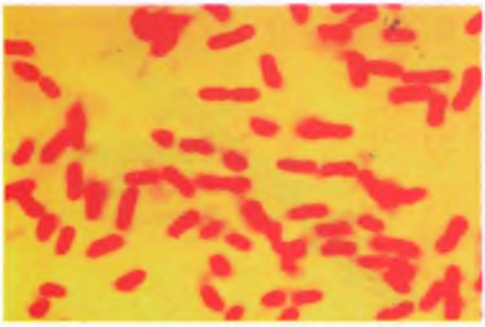
B. fragilis



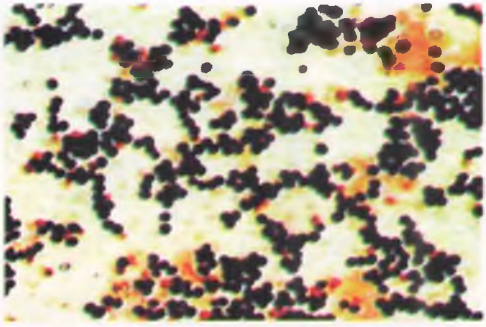
Lactobacillus spp



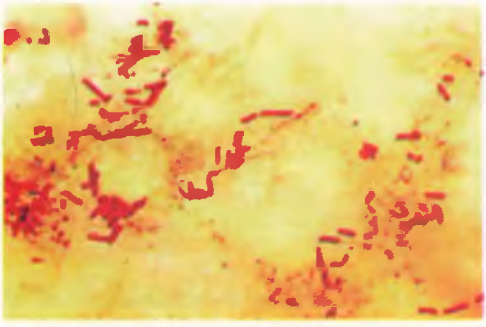
E. cloacae



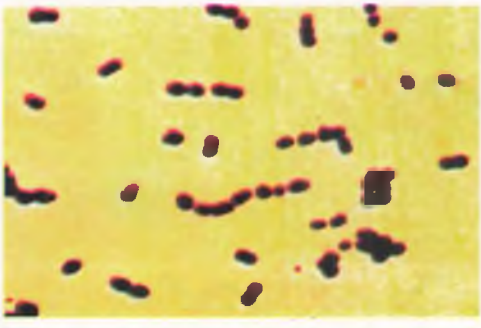
P. aeruginosa



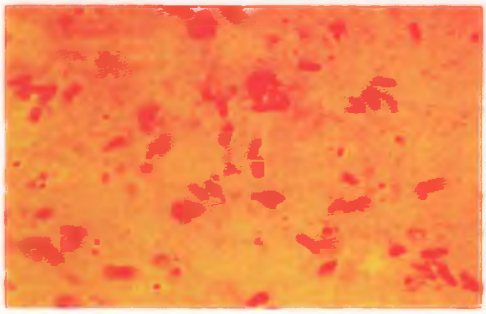
P. niger



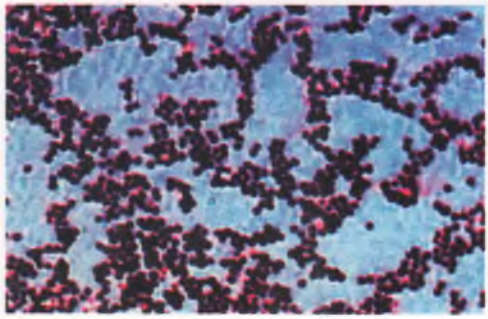
P. acnes



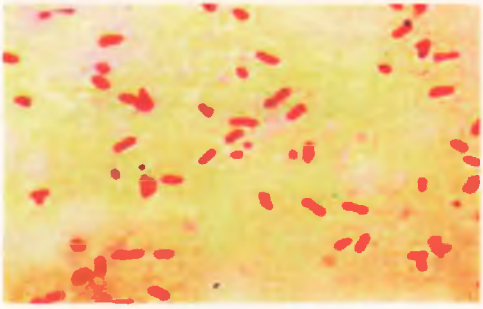
P. anaerobius



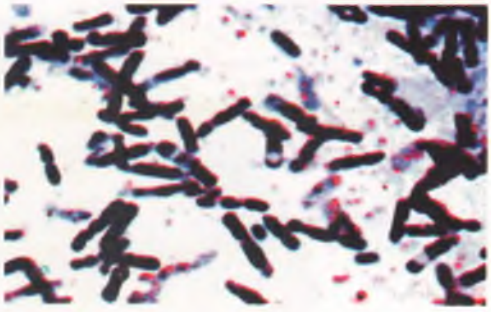
C. freundii



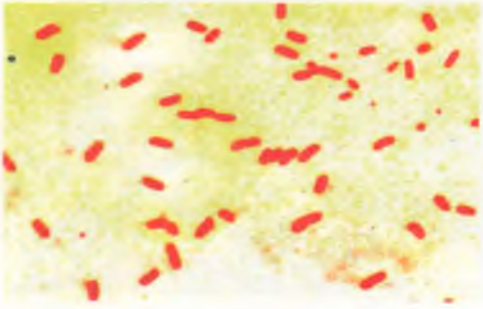
S. aureus



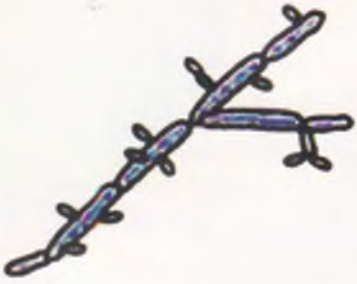
E. coli



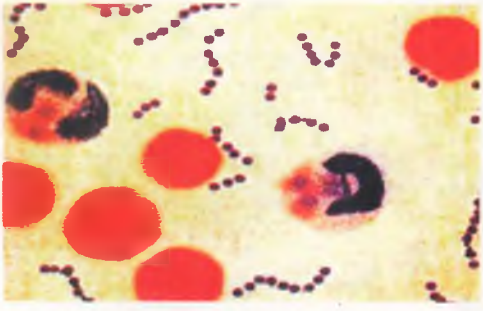
C. perfringens



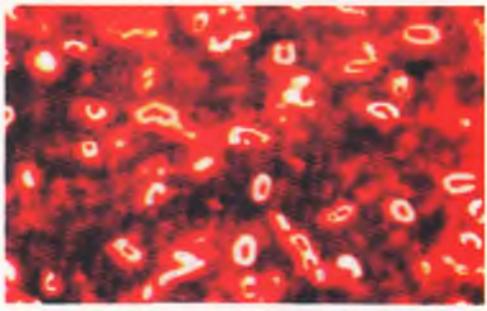
P. vulgaris



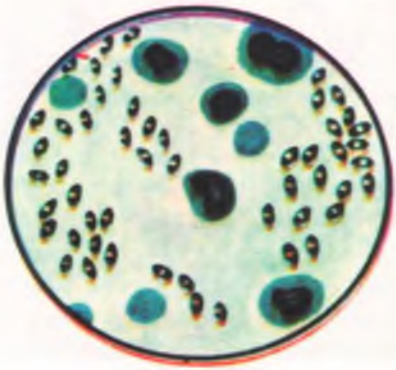
C. tropicalis



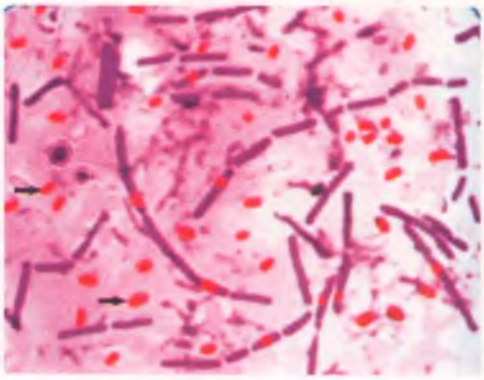
Strepotococcus pyogenes



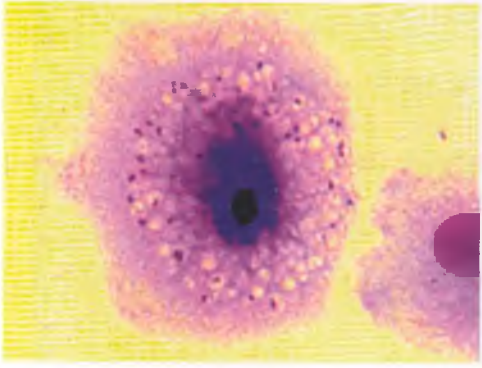
Klebsiella pneumonia



Yersinia pestis в гное из бубона.
Окраска метиленовым синим



Споры B.anthracis, окраска по Ауеску



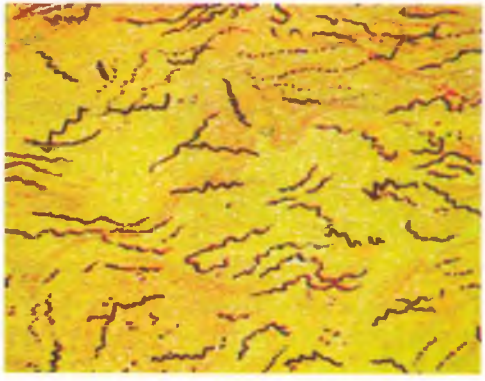
Незавершенный фагоцитоз сальмонелл.
Окраска по Романовскому–
Гимзе (препарат М.В. Донина)



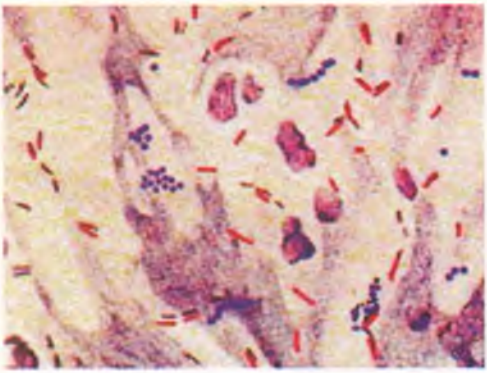
Мазок из чистой культуры
C. botulinum. Окраска по Граму



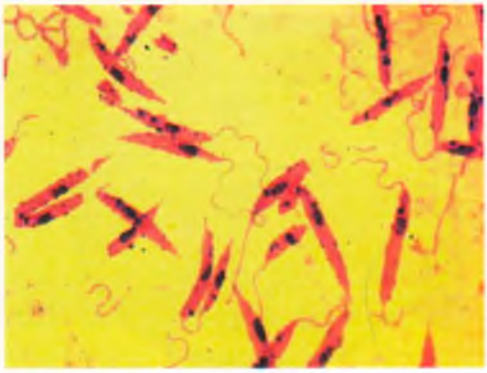
Рисунок мазка из чистой культуры
C.diphtheriae. Окраска по Нейссеру



Treponema pallidum в мазке из твердого шанкра. Импрегнация спирохет серебром



Кислотоустойчивые микобактерии
Некислотоустойчивые бактерии
M. tuberculosis в мазке из мокроты (рисунок). Окраска по Цилю–Нильсену



Мазок. Чистая культура лейшманий (жгутиковая форма – промастигота). Окраска по Романовскому–Гимзе

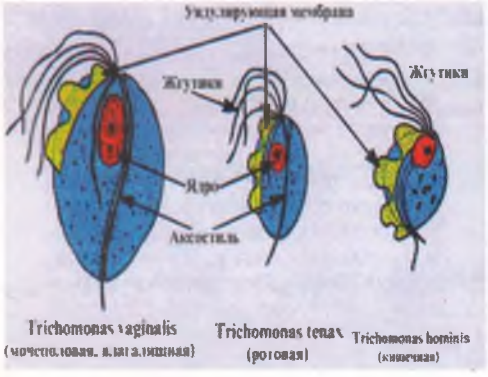


Схема строения вируса трихомонад



Схема строения вируса СПИДА (ВИЧ)

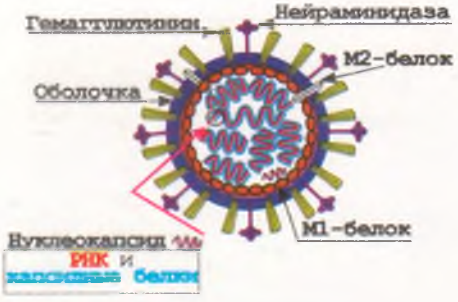
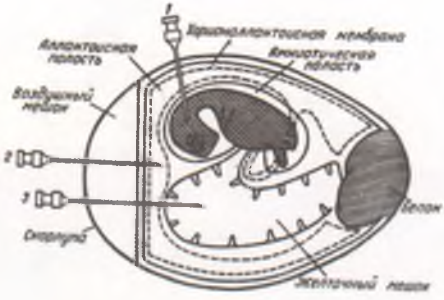


Схема строения вируса гриппа



Способы заражения куриного эмбриона. 1 – в амнион, 2 – в аллантоисную полость; 3 – в желточный мешок

При оснащении режимных лабораторий оборудованием руководствуются рекомендациями, разработанными для базовых лабораторий, с тем дополнением, что вся работа с инфекционным материалом в них проводится в *защитных боксах* 1-го и 2-го, а иногда и 3-го класса.

В режиме *максимально изолированных* лабораторий существует ряд особенностей для обеспечения максимальной биологической безопасности персонала, населения и окружающей среды. Так, вход в лабораторию и выход из нее осуществляются через *санитарный пропускник*. При входе обязательно полное переодевание в специальную одежду, при выходе перед переодеванием обязательна целевая санитарная обработка (душ, дезинфектанты) персонала. Автономная вентиляция поддерживает во всех рабочих помещениях разрежение воздуха. Выброс воздуха из вытяжной вентиляции осуществляется только через стерилизующие бактериальные фильтры. Все отходы лаборатории подвергаются обеззараживанию. Стерилизация отработанных материалов в лаборатории проводится путем автоклавирования в проходных автоклавах, расположенных между рабочей и вспомогательной зоной. Лаборатория должна быть оснащена спецканализацией, для того чтобы все жидкие отходы накапливались в емкости и только после обеззараживания сливались в общую канализацию. Изоляция сотрудников лаборатории от инфекционного материала осуществляется с помощью защитных боксов 3-го класса и *пневмокостюмов* с избыточным давлением внутри.

Для создания и практической реализации технических возможностей проведения операций и процессов, при которых инфекционный материал может попадать в окружающую среду, применяют *боксирование*. С помощью *боксов* (настольных, ламинарных) создают физические барьеры для предотвращения возможных контактов работающего персонала с инфекционным материалом. Выбор конструкции защитного бокса определяется степенью опасности для человека того микроба или продуктов его жизнедеятельности, с которым планируется работать, а также характером проводимых операций и процессов с точки зрения вероятности образования аэрозолей.

Различают защитные боксы с частичным удержанием микробов (боксы 1-го и 2-го классов) и с полным их удержанием или изолирующие боксы (боксы 3-го класса).

В боксах 1 класса воздух рабочего помещения всасывается через проем в передней панели вентилятором, установленным на выходе из бокса после предфильтра и высокоэффективного фильтра, и не дает возможности аэрозолю внутри бокса попасть в рабочее помещение. Удаляемый из бокса загрязненный воздух очищается от частиц аэрозоля в предфильтре и в специальном фильтре тонкой очистки и выводится в вытяжную систему здания, в котором расположена лаборатория или выбрасывается непосредственно в рабочее помещение. Боксы 1-го класса применяют для работ с микробами только умеренного уровня опасности.

Боксы 2-го класса представляют собой защитные конструкции с проемом в передней панели для рук работающего. Для защиты персонала и рабочих помещений в боксах создается нисходящий вертикальный воздушный поток благодаря рециркуляции части засасываемого в бокс воздуха. Рециркулирующий, а также выводимый из бокса воздух очищается в высокоэффективных аэрозольных фильтрах. Ламинарный поток воздуха обеспечивает также защиту находящегося внутри бокса исследуемого материала от контаминации посторонней микрофлорой. Боксы 2-го класса используют для работы с микробами низкой категории риска, если лабораторные манипуляции сопровождаются массивным образованием аэрозолей, а также для всех лабораторных работ с микробами, представляющими высокий индивидуальный риск.

Боксы 3-го класса (изолирующие) являются газонепроницаемыми конструкциями, работающими под пониженным давлением. Они создают надежный физический барьер меж-

ду материалом, находящимся внутри бокса, и персоналом и обеспечивают полное удержание микробов и продуктов их жизнедеятельности. Работа в боксе осуществляется с использованием резиновых перчаток плечевого типа, герметически заделанных в стенки бокса. Воздух, засасываемый в бокс и выводимый из него вентилятором, подвергается очистке в предфильтре и в двух последовательно установленных высокоэффективных фильтрах, либо проходит через термический затвор для сжигания всего органического материала. Очищенный воздух отводят по автономным воздушным системам за пределы здания, или сбрасывают в центральную систему транспортировки и очистки технологического воздуха. Жидкие отходы из боксов 3-го класса собирают в специальную емкость, подвергают термической обработке, а затем сбрасывают в общую канализационную систему лаборатории. В боксах 3-го класса допускается работа с микробами любого уровня опасности. Для проведения специализированных и комплексных исследований боксы 3-го класса могут объединяться в защитные технологические линии и комплексы таких линий. В состав таких линий могут включаться ферментеры, инкубаторы, рефрижераторы, замораживатели, центрифуги, измельчители, гомогенизаторы и другое оборудование. Некоторые линии отводятся для изолированного содержания подопытных животных. Соединение отдельных элементов в линии, а линий в комплексы осуществляется с помощью переходных камер-шлюзов.

Для группировки всех помещений микробиологических лабораторий с одинаковыми уровнями реально присутствующих или потенциально возможных профессиональных вредностей, разделения их между собой и отделения их от внешней среды защитными барьерами применяют *зонирование.*

В зонах используют специальную для каждой из них рабочую или защитную одежду, средства индивидуальной защиты, осуществляют адекватную отделку помещений и проводят дифференцированную обработку воздушных вентиляционных и технологических выбросов, твердых и жидких отходов. Разделение помещений по зонам позволяет наиболее целесообразно проводить их обеззараживание, целевую санитарную обработку персонала, обработку использованной спецодежды и других средств индивидуальной защиты, материалов и предметов, передаваемых между зонами. Немалую роль при реализации принципа зонирования играет также экономический фактор: целесообразнее ограничить контроль профессиональных вредностей лишь теми помещениями, где они имеются, чем распространять его на лабораторию в целом.

Мероприятия по зонированию помещений реализуются при проектировании и строительстве лаборатории. Исходя из функционального предназначения лаборатории и схемы исследовательского процесса, выделяют группу помещений, которые должны быть изолированы от других помещений и окружающей среды, если в них запланировано проводить работу с активными препаратами, вследствие чего, такие помещения должны рассматриваться как потенциально или фактически *«грязные».* При их проектировании должна учитываться диктуемая спецификой соответствующих исследований необходимость и вероятность работы с активными материалами в открытом виде непосредственно на лабораторных столах или в негерметичной аппаратуре и приборах, которые имеют такие габариты, что их невозможно поместить в защитные боксы. Эти помещения составляют ядро современных микробиологических лабораторий и требуют при их проектировании, строительстве и эксплуатации особого внимания. Эта группа помещений формирует *3-ю зону* комплексной диагностической или исследовательской лаборатории.

Помещения лаборатории, для которых типична работа с инфекционными материалами в герметичной аппаратуре, приборах и в защитных боксах, квалифицируют как *«условно грязные»* и относят ко *2-й зоне.*

Отдельную группу рабочих помещений лаборатории составляют помещения буферного предназначения, которые выполняют функции препараторских и обслуживают основные помещения (3-я и 2-я зоны) лаборатории. В этих помещениях проводят работы только с неактивными препаратами, с материалами, лабораторной посудой и реактивами общего пользования. Временное пребывание в этих помещениях биологически активных материалов и подлежащих передаче в основные помещения лаборатории разрешается только в герметической укупорке, исключающей загрязнение помещений. Данные помещения считаются *«чистыми»* и относятся к помещениям *1-й зоны*.

В лабораториях имеются помещения общего предназначения, планировка, отделка и оснащение которых так же, как и помещений 1-й зоны, должны отвечать общим архитектурным требованиям, предъявляемым к зданиям научно-исследовательских учреждений. К ним относятся вестибюли, гардеробы, административные кабинеты, буфеты, склады, помещения технического обслуживания (мастерские, котельные, трансформаторные и др.). Эти помещения формируют 0-ю зону лаборатории.

Дифференциация рабочих помещений лабораторий по различным зонам, требует четкого обозначения границ между зонами и создания на этих границах, за исключением входа и выхода в 0-ю зону, *санитарных пропускников* для людей, а также установки соответствующих передаточных устройств для материалов и исследовательской аппаратуры и приборов.

Санпропускники предназначены для исключения выноса на одежде и на теле людей специфических микроорганизмов при переходе персонала из более «грязных» помещений в менее «грязные». Это достигается переодеванием персонала, следующего в помещения более «грязной» зоны, в санпропускниках в спецодежду, установленную для данной зоны, использованием необходимых дополнительных средств индивидуальной защиты вплоть до пневмокостюмов, снятием и обработкой использованной спецодежды и других средств индивидуальной защиты при выходе из указанной зоны, целевой санитарной обработкой персонала и, наконец, одеванием одежды, характерной для зоны, в которую входит сотрудник.

Санпропускники целесообразно располагать на границах 0-й и 1-й зон (санпропускник 1-й зоны), 1-й и 2-й зон (санпропускник 2-й зоны), 2-й и 3-й зон (санпропускник 3-й зоны). Зональные санпропускники должны обеспечивать:

санпропускник 1-й зоны: при входе персонала из 0-й зоны в 1-ю – замену домашней одежды на рабочую, но не спецодежду, при выходе из 1-й зоны – гигиенический душ для персонала, замену рабочей одежды на домашнюю;

санпропускник 2-й зоны: при входе персонала из 1-й зоны во 2-ю – замену рабочей одежды 1-й зоны на спецодежду в соответствующем комплекте; при выходе из 2-й зоны – целевую санитарную обработку персонала, замену спецодежды на рабочую, регламентированную обработку снятой спецодежды;

санпропускник 3-й зоны: при входе персонала из 2-й зоны в 3-ю – дополнение спецодежды 2-й зоны пневмокостюмом; при выходе из 3-й зоны – обработку пневмокостюма непосредственно на человеке, под «химическим душем», снятие и дальнейшую обработку пневмокостюма, восстановление комплекта спецодежды, предназначенного для 2-й зоны.

Кроме разграничения рабочих зон лаборатории с помощью санитарных пропускников, значительное внимание при проектировании необходимо уделить выбору местоположения каждой зоны в общей системе лаборатории или здания. Необходимо располагать помещения более высокой зональности внутри помещений более низкой зональности, по принципу «ящик в ящике», не допуская примыкания помещений 3-й зоны к наружным ограждениям зданий и расположения их на последних верхних этажах, в подвалах и над

помещениями 0-й и 1-й зон. Помещения 2-й и 3-й зон должны иметь автономные системы вентиляции, которые создаютв этих помещениях разряжение, обеспечивающее направленное движение воздуха в сторону помещений более высокой зональности. Воздух, выбрасываемый системами вентиляции 2-й и 3-й зон, фильтруется через фильтры тонкой очистки или каскады таких фильтров. Системы сбора и обработки стоков для 2-й и 3-й зон также должны быть автономными.

Правила работы в микробиологической лаборатории

Основные правила работы в базовой лаборатории предусматривают:

запрет работ с пипеткой при помощи рта;

запрет приема пищи, питья, курения, хранения пищи и применения косметических средств в рабочих помещениях;

поддержание чистоты и порядка;

дезинфекцию рабочих поверхностей не реже 1 раза в день и после каждого попадания на них заразного материала;

мытье рук персоналом после работы с заразным материалом, животными, перед уходом из лаборатории;

проведение всех работ таким образом, чтобы свести к минимуму возможность образования аэрозоля;

обеззараживание всех инфицированных материалов перед выбросом или повторным использованием;

заразный материал, предназначенный к уничтожению вне лаборатории, помещают в прочные непромокаемые контейнеры, которые надежно закрывают перед удалением из лаборатории;

запрет на использование лабораторной спецодежды и средств индивидуальной защиты вне лаборатории;

дезинфекцию всех инфицированных предметов;

применение очков или других защитных средств для глаз и лица от брызг или образующихся при работе частиц;

допуск в рабочую зону только лиц, предупрежденных о потенциальной опасности и выполнивших специальные требования (например, вакцинация);

во время работы двери лаборатории должны быть закрыты;

вход в виварий ограничен специально отобранным для работы там персоналом;

детям вход в лабораторию запрещен;

проведение текущей дезинсекции и дератизации лабораторных помещений;

запрещено вносить в лабораторию животных, не предназначенных для работы;

использование остроконечных шприцевых игл ограничено парентеральными инъекциями, забором крови у лабораторных животных или жидкостей из флаконов через резиновые пробки;

шприцы и иглы при работе с инфекционными жидкостями нельзя использовать вместо приборов автоматического пипетирования;

вместо остроконечных игл везде, где возможно, должны использоваться тупоконечные канюли;

работа с кровью, заразным материалом и зараженными животными ведется в резиновых перчатках;

после работы перчатки снимают с соблюдением правил асептики и перед удалением из лаборатории автоклавируют;

немедленное сообщение руководителю лаборатории обо всех аварийных ситуациях, создающих угрозу биологической безопасности;

проведение медицинских мероприятий, в соответствии с медицинским значением происшествия;

отбор у всех сотрудников лаборатории, проб крови перед допуском к работе и сохранение фонового образца сыворотки;

периодический отбор проб крови персонала для исследования в соответствии с характером работы и степенью риска;

ответственность руководителя лаборатории за обучение персонала технике безопасности;

в лаборатории должна быть инструкция по технике безопасности;

персонал должен быть предупрежден об имеющейся биологической опасности;

персонал должен знать порядок и правила работы в лаборатории и строго выполнять их.

Правила работы режимных лабораторий включают все положения, обязательные для лабораторий общего типа. Специальными правилами являются следующие:

в лабораторных помещениях все манипуляции должны осуществляться только двумя сотрудниками, работа в одиночку с инфекционным материалом запрещена;

все двери лабораторных помещений должны быть снабжены объявлениями и знаком биологической опасности, на двери указывают ответственное за работу лицо и условия (вакцинация и т.п.), при которых разрешается вход;

обязательно постоянное ношение в лаборатории спецодежды и других средств индивидуальной защиты, целевая санитарная обработка персонала при выходе из лаборатории; спецодежда перед стиркой подвергается обеззараживанию;

работа с зараженными животными в виварии проводится в респираторах.

Правила работы для максимально изолированных лабораторий дополняются тем, что вход и выход из лаборатории осуществляются через санитарный пропускник, расположенный между рабочей и вспомогательной зоной; при входе обязательно полное переодевание в специальную одежду, а при выходе – целевая санитарная обработка персонала.

Принципы микробиологической диагностики инфекционных болезней

Лабораторная диагностика болезней человека основана на обнаружении в организме больного микроба, вызвавшего болезнь, его компонентов (антигенов) или продуктов его жизнедеятельности (токсинов и т.п.) или изменений в параметрах гомеостаза под действием этого микроба, например, формулы крови, биохимического состава крови и т.д.

Наиболее важное место в лабораторной диагностике инфекционных болезней, занимает специфическая микробиологическая диагностика, которую проводят в бактериологической, вирусологической, иммунологической и других лабораториях.

Забор материала для исследования. Первым этапом микробиологической диагностики является *забор материала* для исследования, выбор которого определяется патогенезом и клиникой инфекционного заболевания. Исследуемый материал берут, по возможности, в асептических условиях, помещают в стерильную посуду и как можно быстрее доставляют в лабораторию (желательно в течение часа).

В некоторых случаях, посев материала проводят у постели больного. Иногда допускается непродолжительное хранение материала в регламентированных условиях. Исследуе-

мый материал сопровождается документом, в котором обязательно указываются время взятия, характер материала, его источник и точно формулируется цель исследования.

Материалом для исследования в медицинской микробиологии служат различные биологические жидкости и другие материалы, взятые из организма (кровь, гной, моча, мокрота, ликвор, испражнения, рвотные массы, промывные воды и т.п.) и ткань – биопсия от живого или аутопсия от трупа. В некоторых случаях, на исследование берут объекты окружающей среды: воздух, воду, пищевые продукты, смывы и т.п. При заборе материала для микробиологического исследования необходимо соблюдать следующие правила:

вид материала определяется клинической картиной заболевания, т.е. он должен соответствовать локализации предполагаемого возбудителя на данном этапе патогенеза болезни;

количество материала должно быть достаточным для проведения исследования и его повторени, в случае необходимости;

материал берут, по возможности, в начальном периоде болезни, так как именно в этот период возбудители выделяются чаще, их больше, они имеют более типичную локализацию;

забор материала должен осуществляться до начала антимикробной химиотерапии или через определенный промежуток времени, после приема антибактериального препарата, необходимый для выведения последнего из организма; материал берут непосредственно из очага инфекции или исследуют соответствующее отделяемое (гной, мочу, желчь и т.п.);

материал берут в момент наибольшего содержания в нем возбудителя;

необходимо исключить возможность контаминации материала нормофлорой больного и микробами окружающей среды, для чего, материал берут в асептических условиях при адекватном доступе к источнику инфекции;

следует предупредить возможность попадания в материал антимикробных препаратов (дезинфектантов, антисептиков, антибиотиков);

любой клинический материал должен рассматриваться как потенциально опасный для человека, поэтому при его заборе, хранении, транспортировке и обработке должны соблюдаться все правила биологической безопасности;

транспортировку материала в лабораторию следует проводить в максимально короткие сроки, чтобы исключить гибель неустойчивых видов микробов, или помещать его в специальные транспортные среды;

к материалу прилагают сопроводительный документ, содержащий основные сведения, необходимые для проведения микробиологического исследования (Ф.И.О. больного, номер истории болезни, клинический диагноз и т.д.).

в процессе транспортировки материал следует оберегать от действия света, тепла, холода, механических повреждений, чтобы исключить гибель микробов и контаминацию материала посторонней микрофлорой. Лучше всего, доставлять материал в специальных металлических изотермических контейнерах, которые легко очищать и обеззараживать. Нельзя отправлять материал в лабораторию с больными или со случайными людьми.

Микробиологическая диагностика. Микробиологическая диагностика включает в себя 5 методов:

микроскопический,
культуральный,
биологический,
серологический,
аллергологический.

Микроскопический метод заключается в приготовлении препаратов (нативных или окрашенных простыми или сложными методами) из исследуемого материала и их микроскопии с применением различных видов микроскопической техники (световая, темнопольная, фазово-контрастная, люминесцентная, электронная и др.). В бактериологии микроскопический метод получил название *бактериоскопического,* в вирусологии – *вирусоскопического.*

Культуральный метод заключается в посеве исследуемого материала на искусственные питательные среды с целью выделения и идентификации чистой культуры возбудителя или возбудителей. В бактериологии культуральный метод получил название *бактериологического,* в микологии – *микологического,* в протозоологии – *протозоологического,* в вирусологии – *вирусологического.*

Биологический метод (экспериментальный или биопроба) заключается в заражении исследуемым материалом чувствительных лабораторных животных или других биологических объектов (куриные эмбрионы, культуры клеток). Его используют для выделения чистой культуры возбудителя, определения типа токсина, определения активности антимикробных химиотерапевтических препаратов и т, д.

Серологический метод заключается в определении титра специфических антител в сыворотке крови больного, реже – в обнаружении микробного антигена в исследуемом материале. С этой целью, используются реакции иммунитета.

Аллергологический метод заключается в выявлении инфекционной аллергии (ГЗТ) на диагностический микробный препарат-аллерген. С этой целью, ставят кожные аллергические пробы с соответствующими аллергенами.

Очевидно, что диагностическая ценность перечисленных методов неравнозначна. Ведущим методом микробиологической диагностики является культуральный метод, так как он позволяет выделять и идентифицировать микроб-возбудитель, т.е. первопричину болезни. Остальные методы менее информативны, так как они имеют дело с изменениями в организме, обусловленными наличием в нем микроба. Второе место по значимости занимает серологический метод, поскольку взаимодействие антигена и антитела характеризуется высокой степенью специфичности. Информативность трех остальных методов невысокая и они обычно служат дополнением к культуральному и серологическому методам. Так, микроскопия исследуемого материала, далеко не всегда позволяет увидеть и идентифицировать микробы под микроскопом. Их удается обнаружить только при высокой обсемененности ими материала. Даже обнаружив бактерии под микроскопом, их невозможно идентифицировать до вида морфологически. Как известно, все видовое многообразие бактерий сводится к четырем основным морфологическим формам: кокки, палочки, извитые и ветвящиеся формы. Поэтому по микроскопической картине, можно весьма ориентировочно отнести увиденные бактерии к крупному таксону, например, грамположительные кокки. Только в единичных случаях, когда бактерии имеют уникальную морфологию, на основании микроскопии можно определить их родовую принадлежность. При микроскопии грибов и простейших информативность микроскопического метода выше, так как грибы и простейшие, являясь эукариотами, имеют более крупные размеры и более характерную морфологию.

Диагностические возможности экспериментального метода ограничены тем, что к большинству возбудителей антропонозных инфекций человека лабораторные животные невосприимчивы, поэтому вызвать у них экспериментальную инфекцию не представляется возможным.

Возможности аллергологического метода ограничены тем, что большинство микробов, попадая в организм человека, не вызывают ГЗТ.

Поскольку микробиологические исследования являются одним из наиболее дорогих видов лабораторных исследований, перед микробиологом стоит задача постановки достоверного микробиологического диагноза с наименьшей затратой времени, сил и средств. Поэтому для постановки диагноза используют от одного до пяти методов диагностики, с тем, чтобы выбранный набор методов гарантировал правильность ответа.

Особое значение приобретают *методы экспресс-диагностики,* которые позволяют поставить микробиологический диагноз в течение короткого промежутка времени (от нескольких минут, до нескольких часов) с момента доставки исследуемого материала в лабораторию. К числу экспресс-методов относятся РИФ, ИФА, РИА, ПЦР, газовая хроматография и др.

Наряду с традиционными классическими методами микробиологической диагностики, в последние годы все большее значение приобретают *молекулярно-биологические методы* диагностики (ДНК-зонды, ПЦР, газовая хроматография, электрофорез, иммуноблот и др.). Эти методы основаны на идентификации ДНК и РНК, специфических для данного вида микробов, и включают гибридизацию на основе ДНК-зондов и диагностику на основе ПЦР.

К числу экспресс-методов микробиологической диагностики анаэробной инфекции следует отнести физико-химические методы исследования химического состава микробной клетки и продуктов ее метаболизма. Таким методом, в первую очередь, является метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ). Использование метода ГЖХ с целью экспресс-диагностики анаэробной инфекции основано на хроматографическом определении в исследуемом материале больных гнойно-септическими заболеваниями специфических продуктов метаболизма анаэробов – летучих жирных кислот, которые служат метаболическими маркерами наличия анаэробов в исследуемом материале. Хорошо известно, что конечными и высокоспецифичными продуктами метаболизма углеводов у анаэробов являются жирные кислоты. Различают короткоцепочечные или летучие жирные кислоты C_2–C_7 и длинноцепочечные нелетучие кислоты. Определение в исследуемом материале наличия жирных кислот с помощью ГЖХ является убедительным доказательством анаэробной этиологии воспалительного процесса. Методом ГЖХ технически более просто определять летучие жирные кислоты. При этом метаболическими маркерами анаэробов являются изомасляная и масляная, изовалериановая и валериановая, изокапроновая и капроновая, гексановая и каприловая кислоты. Аэробные бактерии летучие жирные кислоты не продуцируют. ГЖХ применяется также в диагностике заболеваний, вызванных микобактериями и, в первую очередь, при туберкулезе. Применение ГЖХ особенно целесообразно при тех заболеваниях, возбудители которых плохо или вообще не культивируются либо же слишком долго растут.

Методы микробиологической диагностики бактериальных инфекций

В бактериологии для обнаружения возбудителя в исследуемом материале используют бактериоскопический, бактериологический, биологический методы.

Достоинствами *бактериоскопического метода* являются его простота, быстрота, экономичность. Однако, он находит ограниченное применение, так как может быть использован лишь при наличии каких-либо морфологических или тинкториальных особенностей возбудителя и при достаточном его содержании в исследуемом материале. Как правило, этот метод является ориентировочным.

Основной, самый точный метод диагностики бактериальных инфекций – *бактериологический,* который используют почти при всех заболеваниях, несмотря на та-

кие его недостатки, как длительность исследования (от 4–5 дней до 2 месяцев), опасность (так как накапливается чистая культура возбудителя), сравнительная дороговизна. В том случае, если в исследуемом материале предполагается содержание возбудителя в достаточном количестве, посев материала производят на плотные питательные среды для получения изолированных колоний. При незначительном содержании микробов исследуемый материал прежде засевают на жидкие питательные среды – среды обогащения. Идентификацию выделенной чистой культуры производят по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим, антигенным и токсигенным свойствам (в зависимости от вида возбудителя). Определение перечисленных свойств позволяет установить вид возбудителя. С целью эпидемиологического маркирования производят внутривидовую идентификацию выделенной культуры: определяют ее фаговар, биовар и др. Кроме того, для назначения рационального лечения, как правило, определяют чувствительность выделенной культуры к антибиотикам.

При микробиологической диагностике заболеваний, вызванных условно-патогенными микробами, представителями нормальной микрофлоры, обязательным является определение количества возбудителей в исследуемом материале.

Биологический метод не экономичен, не гуманен и поэтому находит ограниченное применение. В качестве экспериментальных животных используют белых мышей, морских свинок, кроликов, обезьян и других животных.

Постановка диагноза инфекционного заболевания возможна также с помощью серологического метода, направленного на обнаружение либо специфических антител в сыворотке больного, либо специфических антигенов непосредственно в исследуемом материале.

Антитела к возбудителю заболевания появляются, как правило, к концу первой недели болезни. Невозможность обнаружить их в первые дни заболевания, является самым большим недостатком метода, особенно в тех случаях, когда заболевание протекает остро. Кроме того, при многих болезнях требуется изучение антителообразования в динамике и выявление увеличения количества антител, что также не разрешает быстро поставить диагноз. Недостатком метода является и то, что он не позволяет точно идентифицировать возбудителя и определить его антибиотикограмму. Но в то же время, это совершенно безопасный, относительно недорогой метод, позволяющий за несколько часов поставить диагноз. В настоящее время, при ряде болезней, определяют не только количество иммуноглобулинов, но и их принадлежность к различным классам.

При некоторых заболеваниях серологический метод применяют для выявления специфических антигенов в исследуемом материале. Поскольку специфические антигены, входящие в состав возбудителя, находятся в патологическом материале с первых минут болезни, этот вариант серологического метода применяют для ускоренной (в течение первого дня болезни) или даже экспресс-диагностики (в течение нескольких часов) инфекционных заболеваний.

В качестве вспомогательного при небольшой группе инфекционных заболеваний используют аллергологический метод, позволяющий выявить повышенную чувствительность к специфическому антигену (аллергену), которым является возбудитель заболевания.

Особенности диагностики анаэробных инфекций. Для микробиологической диагностики анаэробной инфекции используют *бактериоскопический* и *бактериологический* методы. Серологический метод имеет ограниченное практическое применение из-за отсутствия коммерческих наборов диагностикумов. Для экспресс-диагностики применяется ГЖХ.

Бактериоскопический метод при диагностике анаэробной инфекции имеет незначительную информативность, поскольку анаэробы морфологически не отличаются от аэробных микроорганизмов, кроме тех редких случаев, когда анаэробы имеют характерную морфологию.

Бактериологическое исследование на анаэробы длительно, дорого и трудоемко. Окончательный ответ получают через 7–10 дней с момента забора исследуемого материала. Посев производят на кровяные среды, обогащенные факторами роста (гемин, менадион, редуцирующие добавки). Посевы инкубируют в анаэробных условиях в анаэростатах или перчаточных боксах. Идентификацию выделенных чистых культур проводят на основании изучения культуральных, морфологических и тинкториальных свойств и ферментативной активности. Антигенные свойства анаэробов изучают редко из-за отсутствия коммерческих наборов диагностических сывороток.

Поскольку анаэробы высокочувствительны к токсическому действию кислорода воздуха, для работы с ними необходимо использовать *анаэробную микробиологическую технику исследования.* Под анаэробной микробиологической техникой понимают комплекс приемов и методов, позволяющих в бескислородных условиях обеспечить доставку материала в микробиологическую лабораторию, выделение и идентификацию анаэробов. С этой целью используют специальное лабораторное оборудование: анаэробные рабочие станции (перчаточные боксы), анаэростаты, инертный газ или газогенераторные системы, вакуумный насос, индикаторы анаэробиоза, транспортные среды, элективные питательные среды для анаэробов и тест-системы для их идентификации.

Для транспортировки образцов, предназначенных для исследования на анаэробы, используют флаконы с транспортными средами, создающие анаэробные условия при транспортировке.

Для создания анаэробиоза в анаэростате откачивают воздух и после трехкратной вакуум-заместительной промывки анаэростаты заполняют бескислородной трехкомпонентной газовой смесью газом из баллона. Можно использовать и химическое связывание свободного кислорода. Для этого используют газогенераторную систему, содержащую борогидрит и бикарбонат натрия, в которой при добавлении воды происходит химическая реакция, протекающая со связыванием свободного кислорода и выделением углекислого газа и водорода.

Для контроля анаэробиоза в процессе инкубации посевов используют индикаторы анаэробиоза – резазурин или метиленовую синь. В анаэробных бескислородных условиях индикатор анаэробиоза находится в восстановленной бесцветной форме, а при наличии кислорода – в окисленной окрашенной. Резазурин окрашивается в розовый цвет, а метиленовая синь – в голубой.

При наличии в лаборатории большого объема анализов, целесообразно применение анаэробных рабочих станций, которые представляют собой защитный бокс 3-го класса (изолирующий) и являются газонепроницаемыми конструкциями, заполненными бескислородной газовой смесью.

Через 24–48 ч инкубирования посевов в аэробных и анаэробных условиях проводят дифференциацию выросших чистых культур на аэробы и анаэробы. Культуры, выросшие только в аэробных условиях, но не давшие роста в анаэробных условиях, рассматривают как аэробы; культуры, выросшие одновременно в аэробных и анаэробных условиях, рассматривают как факультативные анаэробы и в дальнейшем их идентифицируют по общепринятым схемам. Культуры, не выросшие в аэробных условиях, но давшие рост в анаэробных условиях, рассматривают как облигатные анаэробы и приступают к их идентификации.

Идентификацию анаэробов проводят в два этапа. На первом этапе идентификации ориентировочно определяют родовую принадлежность изолированных анаэробных культур. На втором этапе, проводят окончательную идентификацию до вида по биохимическим тестам, антигенным свойствам и по изучению конечных продуктов бактериального метаболизма в среде культивирования с помощью метода ГЖХ.

При идентификации анаэробов до рода учитываются культуральные, морфологические и тинкториальные свойства, а также фенотипы исследуемых культур по отношению к анаэродискам. Анаэродиски – это диски, пропитанные антибиотиками, желчью и бриллиантовым зеленым. Обычно используют следующие анаэродиски: канамицин – 1000 мкг/мл, пенициллин – 2 ЕД, полимиксин В – 100 ЕД, эритромицин – 60 мкг/мл, рифампицин – 15 мкг/мл, ристомицин – 5 мкг/мл, желчь – 5 мг/мл и диск с бриллиантовым зеленым – 100 мкг. Ориентировочную родовую идентификацию проводят, сравнивая полученный фенотипический профиль с таблицей фенотипических профилей анаэробных микробов.

Зная ориентировочную родовую принадлежность анаэробного микроба, его вид определяют с помощью биохимических тестов, а в случае необходимости – и по конечным продуктам бактериального метаболизма, выделяемым в среду культивирования с помощью ГЖК-метода.

Газовая хроматография. Бактериологическое исследование на анаэробы длительно, трудоемко и дорого. Время, затрачиваемое с момента доставки материала в микробиологическую лабораторию, до получения полного развернутого ответа, составляет от 7 до 10 суток, что абсолютно не удовлетворяет требованиям клиницистов. Это обусловлено медленным ростом, а также необходимостью изучения многочисленных таксономических признаков при идентификации выделенных чистых культур.

Использование метода ГЖХ для экспресс-диагностики анаэробной инфекции основано на хроматографическом определении в исследуемом материале специфических продуктов метаболизма анаэробов – летучих жирных кислот, которые служат метаболическими маркерами наличия анаэробов. Конечными высокоспецифичными продуктами метаболизма углеводов у анаэробов являются жирные кислоты. Различают корот-коцепочечные или летучие жирные кислоты C_2-C_7 и длинноцепочечные нелетучие кислоты. Определение в исследуемом материале наличия жирных кислот с помощью ГЖХ является убедительным доказательством анаэробной этиологии воспалительного процесса. Методом ГЖХ технически более просто определять летучие жирные кислоты. При этом метаболическими маркерами анаэробов являются изомасляная и масляная, изовале-рианова и валериановая, изокапроновая и капроновая, гексановая и каприловая кислоты. Аэробные бактерии летучие жирные кислоты не продуцируют.

Для хроматографического анализа проводят экстракцию летучих жирных кислот эфиром или другими летучими органическими растворителями. Экстракт вводят в хроматограф. Чувствительность метода – 10^6 г/л; время анализа – 30-50 мин. Идентификацию летучих жирных кислот осуществляют по относительному времени удерживания, для сравнения используют аналитические стандарты жирных кислот. Обнаружение в исследуемом материале одной или нескольких летучих жирных кислот, особенно изокислот с разветвленной углеродной цепочкой, является убедительным доказательством наличия анаэробов.

Для получения более подробной информации о метаболической активности анаэробов определяют длинноцепочечные жирные кислоты, которые переводят в летучие производные, например, метиловые эфиры, многоатомные спирты, ароматические соединения, углеводные соединения, аминосахара, аминокислоты, пурины и т.п. Наличие в исследуемом материале длинноцепочечных жирных кислот также является убедительным доказа-

тельством анаэробной природы воспалительного процесса. Анализ метиловых эфиров жирных кислот необходим, если в пробе отсутствуют летучие жирные кислоты или определяется только одна уксусная кислота.

Наличие в исследуемом материале только уксусной или пропионовой кислоты не может служить достоверным доказательством наличия анаэробов, так как эти кислоты могут продуцироваться некоторыми факультативными анаэробами, такими как *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella spp.* Обнаружение в патологическом материале только молочной или яблочной жирных кислот также не может быть веским доказательством наличия анаэробов, так как эти кислоты являются нормальными метаболитами тканей человека.

Очень важное значение при индикации анаэробов в патологическом материале приобретают *ложноположительные* и *ложноотрицательные* результаты ГЖХ-анализа. Под ложноположительными результатами ГЖХ-анализа понимают такие результаты, когда на хроматограмме присутствуют пики жирных кислот, а бактериологически облигатные анаэробные бактерии не выделяются. Под ложноотрица-тельными результатами ГЖХ-анализа понимают такие результаты, когда на хроматограмме отсутствуют пики жирных кислот, хотя анаэробы присутствуют в изучаемой пробе и могут быть выделены бактериологически.

Причины ложных результатов ГЖХ-анализа при исследовании на анаэробы приведены в табл. 16.2.

Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций

В вирусологии методы лабораторной диагностики вирусных инфекций имеют свою специфику, учитывая особенности биологии вирусов. В вирусологии используются три метода лабораторной диагностики:

вирусоскопический,
вирусологический,
серологический.

Вирусоскопический метод заключается в обнаружении вируса в исследуемом материале под микроскопом. Чаще всего используют электронный микроскоп, реже – люминесцентный. Световая микроскопия из-за ничтожно малых размеров вирусов практически не применяется. И лишь для обнаружения крупных вирусов, применяя методы «сверхокраски», можно использовать световой микроскоп. Кроме того, с помощью светового микроскопа можно выявить внутриклеточные включения, которые образуются в пораженных клетках при некоторых инфекциях.

Вирусологический метод заключается в заражении исследуемым материалом чувствительной биологической модели (лабораторные животные, куриные эмбрионы или культуры клеток), индикации вируса и его последующей идентификации. При заражении лабораторных животных индикация вирусов производится, как правило, по клинической картине болезни, патологоанатомическим изменениям ориентировочно и окончательно, например, с помощью реакции гемагглютинации. Эта же реакция позволяет выявить вирусы в курином эмбрионе, видимых изменений при вскрытии которого, как правило, не наблюдается. В культуре клеток наличие вируса определяют по цитопатическому действию (в том числе, образованию внутриклеточных включений), гемадсорбции, феномену бляшкообразования, реакции гемагглютинации, отсутствию изменения окраски индикатора. Идентификация вируса осуществляется с помощью серологических реакций (РПГА, РТГА, РН, РСК, И ФА и др.). Вирусологический метод позволяет точно опреде-

лить природу возбудителя, но он требует достаточного много времени (5–7 дней и более), значительных материальных затрат и небезопасен.

Таблица. 16. 2.

Причины ложных результатов ГЖХ-анализа при исследовании на анаэробы

ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ	ЛОЖНООТРИЦАТЕЛЬНЫЕ
-Несовершенство бактериологических методик (забора, транспортировки, культивирования и т.д.) - Массивная предшествующая антибиотикотерапия - Высокая обсемененность патологического материала стафилококками при инфекции, вызванной монокультурой Staphylococcus aureus - Проявление «памяти» хроматографических колонок, пневматического дозатора при проведении массовых анализов - Некоторые глистные инвазии	- Низкая чувствительность катарометра (при работе на хроматографе, оснащенном катарометром) - Наличие в пробе видов анаэробов не продуцирующих летучие жирные кислоты - Очень сильное разведение клинического материала (перитонеальный диализат, промывные воды и т.п.) - Очень низкий уровень продукции летучих жирных кислот при моноинфекции, вызванной Bacteroides fragilis и некоторыми жругими видами анаэробов - Наличие в патологическом материале аэробно-анаэробных полимикробных ассоциаций, включающих аэробные кислоты, продуцируемые анаэробами (например, Pseudomonas aeruginosa)

Особенностью *серологического метода* в вирусологии является исследование парных сывороток. Первую сыворотку берут у больного в острый период в начале болезни, хранят при температуре +4... +8 °С, а вторую сыворотку берут через 10–14 дней. Сыворотки исследуют одномоментно. О болезни свидетельствует *сероконверсия, т.е.* нарастание титра антител во второй сыворотке по отношению к первой. Диагностической является сероконверсия в 4 раза и выше. Так как многие вирусные болезни протекают остро, этот вариант серологического метода обычно применяют для ретроспективной диагностики.

Ведущим методом лабораторной диагностики вирусных инфекций является вирусологический.

Ускоренная и экспресс-диагностика вирусных болезней производятся так же, как при бактериальных инфекциях.

Особенности микробиологической диагностики микозов

Для диагностики грибковых инфекций обычно используют микологический метод. Он заключается в посеве патологического материала на специальные питательные среды, выделении чистой культуры возбудителя и ее идентификации по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. Особенностью метода является его продолжительность – несколько недель из-за медленного роста грибов. Обнаружение антител при серологическом исследовании возможно со 2-4-й недели болезни. При некоторых заболеваниях выявляют специфические антигены в исследуемом материале. Аллергологический метод используют редко. Довольно часто при микозах используют *гистологический метод,* заключающийся в обнаружении элементов гриба (споры, конидиальные головки и т.п.) в органах и тканях, пораженных грибами. С этой целью готовят гистологические

тонкие или ультратонкие срезы тканей, окрашивают их специальными гистологическими и гистохимическими методами и исследуют с применением световой, а если необходимо, то и электронной микроскопии.

Особенности микробиологической диагностики протозойных инфекций

Микроскопическое исследование патологического материала заключается в приготовлении как нативных препаратов («толстая капля»), так и мазков, окрашенных по методу Романовского–Гимзы и является основным методом диагностики заболеваний, вызванных простейшими. В некоторых случаях, применяют серологический и аллергологический методы диагностики.

Принципы иммунологической диагностики болезней человека

Иммунологическая диагностика болезней человека основана на определении антигенов или антител в реакции антиген-антитело. Специфичность и чувствительность иммунологических реакций настолько высоки, что эти реакции легли в основу иммунометрии.

Так, например, методы иммунодиффузии, иммуноферментного и радиоиммунного методов стали стандартными методами количественного определения белков, гормонов и других биологически активных веществ.

Иммунодиагностика – раздел иммунологии, изучающий и разрабатывающий методы диагностики инфекционных и неинфекционных болезней, связанных с функцией иммунной системы.

Многие инфекционные заболевания, в настоящее время, претерпели существенные изменения, что выражается в увеличении удельного веса легких, стертых и бессимптомных форм, росте аллергического компонента, высокой частоте микст-инфекций. Это затрудняет традиционную диагностику заболеваний, поэтому значимость иммунодиагностики, направленной на выявление антигенов возбудителя или специфических иммунных сдвигов в организме больного, возрастает.

Под иммунореактивностью (иммунный статус, иммунный профиль) понимают способность иммунной системы к иммунному ответу в данный момент времени. Ее характеризуют не только концентрация иммуноглобулинов, число лимфоцитов и лейкоцитов, соотношение Т- и В-клеток, но и функциональные показатели, в частности, способность иммунокомпетентных клеток отвечать на стимуляцию.

Оценивая иммунный статус, следует иметь в виду большую вариабельность иммунологических показателей, даже в норме. Следует отметить, что иммунологические параметры подвержены колебаниям в зависимости от биоритма. Эти колебания обусловлены изменениями гормонального фона.

Зная и учитывая эти ритмы, можно повысить диагностическую ценность иммунологических показателей. Иммунный статус подвержен возрастным изменениям. Так, например, тимус рассматривается как «биологические часы» иммунной системы. Возрастная involюция тимуса означает медленное угасание Т-клеточных функций по мере старения. Способность к распознаванию своего с возрастом постепенно угасает, в связи с чем, старение иногда даже рассматривается как хронически текущая аутоагрессия. Частота обнаружения аутоантител с возрастом нарастает.

Иммунный статус изменяется также после травм и хирургических операций; через 24–48 ч. после оперативного вмешательства или травмы уменьшается количество Т-лимфоци-

тов, нормализация их количества происходит не ранее, чем через 5 дней. Аналогично изменяется иммунный статус при стрессе.

Несмотря на исключительную вариабельность иммунологических показателей даже в норме, индивидуальную иммунореактивность можно охарактеризовать с помощью многочисленных лабораторных тестов, клеточное и гуморальное звено иммунной системы, а также факторы неспецифической резистентности. Оценка иммунного статуса в клинике имеет важное значение при трансплантации органов и тканей; для выявления иммунологической недостаточности; при аутоиммунных и аллергических болезнях для контроля за эффективностью иммуномодулирующей терапии; при назначении лечения (оперативное вмешательство, облучение и др.). Клинические показания к постановке иммунологических тестов при некоторых болезнях приведены в табл. 16.3.

Оценка иммунного статуса чаще всего базируется на комплексе следующих показателей:

1. Данные общего клинического обследования: жалобы, анамнез, клиника, методы физикального исследования, общий анализ крови.

2. Оценка факторов неспецифической резистентности: фагоцитарная реакция, НСТ-тест, хемилюминесценция, титрование комплемента, определение интерферона и др.

3. Оценка гуморального иммунитета: определение концентрации иммуноглобулинов разных классов в сыворотке крови, определение титров специфических антител, катаболизм иммуноглобулинов, определение количества В-лимфоцитов, В-клеточная бласттрансформация и др.

4. Оценка клеточного иммунитета: постановка кожных аллергологических проб, контактная сенсибилизация динитрохлорбензолом, определение количества Т-лимфоцитов, определение субпопуляций Т-лимфоцитов ($Т_4$, $Т_8$, соотношение $Т_4/Т_8$), Т-клеточная бласттрансформация, продукция интерлейкинов и др.

5. Дополнительные тесты.

При рациональном и целенаправленном применении лабораторные иммунологические тесты могут приносить большую пользу в постановке диагноза.

Предположительный диагноз	**Иммунологический тест, рекомендуемый для подтверждения диагноза**
Аутоиммунные заболевания, в том числе:	
Коллагенозы	Антинуклеарный фактор
Общая диагностика	
Частная диагностика	$С_3$, криоглобулины
Системная красная волчанка	Антитела к нативной ДНК
Склеродермия	Антитела к содержимому ядра (к РНК)
Синдром Шегрена	Антитела к антигенам слюнных и щитовидной желез
Миастения	Антитела к поперечно-полосатым мышцам, ацетилхолиновым рецепторам
Аутоиммунный тиреоидит	Антитела к тиреоглобулину и микросомному антигену щитовидной железы
Пузырчатка и пемфигоид	Антитела к межклеточному веществу и базальной мембране кожи
Аддисонова болезнь	Антитела к антигенам коры надпочечников, щитовидной железы, слизистой желудка
Аутоиммунная гемолитическая анемия, тромбоцитопения, гемолитическая анемия с холодовыми агглютининами, апластическая анемия	Антитела к эритроцитам, тромбоцитам, лейкоцитам, лекарственным средствам

Таблица 16. 3.

Клинические показания к постановке иммунологических тестов при некоторых болезнях

Предположительный диагноз	Иммунологический тест, рекомендуемый для подтверждения диагноза
Пернициозная анемия	Антитела к обкладочным клеткам слизистой желудка, к внетреннему фактору, к антигенам щитовидной железы
Синдром Гудпасчера	Антитела к базальной мембране почки, линейное отложение иммуноглобулинов в клубочках почек
Аллергия	
Аллергический ринит, крапивница, отек Квинке, бронхиальная астма	Кожные пробы с аллергенами (ГНТ), количественное определение IgE.
Контактная экзема	Накожная проба
Аллергия к яду насекомых, пищевая аллергия	Кожная проба, определение IgE
Лекарственная аллергия	Кожные пробы и тест-реакции лимфоцитов на лекарственные средства или продукты их метаболизма
Ангионевротический отек	Ингибитор C_1-эстеразы, C_2, C_4
Иммунодефициты	Определение количества иммуноглобулинов
Синдром недостаточности антител	
Недостаточность клеточного звена иммунитета и комбинированная недостаточность	Изогемагглютинины, антитела к антигенам вакцин, кожные пробы с антигенами, к которым в норме должна быть сенсибилизация (ГЗТ) CH_{50}, C_3, C_4; Т/В-лимфоциты, бласттрансформация лимфоцитов
Недостаточность фагоцитоза	НСТ-тест, хемилюминесценция
Злокачественные опухоли	
Лимфопролиферативные заболевания (моноклональные иммунопатии, хронический лимфолейкоз, лимфогранулематоз и другие лимфомы)	Иммуноэлектрофорез, определение иммуноглобелинов, определение Т/В-лифоцитов, определение функциональной активности лимфоцитов
Опухоли внутренних органов и тканей	Определение специфических антигенов, ассоциированных с опухолью

ГЛАВА 17. ЧАСТНАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ

17. 1. Кокки

Кокки – это большая группа микробов, обладающих сходной морфологией: клетки кокков имеют шарообразную форму. К коккам относятся: стафилококки, стрептококки, энтерококки, пневмококки, пептококки, пептострептококки, нейссерии, вейлонеллы и др. Среди кокков есть как грамположительные, так и грамотрицательные микробы; по типу дыхания встречаются аэробные, микроаэрофильные, факультативно-анаэробные и облигатно анаэробные кокки.

Стафилококки относятся к роду *Staphylococcus,* который включает в себя три вида: *Staphylococcus aureus, S. epidermidis* и *S. saprophytics.* Это грамположительные факультативно-анаэробные кокки.

Стрептококки принадлежат к роду *Streptococcus,* включающему семь видов: *Streptococcus pyogenes, S. pneumoniae, S. sanguis, S. salivarius, S. mitis, S. mutans, S. agalactiae.* Это грамположительные факультативно-анаэробные кокки, располагающиеся в мазке из чистой культуры цепочкой. Среди стрептококков встречаются и микроаэрофильные виды.

Энтерококки принадлежат к роду *Enterococcus,* включающему в себя четыре вида: *Enterococcus faecalis, E. faecies, E. durans, E. zimogenes.* Это грамположительные факультативно анаэробные кокки, располагающиеся в мазке из чистой культуры цепочкой. Энтерококки выделены в самостоятельный род из рода *Streptococcus.*

Пептококки и пептострептококки принадлежат к роду *Peptococcus,* включающему в себя единственный вид: *Peptococcus niger* и роду *Peptostreptococcus,* включающему восемь видов: *Peptostreptococcus anaerobius, P. magnus, P. micros, P. indolicus, P. asaccharolyticus, P. pre-votii, P. tetradus, P. productus.* Пептококки – это анаэробные грамположительные кокки, по морфологии сходные со стафилококками, а пептострептококки – со стрептококками.

К аэробным грамотрицательным коккам относятся нейссерии, принадлежащие к роду *Neisseria,* включающему восемь видов: *Neisseria meningitidis, N. gonorrhoeae, N. flava, N. subflava, N. perlava, N. sicca, N. mucosa, N. flavescens.*

Кокки объединены вместе не только и не столько на основании их морфологического сходства, но, в основном, по сходству их роли в патологии человека. Все перечисленные кокки являются возбудителями ГВЗ, поэтому их нередко называют еще *гноеродными коккими,* подчеркивая тем самым, их роль в патологии человека.

Среди кокков есть патогенные (пневмококки, менингококки, гонококки), условно-патогенные и сапрофитические виды. Пневмококки вызывают у человека крупозную пневмонию и ползучую язву роговицы глаза, менингококки – эпидемический цереброспинальный менингит, менингококцемию и назофарингит, а гонококки – гонорею и бленнорею.

Большинство кокков относится к УПМ. Как правило, это представители нормальной микрофлоры организма человека и животных, колонизирующей различные биотопы организма. Так, в организме человека стафилококки являются доминирующими микробами кожи (особенно *S. epidermidis);* в ротовой полости и верхних дыхательных путях вегетирует большое количество стрептококков, пептококков, пептострептококков и вейлонелл; толстую кишку колонизируют энтерококки и анаэробные кокки и т.д. (см. разд. 4.2). При нарушениях иммунореактивности и в других случаях снижения резистентности организма (см. гл. 12), кокки, как и все УПМ нормофлоры, способны покидать свои нормальные биотопы на коже и слизистых оболочках, транслоцироваться через слизистые барьеры,

причем, даже неповрежденные, образовывать колонии и размножаться во внутренней стерильной среде организма, вызывая гнойно-воспалительный процесс.

Таким образом, все кокки, как патогенные, так и условно-патогенные, являются возбудителями ГВЗ, которые широко распространены в клиниках.

ГВЗ составляют не менее 30–35% всех хирургических заболеваний, т.е. каждый третий хирургический больной – это больной с гнойно-воспалительным заболеванием. ГВЗ, вызываемые УПМ, часто встречаются и в клиниках другого профиля: акушерско-гинекологической, оториноларингологической, офтальмологической, стоматологической и др. Примерно от 30 до 50% больных, обращающихся к врачу, страдают ГВЗ, что делает эту проблему одной из актуальных в современной медицине.

Таблица 17. 1.

Отличительные признаки бактерий семейства Micrococcaceae

Признак	Staphylococcus	Micrococcus	Stomatococcus
Наличие каталазы	+	+	+/-
Наличие капсулы	-*	-	+
Рост на среде с 5% NaCl	+	+	-
Способность к анаэробному росту на среде с глюкозой	+	-	+
Чувствительность к лизостафину	+	-	+
Чувствительность к байтрацину (0.04 ЕД)	-	+	+

До недавнего времени считалось, что основной причиной развития ГВЗ являются кокки. В настоящее время, большую роль в развитии ГВЗ стали играть грамотрицательные палочки (энтеробактерии и неферментирующие грамотрицательные бактерии), а также неспорообразующие анаэробы. И все же коккам, представляющим собой очень большую сборную группу микробов, как грамположительных, так и грамотрицательных, как аэробных, так анаэробных и микроаэрофильных, принадлежит ведущая роль в патологии человека. По данным литературы, от 25 до 50% всех ГВЗ этиологически обусловлены кокковой микрофлорой.

Аэробные грамположительные кокки

Группу аэробных и факультативных грамположительных кокков образуют достаточно разнообразные по свойствам бактерии, которые объединяют два общих свойства: сферическая форма клетки и положительная окраска по Граму; они не образуют спор, подавляющее их большинство не обладает подвижностью. Медицинское значение имеют кокки семейств *Micrococcaceae* и *Streptococcaceae,* основными принципами дифференцирования их представителей являются наличие или отсутствие цитохромов (отсутствуют у *Streptococcaceae)* и каталазная активность (отсутствует у большинства представителей *Streptococcaceae).* Каталазаположительные стрептококки дифференцируют от бактерий семейства *Micrococcaceae* с помощью бензидиновой пробы, положительной у цитохромсодержащих микробов.

СЕМЕЙСТВО MICROCOCCACEAE

Представители семейства *Micrococcaceae,* способные вызвать заболевания у человека, включены в роды *Staphylococcus, Micrococcus* и *Stomatococcus;* основные отличительные признаки бактерий семейства *Micrococcaceae* представлены в табл. **17. 1.**

Стафилококки (род *Staphylococcus)*
Общая характеристика

Стафилококки обычно встречаются в виде скоплений, напоминающих виноградную гроздь. Отдельные кокки, примерно 1 мкм в диаметре, имеют тенденцию объединяться в скопления, поскольку их деление происходит в трех взаимно перпендикулярных плоскостях и дочерние клетки сохраняют своеобразное пространственное групповое взаиморасположение. При специальных условиях они могут располагаться поодиночке, попарно или в виде коротких цепочек. Они грамположительны, неподвижны, не образуют спор и активно растут практически на всех искусственных средах, обычно образуя непрозрачные, гладкие, блестящие колонии.

Поскольку стафилококки продуцируют каталазу, перекись водорода, образующаяся как метаболит при аэробных условиях, для них не токсична, и, большей частью, они лучше растут в присутствии кислорода. Однако, они легко переносят отсутствие кислорода, а некоторые из них даже являются строгими анаэробами. Они лучше растут при температуре 25–35 °С, но могут расти и при 8 °С и при температуре выше 48 °С.

При культивировании на кровяном агаре, в аэробных условиях образуют пигменты – от золотистого до лимонно-желтого и белого цвета. Золотистый пигмент дал название одному из видов стафилококка – Staphylococcus aureus. Однако, при этом, некоторые штаммы золотистого стафилококка могут продуцировать и белый пигмент.

Стафилококки устойчивее других бактерий к действию жара, света, высушивания, экстремальных температур и химических агентов. Они выдерживают 60 °С в течение часа, а отдельные штаммы даже 80 °С в течение 30 минут, хотя большинство вегетативных форм бактерий погибают при воздействии 60 °С в течение 30 минут.

Благодаря своей устойчивости к высушиванию стафилококки могут переноситься с частицами пыли, могут недели и месяцы сохраняться в высохшем гное или мокроте. Другой особенностью стафилококков является их устойчивость в солевой среде (не погибают при концентрации NaCl до 15%). В связи с этим, способны сохраняться в консервированных продуктах. В продуктах питания, сохраняемых путем соления, стафилококки могут расти и продуцировать энтеротоксин.

Эти микробы устойчивы к действию фенола и большинству других дезинфектантов, чувствительны к основным красителям. Имеют тенденцию к формированию резистентности к сульфаниламидам и антибиотикам. Около 80% штаммов Staphylococcus aureus резистентны к пенициллину.

Род Staphylococcus представлен тремя видами:

1. Staphylococcus aureus;
2. Staphylococcus epidermidis;
3. Staphylococcus saprophyticus.

Виды различаются преимущественно по биохимическим свойствам и вырабатываемым ферментам. Staphylococcus aureus ферментирует манит в анаэробных условиях и продуцирует коагулазу, тогда как, два других вида лишены этих свойств.

Staphylococcus saprophyticus – первично сапрофитический, о чем свидетельствует его название. Он, по-видимому, является потенциально патогенным, обладает ограниченной инвазивностью. Способен вызывать инфекцию мочевого тракта.

Токсические продукты

Стафилококк вырабатывает много продуктов с выраженными токсическими свойствами. Вероятно, никакой другой микроб не продуцирует их в таком количестве. Среди них экстрацеллюлярные токсины, гемолизины (стафилолизины), ферменты. Все они, в той или иной степени, обусловливают болезнетворность и вирулентность микроба. Ни один штамм не способен вырабатывать все токсические продукты сразу.

Гемолизины – это экзотоксины, действующие непосредственно на клеточную мембрану, вследствие чего происходит лизис эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов макрофагов и развивается поражение многих тканей. Действием гемолизина, вероятно, объясняются фатальные исходы многих случаев стафилококковых инфекций.

При росте культуры стафилококка на кровяном агаре гемолиз проявляется в виде зоны просветления (бета – гемолиз). В отличие от стрептококка, стафилококк не вызывает частичный гемолиз (альфа – гемолиз). Следует отметить, что греческие буквы используются для обозначения иммунологически различающихся типов стафилококковых гемолизинов, в то время, как у стрептококков эти буквы обозначают тип гемолиза – полный, или неполный. Например, гемолизин, обозначаемый как альфа – гемолизин (альфа – лизин, альфа – токсин) у стафилококков означает наличие светлой зоны вокруг колоний на кровяном агаре.

Цитотоксин – один из наиболее важных факторов вирулентности стафилококков, вызывает аггрегацию тромбоцитов и избирательно действует на гладкую мускулатуру мелких вен.

Лейкоцидин – негемолитический экзотоксин, разрушающий клетки белой крови. Он вызывает дегрануляцию полиморфонуклеарных нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов.

Энтеротоксин – внеклеточный токсин, который вырабатывают около 50% коагулазоположительных штаммов и который вызывает большинство случаев пищевого отравления. Токсин действует непосредственно на рвотный центр центральной нервной системы. Продукция токсина обусловлена фаговой конверсией. Различают 5 типов токсина – A, B, C, D, E. Накопление энтеротоксина в зараженной пище приводит к пищевому отравлению с синдромом гастроэнтерита, который не является инфекцией в обычном понимании этого термина, это скорее токсемия. Присутствие токсина в подозреваемой пище можно установить иммунологически, например, в реакции преципитации.

Эксфолиатин (эксфолиативный токсин) – это токсин, продукция которого обусловлена плазмидой. Избирательно повреждает некоторые клетки кожи таким образом, что обширные участки кожного покрова могут отслаиваться полностью. Особенно чувствительны к действию токсина новорожденные и маленькие дети. Это поражение получило название «Синдром ошпаренной кожи».

Коагулаза, важный экстрацеллюлярный фермент, продуцируемый только некоторыми стафилококками (коагулазоположительные), вызывает образование сгустка плазмы крови. В лаборатории определение коагулазы используется как единственное достоверное доказательство патогенности выделенного штамма. У невирулентных штаммов попытки обнаружить коагулазу обычно заканчиваются неудачей. Эти штаммы обозначают как коагулазоотрицательные. При наличии данного фермента и проявлении его действия от-

дельные кокки оказываются покрытыми слоем фибрина и, таким образом, они надежно защищены от атаки фагоцитов.

Способность к продукции коагулазы коррелирует с наличием у этих штаммов и других токсических продуктов. Коагулазо – стафилококки также могут иметь *фактор склеивания* – это связанная с клеткой, но антигенно отличающаяся форма коагулазы, вызывающая быстрое склеивание клеток, эмульгированных в капле плазмы.

Липазы стафилококка – это ферменты, которые разрушают липиды клеточных структур и липопротеины крови. Стафилококки утилизируют метаболиты кожных структур и потому способны интенсивно колонизировать (заселять) поверхность кожи. Образование липазы дает этому микробу способность к инвазии здоровой кожи и подкожной клетчатки с формированием локальных абсцессов. Штаммы без липазы чаще связаны с генерализованной инфекцией.

Гиалуронидаза (фактор распространения, инвазии), которую вырабатывают более 90% патогенных стафилококков, повышает проницаемость тканей для кокков и их токсических субстанций. Вызывает деградацию гиалуроновой кислоты, которая соединяет клетки тканей.

Нуклеаза, имеется у 90–96% S.aureus, расщепляет ДНК и РНК. Нуклеаза S.aureus термостабильна, нуклеаза коагулазоотрицательных стафилококков – термолабильна.

Стафилокиназа растворяет сгустки фибрина и, соответственно, способствует распространению местной, вначале ограниченной, инфекции.

Патогенность

Некоторые стафилококки непатогенны, другие (S. aureus) вызывают тяжелые инфекции. S. epidermidis, хотя иногда и вызывает легкие, ограниченные поражения, в общем, относится к непатогенным, за исключением некоторых необычных медицинских ситуаций, например, при введении в тело с лечебной целью технических устройств, чужеродных для тканей организма. Обычно S. epidermidis является частой причиной эндокардита, развивающегося при протезировании сердечных клапанов и инфекций, осложняющих ортопедическое протезирование или нейрохирургическое шунтирование.

Хорошо известны стафилококковые инфекции кожи и поверхностных тканей тела, такие, как пиодермии, фурункулы, абсцессы, карбункулы, паронихии, импетиго (impetigo contagiosa) и инфекционные осложнения хирургических ран. Клиника инфекции кожных покровов зависит от возраста больного. Например, «Синдром ошпаренной кожи» наблюдается у маленьких детей.

Стафилококки также способны вызывать заболевания целых систем и поражаться могут практически все органы и ткани. Они могут быть одной из причин пневмонии, гнойного плеврита, эндокардита, менингита, абсцесса мозга, послеродовой лихорадки, флебита, цистита и пиелонефрита. Стафилококковая пневмония является фатальным осложнением эпидемического гриппа. Стафилококки являются наиболее распространенной причиной остеомиелита. Стафилококковые заболевания часто возникают в больницах, особенно, у пациентов, уже серьезно больных. Например, стафилококковая пневмония – это суперинфекция, угрожающая больным, принимавшим большие дозы антибиотиков.

Стафилококковая септицемия наблюдается в двух формах. Первая – это молниеносная глубокая токсемия, через несколько дней приводящая к смерти. Другая, более частая форма, длится дольше, сопровождается развитием метастазирующих абсцессов в разных частях тела, но не является необратимой.

Стафилококковая септицемия может быть первичной, но чаще, это – результат вторичного проникновения в кровоток микроорганизмов из местного очага инфекции. Часто процесс начинается, как тривиальное воспаление волосяного фолликула. Микроб может поступать в кровоток из инфицированной раны, из очага пневмонии или из инфицированного внутривенного катетера. Катетер внутри вены не должен оставаться дольше 3-4 дней из-за риска возникновения серьезной инфекции. Поверхностные гнойники, фурункулы вокруг носа и губ легко осложняются септицемией, поэтому лучше избегать их травмирования.

Так называемый «опасный треугольник» – это треугольный участок лица от углов рта, верхней губы и до верхней части носа. Из этой области возможно распространение инфекции непосредственно в полость черепа, что может быть опасным для жизни. Такое осложнение связано с особенностями анатомического строения этой части тела: отсутствие надежных механических барьеров, вены, не имеющие клапанов, которые бы затрудняли обратный ток крови, наличие мускулатуры, постоянно находящейся в движении.

Даже при таких манипуляциях, как прокалывание ушей (в косметических целях), проводимых без соблюдения необходимой стерильности, есть опасность развития вторичной стафилококковой инфекции, которая из открытой ранки может проникать в кровоток и иногда приводить к развитию сепсиса.

Стафилококки могут быть причиной энтерита и энтероколита, осложняющего антибиотикотерапию. Они являются наиболее частой причиной пищевого отравления, так как в пище может накапливаться в большом количестве токсин.

Стафилококки могут вызывать иногда гнойно-воспалительные процессы у коров и лошадей. В случае развития мастита, микроб может попасть в молоко. Могут возникнуть гнойничковые поражения кожи рук доярок. Возможно заражение других животных в стаде.

Госпитальная стафилококковая инфекция

Человек тесно связан с повсеместно распространенными стафилококками (убиквитарный микроорганизм) и поэтому стафилококковая инфекция представляет угрозу в любом месте и в любое время. Пример тому – госпитальная инфекция, уже на протяжении многих лет являющаяся серьезной проблемой для больниц во всем мире.

С этой проблемой связан ряд вопросов, требующих обсуждения. Прежде всего, стафилококковая госпитальная инфекция – это осложнение широкого применения антибиотиков. Эти важнейшие антимикробные агенты очень широко и свободно назначаются, но их действие преимущественно бактериостатическое, а не бактерицидное. Стафилококки наделены хорошей приспособляемостью и среди них возникают устойчивые к антибиотикам штаммы. Во-вторых, особенности медицинского страхования и медицинской службы способствуют раннему выявлению болезни и ранней госпитализации большего числа больных. В-третьих, расширение объема и числа хирургических вмешательств. Сложная хирургическая техника позволяет оставлять ткани открытыми дольше. В-четвертых, отдельные виды терапии могут вызывать угнетение иммунной системы (иммунодепрессию). Например, трансплантация тканей и органов на фоне назначения средств, подавляющих отторжение. В этих случаях, подавляется резистентность к инфекции.

С наибольшей частотой при госпитальной стафилококковой инфекции наблюдаются следующие поражения:

1. Пиодермия – термин, обозначающий гнойные поражения кожи и подкожных тканей. Чаще у новорожденных. Возможны опасные осложнения в виде пневмонии, септицемии.

От новорожденного может заразиться мать, у которой развивается абсцесс грудной железы – мастит.

2. Раневая инфекция, особенно хирургической раны.

3. Вторичная стафилококковая инфекция престарелых и лиц, не способных к соблюдению гигиенических норм.

4. Гастроэнтерит у лиц с угнетенной (например, антибиотиками) кишечной микрофлорой.

Патологическая анатомия

Наиболее заметное проявление стафилококковой инфекции – абсцесс, основной тип повреждения. В основе образования абсцесса лежит гноеродная активность стафилококка и его довольно ограниченная способность к распространению.

Поскольку микроб постоянно обитает на коже, она чаще всего и поражается. Фурункул – это кожный абсцесс. Формирование абсцесса обусловлено локализацией и уровнем распространения. Стафилококковая пневмония – это множественные абсцессы в легких. Пиелонефрит – это множественные абсцессы экскреторной системы почек. Стафилококковая септицемия – образование множественных абсцессов по всему телу. В этом случае, более подходит термин *пиемия*, буквально означающий «гной в крови».

Когда стафилококки инфицируют рану, они вызывают образование в ней гноя. Стафилококки являются важнейшей причиной раневой инфекции. В целом, они вызывают до 80% всех гнойных процессов у человека.

Эпидемиология

Стафилококки в норме обитают на коже человека, а также на слизистой ротовой полости, глотки и носа. Они могут находиться здесь постоянно, пока однажды не преодолеют кожный или слизистый барьер и не вызовут развитие болезни. В другом случае, они проникают через неповрежденную кожу в волосяные фолликулы и протоки сальных желез.

В норме способность стафилококка к инвазии и резистентность хозяина хорошо сбалансированы, поэтому инфекция не развивается, пока не создастся ситуация, когда встречаются высоковирулентный микроб или макроорганизм со сниженной резистентностью.

Как правило, развивается локальный процесс – абсцесс или фурункул, без распространения инфекции. Но в части случаев, микроб выходит за пределы локальной инфекции, попадает в кровоток и поражает разные ткани и органы тела.

Механизм передачи инфекции преимущественно контактный. Например, через руки персонала в больнице. Персонал подвергается риску стать носителями, в этом случае, стафилококк может длительно находиться у них на слизистой носа. Носители могут стать источниками инфекции.

Бактериологическая диагностика

Бактериологический диагноз стафилококковой инфекции не представляет особых сложностей, если исследуют кровь и другие жидкости организма, в норме стерильные. Выделенную культуру стафилококка необходимо идентифицировать как патогенную, в отличие от обычного микроба, обитающего на коже. Для этого используют ряд тестов. Свежевыделенные культуры стафилококка характеризуются как патогенные, по таким призна-

кам, как продукция желтого пигмента, гемолизина, ферментация маннита, продукция ДНК-азы и коагулазы.

Фаготипирование. Бактериофаги – вирусы, поражающие бактерий и, в некоторых случаях, вызывающие их лизис. Действие фагов специфично. Только отдельный фаг или группа фагов поражают конкретный штамм бактерий, что позволяет использовать фаги для типирования бактерий (фаготипирование). С этой целью взвесь известного фага вносится в чашку со свежей культурой микроба, подлежащего типированию. Если этот микроб чувствителен к действию данного фага, он лизируется и роста на среде не дает. На чашке появляются прозрачные зоны, так называемые «бляшки» или «негативные колонии».

Фаготипирование стафилококков заслуживает специального упоминания. Было установлено, что специфические бактериофаги (стафилофаги, табл. 17.2) реагируют с 60% коагулазо – стафилококков. Коагулазо – стафилококки не так чувствительны. Поскольку этот процесс специфический, он используется для определения *фаговаров* выделенных стафилококков. Для удобства, бактериофагам присвоены определенные номера и штаммы стафилококка, лизирующиеся определенным фагом имеют номер этого фага и обозначаются как соответствующий фаговар. Это касается только штаммов S. aureus. Большинство других стафилококков относятся к нетипирующимся.

По решению международного подкомитета по фаготипированию стафилококков, предложена международная классификация фаговаров S. aureus

Таблица 17. 2

Международная классификация фаговаров S. aureus

Группы	*Отдельные фаги*	*Общие фаговары S. aureus*
I	29, 52, 52A, 79, 80	29, 52/52A; 52/52A/80/81; 80
II	3A, 3B, 3C, 55, 71	3A/3B/3C; 3C/55
III	6, 7, 42E, 47, 53, 54, 75	6/7/47/53/54/75/77
IV	42D	
Смешанная	81, 187	

Фаготипирование используется в эпидемиологических целях для выявления источника инфекции, так как фаготипирование высокоспецифичный процесс. В случаях, например, внутрибольничных инфекций, метод может точно указать на носителя патогенного штамма (один и тот же фаговар).

Иммунитет

У людей имеется значительный естественный иммунитет к стафилококкам. Специфические антитела обнаруживаются в сыворотке крови большинства людей. Появление их связано с перенесенными, так называемыми, «малыми» стафилококковыми инфекциями кожи и слизистых. Приобретенный иммунитет может выполнять определенную защитную функцию, но практически не может служить серьезной защитой против стафилококковой инфекции. Особую группу риска составляют лица со сниженными защитными реакциями. например, вследствие диабета или вирусных инфекций.

Профилактика и контроль за стафилококковой инфекцией

Основу контроля за стафилококковой инфекцией в больницах (и в любом другом месте) является тщательное соблюдение гигиенических стандартов и неукоснительное соблюдение правил асептики. Циркулирующие патогенные штаммы стафилококка так же чувствительны к дезинфицирующим средствам, как и обычные непатогенные штаммы.

Важное мероприятие – выявление носителей патогенного стафилококка (на слизистой носа) среди персонала, особенно в отделениях новорожденных.

Фаготипирование коагулазо – стафилококков помогает выявить источник в случае внутрибольничных инфекций.

СЕМЕЙСТВО STREPTOCOCCACEAE

Семейство *Streptococcaceae* включает семь родов, шесть из которых патогенны для человека: *Streptococcus, Enterococcus, Aerococcus, Leuconostoc, Pediococcus* и *Lactococcus.* Наибольшее клиническое значение имеют стрептококки и энтерококки, тогда, как остальные вызывают лишь спорадические или редкие случаи заболевания.

Бактерии семейства *Streptococcaceae* вызывают ГВЗ различных органов и систем, причем, для каждого представителя этого семейства характерна локализация процесса.

Стрептококки (род Streptococcus)
Общая характеристика

Термин Streptococcus морфологический и объединяет кокки, расположенные попарно или цепочками. Название представляет собой комбинацию из двух греческих слов – «strepto» (скрученный, сцепленный) и «coccos» (ягода). Так назвал эти микроорганизмы известный хирург Theodor Billroth в 1874 году.

Род Streptococcus имеет определенные биохимические характеристики. Так, включенные в него кокки ферментируют глюкозу с образованием большого количества молочной кислоты. В то же время, они значительно разнятся по культуральным свойствам и по патогенности. Некоторые могут вызывать смертельные заболевания, в то время, как другие проявляют патогенную активность лишь при особых условиях. Среди них есть и непатогенные кокки. В целом, стрептококки ответственны за большее число различных болезней, чем другие микроорганизмы и практически могут поражать любую часть тела.

Стрептококки могут быть патогенны для человека и низших животных. Некоторые из них являются сапрофитами молока и других повседневных продуктов.

Большое число исследований посвящено биологии стрептококков. Структура отдельных кокков изучена детально, так же как и их патогенные свойства.

Морфологические и культуральные свойства.

Стрептококки (1 мкм в диаметре) организованы в длинные и короткие цепочки. Длинные насчитывают до 50 и более клеток, короткие – 4-10. Внутри цепочек клетки часто располагаются попарно. Цепочки формируются, когда бактерии делятся в одной плоскости и остаются сцепленными. Стрептококки неподвижные, грамположительные, неспорообразующие бактерии. Некоторые штаммы способны образовывать капсулу, однако, этот признак не является постоянным.

Большинство стрептококков растет в присутствии кислорода, но могут и не нуждаться в нем. Некоторые виды являются строгими анаэробами. Стрептококки хорошо растут на

обогащенных средах. Видимые колонии появляются через 24-48 часов. Обильный рост можно получить при культивировании на среде с добавлением сыворотки (не гретой) или цельной крови. Стрептококки могут расти в молоке. Оптимальной температурой роста является температура тела человека, но могут расти и при температуре от 15 °С до 45 °С. Большинство видов не лизируются в присутствии желчи и не ферментируют инсулин (полимер фруктозы). Все каталазо- и оксидазо-отрицательны.

Хорошо сохраняются в мокроте и других экскретах, в сухой крови – до нескольких месяцев. Разрушаются при температуре + 60 °С в течение 15 минут. Растворы фенола, йода, спирт также губительны для стрептококка.

Классификация

Стрептококки могут быть классифицированы по характеру роста на агаре с 5% крови (кровяной агар):

1. α-гемолитические (вызывают неполный гемолиз) – колонии окружены зеленоватой зоной – Str. viridans (зеленящий стрептококк);

2.β-гемолитические (вызывают полный гемолиз) – колонии окружены бесцветной прозрачной зоной гемолиза;

3. γ-гамма-стрептококки (негемолитические) – кровяной агар вокруг колоний не изменен.

Как правило:

1) α-гемолитические стрептококки ассоциируются с вялотекущим хроническим процессом (инфекция синусов или одонтогенные абсцессы), однако, они могут вызывать и более тяжелые процессы, например, подострый бактериальный эндокардит;

2) β-гемолитические стрептококки – являются более вирулентными и ассоциируются с острой воспалительной реакцией;

3) γ-гамма-стрептококки – непатогенны для человека.

Другая классификация, основанная на биохимических свойствах, подразделяет стрептококки на группы:

§ группа А – пиогенные (гноеродные) β-гемолитические стрептококки – серьезные болезнетворные агенты, способные вызвать разнообразные по проявлениям и тяжести течения заболевания, – от носительства до сепсиса, ревматизма и гломерулонефрита.

§ группа Б – зеленящие стрептококки. Не вырабатывают гемолизинов, не вызывают гемолиз на кровяном агаре. Зеленящие стрептококки являются представителями нормальной микрофлоры дыхательных путей человека и вызывают развитие болезни только тогда, когда они попадают на измененные сердечные клапаны, на мозговые оболочки или в мочевыводящую систему. Они также широко распространены в природе.

§ группа В – энтерококки (Str. faecalis). Являются частью нормальной микрофлоры пищеварительного тракта людей и животных. Они могут вызывать заболевания при попадании в мягкие ткани, кровяносное русло, мочевыводящую систему или на мозговые оболочки. Энтерококки довольно устойчивы ко многим антибактериальным препаратам, но сохраняют чувствительность к пенициллинам.

§ группа Г – молочные стрептококки. Редко вызывают заболевания. Обычно присутствуют в молоке и обусловливают естественное «Скисание» молока.

§ группа Д - пептострептококки. Строгие анаэробы, которые участвуют в возникновении смешанных инфекций, сопровождающих повреждения органов брюшной полости, таза и легких. Встречаются среди нормальной микрофлоры толстого кишечника и полости рта.

Существует еще одна классификация, основанная на различиях в структуре полисахарида клеточной стенки. Была предложена в 1920 году Lancefield. Полисахарид стрепто-

кокка (так называемый С – углевод) имеет существенные антигенные различия в структуре аминогруппы, определяемые в реакции преципитации. По этому признаку Lancefield выделила 13 групп: A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, O, S.

В 90% случаев, заболевание человека вызывают стрептококки группы А (β-гемолитические стрептококки), к которым относится Str. pyogenes (гноеродный стрептококк). Стрептококки этой группы имеют так называемый М-белок – главный фактор вирулентности, защищающий их от фагоцитов хозяина. М-белок определяет типовую специфичность стрептококков внутри группы А. Он локализован в поверхностном слое клеточной стенки (ворсинчатый слой). На основе различий в антигенной структуре М-белка группа А поделена на более, чем 60 сероваров.

Токсические вещества, вырабатываемые β-гемолитическим стрептококком группы А.

Стрептококки вырабатывают много внеклеточных веществ, включая ферменты и токсины. Среди них: гемолизины, лейкоцидины, стрептокиназа, стрептодорназа, гиалуронидаза, эритрогенный токсин.

Стрептолизины. Стрептококк вырабатывает два типа стрептолизинов – S и O и каждый является лейкоцидином и гемолизином. Стрептолизин S продуцируют преимущественно стрептококки группы А. Стрептолизин О – группы А и некоторых других групп.

Прозрачная зона, образующаяся вокруг колоний стрептококка – это результат комбинированного действия обоих гемолизинов. Стрептолизин О чувствителен к кислороду и хорошо растворим в воде (диффундирует в среду), поэтому он действует под колонией, в толще агара, где условия анаэробные. Напротив, стрептолизин S устойчив к кислороду и потому вызывает поверхностный гемолиз. Поскольку стрептолизин О (но не S) обладает иммуногенными свойствами, антитела к нему (анти-О стрептолизин) являются следствием стрептококковой инфекции и их определение используется в диагностике.

Титр антистрептолизина О (ASO) в сыворотке более 160-200 ЕД считают патологически высоким. Это указывает или на недавно перенесенную стрептококковую инфекцию или на хронический процесс.

Стрептокиназа (фибринолизин) активатор фермента, расщепляющего фибрин и другие белки (основные белки сгустков крови). Свертывание крови играет важную роль в заживлении ран, так как оно ограничивает распространение местной инфекции. Стрептокиназа, являясь важным фактором вирулентности, благодаря своему прямому действию, способствует распространению инфекции и возникновению генерализованных форм.

Стрептодорназа (стрептококковая дезоксирибонуклеаза, ДНК-аза) разжижает густой, вязкий экссудат, образующийся при пневмонии. Ферментная активность ДНК-азы связана со способностью к деградации в экссудате дезоксирибонуклеопротеина – фактора, ответственного за вязкость.

Гиалуронидаза (фактор распространения, инвазии). Под действием этого фермента повышается проницаемость тканей хозяина для кокков и их токсических продуктов.

Эритрогенный токсин. Вызывает появление сыпи, которая наблюдается при скарлатине. Скарлатину могут вызвать только те штаммы, которые вырабатывают эритрогенный токсин. Эритрогенный токсин вырабатывают лизогенные стрептококки. Если штамма лишить фага (умеренного фагового генома), теряется способность вырабатывать токсин. Нетоксигенные стрептококки после лизогенной конверсии будут продуцировать эритрогенный токсин.

Эритрогенный токсин обладает антигенной активностью, вызывая у людей образование специфического антитоксина, который нейтрализует токсин. У людей, имеющих в организме антитела к эритрогенному токсину (антитоксины), сыпь не образуется, хотя они остаются восприимчивыми к стрептококковой инфекции.

Патогенез и клиника

Типичное патологическое повреждение, вызванное гемолитическим стрептококком – распространенный целлюлит. Экссудат содержит немного клеток и состоит преимущественно из жидкости, содержащей незначительное количество фибрина. Токсические продукты, выделяемые микробами, помогают стрептококкам преодолевать, как неповрежденные ткани, так и воспалительные барьеры. При этом, проявляется тенденция к инфицированию лимфатических сосудов поражаемой стороны (регионарных). Большинство хорошо известных форм стрептококковой инфекции есть проявление целлюлита. Рожистое воспаление – это целлюлит специфической области (поверхностные слои кожи крыльев носа и носогубной складки, а также других участков кожи), септическая инфекция глотки (ангина) есть целлюлит глотки.

Иммунологические реакции организма следуют обычно за стрептококковой инфекцией (чаще, ангиной). Например, острая ревматическая лихорадка – осложнение ангины, вызванной стрептококками группы А; одна из форм заболеваний почек (гломерулонефрит) следует за стрептококковой инфекцией верхнего отдела респираторного тракта или кожи.

Со стрептококковыми инфекциями связано множество различных патологических процессов.

Заболевания, обусловленные инвазией β-гемолитического стрептококка группы А (Str. pyogenes)

Входные ворота инфекции определяют основную клиническую картину, однако, в каждом случае, имеет место вовлечение в процесс окружающих тканей с распространением по лимфатическим путям. Возбудитель может попасть в кровоток, что и приводит к развитию бактериемии. Сюда относятся:

Флегмона. Входные ворота инфекции – кожа. Флегмона – это глубокое, быстро развивающееся заболевание, сопровождающееся воспалением и интенсивным покраснением, припухлостью и болезненностью. Очень быстро в процесс вовлекается лимфатическая система. Лимфатические протоки воспаляются и заметны в виде красных полос, направленных к ближайшим лимфоузлам.

Поверхностной формой флегмоны является рожа (рожистое воспаление), воспаление на лице, чаще поражены крылья носа и носогубные складки (крылья бабочки). Может поражаться кожа других участков тела.

Послеродовая лихорадка (пуэрперальный сепсис). Входные ворота – эндометрий. Если после родов в матку проникает β-гемолитический стрептококк группы А, развивается послеродовая лихорадка, которая, по существу, является септицемией, исходящей из инфицированной раны – эндометрия.

Раневая инфекция. Инфицирование травматических или операционных ран b-гемолитическим стрептококком группы А.

Все описанные процессы могут привести к развитию стрептококкового сепсиса.

Болезни, связанные с местным инфицированием β-гемолитическим стрептококком группы А.

Стрептококковая ангина. Наиболее частое проявление стрептококковой инфекции. Вирулентные стрептококки группы А прикрепляются к эпителию гортани, благодаря наличию на поверхности пилей липотейхоевой кислоты.

У грудных детей и у детей младшего возраста заболевание протекает в виде назофарингита с небольшим количеством серозного отделяемого и невысокой температурой, но с тенденцией к распространению возбудителя в среднее ухо, сосцевидные отростки и на

мозговые оболочки. Шейные лимфоузлы обычно увеличены. Заболевание может продолжаться в течение нескольких недель.

У детей старшего возраста и взрослых заболевание протекает более остро и характеризуется интенсивным назофарингитом, тонзиллитом, сильным покраснением и отеком слизистых, гнойным отделяемым, увеличенными и болезненными шейными лимфоузлами и (обычно) с высокой температурой.

Если инфицирующие штаммы стрептококка продуцируют эритрогенный токсин, а у больного антитоксический иммунитет отсутствует, появляется скарлатинозная сыпь. Антитоксин к эритрогенному токсину предупреждает появление сыпи, но не оказывает влияния на стрептококковую инфекцию.

Стрептококковый назофарингит обычно не распространяется на легкие. Пневмония, вызванная β-гемолитическим стрептококком, чаще всего является следствием вирусных инфекций, например, гриппа или кори, которые, по видимому, значительно повышают восприимчивость к инфекции.

Стрептодермия (пиодермия стрептококковая, impetigo contagiosa) – высокозаразное поражение кожи. Болезнь чаще встречается у детей, часто обусловлена ассоциацией двух микроорганизмов – стрептококка и стафилококка.

Чувствительную кожу маленьких детей стрептококки заселяют, обычно не проникая во внутренние ее слои. Если же происходит инвазия в кожу, развивается заболевание, называемое импетиго. Оно имеет весьма характерную картину. Вначале формируются маленькие пузырьки, заполненные прозрачной жидкостью, хорошо отграниченные от остальных участков кожи. Прорываясь и подсыхая, они покрываются корочкой с медовой окраской в центре и красноватой по периферии. На коже рук или ног ребенка может быть до 20 таких элементов. При присоединении стафилококка элементы нагнаиваются. Impetigo contagiosa у детей часто осложняется развитием гломерулонефрита.

Инфекционный эндокардит. Во время бактериемии стрептококки могут поселяться на нормальных или ранее поврежденных сердечных клапанах. Наиболее опасно поражение, вызываемое β-гемолитическим стрептококком группы А, сопровождающееся быстрым разрушением клапанов.

После экстракции зубов у 30% пациентов развивается бактериемия, вызванная зеленящим стрептококком – обычным обитателем верхних дыхательных путей. Если при этом у больных имеются изменения в тканях клапанов сердца (вследствие ревматизма или атеросклероза), этот стрептококк может вызвать, так называемый, подострый бактериальный эндокардит.

Осложнения стрептококковой инфекции (ревматизм, гломерулонефрит).

После острой инфекции, вызванной β-гемолитическим стрептококком группы А, наблюдается латентный период продолжительностью 1-4 недели, после которого, иногда, развивается ревматизм или нефрит. В формировании этих процессов имеет значение состояние гиперчувствительности, развитие аутоиммунных реакций, образование иммунных комплексов, повреждающих почечные клубочки.

Нефриту чаще предшествует поражение кожи, ревматизму – инфекции дыхательных путей.

Гломерулонефрит развивается у некоторых больных через 3 недели. Он может начинаться отложением комплексов антиген+антитело на основной мембране клубочков. При остром нефрите появляются кровь и белок в моче, отеки, повышается кровяное давление, отмечается задержка азота. В большинстве случаев, наблюдается выздоровление, но у некоторых больных болезнь переходит в хронический гломерулонефрит с последующей почечной недостаточностью.

Ревматизм является наиболее серьезным осложнением инфекции, вызванной b-гемолитическим стрептококком группы А. Некоторые стрептококки содержат антиген клеточной стенки, перекрестно реагирующий с сарколеммой человеческого сердца. У больных образуются антитела к стрептококку, которые могут действовать цитотоксически на клетки сердца.

Началу ревматизма предшествует инфекция, иногда не распознанная, но часто – тяжелая стрептококковая ангина. Симптомами служат лихорадка, недомогание, артрит и признаки воспаления эндокарда, миокарда и перикарда.

Ревматизм проявляет тенденцию к обострениям. Поражения сердца прогрессируют при повторных атаках.

Иммунитет

Устойчивость к b-гемолитическому стрептококку является типоспецифической. То есть человек, который выздоровел после инфекции, вызванной одним типом стрептококка, является относительно невосприимчивым к повторному заражению тем же типом, но полностью чувствительным к инфицированию другим.

Развитие резистентности связано с типоспецифическими антителами к М-белку стрептококка. Белок М препятствует фагоцитозу, однако, в присутствии антител против М-белка, лейкоциты вызывают гибель стрептококка.

Иммунитет против эритрогенного токсина обусловлен наличием в крови антитоксина. Этот антитоксический иммунитет предупреждает развитие сыпи при скарлатине, но не защищает от стрептококковой инфекции.

Антитела к стрептолизину О (антистрептолизины) появляются после инфекции, но они не указывают на невосприимчивость. Высокие титры антистрептолизина (более 250 ЕД) указывают на свежие или повторные инфекции, либо обнаруживаются чаще у больных ревматизмом, чем у больных со стрептококковыми инфекциями, протекающими без осложнений.

Чувствительность стрептококков к антибиотикам

Штаммы β-гемолитического стрептококка чувствительны к пенициллину и, в большинстве случаев, к эритромицину. Крайне важен подбор оптимальной (бактерицидной или бактериостатической) дозы препарата и продолжительности его применения. При острой стрептококковой инфекции (ангине) продолжительность лечения пенициллином или эритромицином, в соответствующей дозе, не должна быть меньше 10 дней.

Возможно применение других антимикробных препаратов, после определения чувствительности к ним стрептококка.

Источники инфекции. Механизм передачи. Меры профилактики

Многие стрептококки (зеленящие, энтерококки и др.) являются представителями нормальной микрофлоры тела человека. Они могут вызвать заболевание только в тех случаях, когда поселяются там, где их быть не должно (например, на сердечных клапанах). Для предупреждения таких случаев, особенно при хирургических вмешательствах, лицам с деформацией клапанов сердца целесообразно назначать антибактериальные препараты.

β-гемолитический стрептококк – это патогенный микроб. Его источником является человек, у которого может быть клинически выраженная или субклиническая инфекция, либо носительство. Микроб может передаваться аэрогенно, с каплями влаги из верхних дыхательных путей или из очагов поражения на коже (раневая инфекция, стрептодермия)

при прямом контакте, либо через зараженные предметы. Распространенный вариант передачи – через руки носителей из числа больничного персонала, особенно, при возникновении раневой инфекции и послеродового сепсиса. Минутного касания бывает достаточно, чтобы вызвать опасную стрептококковую инфекцию у больных или персонала.

Таким образом, основной источник – носители, выделяющие β-гемолитический стрептококк со слизистой носа или ротовой полости, либо больные разными формами стрептококковой инфекции.

Меры борьбы относятся преимущественно к инфекциям, вызванным b-гемолитическими стрептококками группы А и направлены на первое звено инфекционного процесса – источник инфекции. Эти меры предполагают:

Выявление и раннее интенсивное антибактериальное лечение больных адекватными дозами препаратов (преимущественно пенициллин, эритромицин и другие антибиотики, активные в отношении грамположительных микроорганизмов).

Санация носителей, то есть освобождение от стрептококка – мера необходимая в отношении носителей из числа персонала родильных домов, хирургических стационаров. Очень трудная процедура, не всегда успешная. Иногда приходится удалять носителя из зоны повышенного риска для пациентов.

Лабораторная диагностика заболеваний, вызванных стрептококками

Для постановки диагноза при острых стрептококковых инфекциях (за исключением скарлатины с клинически выраженными симптомами) необходимо проведение бактериологических и серологических исследований.

При септических состояниях производят посев крови; при гнойных поражениях высевают отделяемое ран, язв, делают посев со слизистых оболочек. Если рана или язва покрыта гноем, его предварительно смывают изотоническим раствором хлорида натрия, материал для посева берут из глубины. Во всех случаях удобнее всего пользоваться ватным тампоном. Тампон помещают в стерильную пробирку и отправляют в лабораторию, где с него производят посев на питательные среды, содержащие кровь или сыворотку. При посеве материал наносят на поверхность среды легкими штрихами, не втирая его в агар.

Наиболее высокий процент высеваемости стрептококка может быть получен при погружении тампона с материалом (у постели больного) в пробирку с полужидким агаром с 2-3 каплями дефибринированной крови на дне. Материал инкубируют 3-4 часа при 37 °С и производят посев на чашку с кровяным агаром.

Посев крови производят в жидкие среды с последующим высевом на кровяной агар. Посевы крови должны длительно (до 2-х месяцев) сохраняться в термостате, т.к. в некоторых случаях, в частности, при лечении антибиотиками, рост микробов наблюдается только через 1,5-2 месяца. В течение этого времени периодически делают высевы на чашки с кровяным агаром.

На следующий день изучают выросшие колонии. Для дальнейшего исследования отбирают мелкие, плоские колонии диаметром до 1-2 мм, прозрачные, сероватого цвета, окруженные зоной гемолиза или зеленоватой зоной. Готовят мазки, окрашивают их по Граму. Под микроскопом видны грамположительные кокки, располагающиеся короткими цепочками.

Оставшийся от микроскопического исследования материал колонии пересевают на скошенный сывороточный или асцитический агар.

С целью идентификации выделенной культуры производят посев на скошенный мясопептонный агар, молоко с метиленовым синим, бульон с желчью.

β-гемолитический стрептококк группы А не растет на простых средах, на средах с желчью, не редуцирует метиленовый синий в молоке. Энтерококк хорошо растет на простых средах с желчью.

Биохимические свойства стрептококков определяют путем посева на среды Гисса, но они не являются достаточно постоянными. Целесообразно изучать биохимические свойства стрептококков при отсутствии у них группового С-антигена.

Определение серологической группы стрептококка по Лендсфилд производят с помощью реакции преципитации, в которой используют групповые сыворотки (А, В, С, D) и солянокислый экстракт, полученный из испытуемой культуры стрептококка и содержащий группоспецифический С-антиген. Для этого, в 4 преципитационные пробирки вносят по 0,2 мл антистрептококковых сывороток. В пятую (контрольную) пробирку вносят 0,2 мл нормальной кроличьей сыворотки. Затем во все пробирки осторожно наслаивают равный объем испытуемого солянокислого экстракта. При положительном результате на границе жидкостей появляется четко выраженное кольцо молочно-белого цвета.

Определение серовара стрептококка имеет значение при эпидемиологическом анализе для выявления источника инфекции. Серовар стрептококка может быть установлен с помощью реакции агглютинации на стекле по методу Гриффитса (реакция между Т-антигеном и Т-антителами) или в реакции преципитации по Лендсфилд (реакция между М-антигеном и М-антителами). Определение серовара проводят только в группе А.

Серологические методы широко применяются при подтверждении диагноза ревматизма, гломерулонефрита. В сыворотках крови больных обнаруживают антитела к О-стрептолизину, гиалуронидазе и другим ферментам агрессии стрептококков. При острых стрептококковых инфекциях также происходит нарастание титра антител к О – стрептолизину и ферментам стрептококка, однако, увеличение титра антител наблюдается лишь через 1-2 недели после начала заболевания, поэтому с помощью серологических методов диагноз может быть поставлен ретроспективно.

Скарлатина (итал. scarlattina, от позднелатинского ярко-красный цвет) – острая инфекционная болезнь, вызываемая бета-гемолитическим токсигенным стрептококком группы А, характеризующаяся лихорадочным состоянием, общей интоксикацией, ангиной и мелкоточечной сыпью.

Впервые клиническую картину болезни описал Т. Сиденгам в 1675 году.

Возбудителями скарлатины являются токсигенные и вирулентные гемолитические стрептококки группы А. В течении многих лет этиология скарлатины была предметом дискуссий. Ещё в 1900 году Багинский и Зоммерфельд (A. Baginsky, P. Sommerfeld) установили частое присутствие стрептококка в зеве больных скарлатиной. В 1905 году И. Г. Савченко открыл стрептококковый скарлатиновый эритрогенный токсин, им была приготовлена антитоксическая сыворотка, дающая терапевтический эффект. В 1906 году Г.Н. Габричевским было показано, что при введении детям в целях иммунизации стрептококковой вакцины, содержащей токсин, у них наблюдались скарлатиноиды – явления, сходные с симптомами первичного периода скарлатины.

Стрептококковая теория этиологии скарлатины подтвердилась исследованиями супругов Дик (G.F. Dick, G. H. Dick, 1938) установивших при попытке иммунизации, что большие дозы эритрогенного токсина продуцируемого скарлатинозными стрептококками, у лиц, не болевших скарлатиной, вызывают симптомы, характерные для первичного периода скарлатины. При внутрикожном введении малых доз токсина возникает местная

воспалительная реакция (реакция Дика). При наличии иммунитета к скарлатине реакция Дика отрицательная, т.к. токсин нейтрализуется специфическими антителами.

Препятствием для признания стрептококка возбудителем скарлатины является тот факт, что при ряде других заболеваний стрептококковой этиологии выделяют те же типы стрептококка, что и при скарлатине, и токсины, полученные из этих культур, не отличаются по своим свойствам. Предполагалась вирусная этиология скарлатины, которая была опровергнута вирусологическими и иммунологическими исследованиями.

Характеристика возбудителя

Стрептококки – бактерии рода Streptococcus, семейства Streptococcaceae.

Впервые стрептококки обнаружены Т. Бильротом в 1874 году при роже и раневых инфекциях.

Стрептококки – шаровидные или овальные клетки размером 0,6-1,0 *мкм,* образующие цепи различной длины, грамположительные, факультативные *анаэробы.* Различают гемолитические (Str. hemolyticus), агемолитические (Str. viridans). Наибольшее значение в патологии человека имеют DDгемолитические стрептококки, отнесённые в 1985 году по предложению В. Д. Белякова с соавт. к экологической группе облигатных паразитов человека.

По антигенным различиям полисахаридов стрептококки разделены Лансфильдом (R. S. Lancefield) на группы. Известно 20 групп стрептококков, которые обозначают прописными буквами (от А до V). Ряд аППиППуПППстрептококков не вошли ни в одну группу. Стрептококки разных групп отличаются по месту обитания в природе, патогенности для человека, характеру гемолиза и биохимическим показателям. Основной критерий в дифференциации стрептококков – принадлежность к определённой группе. Для человека патогенны в основном гемолитические стрептококки группы А (Str. pyogenes) – возбудители ангин, хронического тонзиллита, скарлатины, сепсиса, раневых инфекций кожи и других тканей, острого гломерулонефрита, ревматизма, рожи.

Стрептококки группы В (Str. agalactiae) вызывают мастит, урогенитальные инфекции у женщин, сепсис и менингит. Стрептококки групп С, G, Н, F часто обнаруживают в слизистой оболочке зева человека, в т.ч. при острых респираторных заболеваниях.

Стрептококки группы D, или фекальные стрептококки – сапрофиты толстой кишки человека – известны также как возбудители подострого бактериального эндокардита, инфекций мочевого тракта. Стрептококки групп Н, N, F, К, О и зеленящие стрептококки, лишённые группового антигена, иногда обнаруживают в крови при септическом эндокардите. Не содержащие группового антигена Str. mutans- один из факторов кариеса зубов у человека. Стрептококки других групп редко обнаруживаются у человека, они патогенны в основном для животных.

Вирулентные стрептококки группы А имеют на поверхности капсулу, препятствующую фагоцитозу. Гиалуроновая кислота, входящая в состав капсулы, не антигенна. Клеточная стенка стрептококка состоит из трёх слоев. Наружный слой содержит типоспецифические белковые Т- и М-антигены (субстанции), ряд нетипоспецифических белковых антигенов, связанных или не связанных с М антигенами. В состав среднего слоя входит групповой полисахарид (А-полисахарид), построенный из DDD-N-ацетилглюкозамина и рамнозы. Внутренний слой содержит пептидогликан, обеспечивающий ригидность клеточной стенки. Из клеточной стенки стрептококка через капсулу выходят так называемые фимбрии, включающие М-антиген и липотейхоевую кислоту, обеспечивающую прилипание стрептококка к слизистой оболочке. Цитоплазматическая мембрана стрептококка состоит из белков и липидов, протоплазма – из ряда белков и нуклеопротеинов. У ряда

культур стрептококка обнаружены Fc-рецепторы, связывающие иммуноглобулины за счёт Fc- участков, что может приводить к неспецифическим реакциям.

Среди гемолитических стрептококков группы А найдено более 70 типов, представители которых содержат различные М-антигены. У 16 типов стрептококков обнаружен фактор опалесценции (фактор помутнения) –типоспецифическая липопротеиназа, определение которой может быть использовано для типирования данных культур стрептококка. Основным фактором вирулентсности стрептококка группы А является М-антиген. Вирулентные свежевыделенные от больных культур стрептококки, содержащие М-антиген, способны расти и размножаться в крови человека. Авирулентные культуры, не содержащие М-антиген, фагоцитируются в крови человека без добавления антител против М-антигена гомологического типа. Стрептококки группы А продуцируют эритрогенный токсин, имеющий значение в патогенезе скарлатины. Термостабильная фракция эритрогенного токсина стимулирует гиперчувствительность замедленного типа. Стрептококки групп А, С и G продуцируют S и О -стрептолизины, вызывающие гемолиз эритроцитов. S- и О стрептолизины разрушают также лизосомы клеток, что может привести к повреждению тканей. Антитела к S-стрептолизину не найдены, но обнаружен ингибитор в нормальных сыворотках крови. Большинством культур стрептококка групп А, С, G синтезируются О- стрептолизин, к которому возникают антитела. Стрептококки группы А и некоторых других групп продуцируют дезоксирибонуклеазы 4 типов (А, В, С и D). При стрептококковых инфекциях человека высокий уровень антител обнаружен против дезоксирибонуклеазы группы типа В. Стрептококки группы А, продуцируют гиалуронидазы двух типов (I и II). Антитела к гиалуронидазе типа I в высоких титрах встречаются при стрептококковых инфекциях человека. У стрептококков группы А обнаружена никотинамидадениндинуклеотидаза – фермент, оказывающий кардиотоксическое и лейкотоксическое действие. Фибринолитический фермент стрептокиназу продуцирует большинство стрептококков группы А и некоторые культуры групп С и G; очищенные препараты стрептокиназы применяют с терапевтической целью для растворения фибрина в экссудатах и при сосудистых тромбозах. Протеиназа стрептококков группы А- протеолитический фермент, полученный в кристаллическом виде, – экспериментальных животных, поражает соединительную ткань, миокард, тимус, вилочковую железу.

Возникновение скарлатины или ангины зависит от токсикогенности стрептококка и уровня антитоксического иммунитета. Характер патологического процесса определяется также воротами инфекции (инфекции верхних дыхательных путей или кожи) и распространением стрептококка в организме.

Антимикробный иммунитет к стрептококкам группы А типоспецифичен и зависит от наличия антител против М-антигена. Типовой иммунитет сохраняется длительно и М-антитела обнаруживаются через 20 лет после перенесённого заболевания. Вакцины из целых микробных клеток для профилактики и лечения не применяются в связи с тяжелыми реакциями и сенсибилизирующим действием. Попытки применить для иммунизации очищенные препараты М-антигенов разных типов стрептококков не нашли практического применения. К основным сложностям при разработке метода активной иммунизации против стрептококка группы А относят типовую специфичность иммунитета; распространения большого числа типов стрептококка и частую их смену; наличие перекрестно реагирующих антигенов, способных вызвать аутоиммунные реакции.

Стрептококки разных групп, за исключением группы D, погибают при нагревании до t°56° в течении 30 мин. Сулема (1% р-р) и фенол (5% р-р) убивают стрептококки в течении 15 мин. Культуры стрептококка хорошо выдерживают высушивание, особенно в белковой среде, сохраняют жизнеспособность в окружающей среде, но быстро утрачивают вирулентность. Стрептококки группы А высокочувствительны к антибиотикам пенициll-

линового ряда и не приобретают к ним устойчивость. Эти антибиотики действуют бактерицидно на стрептококки группы А – бактериостатический эффект и к ним легко вырабатывается устойчивость. Определённый процент культур стрептококка устойчив также к эритромицину, линкомицину и некоторым другим антибиотикам.

Для обнаружения стрептококка на слизистых оболочках зева, носа и в гное материал, взятый тампоном, погружают в полужидкий агар на дно пробирки, где содержатся капли крови баран. После инкубации в течении 3-4 часов при t°37° производят посев на агар с кровью барана. Идентификация гемолитических стрептококков производится на основании обнаружения в агаре характерных колоний, окруженных зоной гемолиза и микроскопии мазков, окрашенных по Граму. Для определения группы стрептококков применяют преципитацию в жидкой среде с использованием HCl – экстрактов, полученных из стрептококка и сывороток крови животных, иммунизированных стрептококков разных групп, а также коагглютинацию стрептококков с помощью специфических антител, связанных за счёт Fc участков со стафилококком, содержащим А-белок. При использовании коагглютинации возможны перекрёстные реакции между стафилококками различных групп. Наиболее чёткие результаты при идентификации стафилококка группы А получают при использовании реакции преципитации в геле с сыворотками крови животных, содержащими антитела к А- полисахариду после удаления антител к другим антигенам.

Патогенез

Источником заражения при скарлатине является больной или бактерионоситель. Возбудители инфекции попадают в окружающую среду с секретом слизистой оболочки зева и носоглотки при кашле, чихании, разговоре; они могут содержаться также в отделяемом различных открытых гнойных очагов (при отите, синусите, гнойном лимфадените и других). Важную роль в эпидемиологии скарлатины играют больные стертыми формами с неполно или слабо выраженными клиническими проявлениями. Большое значение в эпидемиологическом отношении имеет скарлатина, протекающая в виде обычной ангины с отсутствием такого важного симптома как сыпь. Об эпидемиологической роли бактерионосителей свидетельствует скрытая («немая») иммунизация здоровых детей, т.е. нарастание у них иммунитета во время эпидемии. Здоровое носительство кратковременно, контагиозность бактерионосителей по сравнению с больными значительно ниже.

Передача возбудителей инфекции происходит, главным образом, воздушно-капельным путём. Заражение через различные предметы имеет второстепенное значение. Описаны редкие вспышки болезни при заражении через молоко и молочные продукты.

Наиболее восприимчивы к скарлатине дети в возрасте от 2 до 7 лет, после 15 лет скарлатина встречается редко, что объясняется приобретением специфического иммунитета после перенесённого заболевания в клинически выраженной или стёртой форме, а также после бактерионосительства.

Скарлатина – широко распространенное заболевание. Заболеваемость выше в странах с умеренно холодным и влажным климатом, она возрастает осенью, зимой, весной и снижается летом.

Отмечается волнообразное течение эпидемий: периодические подъёмы заболеваемости повторяются через 4-6 лет. Уровень заболеваемости скарлатины за последние десятилетия существенно не изменился. По данным В. Н. Додонова (1974, 1978), значительно уменьшилась интенсивность периодических подъёмов заболеваемости. Наряду с этим, чаще встречаются легкие и стёртые формы, а число тяжелых форм и осложнений сократилось. Летальность, в прошлом высокая, в настоящее время сведена к сотым долям процен-

та, а в некоторых местах – к нулю, что является следствием повышения эффективности лечения скарлатины и прежде всего применения антибиотиков.

Входными воротами для возбудителя скарлатины является слизистая оболочка зева и глотки. Изредка возбудитель инфекции может проникнуть через повреждённую кожу или слизистую оболочку половых органов (экстрабуккальная или экстрафарингеальная форма). По предложениям А. А. Колтыпина различают три основных компонента патогенеза – токсический, инфекционный (септический) и аллергический, тесно связанные между собой, Так, раньше считали, что воспалительно -некротические изменения в месте внедрения возбудителя инфекции обусловлены непосредственным действием стрептококка, теперь их рассматривают как проявление и токсико – аллергического процесса. Действие стрептококкового токсина проявляется в первые дни болезни сыпью и комплексом характерных для скарлатины симптомов со стороны центральной нервной системы, эндокринной и сердечно-сосудистой систем.

Аллергическая перестройка организма, происходящая на 2-3-й неделе болезни (так называемый, второй период скарлатины), служит благоприятным фоном для развития поздних осложнений.

Клиника

Своеобразие скарлатины по сравнению с другими стрептококковыми инфекциями объясняется тем, что при скарлатине развивается токсикоз, вызванный эритрогенным токсином. Доказательством этого, служит возникновение, в некоторых случаях, скарлатиноидов при введении высокоочищенных препаратов эритрогенного токсина с целью иммунизации, появление симптомов и морфологических изменений, характерных для скарлатины, у кроликов, реагирующих на токсин при внутривенном введении им больших доз токсина, а также более высокий уровень токсигенности стрептококков, выделяемых от больных скарлатиной. Кроме того, при скарлатине наблюдается высокая чувствительность к эритрогенному токсину в начале заболевания; при ангинах и других заболеваниях стрептококковой этиологии, наоборот, с самого начала отмечается высокий уровень антитоксического иммунитета.

Заболеваемость скарлатиной находится в прямой связи со степенью чувствительности к эритрогенному токсину. В результате применения титрационного метода (реакция Дика с разными дозами токсина) установлено, что заболеваемость значительно выше у детей, реагирующих на малые дозы токсина (1/10 кожной дозы) и практически отсутствует у лиц, не реагирующих на 10 кожных доз. Прямым доказательством зависимости заболеваемости скарлатины от уровня антитоксического иммунитета является снижение заболеваемости скарлатины после иммунизации очищенным токсином. Некоторыми исследователями были обнаружены положительные кожные реакции после перенесённой скарлатины, что объясняется применением неочищенного эритрогенного токсина, содержащего примесь термостабильной фракции, являющейся аллергеном. Описаны также отрицательные реакции Дика в начале заболевания скарлатиной. Это явление не связано с наличием антитоксического иммунитета, а зависит от ареактивности к токсину, возникающей при токсикозе. Относительно прочный и продолжительный иммунитет после перенесённой скарлатины и отсутствие такового при других стрептококковых инфекциях не противоречат стрептококковой природе скарлатины. Именно антитоксический иммунитет, имеющий значение при скарлатине, является прочным и продолжительным, в то время, как антимикробный иммунитет, играющий основную роль при других стрептококковых инфекциях, как известно, является типоспецифическим и в связи с наличием большого числа типов стрептококка, не может препятствовать возникновению повторных заболеваний.

Инфицирование токсигенными стрептококками не всегда вызывает развитие скарлатины, несмотря на отсутствие антитоксического иммунитета. Это объясняется тем, что для возникновения скарлатины необходимо не только наличие токсигенных стрептококков и отсутствие антитоксического иммунитета, но и отсутсвие антимикробного иммунитета к данному типу стрептококка и главным образом, высокая вирулентность культур стрептококка. Обоснованием этого положения является то, что при скарлатине, как правило, обнаруживают вирулентные культуры стрептококка, содержащие М-субстанцию. Большинство выделенных культур у носителей стрептококка, а также у реконвалесцентов, не содержат М-субстанцию, т.е. являются авирулентными.

Лечение и профилактика

Лечение стрептококковых инфекций антибиотиками позволяет быстро справиться с острыми заболеваниями и способствует предупреждению осложнений. Скарлатина редко бывает тяжелой и опасной для жизни. В случаях легкого ее течения, сыпь- основной симптом, заставляющий обратить внимание на болезнь. Даже без лечения, состояние больного почти всегда улучшается уже через 2-4 дня. Спустя несколько дней после нормализации температуры, сыпь начинает исчезать и сменяется шелушением кожи, которое продолжается около недели. Обычно оно происходит на ладонях и стопах. Применение пенициллина и других антибиотиков позволяет значительно ослабить проявления болезни и ускорить выздоровление. Больной считается заразным за сутки до появления первых симптомов и в последующие 2-3 недели. Осложнения при скарлатине обычно те же, что и при других стрептококковых инфекциях; чаще всего, это – инфекционные заболевания уха, ревматические поражения и нефрит. Правильное и своевременно начатое лечение позволяет избежать осложнений.

Иммунитет. Лица, перенесшие скарлатину, приобретают послеинфекционный иммунитет. Отмечаются случаи повторных заболеваний, участившиеся в последнее время. Для определения восприимчивости к скарлатине используют пробу Дика, заключающуюся во внутрикожном введении в область предплечья разведённого стрептококкового эритрогенного токсина. Кожной дозой токсина называют его минимальное количество, способное вызвать у восприимчивого ребёнка гиперемию кожи на участке диаметром 1 см (положительная реакция). Исследованиями В. И. Иоффе (1967) и Л. И. Фикс с соавтороми (1972) выявлено частое несоответствие результатов пробы Дика с состоянием восприимчивости к скарлатине, что подвергает сомнению значение этой реакции, как достоверного показателя состояния иммунитета к скарлатине в современных условиях.

Профилактика. Независимо от тяжести скарлатины, больной подлежит изоляции. Эту меру принимают и в отношении больных ангиной, у которых подозревают скарлатиновую природу заболевания. Лечение больных скарлатиной на дому не способствует повышению заболеваемости. Однако, показания к нему не следует чрезмерно расширять. Контакт с детьми разрешается после клинического выздоровления, но не ранее 10-го дня болезни. Посещение реконвалесцентами дошкольных детских учреждений и первых 2-х классов школ, допускается через 12 дней по окончании срока изоляции. Эти правила распространяются и на больных, лечившихся дома, а так же на больных ангиной, выявленных в скарлатинозном очаге. Все лица, бывшие в контакте с больным скарлатиной, подлежат врачебному осмотру с целью выявления случаев стертой формы болезни. Для детей, находившихся в контакте с больным, посещающим детские дошкольные учреждения и первые два класса школы и ранее не болевших, устанавливается карантин на 7 дней с момента изоляции больного. В квартире, где находится больной скарлатиной, проводят регулярную текущую дезинфекцию. Специфическая профилактика не разработана.

Лабораторная диагностика

Диагноз. Распознание скарлатины при типичном течении не представляет трудностей. При стёртых формах большое значение имеет эпидемиологический анамнез. Для диагностики, выделение из зева больного гемолитического стрептококка группы А малоубедительно. В крови с первых дней происходит нарастание лейкоцитов до 10000-30000 в 1 *мкл,* увеличение количества нейтрофилов до 60-70% и более, ядерный сдвиг нейтрофилов влево до юных форм, а в тяжелых случаях – до миелоцитов. С 3-го дня болезни увеличивается содержание эозинофилов, достигающее иногда 15-20%. РОЭ, особенно при тяжелых формах, ускорена до 20-50 *мм* в час. В настоящее время, в связи с преобладанием легких форм скарлатины, изменения крови выражены слабо или совсем отсутствуют.

ЭНТЕРОКОККИ (РОД ENTEROCOCCUS)

Морфология. Представляют собой овальные бактерии диаметром 0,6 н-2,0х0,6-»-2,5 мкм; в мазках из культур, выращенных на жидких средах, располагаются парами или короткими цепочками. Спор и капсул не образуют; некоторые виды ограниченно подвижны (имеют небольшие жгутики). Ранее микробы систематизировали как стрептококки группы D (некоторые также реагируют с антисыворотками к группе Q), а с 1984 г. они выделены в отдельный род. Поводом для этого явилось открытие уникального для всех стрептококков группового АГ – глице-ринтейхоевой кислоты, содержащей D-аланин и глюкозу. Типовой вид – *E. faecalis.*

Таблица 17. 3.

Бактериологическая диагностика стрептококковых инфекций

День исследования	Вид исследования
1-й день	Посев крови в «мартеновский» бульон и на среду Тароцци (полуанаэробные условия). Посев других видов исследуемого материала (гной, слизь и т.п.) на кровяной агар.
2-й день	Высев с бульона на кровяной агар (в течение 3-4 недель при инкубации первичного посева в термостате). Пересев выросших колоний стрептококков на кровяной агар для выделения чистой культуры.
3-й день	Изучение культуральных свойств. Микроскопия мазков из колоний, окрашенных по Граму. Посев на: - сахарный бульон; - бульон с повышенной концентрацией NaCl; - желчный бульон и др. Определение температурных границ роста (10–45 °С). Изучение биохимической активности. Определение серогруппы и серовара. Определение антибиотикограммы.
4-й день	Учет результатов

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы; хемоорганотрофы. Пищевые потребности сложные; энтерококки хорошо растут на простых средах; на кровяном агаре могут давать зоны полного (редко) или неполного гемолиза; селективными являются среды Диф-3 или Диф-5. Через 24 ч образуют сероватые колонии 0,4–1 мм в диаметре; признаками, дифференцирующими их от зеленящих стрептококков, является способность расти на средах, содержащих 6,5% NaCl, а также способность изменять окраску лакмусового молока или молока с метиленовым синим через 4–6 ч при 37 °С. Растут в интервале температур 10-45 °С (оптимум – 37 °С).

Ферментативная активность. Метаболизм ферментативного типа; расщепляют различные углеводы с образованием кислоты (преимущественно молочной) без газа; каталаза-отрицательны; в редких случаях восстанавливают нитраты. Основные дифференциальные признаки клинически значимых энтерококков представлены в табл. 17. 5.

Антигенная структура аналогична таковой стрептококков; относятся к серогруппе D.

Факторы патогенности. Энтерококки являются УПМ. Факторы патогенности возбудителя – компоненты клеточной стенки, ферменты агрессии и токсины.

Экологическая ниша. Широко распространены в природе; обитают в кишечнике различных позвоночных и человека. Энтерококки входят в состав микрофлоры ротовой полости, кишечника и мочеполовой системы взрослых; так, *E. faecium* выделяют из испражнений у 25% клинически здоровых лиц.

Устойчивость в окружающей ***среде*** более высокая, чем у стрептококков и приближается к таковой стафилококков, поэтому энтерококки используются в санитарной микробиологии в качестве санитарно-показательных микробов. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфек-тантов. Обладают природной устойчивостью к большинству антибиотиков, кроме того, все антибиотики, даже последних поколений, действуют на энтерококки только бактериостатически.

Эпидемиология и патогенез аналогичны таковым стрептококковых инфекций.

Клиника. Часто вызывают поражения мочеполовой системы, особенно у катетеризированных пациентов; также вызывают 10–20% всех бактериальных эндокардитов и 5% бактериемии. Гемолизирующие энтерококки также способны вызывать пищевые отравления и дисбактериозы кишечника. В патологии человека наибольшее значение имеют *E. faecalis, E. faecium* и *E. durans.*

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования – гной, кровь, моча и др. – определяется клинической картиной болезни.

Лабораторная диагностика включает *бактериологический* и *серологический* методы. Бактериоскопия мазков из исследуемого материала не проводится, так как в них энтерококки могут располагаться поодиночке, парами, тетрадами и другими способами и поэтому их невозможно морфологически отличить от других грамположительных кокков. Выделение возбудителя обычно не представляет трудностей, энтерококки дифференцируют со стрептококками.

Аэрококки (род *Aerococcus*), лейконостоки (род *Leuconostoc*), педиококки (род *Pediococcus*) и лактококки (род *Lactococcus*)

Микробы *родов Aerococcus, Leuconostoc, Pediococcus* и *Lactococcus* обладают низкой патогенностью; заболевания, вызванные ими у человека, регистрируют достаточно редко (обычно у иммунокомпромиссных хозяев).

Род Aerococcus образуют неподвижные шаровидные клетки 1,0–2,0 мкм в диаметре; в мазках из культур, выращенных на жидких средах, располагаются тетрадами. Факульта-

тивные анаэробы, но лучше растут в микроаэрофильных условиях. Образуют H_2O_2, вызывая позеленение кровяного агара. Хемоорганотрофы с окислительным метаболизмом; углеводы ферментируют с образованием кислоты. Каталазаотрицательны или слабоположительны. Желатину не разжижают, нитраты не восстанавливают. Температурный оптимум – 30 °С (также растут при 10 °С, но не при 45 °С).

Типовой вид–*A. viridans.* Сапрофиты, широко распространенные в стационарах; иногда могут загрязнять оборудование для инвазивных исследований. Контаминирование медицинского инструментария способно приводить к эндокардитам и инфекциям мочевыводящих путей. Принципы выделения аэрококков аналогичны таковым при индикации стрептококковых инфекций; бактерии образуют беловато-серые колонии, сформированные крупными кокками, собранными в тетрады или пары. Подобно энтерококкам способны расти на средах, содержащих 6,5% NaCl, однако, не растут при 10 °С и чувствительны к бацитрацину.

Род Leuconostoc – неподвижные неспорообразующие сферические, овальные или палочковидные (с закругленными концами) бактерии; средние размеры – 0,5^-0,7х0,7-И,2 мкм. Факультативные анаэробы, хемоорганотрофы; нуждаются в наличии углеводов при культивировании; преимущественно ферментируют моно- и дисахариды с образованием кислоты и газа. Основные ферментативные продукты – лактат и этанол. Каталазаотрицательны; аргинин не гидролизуют; индол не образуют; нитраты не восстанавливают; гемолитическую активность не проявляют. Растут медленно; колонии мелкие, на средах с сахарозой образуют более крупные слизистые колонии. Широко распространены в природе, часто колонизируют пищевые продукты. Типовой вид – *L. mesenteroides.* До 1985 г. отдельные сведения указывали на возможную роль лейконостоков в развитии пищевых токсикоинфекций, но затем появились многочисленные сообщения о выделении бактерий из крови новорожденных и больных с иммунодефицитами, страдающих бактериемиями, эндокардитами, пневмониями, а также из спинномозговой жидкости при менингитах. Колонии лейконостоков сероватого цвета; на кровяных средах гемолиза не вызывают. Отличительными особенностями являются способность гидролизовать эскулин в присутствии желчных солей, образование газа при ферментации глюкозы и резистентность к ванкомицину.

Род Pediococcus представлен шаровидными бактериями 1,0–2,0 мкм в диаметре; в мазках встречаются в виде тетрад или парно. Неподвижны, спор не образуют. Факультативные анаэробы, но некоторые виды растут в микроаэрофильных или анаэробных условиях. Хемоорганотрофы; пищевые потребности сложные, нуждаются в наличии ферментируемых углеводов (моно- и дисахаридов). Глюкозу расщепляют с образованием газа; основной ферментативный продукт – лактат. Цитохромов не имеют; катала-заотрицательны; нитраты не восстанавливают. Температурный оптимум – 25-40 °С. Широко распространены в природе, обычно на растениях и пищевых продуктах. Типовой вид – *P. damnosus.* Патогенность микробов остается недоказанной, несмотря на то, что *P. acidilactici* можно выделить из ран и крови пациентов с иммунодефицитами. Колонии гладкие, беловато-серые, не дающие гемолиза на кровяных средах; образованы крупными кокками, собранными в тетрады или пары. Бактерии гидролизуют эскулин в присутствии желчных солей, не образуют газа при ферментации глюкозы и резистентны к ванкомицину.

Род Lactococcus представлен сферическими или овальными клетками 0,5^-1,2х0,6-^-2,5 мкм; в мазках из бульонных культур располагаются парами или короткими цепочками. Неподвижны; спор не образуют; капсул не имеют. Факультативные анаэробы; хемоорганотрофы с ферментативным метаболизмом. Углеводы расщепляют с образо-

ванием преимущественно молочной кислоты. Пищевые потребности сложные. Каталаза- и оксида-заотрицательны; растут при 10 °С, но не при 45 °С (оптимум – 30 °С). По системе Лэнсфилд АГ относятся к группе N. Колонизируют растения и пищевые продукты. Типовой вид – *L. lactis.* В настоящее время патогенность не доказана, имеются лишь сообщения о выделении из организма человека *L. garviae,* образующего беловатые негемолизирующие колонии, организованные коккобациллярными или нитчатыми клетками.

АЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ КОККИ

Нейссерии (род Neisseria)

Нейссерии – грамотрицательные аэробные кокки, относятся к роду *Neisseria,* включающему восемь видов: *Neisseria meningitidis* (менингококки), *Neisseria gonorrhoeae* (гонококки), *N. flava, N. subflava, N. perflava, N. sicca, N. mucosa, N. flavescens.* Обитают на слизистых оболочках человека и млекопитающих; 7 видов встречаются у человека, из них 5 видов являются представителями нормофлоры носоглотки и верхних дыхательных путей *(N. sicca, N. flavescens, N. perflava, N. mucosa* и *N. lactamica),* хотя описаны единичные случаи их выделения при гнойных менингитах, отитах, синуситах и других ГВЗ у иммунокомпромиссных лиц. Нейссерии содержат аллергены и могут быть причиной аллергических заболеваний (бронхиальная астма). Наибольшее клиническое значение имеют менингококки и гонококки. Основные отличительные признаки бактерий рода *Neisseria* представлены в табл. 17. 6.

Морфология. Грамотрицательные неспорообразующие кокки диаметром 0,6–1,0 мкм, неподвижны. Отличаются склонностью к образованию пар и тетрад, связанной с делением клеток в двух плоскостях; обращенные друг к другу поверхности бывают утолщены. Исключением считают *Neisseria elongata,* образующую короткие (0,5 мкм) палочки (диплобациллы и короткие цепочки). Некоторые виды имеют капсулу и микроворсинки.

Культуральные свойства. Аэробы, хемоорганотрофы. Температурный оптимум роста – 35–37 °С, патогенные виды могут расти в интервале температур 24–41 °С, а непатогенные способны к росту при температурах ниже 24 °С. Оптимум pH 6–8. Патогенные виды прихотливы к условиям культивирования, не растут на обычных питательных средах; непатогенные виды менее прихотливы. Виды, обитающие в носоглотке, образуют желтый пигмент – от слабо-желтого до яркого, особенно заметный у 48-часовых культур на плотных средах с добавлением куриного желтка. Наличие в питательной среде свободных жирных кислот ингибирует рост нейссерии, что инактивируют внесением крахмала, сыворотки или древесного угля.

Ферментативная активность низкая, особенно у патогенных видов. Имеют каталазу (исключая *Neisseria elongata),* цитохромоксидазу; ферментация углеводов по оксидативному типу зависит от вида; конечный продукт – уксусная кислота. Сахаролитические свойства выражены нечетко. Некоторые виды образуют сходный с крахмалом полисахарид на среде с 5% сахара. Многие виды редуцируют нитриты, некоторые восстанавливают нитраты. Биохимические свойства нейссерий представлены в табл. 17. 6.

Таблица 17. 4.

Основные дифференциальные признаки клинически значимых энтерококков

Признаки	E. durans	E. faecalis	E. faeclum
Подвижность	–	± (11-20% изолятов)	± (11-20% изолятов)
Рост при 45 °С	+	+	+
Рост при 50 °С	–	± (11-20% изолятов)	±(80-89% изолятов)
Рост на средах, содержащих:			
- 6,5% NaCl	+	+	+
- 0,04% теллурита	–	+	–
- молоко с 0,1% метиловым синим	+	+	?
Образование желтого пигмента	–	–	–
Гемолиз	a-, -b	Иногда b-	Иногда a-
Гидролиз гиппурата	+	+	+(80-89% изолятов)
Образование кислоты из:			
- рамнозы	–	+	–
- сахарозы	–	+	+
- арабинозы	–	–	+
- глицерина	–	+	+
- сорбита	–	+(80-89% изолятов)	–
- маннита	± (11-20% изолятов)	+	+(80-89% изолятов)
Серологическая группа Лэнсфилд	D	D	D

Антигенная структура. Все виды нейссерий имеют полисахаридный соматический О-АГ; штаммы, образующие капсулу, также имеют капсульный антиген.

Факторы патогенности: *капсула, пили, эндотоксин, поверхностные белки наружной мембраны.* Патогенными для человека являются менингококки и гонококки.

Устойчивость в окружающей среде низкая, поэтому в культурах старше 1–2 суток практически не содержится живых клеток. Клинический материал транспортируют в лабораторию в утепленных контейнерах при 30–35 °С. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов. Высокочувствительны к пенициллинам, тетрациклинам, стрептомицину.

Менингококки

Менингококковая инфекция (греч. meninx, meningos -мозговая оболочка; kokkos- зерно, косточка плода) – инфекционная болезнь с капельным механизмом передачи.

Менингококковая инфекция – острое инфекционное заболевание, вызываемое возбудителем Neisseria meningitidis и характеризующееся поражением оболочек головного мозга с развитием менингита, менингоэнцефалита, энцефаломиелита, а также генерализацией инфекции с избирательным поражением эндотелия капилляров и развитием инфекционно-

токсического шока. Таким образом, в патогенезе менингококковой инфекции, мы можем отметить 2 момента:

1. Поражение оболочек головного мозга.

2. Поражение эндотелия капилляров с развитием ДВС-синдрома и, как высшего его проявления, инфекционно-токсического шока.

История. Клиника острого менингита была, по-видимому, известна ещё врачам древности. Однако, обособление различных форм менингита произошло относительно недавно. Первые описания клинической картины менингита Т. Виллизием и Т. Сиденгамом относится к XXVII веку. Практически же изучение эпидемического менингита начинается с 1805 года, когда Вьессе дал достоверное описание болезни при вспышке менингита в Женеве. Вслед за этим появились многочисленные работы об эпидемиях менингита, возникших в Европе (Франции, Италии, Испании и др.) и Америке.

В России эпидемический менингит отмечен в 1863 г. в Калужской губернии и в 1866 г. в Москве. В эти же годы болезнь описана в Азии, Африке и Австралии.

Выделение эпидемического цереброспинального менингита в самостоятельную нозологическую форму произошло после открытия Вейксельбаумом в 1887 году его возбудителя – грамотрицательного диплококка. В конце XIX века была описана менингококкемия, как особая форма менингококковой инфекции, а в начале XX века появились сообщения о менингококковом назофарингите. В 1965 году Всемирная ассамблея здравоохранения при восьмом пересмотре международной классификации болезней ввела новое название болезни -менингококковая инфекция.

Географическое распространение и статистика. С начала XX века менингококковая инфекция регистрировалась на всех континентах. Первая и Вторая Мировые войны привели к эпидемическому подъёму заболеваемости в Европе, США и на других территориях. В 50-е годы почти во всём мире наступил спад заболеваемости. С начала 60-х годов отмечается подъем заболеваемости генерализованными формами менингококковой инфекции в странах Европы, Африке, Канаде.

Заболеваемость менингококковой инфекцией в Европе и США составляет от 1 до 12 человек на 100 тысяч населения. В Африке показатель заболеваемости продолжает оставаться высоким: в Гане (1948) – известно 268, 3 на 100 тысяч жителей, в Нигерии (1962) – 62,5, а в Нигере (1963) – 536.

Генерализованные формы менингококковой инфекции характеризуются высокой летальностью. До применения этиотропной терапии умирало 50-60% заболевших; введение противоменингококковой иммунной сыворотки снизило этот показатель в 2-3 раза, а использование сульфониламидов и антибиотиков -в 5-6 раз. В большинстве стран летальность регистрируется в пределах 10%. Наибольшая летальность отмечается в раннем возрасте, особенно до 1 года. С возрастом она уменьшается, но среди лиц старше 60 лет умирает примерно половины заболевших.

Эпидемиология. Характерна периодичность возникновения эпидемических вспышек и пандемий. Сейчас мы переживаем очередную эпидемическую вспышку. Начиная с 1900 года, первая вспышка была в 1904-1907 году, следующая 1925-45 годы (она характеризовалась так называемой двугорбой эпидемической волной, подъем заболеваемости в 1925 году и спад в 1930 году, н не до обычного уровня, затем резкий скачок вверх в 1937 году и спад до первоначальных межэпидемических значений в 1945 году). Вплоть до 1967 года был так называемый межэпидемический период, то есть заболеваемость была 0.68 на 100000 населения.

Этиология. 3 серовара Neisseria meningitidis A, B, C. Кокки, чрезвычайно неустойчивы во внешней среде, хорошо растут на питательных средах с добавлением белка, поселя-

ются в лейкоцитах и в мазке видны как бобовидные зерна внутри лейкоцита. Хорошо окрашиваются анилином. Индекс контагиозности достаточно невысок.

Источник инфекции – больные генерализованной формой менингококковой инфекции, носители и больные локализованными формами. Наибольшую эпидемическую опасность представляют больные генерализованными формами менингококковой инфекцией, так как в этих случаях возбудители наиболее активные и вирулентные, следовательно, и концентрация возбудителей у этих больных будет достаточно велика; индекс контагиозности здесь будет равен – 6. Индекс контагиозности больных локализованными формами менингококковой инфекции равняется 3, индекс контагиозности носителей, менингококка равен – 1.

Но практически, больной генерализованной формой менингококковой инфекции, находится в контакте с окружающими всего примерно 1 день, остальное же время он прикован к постели, следовательно, не может явиться источником такого массивного распространения заболевания. Напротив, больные локализованной формой, а тем более, бактерионосители являются основным источниками распространения менингококковой инфекции (МИ).

Путь передачи МИ – воздушно-капельный. Менингококк с капельками слюны и слизи попадает на слизистую оболочку носоглотки, где находит благоприятные условия, поселяясь там и вызывая воспалительные реакции, проявляющиеся острым назофарингитом. В ряде случаев, отмечается кратковременность пребывания менингококка в носоглотке и обладая тропизмом и эндотелию капилляров, возбудитель гематогенным путем попадает в оболочки головного мозга, где находит благоприятные условия для своей жизнедеятельности, адсорбируется за счет наличия пилей с рецептором к мозговым оболочкам. В процессе метаболизма менингококк гибнет, освобождая эндотоксин, который является мощным нейротропным и сосудистым ядом, который, как и сам возбудитель усиливает продукцию спинномозговой жидкости, чем и обусловлено развитие гипертензионного синдрома, который усугубляется изменением качественного состава ликвора. Возбудитель, являясь представителем кокков и поселяясь на оболочках воспаления последних. Нарушается отток жидкости через foramen ovale, Lushke, Magandi, гипертензия усиливается, как и давление на вещество мозга, вследствие чего интерорецепторы находятся в состоянии перевозбуждения и головная боль носит постоянный характер. Менингококк по адвентициальным пространствам сосудов оболочек мозга проникает в вещество мозга, вызывая развитие менингоэнцефалита. У больного развивается очаговая симптоматика, выраженность проявления которой зависит от уровня поражения вещества мозга. Возбудитель проникает и в боковые желудочки, вызывая воспаление эпендимы последних – развивается эпендиматит, заканчивающийся водянкой мозга. Возбудитель проникает также и в спинной мозг, поражая его корешки (чаще шейный и грудной отделы); поражение корешков передних рогов приводит к спастическому сокращению заднешейных и затылочных мышц, следствием чего является появление симптомов ригидности затылочных мышц; при поражении грудного и поясничного отделов определяются симптомы Кернига, верхний, средний и нижний Брудзинский – симптомов натяжения. Также может поражаться вещество спинного мозга (миелит), что заканчивается формированием парезов и параличей.

Наибольшая концентрация гноя наблюдается на основании мозга, где расположены жизненно важные центры, ядра черепно-мозговых нервов и chiasma opticum, что приводит к соответствующим нарушениям (снижение зрения, остроты слуха и т.д.).

Таким образом, поселяясь на оболочках мозга, менингококки вызывают следующие состояния:

• острый менингит,
• менингоэнцефалит,
• менингоэнцефалополиомиелит.

Смерть больных наступает от отека и набухания мозга, происходит смещение мозга вдоль церебральной оси и вклинение миндалин мозжечка в большое затылочное отверстие, результатом чего является остановка дыхания.

Патогенез менингококковой инфекции, протекающей по типу менингококкового сепсиса (менингококкемии). В этом случае, возбудитель проявляет свои другие качества – тропизм к эндотелию капилляров. Заражение происходит также аэрогенным путем и возбудитель попадая в кровь, разносится по всем органам и тканям, вызывая развитие менингококкемии. Возбудитель абсорбируется на стенках капилляров всех органов и тканей, в том числе, кожи. Менингококк, высвобождая токсин, вызывает повреждение сосудистой стенки, в ответ на это активируются тромбоцитарные простогландины, которые ответственны за агрегационную способность тромбоцитов, которые выстраиваются в виде монетных столбиков вдоль сосудистой стенки, начинают аггломерировать. В ответ на это активируются фибриноген, фибрин и т.п., в результате чего, формируется тромб. Это приводит к раздражению интерорецепторов стенки сосудов, развивается парез вазомоторов и все нефункционирующие капилляры расширяются, что приводит к падению ОЦК, уменьшается венозный возврат, и, следовательно, сердечного выброса, результатом чего, является развитие гипоксии головного мозга, ацидоза, раздражающих симпатоадреналовую систему. Происходит выброс катехоламинов, что вызывает спазм периферических сосудов. Раздражается дыхательный центр, синусовый узел – развивается одышка и тахикардия.

Повреждаются сосуды всех органов, в том числе, надпочечников, что приводит к кровоизлиянию в них, таким образом, развивается синдром Waterhouse-Fredericson, клиническими проявлениями которого является стойкая гипотония.

Также развивается, так называемая, инфекционно-токсическая почка: увеличивается резорбция жидкости в канальцах, а появляющиеся эритроцитарные тромбы приводят к олигоанурии.

Наличие тромбов в сосудах вызывают развитие ДВС-синдрома, характеризующегося наличием 2-х фаз:

• первая фаза – гиперкоагуляция,
• вторая фаза – коагулопатия потребления, когда на формирование тромба уходит весь пластический материал. Клинически проявляется кровотечениями, фаза необратима.

Все что происходит внутри организма, присутствует и на коже: проявляется в виде сыпи, которая в первые часы носит розеолезно-папулезный характер, затем сменяющийся геморрагическим элементом, растекающийся, с некрозом в центре.

Смерть больных менингококкемией наступает вследствие инфекционно-токсического шока, высшим проявлением которого является ДВС-синдром с формированием синдрома Уотерхауса-Фредериксона. Клиническая классификация (В.И. Покровский).

1. Локализованные формы:
• менингококконосительство,
• менингококковый назофарингит.
2. Генерализованные формы:
• менингококкемия: типичная, атипичная, хроническая.
• менингит,
• менингоэнцефалит,

• смешанная форма: менингит плюс менингококкемия.

3. Редкие формы:

• артриты,

• миокардит,

• пневмония,

Диагностика

Специфическая:

1. Мазок из носоглотки: посев делается у постели больного на кровяной агар, далее чашка Петри помещается в специальный термос, таким образом, транспортируется в лабораторию.

2. Посев ликвора – условия посева и транспортировки те же.

3. Посев крови – выполняется при менингококкемии.

Как метод вспомогательной диагностики, позволяющих дифференцировать гнойный и серозный менингит, используется люмбальная пункция с оценкой качественного и количественного состава ликвора.

Из серологических методов исследования сегодня используются РИГА с комплексным эритроцитарным диагностикумом, диагностический титр 1/16, 1/32. В период эпидемической вспышки циркулирует менингококк типа А, но сейчас у нас циркулируют и В, и С, и неагглютинирующиеся штаммы.

Лечение

Разберем классическую схему лечения менингококковой инфекции.

1. Лечение менингита

• Дегидратационная терапия. Используют низкомолекулярные соединения: реополиглюкин, сорбитол, сорбит, маннитол. Перорально очень хорош медицинский глицерин. Белковые препараты (альбумин), мочегонные (лазикс). Проводится люмбальная пункция.

• Этиотропная терапия. Наилучшим средством является пенициллин: хорошо проникает через ГЭБ, менее токсичен. Используют 100-500 тыс. Ед. на кг веса в сутки. Разовая доза 2-3 млн. единиц по 7-8 раз в сутки. При тяжелых формах показано назначение глюкокортикостероидов, но вместе с тем, надо увеличивать и дозы антибиотиков, так как глюкокортикоиды уплотняют ГЭБ. В последние годы используют препарат «Рулид», назначают перорально по 1 таблетке 2 раза в день, в течении 1 недели.

2. Лечение менингококкемии – это, прежде всего, лечение инфекционно-токсического шока. Назначается дезинтоксикационная терапия с обязательным подключением глюкокортикоидов, форсированного диуреза.

Антибиотики, оказывающие бактерицидный эффект, здесь непригодны (пенициллин), так как при их введении происходит массивная гибель возбудителя и усугубляется шок. Используют левомицетина сукцинат натрия внутримышечно по 1 мл 4 раза в сутки.

Лечение менингококкового назофарингита. Проводится только в стационарных условиях. Используется местная терапия, физиотерапия (КУФ. УВЧ) и пероральные антибиотики, цефалоспорины.

Гонококки

Возбудителем гонореи является гонококк (синонимы: Neisseria gonorrhoeae Trevisan, Diplococcus der Gonorrhoe Bumm и др.), открытый Neisser в 1879 г. По классификации Берджи гонококк входит в род Neiasseria, его специфичность доказана рядом авторов.

Гонококки относятся к парным коккам, по форме они сходны с кофейными зернами или почками, сложенными вогнутыми сторонами. Длина гонококка колеблется от 1,25 до 1,6 мкм, поперечник – от 0,7 до 0,8 мкм. Между половинками диплококков имеется щель; ее размеры зависят от плоскости, в которой находится гонококк, при некоторых положениях она может быть не видна. Вокруг гонококков имеется капсулоподобное образование, вследствие чего, гонококки не соприкасаются между собой. При электронно-микроскопическом исследовании в сканирующем микроскопе у гонококка различают пили – тонкие нити, которым приписывают его вирулентные свойства и передачу генетической информации и колбовидные вздутия, связанные с наружной стенкой. На ультратонких срезах хорошо видны фестончатая трехслойная наружная стенка, цитоплазматическая мембрана, также трехслойная цитоплазма с взвешенными в ней мелкими гранулярными образованиями – рибосомами («фабрики» белка), ядерной вакуолью. Четко определяется перемычка между диплококками; около нее иногда различается мезосома в виде петли, соединенной с плазматической мембраной. Эти образования расположены в местах наиболее активного роста.

В материале, взятом от больных, например, в отделяемом при остром уретрите, половинки гонококка имеют совершенно одинаковую величину. При хронической гонорее наблюдаются диплококки с неодинаковыми по величине и форме половинками (диплококки типа АША). При лечении сульфаниламидными препаратами и антибиотиками, особенно в недостаточных дозах, много гонококков резко измененных формы и величины: крупные шаровидные, с истонченной стенкой, величиной до размеров эритроцита и очень мелкие пылевидные L-формы. Такие формы очень устойчивы к препарату, вызвавшему их образование. Устойчивость к препаратам пенициллина повышается в несколько тысяч раз. Отдельные штаммы гонококков вырабатывают пенициллиназу – фермент, разрушающий пенициллин.

Существование фильтрующихся форм гонококков не доказано. Размножается гонококк чаще путем поперечного деления. Гонококки в мазках, приготовленных из гонорейного гноя, расположены внутри клеток. Жизнеспособность гонококков внутри лейкоцитов сохраняется, чаще отмечается только первая стадия фагоцитоза – захватывание, а перевариваются только первые фагоцитированные гонококки. По мере израсходования гранул, при помощи которых происходит переваривание, гонококки не разрушаются и продолжают жить внутри лейкоцита, иногда размножаясь (эндоцитобиоз – жизнь внутри клетки). Лейкоциты, захватившие гонококков, сохраняют способность к дальнейшему фагоцитозу гонококков и других микроорганизмов.

Количеству лейкоцитов с фагоцитированными гонококками придавалось не только диагностическое, но и прогностическое значение. Значительное количество лейкоцитов с внутриклеточными гонококками истолковывалось как благоприятное явление. Однако, этот признак ненадежен, так как количество гонококков зависит как от стадии болезни (при острой гонорее их больше, при хронической меньше), так и от способа взятия материала: в свободно стекающей капле их много, при взятии непосредственно с поверхности слизистой оболочки мало. Гонококки могут находиться и внутри эпителиальных клеток и внутри простейших – трихомонад, сохраняя свою жизнеспособность. Такие трихомонады с фагоцитированными гонококками могут быть причиной рецидивов гонореи.

Расположение гонококков внутри трихомонад имеет значение и для лечения, так как трихомонадоцидные средства не действуют на гонококков, а пенициллин, применяемый для лечения гонореи, не действует на трихомонад. Следовательно, гонококки внутри трихомонад недоступны для пенициллина.

Большинство исследователей серологически различают 4 типа гонококков, но в последнее время на основании морфологии колоний описано еще два типа. У гонококков первого и второго типов имеются пили, а у третьего и четвертого пилей нет. Гонококк хорошо окрашивается всеми анилиновыми красками. Чаще применяется метиленовый синий, а для отличия от других сходных диплококков препарат окрашивают по Граму. Гонококк относится к грамотрицательным микроорганизмам. При лечении сульфаниламидными препаратами и антибиотиками наблюдаются и грамположительные экземпляры; особенно так окрашиваются крупные шаровидные гонококки. При посевах гноя, в котором много грамположительных гонококков и L-форм, на обычных для гонококков питательных средах вырастают чаще гонококки, окрашивающиеся грамотрицательно и имеющие форму диплококков.

Антигенная ценность гонококков различных типов разная; кроме того, лекарственноустойчивые штаммы утрачивают часть антигенов, присущих чувствительным культурам и приобретают ряд новых антигенов.

Гонококк плохо растет на простом мясопептонном агаре и значительно лучше размножается на питательных средах с добавлением нативного белка; гемолиза не дает. Возбудитель хорошо развивается при доступе кислорода, но при посевах материала из закрытых полостей (выпот из суставов и др.) лучше растет при пониженном парциальном давлении (с заливкой вазелиновым маслом), лучше развивается при избытке углекислоты, газа не образует, пигмента не дает. Из углеводов гонококк разлагает декстрозу, другие сахара не разлагает; измененные гонококки иногда не ферментируют ни одного сахара. Истинного токсина гонококк не образует. Убитые культуры от больного хронической гонореей менее токсичны, чем выделенные от больных острой гонореей; еще менее токсичны культуры от больных торпидной гонореей. Гонококк малоустойчив к внешним воздействиям. На различных предметах он нестоек и гибнет по мере высыхания среды. Во влажной среде гонококк остается жизнеспособным более длительное время. В мыльной воде гонококк быстро гибнет.

Лабораторные штаммы при комнатной температуре могут сохраняться без пересева около месяца, но обычно гонококковые культуры следует перевивать через 3-4 дня. При сохранении под вазелиновым маслом пересев нужно делать раз в 2 недели. Гонококковые культуры, высушенные в замороженном состоянии под вакуумом, сохраняют жизнеспособность и антигеновые свойства в течение 1-6 месяцев без пересева.

Наилучшим образом, гонококк живет и размножается при 36,5-37°С; более высокие температуры действуют на него губительно, низкую температуру переносит значительно лучше. В человеческом организме гонококк при температуре 40-40,5°С не гибнет, но его жизнеспособность снижается, выделения уменьшаются. Химические препараты (соли серебра, ртути и др.) и антибиотики убивают гонококк в весьма малых концентрациях в течение короткого времени.

У больного гонореей человека, гонококки находятся в гное очагов поражения, у мужчин – в отделяемом уретры, у женщин – в уретре и шейке матки, но могут встречаться и в секрете предстательной железы, прямой кишки, выпотных жидкостях суставов, в содержимом семенных пузырьков и т.д.

Нет ни одного вида животных, у которого удалось бы получить бесспорное заболевание, по картине и течению, сходное с таковым у человека и вызванное гонококком, не-

смотря на различные способы заражения и создание благоприятных условий для развития гонококка. Экспериментально у животных гонорея не получена. Описанные некоторыми авторами случаи заражения гонореей лабораторных животных при проверке другими авторами, как правило, не подтвердились. Кроме того, сами исследователи при дальнейшей работе не смогли воспроизвести заражение животных. Сходная с гонореей человека по клинике и течению картина получена отдельными авторами [Lucas et al., 1970; Brown et al., 1972] только при заражении человекообразных обезьян. Нельзя считать экспериментальной гонореей гибель 1-2-дневных цыплят при заражении их гонококками. У мышей при введении гонококковых культур вместе с 5% муцином и 1% раствором декстрозы можно получить гоносептицемию, вызывающую гибель животных от введения относительно небольших количеств гонококковой культуры (250-500 тыс. микробных тел) с размножением гонококков в брюшной полости; без муцина гибель мышей от гоноэндотоксина наблюдается без размножения гонококков и от количеств микробов, в 3-5 раз больших. Эту модель можно применить для испытания эффективности различных препаратов. Иммунитета гонорея не оставляет, наблюдаются многократные заражения. В экспериментах на мышах путем многократного введения полисахаридного антигена удается получить протективный эффект от 2-3 смертельных доз живой гонококковой культуры.

Общая патология гонореи

Гонорея – инфекционное заболевание, возбудителем которого является, гонококк. Гонорея передается от больного или носителя здоровому человеку преимущественно половым путем. Гонококковое воспаление, как правило, локализуется в мочеполовых органах и часто распространяется на прямую кишку; крайне редки первичные экстрагенитальные очаги: гонорейные поражения глаз, глотки, кожи. Следовательно, гонорея клинически обычно имеет очаговый, местный характер, хотя у женщин зачастую в мочеполовых органах одновременно или последовательно возникает несколько очагов воспаления. Только в виде исключения гонорея становится генерализованным заболеванием (диссемированная гонорейная инфекция, гонококковый сепсис).

Воспаление слизистых оболочек мочеполовых органов сопровождается гнойными или слизисто-гнойными выделениями из уретры у мужчин, из уретры и шейки матки у женщин и рядом субъективных расстройств. Заболевания с подобной клинической картиной известны с древнейших времен. Например, в Библии упоминается о «нечистом истечении» из мочеиспускательного канала у мужчин и предлагаются ограничительные предписания, указывающие на возможную заразительность этих выделений. О заболеваниях половых органов у мужчин и женщин с выделениями упоминал Гиппократ (460–377 гг. до н. э.). В индийских книгах, относящихся к IV веку до н. э., описано 20 различных гонорееподобных заболеваний.

Современное название болезни «гонорея» ввел Гален, который во II веке н. э. ошибочно трактовал выделения из уретры мужчин как семятечение (греч. gone – семя, rhoia – истечение). Несмотря на то что термин «гонорея» неверно отражает сущность заболевания, он прочно закрепился в медицине. Ныне лишь изредка употребляются другие названия этого заболевания – триппер (в немецкоязычных странах) и бленнорея (во Франции).

Гонорея в настоящее время является одной из наиболее распространенных инфекций вообще и самым частым из венерических заболеваний. Точных данных о заболеваемости гонореей в большинстве стран не имеется. Например, опрос, проведенный в США, дал основание предположить, что «частнопрактикующие врачи лечат приблизительно 80% всех больных гонореей, причем около 90% больных острой гонореей не регистрируется»

(ВОЗ. Женева, 1980). Oriel (1982) ежегодное число заболевающих гонореей людей в мире оценивается в 250 млн. В развивающихся странах Азии и Африки среди невыборочно обследованных сельских жителей гонорейная инфекция выявляется в 3–18% [Arya, 1981]. В развитых капиталистических странах особую тревогу вызывает высокая заболеваемость молодежи. Так, интенсивный показатель заболеваемости гонореей среди лиц моложе 25 лет в США составил 1964 случая на 100000 населения [Alexander et al., 1984]. Хотя в 70–80-х годах в отдельных промышленно развитых странах (Англия, Дания, Швеция) наметилась тенденция к некоторому снижению заболеваемости гонореей, все же эпидемиологическая ситуация в ряде капиталистических стран характеризуется как «вышедшая из-под контроля».

Социальная значимость гонорейной инфекции связана с неблагоприятным влиянием этой болезни на демографические показатели, поскольку она отчетливо повышает распространенность бесплодия.

Эпидемиология

Заражение обычно происходит половым путем. Источником заражения чаще бывают больные малосимптомными и хроническими формами гонореи или гонококконосители, т.е. лица, которые либо вообще не замечают у себя заболевания, либо не считают имеющиеся симптомы признаком венерической болезни.

У мужчин гонококки большей частью сначала вызывают воспаление слизистой оболочки уретры, у женщин – шеечного канала, уретры и желез преддверия, у маленьких девочек – вульвы и влагалища. У мужчин – пассивных гомосексуалистов начальным, а иногда и единственным очагом инфекции может быть прямая кишка, тогда как у женщин и девочек она обычно поражается вторично вследствие попадания гонококков с выделениями из половых органов. При орогенитальных контактах описаны первичные гонококковые поражения глотки, миндалин, слизистой оболочки полости рта. Допускают, что гонорея глотки может возникнуть вследствие заражения при поцелуях [Willmott, 1974]. Стоматит и ринит наблюдались у маленьких детей, вносящих гонококки руками из половых органов, исключительно редко они бывают и у новорожденных, инфицированных во время прохождения через родовые пути [Карышева К. А., 1954]. Handsfield и соавт. (1973) описали гонорейный фарингит у новорожденного, развившийся вследствие заглатывания влагалищного отделяемого больной матери. Они выделили гонококков из орогастрального аспирата у 2,7% обследованных новорожденных.

Гонорейные конъюнктивиты у взрослых обычно являются следствием случайного заноса возбудителей руками из гениталий самими больными. Гонорейные конъюнктивиты у новорожденных возникают при заражении во время родов. У новорожденных также давно известны гонококковый сепсис, менингит и артриты, причем, некоторые авторы допускают внутриутробное гематогенное инфицирование или инфицирование через зараженные околоплодные воды [Карышева К. А., 1954; Gregory et al, 1972]. Эта возможность доказана, в ряде случаев, гонококковой септицемии у детей, извлеченных с помощью кесарева сечения. Handsfield и соавт. (1973) полагают, что входными воротами для гонококка может служить пищеварительный тракт новорожденных.

Таким образом, заражение гонореей может быть половым или неполовым, но, как правило, происходит при прямом контакте. Однако, возможно заражение путем непрямого контакта, так как гонококки непродолжительное время сохраняют жизнеспособность в патологических субстратах (гной, слизь) во внешней среде. Инфицирование через общую постель, предметы обихода, ночные горшки, губки, полотенца в настоящее время в

связи с повышением материального благосостояния, культурного уровня и санитарной грамотности бывает весьма редко. Однако, в неблагоприятных жилищных условиях, когда дети спят вместе с больными родителями и пользуются общими предметами туалета и бельем, случаи непрямого заражения гонореей относительно часты. Например, Shore, Winkelstein (1971) подчеркивают важность этих социально-гигиенических факторов, ведущих к заболеванию гонореей детей бедноты на Аляске.

Патогенез гонорейной инфекции

При гонорее патологический процесс обычно ограничивается местом первоначального внедрения возбудителя. В связи с этим, принято различать гонорею мочеполовых органов (генитальная), экстрагенитальную и метастатическую, являющуюся осложнением двух первых основных видов гонококковой инфекции.

Гонококки приспособились паразитировать, главным образом, в мочеполовых органах, на слизистых оболочках, выстланных цилиндрическим эпителием (уретра, цервикальный канал, нижняя часть прямой кишки, конъюнктива). Поражения слизистых оболочек, покрытых многослойным плоским эпителием (наружные гениталии, глотка), как и поражения кожи, возникают редко, лишь при особых благоприятствующих моментах (механическая, химическая и термическая травма, мацерация, гормональная перестройка организма с сопутствующим снижением естественной защиты). Это объясняется совсем не каким-то специфическим сродством, «аффинитетом» гонококков к цилиндрическому эпителию. Гонококки быстро прикрепляются ворсинками к поверхности любой слизистой оболочки, в том числе, к клеткам областей, обычно резистентных к гонококковой инфекции (влагалище, тело и шейка матки). На поверхности слизистых оболочек гонококки фиксируются настолько быстро, что мочеиспускание после полового контакта мало влияет на вероятность заболевания (ВОЗ, Женева, 1980). Однако, клетки цилиндрического эпителия наиболее доступны для проникновения любых вирулентных микроорганизмов. Попавшие на слизистую оболочку уретры мужчин и женщин гонококки через межклеточные пространства достигают спустя 3-4 дня субэпителиальной соединительной ткани и обусловливают воспалительную реакцию; уретральные выделения – результат миграции нейтрофилов, лимфоцитов и плазматических клеток к месту внедрения гонококков [Овчинников Н. М., Делекторский В. В., 1971; Faradegan, Roth, 1975]. Кроме того, установлено, что гонококки могут располагаться внутри эпителиальных клеток, следовательно, они проникают через поверхность слизистых оболочек в результате фагоцитирования эпителиальными клетками [Антоньева К. А., 1983; ВОЗ, Женева, 1980].

Время, необходимое для проникновения гонококков в подэпителиальную ткань и развития воспалительной реакции, определяет продолжительность инкубационного периода. Его длительность колеблется от 1 дня до 1 месяца и более. Mahoney и соавт. (1946), заражавшие «добровольцев» в тюрьмах США лабораторными штаммами гонококков, зарегистрировали колебания инкубации от 1 до 21 дня. Среднюю продолжительность инкубации при гонорее в прошлом определяли 2-3 днями [Задорожный Б. А., Петров Б. Р., 1978]. В последние годы имеется отчетливая тенденция к увеличению инкубационного периода [Жуков В. И., 1983; Туранова Е. Н., Частикова А. В., Антонова Л. В., 1983; Мавров И. И., 1984].

Гонококки не только постепенно мигрируют по поверхности слизистой оболочки гениталий, но и «проникают в лимфатические щели и сосуды, а потому быстро переносятся в отдаленные от первичного места проникновения инфекции отделы мочеполового тракта» [Порудоминский И. М., 1956]. Лимфогенное распространение возбудителей подтвержда-

ется очаговым поражением уретральных желез, окруженных густой сетью лимфатических сосудов, необычно быстрым переходом воспаления на задний отдел уретры у мужчин и быстрым развитием аднекситов у женщин. Электронно-микроскопические исследования, выполняемые И. М. Омаровым (1981), продемонстрировали проникновение гонококков в лимфатические капилляры и возможность их эндоцитобиоза в эндотелиальных клетках лимфатических путей. Показана также возможность резервирования гонококков лимфоцитами [Овчинников Н. М., Делекторский В. В., 1982].

Существенное значение в происхождении ряда осложнений имеет ретроградный занос гонококков в некоторые полые органы. Так, они могут проникнуть в полость матки при ее антиперистальтических движениях, особенно при недостаточности внутреннего зева [Мажбиц А. М» 1968], а через маточные трубы – в брюшную полость в яичники. Эпидидимиты чаще всего являются следствием трансканаликулярного распространения гонококков. Антиперистальтические сокращения семявыносящих протоков закономерно возникают при раздражениях семенного бугорка. Однако, и обычная перистальтика семявыносящего протока может привести к ретроградному попаданию его содержимого в придаток яичка, причем стимулятором перистальтики служит адреналин [Гехман Б. С., 1963], который в значительном количестве вырабатывается при всяких состояниях стресса, в частности, при половом акте. Известно быстрое развитие эпидидимита после эндоуретральных вмешательств, грубого массажа предстательной железы и семенных пузырьков у больных задним гонорейным уретритом.

Гематогенная диссеминация с образованием гонококковых метастазов в различных органах встречается в настоящее время нечасто. Хотя особенности строения половых органов воздают благоприятные условия для проникновения микроорганизмов в кровяное русло, как правило, попавшие в кровь гонококки сразу же погибают под влиянием киллинг-факторов нормальной сыворотки [Ingwer et al., 1978; Martin, Riou, 1982]. Таким образом, гонококковый сепсис возможен лишь тогда, когда возбудитель оказывается резистентным к комплементарной бактерицидной активности нормальной человеческой сыворотки. «Обычные» гонококки могут быть причиной сепсиса только при тех или иных нарушениях иммунной защиты, когда сыворотка крови утрачивает бактерицидные свойства (ВОЗ, Женева, 1980). В связи с этим, гематогенные метастазы гонореи исключительно редки, несмотря на высокую заболеваемость.

По-видимому, определенная часть гематогенных осложнений является результатом транзитной бактериемии (гонококкемия), т.е. следствием попадания немногочисленных возбудителей в кровяное русло через слизистую оболочку мочеполовых органов или из другого первичного очага, что чаще случается при гонорейном поражении маточных труб у женщин, простаты и семенных пузырьков у мужчин. Так, Д. М. Кахидзе (1984) на ультраструктурном уровне продемонстрировал транзитную гонококкемию при рецидивах гонореи, осложненных орхоэпидидимитом или гонитом. Транзиторной гонококкемии иногда сопутствуют кратковременные умеренные общие нарушения, определяющиеся лишь состоянием патологического процесса в пораженных органах. Транзиторная гонококкемия в отличие от сепсиса не сопровождается размножением возбудителей в крови: гонококки лишь механически транспортируются током крови, не задерживаясь в ней надолго, быстро оседая в тканях и органах.

Реже бывает настоящий сепсис с размножением гонококков в крови и общими токсическими и дистрофическими изменениями внутренних органов. На основании клинико-анатомической классификации сепсиса по И. В. Давыдовскому (1956) следует различать гонококковую септицемию, при которой нет гнойно-метастатических очагов в органах, но в результате гиперергической реакции организма на множество активно размножаю-

щихся в крови бактерий и их токсические продукты, наступает «молниеносная» смерть больного через 2-3 дня. Такая форма гонококкового сепсиса наблюдается значительно реже, чем септикопиемия (гонопиемия). Последняя протекает с более или менее тяжелыми общими симптомами, выраженной лихорадкой и ознобом, возникают гнойно-метастатические очаги в суставах, коже, сердце и т.д.

Гонорея как смешанная инфекция

Попадая в гениталии одновременно с другими возбудителями передающихся половым путем инфекций (хламидии, уреаплазмы, трихомонады и т.д.), гонококки совместно с ними могут обусловить смешанную инфекцию мочеполовых органов. Под этим термином мы понимаем заболевание, вызванное сочетанием двух или более инфекционных агентов, характеризующееся, прежде всего, сходством патогенеза и единством локализации патологического процесса. В других случаях, гонококки вызывают обострение существовавшей до этого малосимптомной или латентной инфекции, обусловленной перечисленными и некоторыми другими возбудителями. Большинство этих возбудителей либо совсем не подавляется противогонококковыми препаратами (трихомонады, грибы кандида, вирус герпеса II типа), либо малочувствительны к ним (хламидии, уреаплазмы). В связи с этим, после исчезновения гонококков воспалительный процесс в мочеполовых органах иногда может поддерживаться другими патогенными микроорганизмами.

Смешанная инфекция отражается как на клинике и течении гонореи, так и на результатах терапии. Например, инфекция гонококками и трихомонадами приводит к удлинению инкубации, более частым осложнениям. Заметно затрудняется диагностика гонореи, а у некоторых больных гонококки обнаруживаются только после устранения трихомонад. Это имеет важное эпидемиологическое значение, поскольку среди больных трихомониазом есть потенциальные источники гонорейной инфекции. Наконец, смешанная инфекция гонококками и трихомонадами ухудшает результаты лечения гонореи. По-видимому, это связано с фагоцитозом трихомонадами гонококков. В фагосомах трихомонад гонококки персистируют, становясь малодоступными для противогонорейных препаратов [Овчинников Н. М. и др., 1975; Яшкова Г. Н, 1977].

Важнейшее значение имеет смешанная инфекция гонококками и хламидиями, которая наблюдается у 15–30% и более больных гонореей мужчин и женщин [Шаткин А. А., Мавров И. И., 1983; Oriel, Ridgway, 1982]. После гибели гонококков хламидии служат наиболее частой причиной постгонорейных заболеваний и, возможно, в том числе, случаев болезни Рейтера. Среди больных болезнью Рейтера гонорейный уретрит предшествовал развитию суставного процесса в 20–25% случаев [Ильин И. И., 1983; Шубин С. В., 1984].

В последние годы особый интерес как возбудители передающихся половым путем инфекций гениталий вызывают уреаплазмы (Ureaplasma urealwticim), которые зачастую обнаруживаются в ассоциации с гонококками [Bowie W. R. et al., 1978; ВОЗ, Женева, 1984]. При смешанной инфекции гонококками и уреаплазмами усиливаются патогенные свойства возбудителей, а возникающие мощные микрокапсулярные субстанции мешают воздействию лекарственных препаратов на эти микроорганизмы [Осмоналиев М. К., 1983].

К инфекции гонококками мочеполовых органов могут присоединяться гноеродные бактерии (патогенные стафилококки и стрептококки), что бывает значительно чаще у женщин. Это приводит к более острому течению воспаления и обильным выделениям у женщин [Туранова Е. Н., 1975]. Смешанная инфекция гонококками и гноеродными бактериями при вульвовагинитах у девочек способствует более затяжному процессу, затрудня-

ет диагностику и терапию. У больных гонореей девочек Н. А. Антоньева (1983), с помощью электронной микроскопии, показала возможность резервирования гноеродных кокков в фагосомах лимфоцитов, как в очагах поражения, так и в периферической крови, что может быть причиной постгонорейных осложнений.

Экстрагенитальная гонорея

Гонорея прямой кишки (гонорейный проктит). Впервые гонорея прямой кишки была описана Hecker в 1801 г., а в 1884 г. Бумом. Сообщения отечественных и зарубежных авторов свидетельствуют об учащении заболеваемости в последние десятилетия гонореей прямой кишки, особенно у женщин и девочек [Карышева К. А., 1950; Целищева А. Д., 1952; Яцуха М. В., 1973; Туранова Е. Н., 1983; Scholter, .1972; Chapel et al., 1977], гонорейный проктит может быть и у мужчин. После введения в терапию антибиотиков частота поражения прямой кишки в отличие от других осложнений гонореи не снизилась. Гонорейный проктит у женщин и девочек сочетается с поражением мочеполовых органов и развивается чаще вторично, в результате затекания гноя из половых путей при дефекации или при ректальных половых контактах [Шильдебаева А. Н., 1981]. Гонорейный проктит встречается у 7% больных гонореей мужчин-гетеросексуалистов, у 12,5% больных женщин и у 25% гомосексуалистов (ВОЗ, 1980). По данным других авторов, гонорейные проктиты наблюдаются у 30–63% женщин, больных этой инфекцией, у 23–28% больных гонореей беременных, у 50% больных девочек и у 45–55% мужчин-гомосексуалистов [Яцуха М. В., 1972; Овсянникова Р. Д., 1975; Кунцевич Л. Д. и др., 1975; Туранова Е. Н., 1983; Мастбаум М. Д. и др., 1984; Klain, Fischer et al., 1977; Felman, Nikitas, 1980]. Значительно реже, ректальная гонорея диагностируется изолированно, без поражения мочеполовых органов (2,8–5%). Кроме того, М. Д. Мастбаум (1985) установил возможность существования влагалищных трихомонад в прямой кишке у женщин со смешанной гонорейно-трихомонадной инфекцией урогенитального тракта и гонорейным поражением прямой кишки, в прямой кишке найдены микроорганизмы, продуцирующие бета-лактамазу.

Достоверность диагностики во многом зависит от методики взятия и исследования отделяемого. Можно брать для исследования гнойные комочки из промывной жидкости. Этот способ применим в поликлинике: в прямую кишку вводят катетер с двойным током или стеклянный наконечник на глубину 3-4 см и медленно впускают из кружки Эсмарха (или резиновой грушей) 50-80 мл теплой воды. Затем жидкость, содержащую продукты воспаления, гной и слизь, собирают в прокипяченный стакан. Из промывной жидкости вылавливают комочки гноя и слизи и делают из них мазки и посев. Можно взять соскоб ложкой Фолькмана, но положительных ответов будет меньше. Гонококки чаще обнаруживаются при взятии материала через ректоскоп (марки РВ-1, модель 323); одновременно при ректоскопии осматривают слизистую оболочку кишки.

М. В. Яцуха (1973) считает наилучшим метод посева на среды с антибиотиками (полимиксин М и ристомицин сульфат). Так, методом бактериоскопии гонорея прямой кишки установлена у 10,8%, культуральным (на асцит-агаре) – у 7,2%, на асцит-агаре с антибиотиками – у 44,9% больных гонореей. М. Д. Мастбаум (1985) применял посевы на среду с полимиксином М и линкомицином сульфатом. Так, при параллельном посеве из прямой кишки у 111 женщин на безасцитную среду с антибиотиками положительный результат получен у всех больных, а на среде без антибиотиков – лишь у 17,12% больных.

Орофарингеальная гонорея в виде отдельных случаев была описана еще в XIX веке, но ее систематическое изучение началось с 1970 г. [Кривошеев Б. Н. и др., 1979; Jensen,

1973; Parlser, 1972; Warsaas et al., 1978; Klonsia, Tanowitz, 1979, и др.]. В последние годы, по данным ВОЗ (1980), инфекция полости рта и глотки встречается приблизительно у 7% больных гонореей гетеросексуальных мужчин, у 12,5% больных женщин и у 25% больных гомосексуалистов как следствие орогенитальных контактов. Pariser (1972) диагностировал от 4 до 40% фарингитов гонорейной этиологии у гомо- и гетеросексуалистов, основную массу больных составляли женщины. Г. С. Капцева (1979, 1981) в результате клинико-лабораторного обследования 200 женщин, больных гонореей урогенитального тракта, у 2,5% выделила гонококки со слизистой оболочки миндалин и глотки. По данным Willmatt (1974), в Дании гонококковые фарингиты диагностировались у 6,3–9% больных гонореей, в Норвегии – у 5–11%, в США – у 4,7–6%, причем у женщин гонорея этой локализации наблюдается чаще, чем у мужчин. Mayer-Rohn (1973) не наблюдал ни одного случая гонорейного тонзиллита и предполагает, что со слизистой оболочки миндалин у этих пациентов высевают псевдогонококки (морфологически и культурально не отличающиеся от гонококков), находимые у 50% здоровых людей. From и Velen (1974) сообщают, что в Великобритании для диагностики гонореи миндалин предложена аспирационная методика (стеклянная ложечка с присоединенным насосом), при обследовании 130 больных гонореей этим методом у 15 (12%) авторы обнаружили гонорею миндалин, у 2 больных поражение миндалин было единственным проявлением гонореи. Кроме того, выявлено 13 больных гонореей миндалин среди 311 больных гонореей, которых не обследовали аспирационной методикой. Г. С. Капцева (1981) рекомендует для выделения гонококков со слизистой оболочки миндалин и глотки посев на безасцитную питательную среду с антибиотиками: полимиксином М сульфатом (12,4 ЕД/мл), ристомицином сульфатом (6,2 ЕД/мл), оротовой кислотой (1 мкг/мл) – с последующим получением чистых культур гонококков и их идентификацией на желточной среде ферментации – ЦКВИ.

Клиническая картина: по данным Feimn, Nikitas (1980), фарингеальная гонорея протекает у 70-80% больных асимптомно, иногда в виде фарингита, обычно не имеющего специфических черт, иногда сопровождается значительной гипертрофией миндалин и увеличением лимфатических узлов.

Жалобы ограничиваются болью и першением в горле.

Гонорейный стоматит у новорожденных может развиться при инфицировании от больной матери во время прохождения по родовым путям. По данным И. Г. Луковского, вскоре после рождения ребенка, стоматит проявляется довольно сильным очаговым покраснением слизистой оболочки, в эпителиальном слое возникает желтоватое окрашивание. Затем появляются кровоточащие экскориации с гнойным отделяемым. Типичной локализацией считают мягкое небо, небный шов, боковые поверхности небного свода, спинку языка. Остается свободным ободок по периферии уздечки языка.

У взрослых гонорейный стоматит (после орально-генитальных контактов, но иногда и без таковых) проявляется резкой отечностью слизистой оболочки рта, гиперемией и болезненностью. Чаще поражается слизистая оболочка губ, десен, нижней поверхности языка и дна полости рта. Местами видны серые налеты, выделяющие зловонный экссудат; слизистая оболочка под ним эрозивна.

Гонорея глаз. У новорожденных гонококки попадают в глаза во время прохождения через родовые пути матери, больной гонореей. Описаны случаи внутриутробного заражения ребенка. Взрослые при несоблюдении правил гигиены инфицируются руками, загрязненными гонорейными выделениями.

Инкубационный период длится 3–4 дня. Появляются сильный отек век, светобоязнь, гноетечение. Конъюнктива резко гиперемирована, шероховата, легко кровоточит. Тяже-

лым осложнением является заболевание роговой оболочки, после ее распада образуется гнойная язва, иногда наблюдается прободение.

Лечение: антибиотикотерапия. Закапывание в глаза 30% раствора сульфацил-натрия (альбуцида) каждые 2 ч.

Профилактика: всем детям после рождения глаза протирают стерильной ватой и в каждый глаз закапывают свежеприготовленный 30% раствор сульфацил-натрия. Через 2 ч, сразу после того как ребенка переводят в детскую палату, в глаза опять закапывают свежий (однодневного приготовления) 30% раствор сульфацил-натрия.

Диссеминированная гонорейная инфекция

Термином «диссеминированная гонорейная инфекция» (ДГИ) обозначают поражения, обусловленные гематогенной диссеминацией гонококков из первичного урогенитального очага. Реже исходным очагом ДГИ являются гонорейный проктит или фарингит. ДГИ обычно развивается через 7-30 дней после инфицирования мочеполовых органов, причем, у женщин это осложнение чаще начинается вскоре после менструации или у беременных [Masi, Eisenstein 1981; Mills, Brokks, 1984]. Вопреки существовавшему ранее мнению, в настоящее время 70-80% случаев ДГИ регистрируется у женщин [Bayer, 1980; Delauche et al., 1981]. Частота ДГИ оценивается современными авторами от 0,5 до 3% всех случаев гонореи. Так, L'Hirondel и соавт. (1981) полагают, что частота ДГИ равна 1:300-1:1000; Wallin (1980) наблюдал ДГИ у 0,6% мужчин и 1,1% женщин, больных гонореей.

Частота ДГИ в разных странах может быть различной, что связано с фенотипическими особенностями циркулирующих на данной территории штаммов гонококка. Например, Mills, Brooks (1984) отмечают специфический тип протеина I наружной мембраны (WI серогруппа) у гонококков, выделенных от больных ДГИ, а Kohl и соавт. (1985) нашли у больных ДГИ антитела против этого протеина, хотя, обычно, он не обладает антигенными свойствами. О других причинах разной распространенности ДГИ упоминалось в главе «Общая патология».

ДГИ не однородна ни клинически, ни патогенетически. Можно различать метастатические поражения, возникшие в результате кратковременной бактериемии, при которой гонококки переносятся в отдаленные органы, не размножаясь в крови и не вызывая существенных общих нарушений и поражения, связанные с гонококковым сепсисом. Клинические проявления ДГИ Mills, Brooks (1984) делят на «частые (обычные)» (лихорадка, кожные поражения, теносиновит, полиартралгии, олигоартрит, гепатит, легкий миоперикардит), «необычные» (эндокардит, менингит, перигепатит) и «редкие» (пневмония, респираторный дистресс-синдром у взрослых, остеомиелит). Однако, наиболее частыми симптомами ДГИ являются лихорадка, теносиновиты, артриты и кожные сыпи.

Теносиновит встречается у 67% и более больных ДГИ [Masi, Eisenstein, 1981] и практически не бывает при других бактериальных инфекциях [Partein et al., 1968]. Правда, теносиновиты с несколько иной клинической характеристикой отмечаются, хотя и много реже, при болезни Рейтера. Гонорейный теносиновит поражает преимущественно сухожильные влагалища кистей и стоп. Он вызывает асимметричное припухание мягких тканей, покраснение покрывающей их кожи, болезненность при давлении и движениях [Thompson, 1981]. Асимметричный теносиновит и характерные высыпания на коже, нередко помогают клинической диагностике гонорейного артрита.

Гонорейный артрит является типичным бактериальным артритом, т.е. результатом непосредственного проникновения возбудителей в периартикулярные ткани и полость сустава. По клиническим симптомам он практически тождествен другим бактериальным (сеп-

тическим) артритам. В настоящее время, диагноз гонорейного артрита считается достоверно доказанным, лишь в случае обнаружения гонококков в суставной жидкости. Гонорейные артриты, возникающие при транзиторной бактериемии (когда посевы крови, как правило, остаются стерильными) и при септикопиемии, клинически протекают совершенно одинаково, хотя общее состояние больных при этом существенно различается. Полагают, что избирательное поражение суставов и сухожильных влагалищ при гонококкемии отражает склонность гонококков к серозным и синовиальным оболочкам. Rodnan и соавт. (1973) обосновывают эту гипотезу тем, что в доантибиотическую эру артриты осложняли пневмококковый и сальмонеллезный сепсис приблизительно в 1% случаев, а гонорейный – у 80% больных.

Гонорейное поражение сустава начинается с периартикулярных тканей, что выражается лишь в одной артралгии, а иногда и ограничивается ею. Однако, чаще развиваются преходящее, мигрирующее припухание и гиперемия периартикулярных тканей. Мигрирующую полиартралгию в дебюте заболевания, Вауег (1980) считает краеугольным камнем диагностики. Именно в это время, возникают высыпания на коже и часто удается выделить гонококки в посевах крови (бактериемическая стадия ДГИ). Через несколько дней патологический процесс локализуется в одном или немногих суставах. В этой стадии, стадии «септического сустава», гонококки из крови уже обычно не высеваются, но их относительно часто можно обнаружить в суставной жидкости. В 75-85% гонорейных поражений в процесс вовлекаются два сустава и более, причем, чаще крупные суставы нижних конечностей. Реже бывают гонорейные артриты лучезапястного, межфаланговых и других суставов.

В первые 2-5 дней заболевания выпот в пораженных суставах незначителен («сухой» артрит) и посевы суставной жидкости в это время оказываются отрицательными. Если гонококки в периартикулярных тканях погибают под влиянием иммунных сил организма или под воздействием терапии, то клиника гонорейного артрита может ограничиться преходящими полиартралгиями. В случае проникновения гонококков в суставную полость развивается серозно-гнойный или гнойный артрит – «септический» артрит.

Общее состояние больных гонорейным артритом в основном определяется наличием или отсутствием септикопиемии. Само по себе поражение сустава сопровождается умеренной или выраженной лихорадкой, но иногда может и не вызывать повышения температуры тела. Характерны боли в суставе, усиливающиеся при движении и признаки острого воспаления (горячая и гиперемированная кожа над суставом, припухлость). Гонорейное воспаление сустава, если не проводится лечение антибиотиками, довольно быстро, особенно у детей, приводит к деструкции суставных поверхностей с последующим анкилозом, периартикулярной флегмоной или остеомиелитом. Разрушение суставных поверхностей и деструкция суставного хряща рентгенологически выявляются уже в ранней стадии (через 1-2 недели после начала септического артрита). Правда, тяжелые осложнения гонорейного артрита обычно описывались до эры антибиотиков, а теперь имеются лишь отдельные сообщения о костных эрозиях при гонорейных артритах [Sharp et al., 1979; Masi, Eisenstein, 1981].

Лабораторная диагностика

В последнее время изменилось клиническое течение гонореи, как у мужчин, так и у женщин.

Заболевание нередко протекает торпидно, без выраженных клинических проявлений. Ввиду этого лабораторная диагностика гонореи приобрела особо важное значение. Без

хорошо поставленных лабораторных исследований успешная борьба с гонореей невозможна.

Основными методами лабораторной диагностики гонореи являются бактериоскопический и бактериологический. При типичной клинической картине заболевания, если бактериоскопическое исследование обнаруживает гонококк, в применении бактериологического метода нет необходимости. Лабораторный работник высокой квалификации лишь в редких случаях при бактериоскопическом исследовании может принять за гонококки другие микроорганизмы. При установлении излеченности и выявлении бактериоскопически атипичных гонококков, а также для подтверждения диагноза гонореи у детей необходима бактериологическая диагностика.

Материалом для бактериоскопического исследования обычно являются отделяемое слизистой оболочки уретры и прямой кишки у мужчин, выделения уретры, шейки матки, прямой кишки у женщин, влагалища и прямой кишки у девочек. Кроме того, исследованию подлежат все материалы, подозрительные на наличие гонококков. Материал для исследования должен брать лечащий врач, так как он, учитывая клинику заболевания у данного больного, может выбрать наиболее пригодный для исследований материал.

У мужчин отделяемое слизистой оболочки берут петлей из глубины уретры, предварительно очистив ее отверстие тампоном, смоченным изотоническим раствором хлорида натрия. При малом количестве выделений до взятия материала производят массаж уретры, в дистальном направлении. У женщин патологическое отделяемое из уретры, бартолиновых желез и парауретральных ходов берут ложкой Фолькмана или петлей, из шейки матки – влагалищным пинцетом или петлей при обязательном использовании влагалищных зеркал. Материал из прямой кишки получают либо путем промывания ее ампулы теплым изотоническим раствором хлорида натрия с помощью катетера с двойным током жидкости, либо соскабливая его со слизистой оболочки анального канала ложкой Фолькмана. Последнему методу дал положительную оценку М. Д. Мастбаум (1985), проводивший сравнительное изучение эффективности различных лабораторных методов при диагностике аноректальной гонореи. При обследовании на фарингеальную гонорею специально обработанным ватным тампоном берут материал из лакун миндалин и с задней стенки глотки выше нижнего края мягкого неба. К мазкам, направляемым в лабораторию, должен быть приложен сопроводительный бланк, в котором указывают фамилию и инициалы больного, предполагаемый диагноз или причину обследования и откуда взят материал.

Лечение гонореи и установление излеченности

До открытия антибиотиков и сульфаниламидов лечение гонореи с помощью местного применения антисептических препаратов было затяжным и часто малоуспешным. Наблюдались многочисленные случаи перехода болезни в хроническую форму, частые и тяжелые осложнения. Исход болезни зависел, прежде всего, от иммунной реактивности больного, способности его организма создать местный иммунитет и элиминировать возбудителей. Антибиотики, которые при общем применении могут быстро уничтожить гонококки сразу во всех очагах, произвели переворот в терапии гонореи. С помощью химиотерапии организм легко справляется с гонококками, фагоцитоз становится завершенным и возбудители гибнут. Таким образом, в настоящее время на первый план вышло этиотропное лечение. Чтобы оно было успешным, избранный препарат должен быть активен в отношении данного штамма гонококка, а применяемая доза должна обеспечить бактерицидный

эффект. Лечение надостаточными дозами и нерегулярный прием препарата при самолечении и неквалифицированном лечении ведут к селекции резистентных мутантов гонококка [Мавров И. И. и др., 1986; ВОЗ, Женева, 1980; Holmes et al., 1984].

Известны десятки химиотерапевтических препаратов противогонококкового действия, но «идеального» лечения, т.е. эффективного у всех больных обоего пола в единой стандартизованной дозе, доступного, недорогого и не дающего никаких осложнений, в том числе, и развития устойчивых возбудителей, пока нет (ВОЗ, Женева, 1980). Тем не менее, рекомендуемые антибиотики и сульфаниламиды обеспечивают излечение в большинстве случаев гонореи. Важно только соблюдать оптимальные дозы и интервалы во введении препаратов. После неудачного лечения каким-либо антибиотиком, не следует, давать его повторно даже в увеличенных дозах; нужно применить препарат другой группы, по возможности определив чувствительность данного штамма гонококка.

АНАЭРОБНЫЕ КОККИ

Анаэробные грамположительные кокки

Наибольшее значение в патологии человека имеют грамположительные анаэробные кокки родов *Peptococcus* (включающем единственный вид *P. niger*) и *Peptostreptococcus* (*P. asaccharolyticus, P.prevotii, P. anaerobius, P. micros*). Прочие анаэробные грамположительные кокки родов *Ruminococcus, Coprococcus, Gemella, Sarcina* большого клинического значения не имеют.

Морфология. В мазках, окрашенных по Граму, очень напоминают стафилококки. Род *Peptostreptococcus* образуют неподвижные кокки и коккобациллы диаметром 0,5–1,2 мкм. Клетки *Peptostreptococcus anaerobius* чаще выглядят как коккобациллы, образующие короткие цепочки, а *Peptostreptococcus tetradius* – тетрады. *Peptostreptococcus magnus* представлен крупными (более 0,7 мкм) клетками, располагающимися поодиночке или бесформенными массами; клетки *Peptostreptococcus micros* мелкие и образуют короткие цепочки. Типовые виды – *Peptococcus niger* и *Peptostreptococcus anaerobius*.

Культуральные свойства. Пептококки и пептострептококки – облигатные анаэробы, капнофилы, при росте образуют большое количество молочной кислоты. Хемоорганотрофы; для роста нуждаются в обогащенных питательных средах. На анаэробном кровяном агаре колонии пептококков и пептострептококков мелкие, выпуклые, блестящие, прозрачные или мутные, образуются через 48 ч анаэробного культивирования. Некоторые штаммы пептококков на анаэробном кровяном агаре формируют черные колонии. Температурный оптимум роста – 37 °С. Колонии *Peptostreptococcus anaerobius* несколько крупнее, мутные, имеют характерный сладковатый запах; чувствительны к анетолсульфонату натрия, что используется для их дифференциации с помощью дисков.

Биохимическая активность. Инертны по отношению к углеводам, энергию получают расщеплением пептона. Обычно каталазаотрицательны; индол не образуют, не восстанавливают нитраты. Некоторые виды пептострептококков выделяют индол и восстанавливают нитраты в нитриты.

Антигенная структура изучена недостаточно; антигенными свойствами обладают пептидогликан и тейхоевые кислоты клеточной стенки.

Факторы патогенности изучены недостаточно; возможно, патогенность обусловлена наличием капсулы, продукцией гиалуронидазы и коллагеназы.

Экологическая ниша. Пептококки и пептострептококки колонизируют слизистую полости рта, верхних дыхательных путей, влагалища и толстой кишки.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антибиотикам. Пептококки и пептострептококки чувствительны к пенициллину; более 70% изолятов пептострептококков чувствительны к метронидазолу. Препараты выбора – клиндамицин, левомицетин и имипенем.

Чувствительность к антисептикам и дезинфектантам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Анаэробные грамотрицательные кокки

Наибольшее значение в патологии человека имеют грамотрицательные анаэробные кокки рода *Veillonella*.

Вейлонеллы (род Veillonella)

Морфология. Неподвижные грамотрицательные кокки диаметром 0,3–0,5 мкм. В мазках располагаются парами, беспорядочными скоплениями или короткими цепочками. Типовой вид – *Veillonella parvula*.

Культуральные свойства. Оптимальная температура роста 30–37 °С, оптимум pH 6,5–8,0. На молочном агаре образуют звездчатые блестящие колонии диаметром 1–3 мкм.

Биохимическая активность. Каталазаотрицательны, но некоторые виды продуцируют порфирины с каталазной активностью. Метаболизм – ферментативного типа, расщепляют пируват, лактат, малат, фумарат, оксалоацетат. Не гидролизуют желатину, не сворачивают молоко, не образуют индол, восстанавливают нитраты в нитриты. При ферментации лактата образуют ацетат, пропионат, CO_2 и H_2.

Антигенная структура изучена недостаточно; антигенными свойствами обладает ЛПС клеточной стенки.

Факторы патогенности изучены недостаточно; возможно, патогенность обусловлена наличием эндотоксина.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистую полости рта, верхних дыхательных путей и кишечника.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антибиотикам. Чувствительны к метронидазолу и клиндамицину.

Чувствительность к антисептикам и дезинфектантам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Инфекции, вызываемые анаэробными кокками, носят эндогенный характер. Как правило, они не способны вызывать моноинфекции; часто их выделяют в составе ассоциатов при различных гнойно-воспалительных оппортунистических инфекциях.

Лабораторная диагностика включает микроскопию клинического материала (гнойное отделяемое, кровь, аспираты суставных жидкостей и костей) и выделение возбудителя с использованием анаэробной бактериологической техники. Для экспресс-диагностики используют ГЖХ.

17.2. Палочки грамотрицательные факультативно-анаэробные

Энтеробактерии (семейство Enterobacteriaceae)

Общая характеристика. Семейство *Enterobacteriaceae* является самым многочисленным семейством патогенных и условно-патогенных бактерий. Объединяет более 20 родов. Семейство обладает большой степенью гетерогенности. Процент ГЦ-пар в ДНК, определяющих степень гетерогенности, варьирует от 38–42% (роды *Proteus, Providencia*) до 52–60% (роды *Klebsiella, Enterobacter*). Центральное положение занимает род *Escherichia* (50–52% ГЦ-пар), который является типовым родом семейства. Близкородственное к нему положение занимают роды *Shigella* (50–52% ГЦ-пар) и *Salmonella* (50–53% ГЦ-пар).

Эшерихии (род Escherichia)

Морфология и физиология. Семейство энтеробактерий представлено грамотрицательными палочками, размером 1н-5х0,4-н0,8 мкм. Могут быть подвижными за счет перитрихиальных жгутиков. Некоторые образуют капсулу. Спор не образуют. Растут на простых питательных средах, большинство хорошо культивируется при 37 °С, некоторые (род *Yersinia*) наибольшей метаболической активностью обладают при 25–30 °С. Факультативные анаэробы. Обладают дыхательным и бродильным метаболизмами. Оксидазаотрицательны. Каталазаположительны. Способны восстанавливать нитраты за счет наличия нитратредуктазы.

Таблица 17. 5.

Дифференциация по биохимическим свойствам родов *Escherichia, Shigella, Salmonella* семейства *Enterobacteriaceae*

	Escherichia	Shigella	Salmonella
Реакция Фогеса – Проскауэра	–	–	–
Образование:			
Индола	+	±	–
H_2S	–	–	+
Утилизация:			
Цитрата	–	–	+
Малоната	–	–	–
Гидролиз мочевины	–	–	–
Продукция:			
Лизиндекарбоксилазы	+	–	+
Орнитиндекарбоксилазы	–	–	+
Газообразование при расщеплении глюкозы	+	–	+
Образование кислоты при ферментации:			
Лактозы	+	–	–
Маннита	+	±	+
Сахарозы	±	–	–

Энтеробактериям присущи два типа ферментации глюкозы муравьино-кислым брожением. При смешанном типе, выявляемом реакцией с метил красным, образуется боль-

шое количество кислот, в некоторых случаях – газ. При бутандиоловом типе основными продуктами являются 2,3-бутандиол и этанол, выявляемые реакцией Фогеса–Проскауэра.

Энтеробактерии обладают широким спектром биохимической активности, который служит основой подразделения внутри семейства на роды, а внутри некоторых родов – на виды. Ключевыми тестами при идентификации энтеробактерий являются тесты на определение продуктов ферментации глюкозы (газообразование, реакции с метил красным и Фогеса–Проскауэра), способности продуцировать сероводород, индол, утилизировать цитрат на агаре Симмонса, расщеплять мочевину, продуцировать ферменты, превращающие аминокислоты: декарбоксилазы лизина и орнитина, дезаминазу фенилаланина; а также способность использовать различные моно-, олиго- и полисахариды и спирты в качестве энергетического материала. Биохимическая характеристика некоторых представителей семейства *Enterobacteriaceae* представлена в табл. 17. 5.

Распространение в природе. Патогенность. Энтеробактерии разнообразны по экологии и кругу хозяев. Они распространены повсеместно: в почве, воде, в составе микрофлоры различных животных, человека. Могут вызывать заболевания у человека, животных, птиц, насекомых, растений.

Представители родов *Escherichia, Shigella, Salmonella* вызывают у человека ОКИ, энтеро-патогенные иерсинии, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* – псевдотубкулез и кишечный иерсиниоз соответственно, а *Y. pestis* – чуму. Представители родов *Klebsiella, Proteus, Providencia, Serretia* являются возбудителями внутрибольничных (нозокамиальных) инфекций, а некоторые из них вызывают пищевые токсикоинфекции, заболевания органов респираторного и мочевыделительного трактов.

Таблица 17. 6.

Механизмы взаимодействия возбудителей ОКИ с поверхностным кишечным эпителием

Тип взаимодействия	Возбудитель	Механизм патогенного действия
1-й тип	ЭТКП	Размножение на поверхности эпителия без повреждения эпителия тонкой кишки
2-й тип	ЭПКП ЭГКП	Размножение на поверхности эпителия тонкой и толстой кишок с разрушением микроворсинок, повреждением ацикальной поверхности эпителия
3-й тип	ЭИКП Род Shigella	Внедрение и размножение в эпителиальных клетках слизистой толстой кишки, цитотоксическое повреждение и гибель эпителиоцитов
4-й тип	Род Salmonella, Род Yersinia	Трансцитоз эпителия тонкой кишки через М-клетки с инфицированием пейеровых бляшек, с последующим размножением в макрофагах

Факторы патогенности разнообразны и в различных комбинациях присутствуют в определенных видах. Все энтеробактерии содержат эндотоксин, который освобождается после разрушения микробных клеток. Некоторые представители семейства продуцируют белковые токсины, обладающие цитотоксическим и энтеротоксическим эффектами, могут выделять гемолизины. Антифагоцитарная активность обеспечивается факторами, присущими определенным видам. К ним относятся капсула, ферменты супероксиддисмутаза и аденилатциклаза, поверхностные белки и специфические антигены. Начальные этапы ин-

фекции опосредуются структурами, обеспечивающими взаимодействие с поверхностным эпителием. К ним относятся поверхностные структуры 3-го типа: фимбрии 3-го типа, фибриллярные белки, белки наружной мембраны, О-антиген. Установлено 4 типа механизмов взаимодействия возбудителей ОКИ с поверхностным эпителием кишечника (табл. 17. 10).

Антигенная структура энтеробактерии представлена соматическим О-антигеном. Могут также встречаться жгутиковый Н-антиген и поверхностный (капсульный) К-антиген. Антигенной активностью обладают также фимбрии 3-го типа. Представители некоторых родов, в частности, рода *Yersinia,* имеют дополнительные видоспецифические антигены.

Основу микробиологической диагностики инфекционных процессов, вызванных представителями семейства *Enterobacteriaceae,* составляет бактериологический метод исследования. Используются также серологический метод и ПЦР.

Эшерихии (род Escherichia)

Род *Escherichia* включает несколько видов, из которых в патологии человека и животных имеет значение только вид *E. coli,* впервые описанный в 1885 г. Т. Эшерихом.

Морфология. *E. coli* представлены прямыми грамотрицательными палочками, размером 0,4-*-0,6х2,0+6,0 мкм, подвижные за счет пе-ритрихиально расположенных жгутиков. Для некоторых характерно наличие микрокапсулы, построенной из гомополимера сиаловой кислоты; такие штаммы обозначаются как **К⁺.**

Культуральные свойства. На плотных средах образуют колонии в S- и R-формах. Колонии в S-форме гладкие, блестящие, полупрозрачные. На жидких средах образуют диффузное помутнение и придонный осадок.

Биохимические свойства. Обладает выраженной биохимической активностью (см. табл. 17. 5). Биохимические свойства, составляющие основу дифференциальной диагностики при проведении бактериологического исследования, следующие:

– продукция кислоты и газа при ферментации глюкозы,

– ферментация лактозы,

– неспособность образовывать сероводород,

– продукция индола.

Антигенная структура. *E. coli* обладает сложной антигенной структурой:

а) имеет соматический О-антиген, определяющий серогруппу. Известно около 171 разновидностей О-антигена;

б) поверхностный К-антиген может быть представлен 3 антигенами: А, В и L, отличающимися по чувствительности к температуре и химическим веществам. У эшерихий встречается более 97 разновидностей К-антигена, преимущественно В типа. К-антиген обладает способностью маскировать О-антиген, вызывая феномен О-инагглютинабельности. В этом случае, О-антиген можно выявить только после разрушения К-антигена кипячением;

в) типоспецифическим антигеном является Н-антиген, определяющий серовар, которых насчитывается более 57.

Антигенная структура обозначается формулами серогруппы как О.К, серовара – 0:К:Н, например: 012:В6:Н2.

Резистентность. В течение нескольких месяцев сохраняется в воде и почве. Погибает при нагревании до 55 °С в течении 60 мин, при 60 °С – в течении 15 мин. Эшерихии в окружающей среде способны переходить в некультивируемую форму.

Экология, особенности распространения и патогенеза. Вид *E. coli* не является однородным, а подразделяется на подвиды. Различают условно-патогенные эшерихии и диареегенные.

Условно-патогенные эшерихии входят у человека в состав микрофлоры кишечника и влагалища. *E. coli* также составляют микрофлору кишечника млекопитающих, птиц, рептилий, рыб. С испражнениями микроб выделяется в окружающую среду. Присутствие кишечной палочки в воде, почве, продуктах, предметах обихода является показателем фекального загрязнения.

Условно-патогенные *E. coli* способны вызывать эндогенные гнойно-воспалительные *процессы* различной локализации, называемые парентеральными эшерихиозами. Парентеральный эшерихиоз может протекать в виде сепсиса, нагноения ран, вторичной пневмонии, инфекции мочевыводящих путей. Часто возникает на фоне иммунодефицита.

Штаммы *E. coli,* вовлеченные в инфекционный процесс нижних отделов мочевыводящих путей, обладают специфическим О-антигеном, позволяющим им адгезироваться на поверхности эпителия мочевого пузыря. Те штаммы *E. coli,* которые вызывают инфекцию верхних отделов мочевыводящих путей (пиелонефрит), имеют особые Р-фимбрии, обладающие антигенными свойствами. Эти Р-фимбрии позволяют микробу адгезироваться на эпителии собирательных канальцев. *E. coli,* вызывающие инфекцию мочевыводящих путей, чаще относятся к серогруппам 02, Об, 09. Некоторые из них обладают гемолитической активностью за счет наличия Hly-плазмиды.

Подавляющее число (около 80%) менингитов новорожденных вызваны *E. coli,* которой новорожденный заражается через родовые пути. *E. coli,* вызывающая неонатальный менингит, часто обладает микрокапсулой, состоящей из гомополимера сиаловой кислоты. Наличие микрокапсулы придает возбудителю антифагоцитарные свойства, так как микроб перестает опсонизироваться из-за потери способности активировать комплемент.

Из условно-патогенных *E. coli* могут формироваться полирезистентные к антибиотикам штаммы за счет приобретения R-плазмид, которые становятся возбудителями ВБИ.

Патогенные *E. coli,* которые являются возбудителями кишечного эшерихиоза, ОКИ получили название диареегенных.

Диареегенные E. coli являются однородной группой. Они подразделяются на 4 основные категории, исходя из наличия у них определенных факторов патогенности, их генетической детерминации, особенностей эпидемиологии, патогенеза и клинических проявлений вызываемого ими заболевания. В пределах каждой категории имеется определенный состав О-серогрупп или О:Н-сероваров. Именно по составу О-серогрупп и проводится первичная дифференциация диареегенных *E. coli* условно-патогенных.

Четыре основных категории *E. coli* составляют: энтеротоксигенные кишечные палочки (ЭТКП), энтероинвазивные кишечные палочки (ЭИКП), энтеропатогенные кишечные палочки (ЭПКП), энтерогеморрагические кишечные палочки (ЭГКП).

Кроме них, имеется еще 5 (пока недостаточно изученная) категория энтероагрегативных кишечных палочек.

ЭТКП являются возбудителями холероподобных заболеваний у детей и взрослых.

Патогенность определяется выработкой термолабильного (LT), структурно и функционально связанного с холерным токсином, и термостабильного (ST) энтеротоксинов, детерминированных Ent-плазмидой, и факторами колонизации CF (colonization factor, англ.), синтез которых также детерминируется плазмидами. Благодаря CF, ЭТКП размножаются на поверхности эпителия тонкой кишки (см. табл. 17.6). Колонизация ЭТКП поверхности слизистой тонкого кишечника обеспечивает массивный выброс энтеротоксинов, которые нарушают водно-солевой обмен в кишечнике, приводя к развитию водянистой диареи. Механизм развития диарейного синдрома связан с активацией LT аденилатциклазы кишечника, а ST – гуанилатциклазы. С ЭТКП связано 17 серогрупп, среди них серовары Об:Н16, 08:Н9, 078:Н11, 0148:Н28. Заражение ЭТКП происходит водным и алиментарным путями.

ЭИКП способны внедряться и размножаться в эпителиальных клетках слизистой стенки толстого кишечника, вызывая их деструкцию. Это обусловлено наличием у ЭИКП плазмиды размером 140 мДа, идентичной таковой у шигелл, кодирующей синтез поверхностных белков, опосредующих процесс инвазии в клетки слизистой толстого кишечника. Следствием этого является развитие дизентериеподобного заболевания. Заражение ЭИКП происходит водным и алиментарным путями, возможны вспышки ВБИ, вызванных ЭИКП. С ЭИКП связаны серогруппы 0124, 0144, 0152 (более 9 серогрупп).

ЭПКП вызывают диарею у детей первого года жизни. Заболевание передается в основном контактно-бытовым путем, часто протекает как ВБИ в отделениях для новорожденных и грудных детей, находящихся на искусственном вскармливании. ЭПКП обладают способностью размножаться на поверхности эпителия тонкого кишечника с разрушением микроворсинок и повреждением апикальной поверхности эпителия (см. табл. 17.6). Процесс обеспечивается белком наружной мембраны, детерминированным хромосомным геном, который получил название ИНТИМИНА и белком, синтез которого детерминирован плазмидой размером 60 мДа. С ЭПКП связаны серогруппы 055, ОП1, 026, 018 (всего 13), некоторые серовары которых, например, О55:Н10, 0111:Н2, 026:НNМ, продуцируют шигаподобные токсины.

ЭГКП способны вызывать у людей кровавый понос (геморрагический колит) с последующим осложнением в виде гемолитического уремического синдрома, тромботической тромбоцитопе-нической пурпуры. Наибольшее эпидемическое значение имеет ЭГКП серовара 0157:Н7 и 0157:НNМ. Источником инфекции являются крупный рогатый скот и овцы. Основной путь передачи – алиментарный – через мясо, прошедшее недостаточную термическую обработку. Поражаются слепая, восходящая и поперечная толстые кишки. Механизм взаимодействия ЭГКП с поверхностным эпителием кишки происходит так же, как и у ЭПКП, по 2-му типу (см. табл. 17.6). В этом взаимодействии участвует белок наружной мембраны интимин, синтез которого детерминирован хромосомным геном, и, возможно, фимбрии, детерминированные плазмидой размером 60 мДа, которую называют плазмида 0157. Плазмида 0157 детерминирует также синтез гемолизина, который способствует нарушению барьерной функции кишечника. Развитие геморрагического колита связано со способностью ЭГКП продуцировать шигаподобные токсины, синтез которых обеспечивается конвертирующими фагами. У ЭГКП встречается 2 типа шигаподобных токсина. Серовар ЭГКП 0157 может продуцировать как один тип шигаподобного токсина, так и оба сразу. Серовар ЭГКП 0157: Н7 не обладает способностью утилизировать сорбит, что используется при проведении бактериологического исследования.

Иммунитет. Парентеральные эшерихиозы чаще возникают на фоне иммунодефицитных состояний. Надежный иммунитет к ним не вырабатывается.

При кишечных эшерихиозах наблюдается выработка местного иммунитета, опосредованного секреторным IgA. После кишечного эшерихиоза, вызванного ЭТКП, происходит выработка антител к субъединице В LT, им-мунологически родственной субъединице В холерного токсина.

У детей первого года жизни пассивный трансплацентарный иммунитет к ЭИКП обеспечивается проходящими через плаценту IgG. Естественный иммунитет детей первого года жизни обеспечивается колонизацией кишечника к 5-му дню жизни бифидобактериями и антителами, находящимися в материнском молоке.

Специфическая профилактика. Не разработана.

Неспецифическая профилактика. Сводится к соблюдению санитарно-гигиенических правил, санитарному контролю за источниками водоснабжения, пищевыми предприятиями, продуктами питания.

Микробиологическая диагностика. Осуществляется проведением бактериологического исследования. Материалом для исследования при кишечных эшерихиозах служат испражнения, при парентеральных – материал из соответствующего инфекционного очага (моча, отделяемое раны, кровь). Исследуемый материал (кроме крови) засевается на дифференциальные лактозосодержащие среды; после инкубации при 37 °С в течении 18 ч отбираются колонии, агглютинирующиеся поливалентной ОВ-агглотинирующей сывороткой, которые подвергаются идентификации до вида по биохимическим тестам, с последующим определением их серологического варианта.

Клебсиеллы (род Klebsiella)

Получили название в честь Э. Клебса, который впервые описал микроб в 1875 г. Род *Klebsiella* включает в себя 4 вида: *K. pneumoniae, K. oxytoca, K. planticola, K. terrigena,* которые различаются по биохимическим свойствам. В патологии человека наибольшее значение имеют виды К. oxytoca и *K. pneumoniae,* состоящий из 3 подвидов: *K. subsp. pneumonia, K. subsp. ozaenae, K. subsp. rhinoscleromatis,* которые дифференцируют по биохимическим свойствам.

Морфология. Клебсиеллы – не образующие спор неподвижные палочки, размером 0,3-й ,5х0,6+6,0 мкм, располагающиеся единично, парами или короткой цепочкой. Обычно они локализованы в капсуле, которая является характерным морфологическим признаком.

Культуральные свойства. Клебсиеллы хорошо растут на простых питательных средах. На поверхности плотных питательных сред образуют куполообразные крупные слизистые колонии. В жидких средах вызывают интенсивное помутнение.

Физиология. Клебсиеллы обладают выраженной биохимической активностью. Дифференциация между видами внутри рода и подвидами внутри вида *K. pneumoniae* осуществляется по биохимическим свойствам (табл. 17.7).

Антигенная структуралебсиеллы имеют соматические О-антигены (более 10 серогрупп) и более 80 вариантов капсульных К-антигенов. Некоторые варианты К-антигена клебсиелл родственны термостабильному А-варианту К-антигена *E. coli.*

Факторы патогенности. К факторам патогенности относятся: капсула полисахаридной природы, обладающая антифагоцитарной активностью; маннозорезистентные фимбрии 3-го типа; термостабильный и термолабильный энтеротоксины, а также встречающиеся у некоторых вирулентных штаммов ферменты патогенности: ДНКаза, нейраминидаза, фосфатаза.

Экология и распространение. *K. pneumoniae* входит в состав факультативной микрофлоры кишечника, верхних дыхательных путей, влагалища; также обнаруживается на коже и слизистых оболочках. Клебсиеллы устойчивы к факторам окружающей среды, благодаря наличию капсулы и могут в течение длительного времени сохраняться в почве, воде, помещениях. Клебсиеллы погибают при температуре 65 °С через 60 мин, в растворах обычных дезинфицирующих веществ.

Патогенез и заболевание у человека. *K. pneumoniae* подвид *pneumoniae* является возбудителем неспецифических инфекций дыхательных путей (бронхитов, пневмоний), органов мочевыводящей системы, пищевой токсикоинфекции.

Этот микроб может также вызывать гнойные послеродовые осложнения, неонатальную инфекцию, которая проявляется в виде пневмоний у новорожденных, кишечной инфекции и токсико-септических состояний, заканчивающихся летальным исходом. *K. subsp. pneumonia,* обладающая фактором множественной лекарственной устойчивости, в насто-

ящее время занимает ведущее место среди возбудителей ВБИ, которые протекают с поражением дыхательных и мочевыводящих путей.

Возбудитель подвида *ozaenae* вызывает поражение слизистой оболочки носа и придаточных пазух, сопровождающееся выделением зловонного секрета.

Klebsiella subsp. rhinoscleromatis вызывает риносклерому, при которой поражается слизистая оболочка верхних дыхательных путей, с образованием гранулем, в которых микроб находится как вне-, так и внутриклеточно. Болезнь может протекать хронически и заканчиваться склеротическими изменениями на месте гранулем.

K. oxytoca вызывает ВБИ в урологической клинике.

Таблица 17.7

Биохимическая дифференциация бактерий рода Klebsiella

Показатель	K. oxytoca	K. pneumoniae		
		ozaenae	pneumoniae	rhinoscleromatis
Индолообразование	+	–	–	–
Реакция метил-рот	±	+	–	–
Реакция Фогеса–Проскауэра	+	–	+	–
Утилизация цитрата	+	±	+	–
Утилизация малоната	+	±	+	–
Расщепление мочевины	+	±	+	–
Лизиндекарбоксилаза	+	±	+	–
Ферментация лактозы	+	±	+	–

Иммунитет. Гуморальный иммунный ответ защитной активностью не обладает. В защите от инфекции главная роль принадлежит фагоцитозу, опсонизированному специфическими антителами клебсиелл. При хронических формах клебсиеллезов, при которых микроб расположен внутриклеточно, развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. Применяется бактериологический метод исследования, который предусматривает выделение чистой культуры возбудителя из мокроты, мочи, испражнений, крови, гноя, в зависимости от локализации процесса, путем посева исследуемого материала на лактозосодержащие дифференциальные питательные среды с последующим выделением чистой культуры возбудителя и его идентификации до вида и подвида. Серодиагностика проводится путем постановки РСК с О-антигеном.

Профилактика и лечение. Средств специфической профилактики не существует. Для лечения используют клебсиеллезный бактериофаг и антибиотики, чему предшествует определение антибиотикограммы.

Шигеллы (род *Shigella*)

Род получил название по имени японского ученого К. Шига, который в 1898 г. детально изучил микроб, известный в настоящее время под названием *S. dysenteriae* 1 серовара.

Род *Shigella* включает 4 вида, которые различаются по биохимическим свойствам и антигенной структуре:

S. dysenteriae – 12 сероваров,

S.flexneri – 9 сероваров,

S. boydii – 18 сероваров,

S. sonnei – 1 серовар.

Морфология. Шигеллы представлены неподвижными палочками, размером 0,5+0,7х2+3 мкм. Спор и капсул не образуют.

Культуральные свойства. Хорошо культивируются на простых питательных средах. На плотных средах образуют мелкие гладкие, блестящие, полупрозрачные колонии; на жидких – диффузное помутнение. Жидкой средой обогащения является селенитовый бульон. У *S. sonnei* отмечена при росте на плотных средах S R-диссоциация.

Физиология. Обладают слабой биохимической активностью по сравнению с представителями родов *Escherichia* и *Salmonella.*

Основные биохимические признаки, необходимые для идентификации при выделении чистой культуры:

– отсутствие газообразования при ферментации глюкозы,

– отсутствие продукции сероводорода,

– отсутствие ферментации лактозы в течение 48 ч.

S. sonnei способен ферментировать лактозу медленно, в течение 72 ч. Является наиболее биохимически активным видом; по биохимической активности подразделяется на хемовары.

Резистентность. *В* зависимости от температуры, влажности, pH и вида возбудителей выживаемость шигелл во внешней среде, на предметах обихода колеблется от нескольких дней до нескольких месяцев. Наиболее неустойчив во внешней среде вид *S. dysenteriae.* Шигеллы хорошо переносят высушивание, низкие температуры, но быстро погибают под воздействием прямых солнечных лучей и нагревании (при 60 °С – через 30 мин; при 100 °С – мгновенно). Благоприятный средой для шигелл являются пищевые продукты. *S. sonnei* в молоке и молочных продуктах способны не только длительно переживать, но и размножаться. Дезинфицирующие средства (гипохлориты, хлорамин, лизол и др.) в обычных концентрациях убивают шигеллы. У некоторых видов, в частности, у *S. dysenteriae,* отмечен переход в некультивируемую форму.

Антигенная структура. Все шигеллы обладают соматическим О-антигеном, в зависимости от строения которого происходит их подразделение на серовары, а *S. flexneri* внутри сероваров подразделяется на подсеровары. *S. sonnei* обладает антигеном 1-й фазы, который является К-антигеном.

Факторы патогенности. Все виды шигелл обладают способностью вызывать инвазию с последующим межклеточным распространением и размножением в эпителии слизистой толстого кишечника. Эта способность связана с функционированием крупной плазмиды инвазии, которая имеется у всех 4 видов шигелл. У *S. sonnei* эта плазмида имеет молекулярную массу 120 мДа и в отличие от аналогичных плазмид других видов, детерминирует добавочно синтез антигена 1-й фазы. У остальных трех видов плазмида инвазии имеет молекулярную массу 140 мДа.

Плазмида инвазии детерминирует синтез ipa BCD-инвазинов (invasion plasmide antigen, англ.), белков, входящих в состав наружной мембраны, которые обеспечивают процесс инвазии слизистой, ipa BCD-инвазины чувствительны к трипсину, поэтому патологический процесс ограничивается толстым кишечником.

Помимо ipa BCD-инвазинов, в патогенезе играют роль белки внутриклеточного распространения, которые вызывают лизис мембран эукариотических клеток, обеспечивая внутриклеточное и межклеточное распространение шигелл.

Плазмидные гены начинают экспрессироваться при 37 °С и в условиях осмотического давления в кишечнике.

Шигеллы продуцируют шига и шигаподобные белковые токсины. Шига-токсин продуцируется *S. dysenteriae* 1 серовара, остальные шигеллы продуцируют шигаподобные токсины. Это белковые токсины, состоящие из 1 энзиматической субъединицы А и 5 рецепторных субъединиц В, имеющих сродство к рецептору Gb3 (globotriaosylceramide), который локализуется на мембране эндотелия капилляров. Субъединица А, проникнув в клетку, взаимодействует с 60S-субъединицей рибосом, необратимо блокируя синтез белка. Эти токсины не имеют гомологии с холерным токсином и LT-токсином ЭТКП. Шига и шигаподобные токсины накапливаются после гибели шигелл. У шигелл, отличных от *S. dysenteriae* 1 серовара, количество шигаподобных токсинов вырабатывается в 1000 раз меньше, поэтому ареал действия токсина ограничивается стенкой кишечника. У *S. dysenteriae* 1 серовара токсин попадает в кровь и наряду с эндотелием подслизистой поражает также гломерулы почки, вследствие чего, помимо кровавого поноса, развивается гемолитический уремический синдром с развитием почечной недостаточности.

Эндотоксин защищает шигеллы от действия низких значений pH и желчи.

Эпидемиология и патогенез

Шигеллы являются антропонозными инфекциями с фекально-оральным путем передачи, имеют контактно-бытовой путь передачи: *S. flexneri* – водный, а *S. sonnei* – алиментарный. Естественная восприимчивость людей высокая, поэтому шигеллезы распространены среди более чем 200 млн. человек. Чаще болеют дети, жители городов, характерна летне-осенняя сезонность.

Патогенез и клиника заболевания

Шигеллезы – это инфекционные заболевания, характеризующиеся поражением толстого кишечника, с развитием колита и интоксикацией организма.

Заболевание характеризуется сложными начальными этапами патогенеза. Шигеллы взаимодействуют с эпителием слизистой толстой кишки по 3-му типу (см. табл. 17.6). Прикрепляясь ipa-инвазинами к М-клеткам, которые покрывают регионарные лимфатические образования подслизистой кишечника, шигеллы пенетрируют через М-клетки в подслизистую, где поглощаются макрофагами. Взаимодействие шигелл с макрофагами приводит к их гибели, следствием чего, является выделение ИЛ-1, который инициирует воспаление в подслизистой. Апоптоз фагоцитов позволяет шигеллам сохраниться и проникнуть в эпителиальные клетки слизистой через базальную мембрану. Внутри энтероцитов происходит размножение шигелл и их межклеточное распространение, следствием чего, является развитие эрозий. При гибели шигелл происходит выделение шига и шигаподобных токсинов, действие которых приводит к появлению крови в испражнениях. Патологический процесс ограничивается кишечником. Бактериемии при шигеллезах не наблюдается. Наиболее тяжело протекает шигеллез, вызванный *S. dysenteriae* 1 серовара. *S. sonnei* вызывает развитие заболевания в легкой форме, часто в виде бактерионосительства. Осложнением шигеллезов может быть развитие кишечного дисбактериоза. Летальность при шигеллезах достигает 0,3%.

Иммунитет. В защите от инфекции основная роль принадлежит секреторным IgA, предотвращающим адгезию и цитотоксической антителозависимой активности интраэпителиальных лимфоцитов, которые вместе с секреторными IgA уничтожают шигеллы.

Микробиологическая диагностика. Основным методом диагностики является *бактериологический,* материалом для исследования служат испражнения. Для посева отбираются гнойно-слизисто-кровяные образования из средней порции кала, которые при диагностике заболевания непосредственно высеваются на лактозосодержащие дифференциальные питательные плотные среды. В случае выявления бактерионосителей, посев испражнений обязательно проводится в селенитовый бульон с последующим выделением возбудителя на плотных лактозосодержащих дифференциальных питательных средах. Среди выросших на этих средах отбирают лактозонегативные колонии, которые идентифицируют до вида и серовара, а выделенные культуры *S. flexneri* – до подсероваров, *S. sonnei* – до хемоваров. В качестве вспомогательного используют *серологический* метод с постановкой РН ГА.

Профилактика и лечение. Для лечения по эпидемиологическим показаниям используют бактериофаг орального применения, антибиотики после определения антибиотикограммы; в случае возникновения дисбактериоза – препараты пробиотиков для коррекции микрофлоры. Неспецифическая профилактика сводится к соблюдению санитарно-гигиенических правил приготовления, хранения и реализации пищевых продуктов, при водоснабжении, соблюдению правил личной гигиены и других мероприятий аналогичных таковым при кишечном эшерихиозе.

Многочисленная практика разработки и применения вакцинопрофилактики свидетельствует о неэффективности метода специфической профилактики шигеллезов.

Сальмонеллы (род Salmonella)

Род получил название в честь Д. Сальмона, который в 1885 г описал микроб, выделенный из свиньи и известный в настоящее время под названием S. Choleraesuis.

Морфологические и культуральные свойства. Подвижные грамотрицательные палочки, размером 0,7x1,5x2–5 мкм. Капсулу не образуют. Хорошо растут на простых питательных и желчесодержащих средах. На плотных средах могут образовывать колонии в R- и S-формах, на жидких – диффузное помутнение. Колонии в S-форме средних размеров (некоторые се-ровары, например, S. Abortus ovis, формируют мелкие колонии), гладкие, блестящие, полупрозрачные, с голубоватым оттенком. Серовар S. Schottmuelleri (S. Paratyphi B) при росте на плотных средах образует слизистые валики. Жидкими средами обогащения при посеве крови является желчный бульон, при посеве содержащих дополнительную флору материалов (фекалий, желчи, мочи) – селенитовый бульон. На лактозосодержащих дифференциальных средах образуют бесцветные колонии, на висмут-сульфитном агаре – колонии черного цвета.

Физиология. Обладают выраженной биохимической активностью. По биохимическим свойствам род однороден. Основные биохимические свойства, необходимые для идентификации:

– ферментация глюкозы до кислоты и газа (за исключением S. Typhi),

– отсутствие ферментации лактозы,

– продукция сероводорода,

– отсутствие индолообразования. Антигенная структура и классификация.

Сальмонеллы обладают соматическим О-антигеном, жгутиковым Н-антигеном. Некоторые сальмонеллы обладают К-антигеном.

В связи с тем, что по основным биохимическим свойствам представители рода *Salmonella* однотипны, дифференциация внутри рода проводится по антигенной структуре.

Имеется несколько классификаций сальмонелл. Наиболее старой является классификация по Кауфману–Уайту. В основе этой классификации лежит подразделение сальмонелл на серогруппы по общности строения О-антигена, а внутри серогруппы – на серовары, в соответствии с различиями в строении Н-антигена.

О-антиген состоит из R-ядра и боковой S-цепи. К S-цепи присоединяются сахара, которые называют рецепторами и обозначают цифрами. Критерием для объединения в серогруппу является общность конечного сахара, который по химической природе является 3,6-дидезоксигексозой.

Н-антиген является двухфазным. Это связано с тем, что его синтез кодируется двумя независимыми генами, работа одного из которых исключает работу другого. Поэтому в каждой клетке может быть синтезирован только один белок (фаза). Первая фаза обозначается буквами, она считается специфической, вторая фаза – цифрами, ее принято считать неспецифической.

В таблице Кауфмана–Уайта (табл. 17.8) внутри серогруппы серовары расположены в алфавитном порядке. В прежних классификациях каждый серовар соответствовал виду, которых насчитывалось более 2500.

Согласно последней классификации, род *Salmonella* состоит из двух видов – вида *S. enterica,* в который включены все сальмонеллы, являющиеся возбудителями человека и теплокровных животных и вида *S. bongori,* который подразделяется на 10 сероваров и включает в себя сальмонеллы, изолированные от холоднокровных животных.

Вид *S. enterica* разделен на 6 подвидов, которые в свою очередь, подразделены на серовары. Все серовары подвида *enterica* имеют названия, которые соответствуют прежним видовым названиям. Например: *S. typhi* – S. Typhi.

Некоторые серовары сальмонелл, в частности, S. Typhi, имеют полисахаридный Vi-антиген, являющийся разновидностью К-антигена. Vi-антиген по химической структуре является полимером N-ацетилгалактозоами-ноуроновой кислоты. Этот антиген является рецептором для бактериофагов. По спектру чувствительности к набору Vi-фагов устанавливается фаговар S. Typhi, который необходим для эпидемического анализа вспышек брюшного тифа с целью определения источника инфекции. Vi-антиген может придавать бактерии явление О-инаглютинабельности.

Патогенность и патогенез. Сальмонеллы обладают множественностью факторов патогенности, многие из которых еще недостаточно изучены. Совокупность действия факторов патогенности обеспечивает сальмонеллам трансцитоз, т.е. инвазию слизистой через М-клетки, а также резистентность к фагоцитозу, позволяющую сальмонеллам сохраняться и размножаться внутри фагоцитов. Трансцитоз обеспечивается белками секреторной системы 3 типа, синтез которых детерминируется «островком патогенности 1», среди которых имеется белок наружной мембраны *инвазии.* Особенность синтеза этих белков заключается в том, что он индуцируется в среде с высоким осмотическим давлением, соответствующим таковому в тонком кишечнике.

Резистентность к фагоцитозу обеспечивается многими факторами. В этом процессе принимают участие продукты генов, расположенных на «островке патогенности 2», синтез которых индуцируется внутрифагоцитарным окружением. Установлено, что в формировании антифагоцитарной активности сальмонелл принимает также участие фермент супероксиддисмутаза, инактивирующая (радикалы).

Таблица 17. 8.

Классификации сальмонелл по антигенной структуре по Кауфману–Уайту

Название серовара	Серогруппа	Антиген		
		O	H	
			фаза 1	фаза 2
S. Paratyphi A	A	1, 2. 12	a	–
S. Derby		1, 4. 5, 12	f. g	1.2
S. Haifa	B	1. 4, (5). 12	z_{10}	1,2
S. Paratyphi B		1, 4, 5, 12	b	1,2
S. Typhimurium		1. 4, 5, 12	i	1, 2
S. Infants		6,7	R	1,5
S. Choleraesuis	C_1	6,7	c	1,5
S. Virchov		6. 7	R	1, 5
S. Newport	C_2	6,8	eh	1, 2
S. Dublin		1, 9, 12 (vi)	g, p	-
S. Enteritidis	D	1, 9, 12	g, m	-
S. Panama		1, 9, 12	e, v	1,5
S. Typhi		9, 12 (vi)	d	-
S. Anatum	E_1	3, 10	ch	1, 6

Все сальмонеллы обладают эндотоксином, который вызывает развитие лихорадки в случае бактериемии, вызванной сальмонеллами. При достижении критической концентрации эндотоксин активирует каскад арахидоновой кислоты в тканях. Некоторые сальмонеллы образуют белковый энтеротоксин, который обладает гомологией с холерным энтеротоксином и LT-токсином ЭТКП.

Попав после перорального заражения в тонкий кишечник, сальмонеллы инвазируют трансцитозом слизистую кишечника через М-клетки без повреждения слизистой. Из М-клеток сальмонеллы транспортируются в субэпителиальное пространство, где захватываются макрофагами и привносятся в прилегающие к М-клеткам пейеровы бляшки, где, размножаясь в макрофагах, формируют первичный очаг инфекции.

Резистентность. Сальмонеллы устойчивы к воздействию факторов внешней среды. Выдерживают pH в диапазоне 4–9; в водоемах, сточных водах, почве сохраняют жизнеспособность до 3 месяцев, в комнатной пыли – от 80 до 550 дней. Хорошо переносят низкие температуры. В зараженных продуктах сохраняются: в колбасе – 3 месяца, в замороженном мясе и яйцах – до 1 года, на овощах и фруктах – 5–10 дней. При нагревании до 56 °С сальмонеллы гибнут в течение 45–60 мин, температура 100 °С убивает их мгновенно. Растворы дезинфицирующих веществ (5% фенол, 3% хлорамин, 3% лизол) убивают сальмонеллы в течении 2–3 мин. При неблагоприятных условиях сальмонеллы могут переходить в некультивируемую форму.

Вызываемые заболевания. В зависимости от источника инфекции, путей передачи и особенностей патогенеза и форм проявления инфекционного процесса, среди заболеваний, вызываемых сальмонеллами, различают: брюшной тиф и паратифы, сальмонеллезы, госпитальный (нозокомиальный) сальмонеллез.

Возбудители брюшного тифа и паратифов (S. Typhi, S. Paratyphi B, S. Paratyphi A)

Брюшной тиф представляет собой острую антропонозную системную инфекцию, характеризующуюся циклическим течением, поражением лимфатического аппарата тонкого кишечника, бактериемией, лихорадкой, сыпью и интоксикацией организма.

Возбудителем брюшного тифа является S. Typhi, впервые обнаруженный К. Эбертом в 1880 г. в срезах селезенки, лимфатических узлов и пейеровых бляшек людей, умерших от брюшного тифа. В 1884 г. Т. Гаффки выделил возбудитель в чистой культуре. *S. Paratyphi A,* описанный А. Брионом и Х. Кайзером, и *S. Paratyphi B,* описанный Г. Шоттмюллером, являются возбудителями паратифов, которые схожи с брюшным тифом по патогенезу, клиническим проявлениям и эпидемиологии заболевания. Брюшной тиф и паратифы являются антропонозами, т.е. *S. Typhi, S. Paratyphi A, S. Paratyphi B* вызывают заболевание только у человека. Источником инфекции является больной или бактерионоситель, которые выделяют возбудитель во внешнюю среду с испражнениями, мочой, слюной. Возбудители этих инфекций, как и другие сальмонеллы, устойчивы во внешней среде, сохраняются в почве, воде. Благоприятной для них средой являются пищевые продукты (молоко, сметана, творог, мясной фарш, студень), в которых сальмонеллы способны размножаться. Передача возбудителей осуществляется водным путем, играющим в настоящее время существенную роль, а также алиментарным и контактно-бытовым путями. Заражающая доза равняется приблизительно 1000 клеток. Естественная восприимчивость людей к возбудителям тифа и паратифа высокая.

Патогенез и клиника. Сформировав первичный очаг инфекции в пейеровых бляшках, после инвазии трансцитиозом слизистой тонкого кишечника, возбудители тифа и паратифов вызывают их воспаление с развитием лимфаденита. В результате воспаления, нарушается их барьерная функция и сальмонеллы попадают в кровь, вызывая бактериемию. Это совпадает с концом инкубационного периода, который длится 10–14 суток. Во время бактериемии, которая сопровождает весь лихорадочный период, возбудители тифа и паратифов с током крови разносятся по организму, оседая в ретикулоэндотелиальных элементах паренхиматозных органов: печени, селезенке, легких, а также в костном мозге, где размножаются в макрофагах, а также в желчном пузыре, куда они попадают по желчным протокам, диффундируя из Купферовских клеток печени. К концу 2-й недели заболевания возбудитель начинает выделяться из организма с мочой, потом, материнским молоком, слюной. Накапливаясь в желчном пузыре, сальмонеллы вызывают его воспаление и с током желчи реинфицируют тонкий кишечник. Повторное внедрение сальмонелл в сенсибилизированные пейеровы бляшки приводит к развитию в них гиперергического воспаления по типу феномена Артюса, их некрозу и изъязвлению, что может привести к кишечному кровотечению и прободению кишечной стенки. Выделяются сальмонеллы из организма с испражнениями и мочой.

Клиника брюшного тифа и паратифов характеризуется циклическим течением и проявляется лихорадкой (повышение температуры до 39–40°), интоксикацией, появлением розеолезной сыпи, нарушениями со стороны нервной системы (бред, галлюцинации) и сердечно-сосудистой системы (падение кровяного давления, коллапс и др.). Паратифы протекают в основном так же, как брюшной тиф.

Иммунитет. Иммунитет после перенесенного заболевания напряженный и длительный. Протективный иммунный ответ обеспечивается синергичным действием клеточного иммунного ответа, в котором ведущая роль принадлежит активированным макрофагам.

Гуморальный иммунитет самостоятельно не обладает протективной активностью, а является свидетелем инфекционного процесса. Причем первыми к концу 1-й недели заболевания появляются антитела к О-антигену, которые максимальных титров достигают к разгару заболевания, а затем исчезают. Антитела к Н-антигену появляются в период реконвалесценции и у привитых лиц и длительно сохраняются. У бактерионосителей брюшного тифа обнаруживаются антитела к Vi-антигену. Возникновение бактерионосительства связано с функциональной недостаточностью макрофагов.

Микробиологическая диагностика. Учитывая цикличность течения заболеваний, материал для исследования и метод исследования определяются стадией течения болезни.

В первые дни заболевания наблюдается бактериемия, поэтому на 1-й неделе заболевания и в течение всего лихорадочного периода используют метод гемокультуры: посев крови в желчный бульон с последующим пересевом на дифференциально-элективные среды (Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитный агар). Выделенную культуру идентифицируют по биохимическим свойствам и антигенной структуре, а выделенную культуру *S.* Typhi типируют Vi-фагами для определения источника инфекции. С конца 2-й недели заболевания производят выделение копро-, урино- и биликультур, т.е. материалом для исследования являются моча, испражнения, желчь.

Начиная со 2-й недели заболевания проводят серологическое исследование с целью определения наличия и типа антител. Исследование проводится постановкой РНГА. РНГА ставят с О-, Н- и Vi-диагностикумами. Положительным считают диагностический титр не менее 1:200. Ранее для серологической диагностики применяли развернутую реакцию агглютинации Видаля. В настоящее время серологическое исследование проводят также постановкой ИФА.

Профилактика и лечение. Для специфической профилактики брюшного тифа используют брюшнотифозную сорбированную и брюшнотифозную спиртовую, обогащенную Vi-антигеном, вакцины. Для профилактики, по эпидемическим показаниям, лицам, которые проживают совместно с больным и которые употребляли продукты и воду, зараженные или подозрительные на заражение *S.* Typhi, назначают сухой брюшнотифозный бактериофаг.

Лечение – этиотропная антибиотикотерапия.

Неспецифическая профилактика включает: санитарно-бактериологический контроль за системами водоснабжения, соблюдение санитарно-гигиенических правил при приготовлении пищи, выявление бактерионосителей среди работников пищеблоков, торговли, своевременное выявление и изоляцию больных.

Сальмонеллез (S.Typhimurium, S. Enteritidis, S. Choleraesuis)

Сальмонеллез – острая кишечная зоонозная инфекция, вызываемая многочисленными сероварами сальмонелл, характеризующаяся преимущественным поражением ЖКТ и протекающая чаще в виде локальной, в форме гастроэнтерита, инфекции, реже – генерализованных форм: тифоподобной или септикопиемической.

Этиология и эпидемиология. Возбудителями сальмонеллеза является большая группа сальмонелл, входящая, согласно современной классификации, в подвид *enterica,* которые вызывают заболевание, как у животных, так и у человека. Наиболее часто возбудителями сальмонеллезов у человека являются серовары S. Typhimurium, S. Dublin, S. Choleraesuis. В настоящее время на территории России доминирует в качестве возбудителя сальмонеллеза серовар S. Enteritidi, в Узбекистане основным резервуаром возбудителей в природе являются сельскохозяйственные животные. Развитие промышленного жи-

вотноводства способствует распространению сальмонелл среди животных (крупного рогатого скота, свиней), у которых сальмонеллез протекает как в форме клинически выраженной системной инфекции, так и в форме бактерионосительства, при этом, животные выделяют возбудителя с мочой, испражнениями, слюной и молоком. Резервуаром сальмонелл являются также птицы (водоплавающие) и куры, у которых происходит трансовариальная передача возбудителя. Основные факторы передачи -- мясо, молоко, яйца, субпродукты, особенно, печень крупного рогатого скота и свиней, а также вода. Естественная восприимчивость людей к сальмонеллам высокая. Заражение происходит алиментарным и водным путями. Заражающая доза -- от одного миллиона до ста миллионов микробных клеток. Больной сальмонеллезом человек выделяет сальмонеллы в период от 3 дней до 3 недель, иногда до 1 года.

Патогенез и клиника. Заболевание чаще протекает в локальной форме гастроэнтерита, ведущим синдромом которого является диарейный. Инвазировав, слизистую тонкого кишечника трансцитозом через М-клетки и проникнув в подслизистую, сальмонеллы частично захватываются макрофагами, переносясь ими в пейеровы бляшки, где, размножаясь в макрофагах, формируют первичный очаг инфекции. Частично размножаются в подслизистой. При этом, выделяются эндотоксин и белковый энтеротоксин, который у сальмонелл накапливается в периплазмати-ческом пространстве клетки.

Энтеротоксин активирует Са-зависимую аденилатциклазу эпителиальных клеток крипт тонкого кишечника, результатом чего, является повышение уровня цАМФ, что влечет за собой поступление в просвет кишечника большого количества жидкости, К, Na и хлоридов. У больных возникают понос и рвота, приводящие к обезвоживанию организма.

Добавочным источником накопления цАМФ является активация аденилатциклазы клеток *lamina propria* простагландинами. Накопившийся в результате гибели сальмонелл эндотоксин, усиливает синтез простагландинов из арахидоновой кислоты, входящей в состав фосфолипидов клеточных мембран.

При нарушении барьерной функции лимфатического аппарата кишечника, происходит генерализация процесса и возникает бактериемия, в результате которой, сальмонеллы заносятся в различные внутренние органы и костный мозг, формируя вторичные гнойные очаги (септико-пиемическая форма). Патогенез возникающей при этом тифоподобной формы аналогичен патогенезу брюшного тифа и паратифов.

Иммунитет. Ненапряженный, сероваро специфический, опосредован секреторным IgA, который предотвращает процесс пенетрации сальмонеллами слизистой тонкого кишечника. В крови могут определяться антитела, которые являются свидетелями инфекционного процесса.

Микробиологическая диагностика. Проводится бактериологическим и серологическим методами. Бактериологическому исследованию подвергают рвотные массы, промывные воды желудка, испражнения, желчь, мочу, кровь (при генерализованных формах заболевания).

Для серологического исследования применяют РНГА, ИФА. Важное диагностическое значение имеет нарастание титра антител в динамике заболевания.

Профилактика. Основную роль играет специфическая профилактика сальмонеллеза у сельскохозяйственных животных и птиц. Большое значение имеет неспецифическая профилактика, включающая проведение ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на предупреждение распространения возбудителей среди сельскохозяйственных животных и птиц, а также соблюдение санитарно-гигиенических правил при уборке на мясоперерабатывающих предприятиях, при хранении мяса и мясных продуктов, приго-

товлении пищи, правильная кулинарная и достаточная термическая обработка пищевых продуктов.

Лечение. Применяется патогенетическая терапия, направленная на нормализацию водно-солевого обмена. При генерализованных формах – этиотропная антибиотикотерапия.

Внутрибольничный (нозокомиальный) сальмонеллез

Этиология. Возбудителями внутрибольничного сальмонеллеза являются полиантибиотикорезистентные штаммы S. Typhimurium, S. Enteritidis, S. Virchov, S. Infants, S. Haife и некоторые другие.

Госпитальные штаммы сальмонелл представляют собой особую биологическую разновидность. Для них характерно: наличие криптичной плазмиды с характерной для определенного вида молекулярной массой; отсутствие типируемости типовыми бактериофагами; изменение биохимических свойств.

Эпидемиология. Источником инфекции и основным резервуаром возбудителей являются дети и взрослые (больные и бактерионосители), находящиеся или поступающие в стационар. В эпидемический процесс вовлекаются, прежде всего, дети в возрасте до 1 года, особенно, новорожденные, а также взрослые, пациенты хирургических и реанимационных отделений, перенесшие обширные оперативные вмешательства, лица пожилого и старческого возраста, больные с тяжелой соматической патологией, сопровождающейся иммунодефицитами.

Передача возбудителя при внутрибольничном сальмонеллезе осуществляется: воздушно-пылевым путем (при вдыхании воздуха, содержащего пылевые частицы с адсорбированными на них сальмонеллами); контактно-бытовым путем (через предметы обихода, посуду, грязные руки персонала); алиментарным путем. Заражающая доза – порядка от одной тысячи до десяти тысяч клеток.

Клиническое течение. Характеризуется длительным инкубационным периодом от 8 до 43 суток. Проявление болезни варьирует от бессимптомного носительства до выраженных кишечных расстройств с развитием генерализованных форм инфекции с септическими осложнениями.

Иммунитет не формируется. Профилактика осуществляется поливалентным бактериофагом. Для лечения применяют этиотропную антибиотикотерапию.

Протеи (род Proteus)

Протеи относятся к условно-патогенным микроорганизмам. Вызывают инфекцию мочевыводящих путей и гнойную раневую инфекцию, в том числе, сепсис. Заболевания могут протекать как эндоинфекция, а также быть результатом внутрибольничной инфекции.

Род *Proteus* состоит из четырех видов: в патологии человека наибольшее значение имеют два вида: *P. vulgaris и P. mirabilis.* Впервые были выделены Г. Хаузером в 1885 г.

Морфология. Палочки, размером 0,4-*-0,6х1-к3 мкм, располагающиеся попарно или цепочками. Капсулу не образуют, подвижны.

Культуральные свойства. Хорошо растет на обычных питательных средах. На плотных средах образует два типа колоний. В Н-форме (нем. *hauch* – дыхание) колонии имеют вид «строения», с образованием дочерних отростков. Это типичная форма роста. При неблагоприятных условиях, в частности, на средах с добавлением желчи, образуют О-формы (нем. *ohm hauch* – без дыхания) колоний: крупные, с ровными краями.

Физиология. Обладает выраженной биохимической активностью. Подразделение на виды производится по биохимическим свойствам (табл. 17.9). Основные биохимические признаки, дифференцирующие от других представителей семейства *Enterobacteriaceae:*

– продукция фенилаланиндезаминазы, уреазы,сероводорода,

– отсутствие расщепления лактозы,

– разжижение желатины.

Антигенная структура. Обладает О- и Н-антигенами.

Резистентность. Устойчив к воздействию факторов окружающей среды. Переносит нагревание до 60 °С в течение 1 ч. Сохраняет длительную жизнеспособность в слабых растворах фенола и других дезинфицирующих веществ.

Экология. Протеи входят в состав факультативной флоры толстого кишечника и влагалища женщин, их можно обнаружить в сточных водах.

Патогенез. *В* патогенезе инфекции мочевыводящих путей, вызванных протеем, важную роль играет продуцируемая им уреаза, которая, расщепляя мочевину, вызывает освобождение аммиака, что ведет к повышению pH. Защелачивание мочи снижает растворимость кальция и магния, создавая благоприятные условия для отложения кальциевых и магниевых солей и образования почечных камней.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана. Для лечения используют коли-протейный бактериофаг и антибиотики после определения антибиотикограммы.

Иммунитет. Протективный иммунитет не формируется.

Микробиологическая диагностика. Используют бактериологический метод исследования. Посев материала проводится на лактозосодержащие дифференциальные среды и на скошенный агар по Щукевичу (в конденсационную воду в месте скоса агара). Выделенная культура идентифицируется по биохимическим свойствам.

Иерсинии (род Yersinia)

Род *Yersinia* включает 11 видов, из которых в патологии человека основное значение имеют 3 вида: возбудитель чумы *Y. pestis* и энтеропа-тогенные иерсинии, возбудитель псевдотуберкулеза *Y. pseudotuberculosis* и возбудитель кишечного иерсиниоза *Y. enterocolitica.*

Род назван в честь А. Иерсена, который в 1894 г. совместно с С. Китасато открыл возбудителя чумы. Подразделение внутри рода на виды производится на основе биохимических свойств и подвижности.

Возбудитель чумы (Y. pestis)

Чума – острая инфекционная природно-очаговая болезнь, относящаяся к группе карантинных (конвенционных) инфекций, характеризующаяся тяжелой интоксикацией, лихорадкой, поражением кожи, лимфатических узлов легких, сепсисом и высокой летальностью.

Таблица 17. 9.

Дифференциация по биохимической активности внутри рода *Proteus*

Биохимический признак	Утилизация			Продукция		
Вид	Глюкоза	Лактоза	Цитрат	Индола	H_2S	Орнитиндекарбоксилаза
P. vulgaris	+	–	–	+	+	–
P. mirabilus	+	–	+	–	+	+

Морфология. *Y. pestis,* представляет собой неподвижную палочку овоидной формы, размером 1,5х0,7 мкм, с биполярным окрашиванием анилиновыми красителями. Образует нежную капсулу.

Культуральные свойства. Факультативный анаэроб. Растет на простых питательных средах. Оптимальная температура роста 28 °С, но может расти в широком диапазоне температур от 2 до 40 °С. Для ускорения роста в питательные среды добавляют стимуляторы, сульфит натрия и гемолизированную кровь. При росте на плотных питательных средах через 8–12 ч. появляются колонии в виде «битого стекла». Через 18–20 ч. инкубации вирулентные бактерии образуют колонии в R-форме, которые имеют форму «кружевных платочков»: со светлым центром и фестончатыми краями. Менее вирулентные бактерии образуют колонии в S-форме. На жидких средах бактерии растут в виде пленки, от которой спускаются нити, напоминающие пещерные сталактиты; на дне образуется хлопьевидный осадок.

Биохимическая активность достаточно высокая. Синтезирует плазмокоагулазу, фибринолизин, гемолизин, лецитиназу, РНКазу. Основные биохимические свойства, необходимые для идентификации:

– не разжижает желатину, не расщепляет мочевину,

– не ферментирует рамнозу и сахарозу,

– ферментирует декстрин.

По отношению к утилизации глицерина подразделяется на хемовары.

Антигенная структура. Обладает комплексом антигенов, многие из которых относятся к факторам патогенности. Имеет термостабильные О-антигены и термолабильные капсульные антигены. Протективной активностью обладает F1-антиген. Имеет антигены, общие с антигенами эритроцитов 0-группы крови человека.

Резистентность. Микроб обладает психрофильностью. При понижении температуры увеличиваются сроки выживания бактерий. При температуре –22 °С бактерии сохраняют жизнеспособность 4 месяца, в замороженных трупах и блохах – до 1 года. При нагревании до 50 °С гибнет в течение 10 мин, до 100 °С – в течение 1 мин. Чувствителен к сулеме в концентрации 0,1%, к 3–5% растворам лизола и фенола, ультрафиолетовому облучению.

Патогенность. *Y. pestis* обладает многочисленными факторами патогенности, генетическая детерминация которых осуществляется, как хромосомой, так и тремя плазмидами: pPst (6 мДа), pCad, (45 мДа), pFra (60 мДа).

Синтез ферментов патогенности: фибринолизина и плазмокоагулазы, а также пестицина детерминирует **pPst** плазмида; синтез F1-антигена – гликопротеидной природы, который продуцируется при температуре 37 °С и препятствует поглощению микроба фагоцитами, детерминируется **pFra** плазмидой; этой же плазмидой детерминируется синтез Р2-фракции, «мышиного токсина», функция которого окончательно не ясна. Известно, что он обладает способностью блокировать адренергические рецепторы и ингибировать дыхательную активность митохондрий, понижая активность НАДФ-редуктазы.

Синтез V- и W-антигенов (V-антиген является пептидом, а W-антиген – внеклеточным липопротеином), обеспечивающих способность бактерий сохраняться в фагоцитах, детерминирует **pCad** плазмида. К факторам патогенности, обеспечивающим антифагоцитарную активность микроба, относят также внеклеточную аденилатциклазу и цитохромоксидазу, а также пигмент, связывающий гемин и способность к синтезу эндогенных пуринов.

Эпидемиология. Резервуаром возбудителя природной чумы являются дикие, синантропные и домашние животные (всего, около 300 видов). Основными носителями являются

грызуны (сурки, суслики, полевки, песчанки, крысы, зайцы и др.). У грызунов, впадающих зимой в спячку, чума протекает в хронической латентной форме. Эти животные являются источником инфекции в межэпидемический период.

Таблица 17. 10

Дифференциация на виды внутри рода *Yersinia*

Показатель	Y. pestis	Y. pseudotuberculosis	Y. enterocolitica
Подвижность	–	±(28 °С)	+
Уреаза	–	+	+
Декстрин	+	–	–
Эскулин	+	–	±
Рамноза	–	+	–
Сахароза	–	–	+
Лизиндекарбокислаза	–	–	–
Орнитидиндекарбоксилаза	–	–	+
Продукция индола	–	–	±
Реакция Фогеса–Проскауэра	–	–	±
Гидролиз	–	–	–

Вторичные очаги, связанные с деятельностью человека, обнаруживаются в географических зонах между 35° северной широты и 35° южной широты. В них источниками и хранителями возбудителя служат домовые виды крыс и мышей, от них заражаются некоторые виды домашних животных, в частности, верблюды и, возможно, кошки.

Специфическими переносчиками возбудителя в обоих типах очагов служат блохи. В инфицированной блохе возбудитель размножается в преджелудке, а при кровососании человека попадает в ток его крови. Человек заражается в очаге трансмиссивно – через укусы инфицированных блох, контактным путем при контакте с инфицированными животными (разделка шкур и мяса зараженных животных) и алиментарным путем – при употреблении в пищу продуктов, обсемененных чумными микробами. От больных легочной формой чумы происходит аэрогенное заражение.

Восприимчивость людей к чуме очень высокая. Индекс контагиозности приближается к единице. Эпидемии чумы обычно следуют за эпизоотиями. В истории человечества известны три пандемии чумы. Первая, «юстинианова чума» свирепствовала в странах Ближнего Востока, Европы в VI в. и вызвала гибель около 100 млн. человек. Вторая пандемия, известная под названием «черная смерть», была занесена из Азии в Европу в 1348 г.; она унесла жизни более 50 млн. человек, т.е. четверти населения Европы. Третья пандемия началась в 1894 г. в Кантоне и Гонконге; особенностью этой пандемии явилось то, что она охватывала только портовые города, не распространяясь за их пределы. Природные очаги чумы существуют и сейчас на всех континентах, кроме Австралии и Антарктиды. В настоящее время ежегодно регистрируется несколько сот случаев чумы человека. В России такими очагами являются регионы Закавказья, Поволжья.

Патогенез и клиника заболевания. Зависят от пути заражения. При контактном пути, проникая через неповрежденную кожу и трансмиссивном пути заражения возбудитель с током лимфы заносится в регионарные лимфатические узлы, где происходит его размножение. Вследствие незавершенности фагоцитоза в лимфатических узлах развивается серозно-геморрагическое воспаление, с развитием бубона, т.е. увеличенного лимфатического узла, иногда достигающего размеров куриного яйца. Так возникает первичная

бубонная форма. Утрата лимфатическим узлом барьерной функции приводит к генерализации процесса. Возбудитель разносится гематогенно в отдаленные лимфатические узлы, где формируются вторичные бубоны, а также в органы, где развиваются септикопиемические очаги. Гематогенный занос чумных микробов в легкие, приводит к развитию вторично-легочной формы заболевания, которая характеризуется развитием пневмонии с обильным серозно-геморрагическим экссудатом, содержащим большое число микробов. При воздушно-капельном заражении возникает первично-легочная форма, а при контактном и алиментарном путях заражения развиваются соответственно кожная и, в редких случаях, кишечная формы заболевания.

Инкубационный период – от нескольких часов до 2–6 дней, у привитых – до 10 дней. Заболевание начинается остро: температура тела повышается до 39 °С и выше, возникает озноб, наблюдаются явления интоксикации, которая проявляется резкой головной болью, разбитостью, мышечными болями, помрачением сознания. Больной возбужден. При бубонной форме на 1–2-й день болезни появляется лимфаденит (чумной бубон). Различают несколько клинических форм чумы: кожную, бубонную, первично- и вторично-септическую, первично- и вторично-легочную формы. Летальность до применения антибиотиков при диссеминированных формах чумы достигала 100%, при локальных формах – до 70%; при антибиотикотерапии достигает 10%.

Иммунитет. Различной длительности и напряженности. Отмечены случаи повторных заболеваний. Протективная активность обеспечивается, главным образом, клеточным иммунным ответом, реализующимся через иммунные макрофаги.

Микробиологическая диагаостика. Используют бактериоскопический, бактериологический, биологический и серологический методы исследования, которые проводят в специальных лабораториях, работающих в соответствии с инструкциями о режиме работы противочумных учреждений. Материалами для исследования являются: пунктаты бубонов, мокрота, отделяемое карбункулов и язв, кровь, моча, рвотные массы, трупный материал. Материал засевают на питательные среды (мясопептонный агар – МПА, бульон Хоттингера, элективные среды) и ставят биопробу на морских свинках и белых мышах. В качестве экспресс-диагностики используют РИФ, позволяющую поставить предварительный диагноз уже через 2 ч. Серологическое исследование проводится постановкой РИГА, ИФА, РН антител.

Профилактика и лечение. Больные чумой подлежат строгой изоляции и обязательной госпитализации. Для лечения используют этиотропную антибиотикотерапию. Прогноз неблагоприятный, так как при генерализованных формах болезни летальность может достигать 100%.

Специфическая профилактика осуществляется живой вакциной из штамма EV. После вакцинации развивается иммунитет продолжительностью до 6 месяцев. Вакцина вводится однократно, накожно или подкожно с помощью безыгольного инъектора; разработана таблетированная живая вакцина из штамма EV для перорального применения (А. А. Воробьев, Е. М. Земсков), а также аэрозольная вакцина (В. А. Лебединский и соавт.).

Большое значение имеет неспецифическая профилактика, которая включает: предупреждение заболевания людей и возникновения эпизоотии в природных очагах, предупреждение завоза чумы на территорию страны, которое осуществляется согласно специальным «Международным санитарным правилам»; предупреждение заражения лиц, работающих с заразным *Y. pestis* материалом, осуществляемое регламентом работы противочумных учреждений. Вся работа с заразным *Y. pestis* материалом и в госпиталях для больных чумой должна проводиться в специальных защитных противочумных костюмах с соблюдением строгого порядка их надевания и снятия. В случае появления больного чумой проводятся карантинные мероприятия.

Энтеропатогенные иерсинии

К энтеропатогенным иерсиниям относят возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза: *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* соответственно. Дифференциация между видами осуществляется по биохимическим свойствам и антигенной структуре. ***Особенность экологии.*** Энтеропатогенные иерсинии являются сапронозами. Способны существовать в окружающей среде. Обладают свойствами, которые определяют особенности эпидемиологии вызываемых ими заболеваний:

1) способностью к сапрофитическому существованию в окружающей среде;

2) психрофильностью.

Оптимум роста +22° -25 °С. Сохраняют жизнеспособность при температурах -15° -25 °С. Размножаются при температуре +4 °С. Энтеропатогенные иерсинии способны размножаться в воде, почве. растениях, в которые они через корневую систему, попадают из почвы. Размножение при низких температурах сопровождается многомесячной (до полугода) продолжительностью стационарной фазы, что способствует накоплению большой биомассы бактерий. Популяция иерсиний во внешней среде поддерживается свободноживущими инфузориями вида *Tetrahymena pyriformis.* При этом происходит селекция устойчивых к фагоцитозу бактерий.

Генетическая детерминация синтеза факторов патогенности и их температурная регуляция обеспечивают возможность перехода эн-теропатогенных иерсиний из внешней среды к существованию внутри организма.

Начальные этапы инфекции, а именно трансцитоз слизистой кишечника через М-клетки (IV тип), осуществляется за счет функционирования inv-гена хромосомной локализации, который функционирует при температурах ниже 37 °С, вырабатывая белок наружной мембраны клеточной стенки, необходимый для взаимодействия с М-клетками. Распространение микробов по организму связано с функционированием генов плазмиды (молекулярная масса 45 мДа), которые активны при температуре 37 °С. Эти гены детерминируют синтез цитотоксина, повреждающего клетки стенки кишечника, и V- и W-антигенов. обеспечивающих размножение микробов в фагоцитах, что вызывает незавершенный фагоцитоз.

1. Возбудитель псевдотуберкулеза (Y. pseudotuberculosis)

Псевдотуберкулез – инфекционное заболевание, характеризующееся полиморфностью клинической картины, затяжным течением, аллергизацией организма.

Y. pseudotuberculosis впервые был описан в 1883 г. Л. Маляссе и В. Виньялем.

Морфология. Палочка, с биполярным окрашиванием, размером 0,8^-2х0,4-И],6 мкм, подвижная, т.е. имеет жгутики, при температурах ниже 37 °С образует капсулу.

Культуральные свойства. Хорошо растет на простых питательных средах. Оптимум размножения 22–28 °С. При температурах ниже 37 °С на плотных средах образует колонии в S-форме. При температуре 37 °С – колонии в R-форме. На жидких средах образует пленку.

Физиология. Биохимически активен. Основные биохимические признаки, необходимые для идентификации:

– продукция уреазы,

– ферментация рамнозы,

– отсутствие ферментации сахарозы,

– отсутствие продукции индола,

–отрицательная реакция Фогеса-Проскауэра.

Биохимически внутри рода однороден.

Возбудитель устойчив во внешней среде: в воде, при комнатной температуре выживает до 1,5 месяцев, при +4 °С – до полугода; в овощах (капуста, морковь, лук) и фруктах выживает несколько месяцев. Малоустойчив к нагреванию при 60°, при кипячении, к УФ-свету, к дезинфектантам.

Антигенная структура. Обладает О-антигеном, на основании строения которого подразделяется на 8 сероваров, а также Н-антигеном.

Эпидемиология. Резервуаром возбудителя в природе являются многие виды млекопитающих (рогатый скот, кошки) и птиц, грызуны (мыши, крысы), выделяющие микроб с испражнениями, а также вода, почва, в которых происходит накапливание микроба. Человек заражается водным и алиментарным путями. Основными факторами передачи являются вода и овощи. Овощи заражаются *Y. pseudotuberculosis* в результате их загрязнения в хранилищах, испражнениями инфицированных возбудителем мышей, а также непосредственно из почвы и воды. Заражение человека от больного или носителя не происходит. Естественная восприимчивость людей к возбудителю высокая. Болезнь распространена повсеместно, возникает в виде спорадических и эпидемических вспышек, имеет сезонность (февраль-март). В районе Дальнего Востока РФ заболевание протекает в виде эпидемических вспышек в генерализованной форме под названием Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка.

Патогенез и клиника заболевания. Инкубационный период 3–10 дней. Заболевание протекает в виде локальной и генерализованной форм. Начало острое или подострое, сопровождается лихорадкой. Инвазировав слизистую кишечника трансцитозом через М-клетки, выделяя при этом цитотоксин, *Y. pseudotuberculosis* вследствие незавершенности фагоцитоза попадает в мезентериальные лимфатические узлы, вызывая мезентериальный лимфаденит. Следствием развития мезентериального лимфаденита являются боли в эпигастральной области, симптомы раздражения брюшины, которые имитируют симптомы острого аппендицита.

В случае прорыва лимфатического барьера, наступает бактериемия, в результате которой, микроб разносится по организму, вызывая образование гранулем и микроабсцессов в макрофагальных элементах печени, селезенки, легких, суставов. При этом происходит аллергизация организма. На 1–6-й день появляется розеолезная сыпь. Возможен летальный исход.

Иммунитет. Непрочный, нестерильный. Антитела не обладают протективной активностью. В организме происходит развитие ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. Применяют бактериологический и серологический методы исследования. Материалами для исследования при бактериологическом методе являются испражнения, кровь, желчь, суставная жидкость, бронхиальная жидкость. Материал помещают в фосфатный буфер и подвергают холодовому обогащению при температуре 4 °С в течение 21 дня, периодически делая высев на плотные среды (Эндо, Серова).

Серологическое исследование проводят на 2-й неделе и 3–5-й неделе постановкой РНГА и ИФА.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана. Лечение – этиотропная антибиотикотерапия.

Неспецифическая профилактика включает: постоянный санитарный контроль за водоснабжением, технологическим режимом обработки и хранения пищевых продуктов, борьбу с грызунами.

2. Возбудитель кишечного иерсиниоза (Y. enterocolitica)

Кишечный иерсиниоз – инфекционное заболевание с поражением тонкого и толстого кишечника и развитием мезентериального лимфаденита.

Этиология. Возбудителем кишечного иерсиниоза является *Y. enterocolitica,* который впервые был описан Дж. Шлейфстейном и М. Калеманом в 1939 г. Заболевание стало широко распространяться с конца 1960 годов.

Морфология. Грамотрицательные палочки, размером 1,8+2,7x0,7+0,9 мкм, подвижные, капсулу не образуют.

Физиология. Хорошо растут на обычных питательных средах. Оптимум роста 22–28 °С. Обладают выраженной биохимической активностью. Внутри вида по спектру биохимической активности – индолообразованию, утилизации эскулина, реакции Фогеса–Проскауэра – подразделяется на 5 хемоваров. Заболевание чаще вызывают биовары 2.3.4. Основные биохимические признаки, необходимые для идентификации:

– расщепление мочевины,
– ферментация сахарозы,
– отсутствие ферментации рамнозы,
– продукция орнитиндекарбоксилазы.

Антигенная структура. Обладает О- и Н-антигенами. По строению О-антигена подразделяется более, чем на 30 сероваров. Наиболее часто заболевание у человека вызывают серовары 03, 05, 09, 08.

Патогенность. Помимо общих для энтеропатогенных иерсиний факторов патогенности, *Y. enterocolitica* обладает термостабильным энтеротоксином, гомологичным термостабильному энтеротоксину ЭТКП.

Эпидемиология. Кишечный иерсиниоз выявляется во всех странах, возникает в виде групповых, семейных, внутрибольничных вспышек. Резервуаром возбудителя в природе являются почва, вода, инфицированные через них растения. Инфицированные вода и растения способствуют распространению инфекции среди сельскохозяйственных животных. Резервуаром и источником инфекции могут быть крупный рогатый скот, свиньи, собаки, кошки, птицы. Основные пути передачи – водный и алиментарный, через воду, молоко, овощи. В отличие от *Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica* может передаваться от человека к человеку, являясь даже причиной внутрибольничной инфекции.

Патогенез и клиническая картина. Начальные этапы патогенеза аналогичны таковым при псевдотуберкулезе. Инвазировав трансцитозом через М-клетки слизистую подвздошной кишки, *Y. enterocolitica* внедряется в ее лимфоидные образования, из которых микроб попадает в мезентериальные лимфоузлы, вызывая в них развитие аденита. Действие цитотоксина и энтеротоксина вызывает воспалительный процесс в стенке кишечника и развитие диареи.

При прорыве лимфатического барьера кишечника развивается бактериемия, следствием которой является развитие генерализованной формы инфекции, которая протекает с поражением селезенки, развитием полиаденита, полиартрита, менингита, с аллергизацией организма. У иммунодефицитных лиц, может развиться сепсис.

Инкубационный период составляет в среднем 3–7 суток. Начало острое: с лихорадкой, интоксикацией, болями в животе, расстройствами стула, появлением сыпи на коже. Различают гастроинтестинальную, абдоминальную, генерализованную и вторично-очаговую формы болезни. Болезнь может протекать хронически до 1,5–2 лет.

Микробиологическая диагностика. Используют бактериологический и серологический методы исследования. Материалом для бактериологического метода исследования

служат испражнения, ликвор, кровь, моча, иногда червеобразный отросток. Как и при диагностике псевдотуберкулеза, материал для исследования помещают в фосфатный буфер и подвергают холодовому обогащению. Серологическая диагностика проводится постановкой РНГА, с диагностическим титром 1:160. Важное диагностическое значение имеет наблюдение за нарастанием титра антител в динамике.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана. Лечение – этиотропная антибиотикотерапия. Неспецифическая профилактика аналогична таковой при псевдотуберкулезе.

Вибрионы (семейство Vibrionaceae)

Семейство *Vibrionaceae* включает в себя патогенные для человека роды *Vibrio, Aeromonas, Plesiomonas.* Все они являются изогнутыми подвижными палочками размером 1,4-^5,0x0,3^-1,3 мкм. Подвижность их обеспечивается жгутиками, расположенными полярно. Хемоорганотрофы. Метаболизм – окислительный и бродильный. Температурный оптимум для большинства видов 37 °С, для некоторых морских видов – 25 °С. Оксидазаположительны (большинство видов). Глюкозу и другие углеводы детерминируют до кислоты и газа. Могут расти на средах, содержащих 2–3% NaCl. Распространены повсеместно в морской, пресной воде, в гидробионтах.

Вибрионы холеры (род Vibrio)

В род *Vibrio* входят прямые или изогнутые палочки 1,4н-2,6x0,5x0,8 мкм. Их подвижность обеспечивается одним или несколькими жгутиками. Хемоорганотрофы. Окислительный и бродильный метаболизм. Температурный оптимум для разных видов – от 20 до 30 °С. Большинство видов оксидазаположительны. Углеводы ферментируют только до кислоты (мальтозу, маннозу, трегалозу). Вибрионы распространены в пресных и соленых водоемах, покрывают дно, растительность, а также в гидробионтах. Часть вибрионов патогенны для человека. Наибольшее медицинское значение имеют *V. cholerae, V. parahaemoliticus, V vulnificus.* Типовой вид рода – *V. cholerae.*

Возбудитель холеры (Vibrio cholerae)

Холера – особо опасная карантинная болезнь, вызываемая *Vibrio cholerae,* серогрупп О1 и О139, характеризующаяся токсическим поражением тонкого кишечника, нарушением водно солевого баланса и высокой летальностью.

Заболеваемость холерой с древнейших времен регистрируется на полуострове Индостан, особенно в период военных действий. В Европу и в Россию холера проникла через Ближний Восток, Египет. В середине XIX в. Р Кох открыл холерный вибрион («запятая Коха»), благодаря применению питательных плотных сред (желатин на стеклах). После открытия холерного вибриона было выделено большое количество гемолитических штаммов вибрионов, которые считались непатогенными. В 1906 г. в Египте F. Gotschlich выделил на карантинной станции Эль-Тор из трупов паломников – мусульман, умерших при явлении диареи, гемолитический вибрион, названный затем eltor. Поскольку, в то время эпидемии холеры не было, роль вибриона eltor в патологии человека осталась сомнительной. В 1939 г. S. de Moor описал сезонные диареи на о. Сулавеси (Индонезия), при которых постоянно выделялся вибрион eltor. В 1961 г. на о. Сулавеси диареи потеряли сезонный характер и разразилась жестокая эпидемия, которая переросла в VII пандемию. В

1962 г. состоялось внеочередное заседание экспертного комитета ВОЗ, на котором, впервые было принято решение, считать вибрионы (eltor) такими же возбудителями холеры, как и классический (Коховский) вибрион. В начале 1993 г. появились сообщения о случаях холеры в Юго-Восточной Азии, вызванных вибрионами ранее неизвестной серогруппы «О139»; отдельные случаи «новой» холеры уже появились и на территории нашей страны. Холерные вибрионы О139 серогруппы «Бенгал», принято считать возбудителями эпидемической холеры.

В мировой литературе подробно описано шесть пандемий холеры, а в 1961 г. началась VII пандемия холеры, где в качестве основного этиологического агента выступает биовар Эль-Тор. Эта пандемия продолжается до настоящего времени.

Морфологические и культуральные свойства. Холерный вибрион размером 1,5+4,0х0,2-5-0,4 мкм, имеет один полярно расположенный жгутик. В мазках из клинического материала и колоний, выросших на плотных средах, наблюдаются типичные вибрионы. В висячей или раздавленной капле можно наблюдать подвижность вибрионов. В старых культурах наблюдаются инволюционные нитевидные, кокковидные формы. Под действием пенициллина образуются фильтрующиеся L-формы. Тинкториальные свойства такие же, как у энтеробактерий. Грамотрицательны, спор не образуют. Факультативный анаэроб, с преобладанием аэробных свойств. Не требователен к питательным средам. Температурный оптимум 37 °С, оптимум pH – 7,6–8,0.

На плотных средах вибрионы образуют мелкие круглые прозрачные S-колонии с ровными краями, маслянистые, голубоватые в проходящем свете. Колонии старых культур желтеют, грубеют. На скошенном агаре образуется желтоватый налет. На агаре TCBS образует желтые колонии. На желатиновом столбике вызывают воронкообразное разжижение. В непрозрачных R-колониях бактерии становятся устойчивыми к действию бактериофагов, антибиотиков и не агглютинируются О-сыворотками.

На жидких средах вибрионы вызывают помутнение поверхностной пленки, которая разрушается при встряхивании. На 1% пептонной воде (pH 9,0) опережают рост энтеробактерий.

Биохимические свойства. Холерные вибрионы биохимически активны: сбраживают до кислоты глюкозу, мальтозу, сахарозу, маннит, лактозу (медленно), левулезу, гликоген и крахмал. Не сбраживают арабинозу, рамнозу, дульцит, инулин, инозит. По Хейбергу, все вибрионы делятся на шесть групп по отношению к трем сахарам (манноза, сахароза, арабиноза). Первую группу, к которой относятся истинные возбудители холеры, составляют вибрионы, разлагающие маннозу и сахарозу и не разлагающие арабинозу: они разжижают также желатин с образованием «воронки», гидролизуют казеин, свертывают плазму кролика, разжижают свернутую сыворотку, молоко, разлагают белки до аммиака и индола. H_2S не образуют. Остальные пять групп Хейберга объединяют нехолерные вибрионы (табл. 17.11).

Антигенная структура. Холерные вибрионы обладают термостабильными О-антигенами и термолабильными Н-антигенами.

Н-АГ являются общими для большой группы вибрионов.

По структуре О-АГ выделяют > 150 серогрупп, определяемых в реакциях агглютинации.

Возбудители классической холеры и холеры Эль-Тор объединяются в серогруппу 01.

Антигены серогруппы 01 включают в различных сочетаниях А-, В- и С-субъединицы. Сочетание субъединиц АВ называется сероваром Огава, сочетание АС – сероваром Инаба, сочетание АВС – Гикошима. R-формы (шероховатые) колоний утрачивают О-АГ, М-формы (слизистые) изменяют структуру О-АГ; обе эти формы не агглютинируются стан-

дартными О-сыворотками. Вибрионы серогруппы 0139 агглютинируются только сывороткой 0139.

Таблица 17. 11.

Дифференциальные признаки возбудителей холеры

Признак	V. cholerae, cholerae	V. cholerae, eltor	V. cholerae 0139
Чувствительность к классическому монофагу	+	–	–
Чувствительность к монофагу Эль-Тор	–	+	–
Агглютинация куриных эритроцитов	–	± (чаще +)	± (чаще +)
Чувствительность к полимиксину (50 ЕД)	+	–	–
Гемолиз эритроцитов барана	–	+	–
Гексаминовый тест	–	+	–

Холерные вибрионы дифференцируют также с помощью бактериофагов. V. cholerae, лизируются бактериофагами IV группы (по Mukerjee); V. cholerae, eltor лизируется бактериофагами V группы. Бактериофаги применяются для диагностики и лечения холеры.

Резистентность. Вибрионы плохо переносят солнечную радиацию, высушивание, конкуренцию со стороны другой микрофлоры. В водоемах холерные вибрионы могут сохраняться до 2–3 недель, в выгребных ямах – до 3–4 месяцев, длительно сохраняются в пищевых продуктах с щелочным pH, в одежде и постельном белье, испачканных испражнениями и рвотными массами больных. Биовар Эль-Тор более устойчив в окружающей среде, чем классический вибрион и с этим биоваром связано большинство описанных случаев носительства. Все вибрионы высокочувствительны к действию дезинфектантов, особенно с кислым pH, а также к кислотам.

Эпидемиология. Холера- это острая кишечная инфекция с фекально-оральным механизмом передачи. Наиболее распространенным путем передачи является водный, пищевой, реже – контактно-бытовой. Определенную роль в распространении холеры играют мухи. Эпидемии могут протекать в виде острых вспышек заболеваний и в виде вялотекущих эпидемий с постоянно регистрируемой заболеваемостью, но не с такой высокой интенсивностью.

Источник инфекции – больной человек или вибрионоситель. Резервуаром инфекции является также водная среда. Животные к возбудителю холеры нечувствительны.

Факторами передачи могут служить пресная и морская вода, пищевые продукты (молочные, овощи, фрукты, гидробионты), объекты окружающей среды. Большую роль играет несоблюдение правил личной и коммунальной гигиены. Подъем заболеваемости обычно отмечается в теплый, влажный сезон, что связано с лучшей сохраняемостью возбудителя в окружающей среде, обилием мух, скученностью населения.

Факторы патогенности. Большая часть вибрионов, попавших в организм через рот, погибает в кислой среде желудка; лишь небольшая часть вибрионов достигает кишечника. К факторам патогенности, обеспечивающим колонизацию кишечника, относятся: **пили адгезии;** фермент муциназа, разжижающий слизь и обеспечивающий им доступ к эпителию. Эпителиальные клетки выделяют щелочной секрет, который в сочетании с желчью является прекрасной питательной средой для размножения вибрионов. Клиническая картина холеры связана с токсинообразованием вибрионов, которые вырабатывают эндо- и экзотоксины.

Экзотоксин (энтеротоксин) холероген – термолабильный белок, инактивируется фенолом и формалином, чувствителен к протеолитическим ферментам. Холероген содержит 2 субъединицы: А и В. Субъединица В образована пятью пептидами, которые взаимодействуют с ганглиозидами – клетками эпителия и обуславливает проникновение в них компонента А. С компонентом В связана антигенная специфичность токсина. Компонент А состоит из субъединиц А1 (активный центр) – пептид, реализующий энтеротоксигенное действие и пептид А2, связывающий оба компонента. Компонент А1 активизирует внутриклеточную аденилатциклазу, что, в свою очередь, приводит к повышению содержания цАМФ и к выходу экстрацеллюлярно электролитов и других жидкостей в просвет кишечника. Переполнение кишечника жидкостью приводит к профузной диарее и рвоте. Бактерии серогруппы О139 также продуцируют энтеротоксин с такими же свойствами, но в меньших количествах. **Фермент нейраминидаза** усиливает связывание холерного экзотоксина с эпителием слизистой кишечника. Синтез факторов патогенности опосредован двумя лизогенизирующими бактериофагами.

Эндотоксин запускает каскад арахидоновой кислоты, которая входит в состав фосфолипидов клеточных мембран. Арахидоновая кислота запускает синтез простагландинсинтетазы, которая синтезирует простагландин (Е, F). Простагландины вызывают сокращение гладкой мускулатуры тонкого кишечника и подавляют иммунный ответ, чем обусловлены тенезмы, диарея.

Клинические проявления. Инкубационный период варьирует от нескольких часов, до 5 дней (в среднем 2–3 дня). Клинически холера проявляется в виде боли в животе, тенезмы, рвоты, диареи. Тяжелый больной в сутки выделяет до 30 л жидкости. Стул носит характер «рисового отвара», т.е. бесцветные обильные испражнения со сладковатым запахом (не фекальный). Помимо клинической картины энтерита (или гастроэнтерита), в тяжелых случаях, может развиваться почечная недостаточность, афония, гипотензия, сердечная недостаточность, гипотермия («холерный алгид»). При неправильном лечении летальность при алгиде достигает 60%.

Иммунитет. Гуморально-клеточный. При выздоровлении возникает напряженный непродолжительный иммунитет. Существует индивидуальная предрасположенность к холере.

Микробиологическая диагностика. *В* основе диагностики лежат выделение и идентификация возбудителя. Материалом для исследования могут быть выделения от больных и носителей (испражнения, рвотные массы, желчь), объекты окружающей среды (вода, пищевые продукты, белье, сточные воды, гидробионты, смывы с объектов окружающей среды и др.).

Для экспресс-диагностики используют РИФ, ПЦР. Бактериоскопический метод в настоящее время не используется.

Лечение проводится в двух направлениях:

а) регидратация (восполнение потерь жидкости и электролитов введением изотонических, апирогенных солевых растворов, а также плазмозаменяющих жидкостей внутривенно или *per os);*

б) антибактериальная терапия (антибиотики широкого спектра действия: тетрациклины, хлорамфеникол, а также фторхинолоны).

Профилактика. Учитывая фекально-оральный механизм передачи инфекции, основу профилактики составляют мероприятия, направленные на разрыв путей передачи (предупреждение заноса инфекции на территорию страны, санитарно-просветительная работа с населением, обеспечение населения доброкачественной питьевой водой, канализацией, пищевыми продуктами, дезинфекцией и т.п.). Важно обеспечение населения современной

и полноценной медицинской помощью (выявление, диагностика, госпитализация, лечение, карантин). Менее важным является экстренная профилактика антибиотиками широкого спектра действия, а также вакцинопрофилактика. Современная вакцина представляет собой комплексный препарат, состоящий из холероген-анатоксина (70%) и химического О-антигена (30%) обоих био-варов и сероваров Огава и Инаба. Прививка обеспечивает выработку вибриоцидных антител и антитоксинов в высоких титрах.

Вакцинация населения проводится по эпидемическим показаниям.

Вибрионы парагемолитические (род Vibrio)

Патогенные свойства других бактерий, относящихся к этому роду, недостаточно изучены. В табл. 17.12 приведены основные свойства представителей рода *Vibrio,* имеющие медицинское значение. Однако, наибольший интерес представляют *V. parahaemolyticus* и *V. vulnificus.*

Vibrio parahaemolyticus. Галофильный вибрион, часто (до 20% всех диарей) вызывает острые диареи в Японии, других странах Юго-Восточной Азии, в Латинской Америке. Заражение происходит при употреблении в пищу гидробионтов (устрицы, крабы, рыбы и т.д.), приготовленных с нарушением технологии (недостаточная термическая обработка).

Возбудитель вырабатывает энтеротоксин, похожий на холерный экзотоксин (холероген).

У половины заразившихся наблюдаются клинические проявления болезни: сильные боли в животе, водянистая обильная диарея. У детей и пожилых людей (с сопутствующей патологией) могут быть летальные исходы. Диагностика такая же, как при холере. На TCBS-агаре возбудитель образует зеленоватые колонии, так как не ферментируют сахарозу и способен утилизировать орнитин.

Vibrio vulnificus часто встречается в морской воде и в устьях рек Тихоокеанского и Атлантического побережий. Особенно часто обнаруживается в гидробионтах («природных фильтрах») – устрицах, мидиях, гребешках и др. После употребления в пищу моллюсков у лиц с заболеваниями печени, почек, с сахарным диабетом могут развиваться буллезные поражения кожи с тяжелой клиникой и высокой летальностью. При купании в контаминированной воде через поврежденную кожу может проникать возбудитель и вызывать раневую инфекцию (целлюлиты, миозиты), похожие на газовую гангрену.

Среди факторов патогенности V. vulnificus необходимо отметить капсулу, защищающую бактерий от фагоцитоза и комплекс ферментов (цитотоксин – гемолизин, эластазу, коллагеназу, фосфолипазы).

Диагноз ставят бактериологически (как при холере) с высевом на TCBS-агар (образует желтые колонии, так как ферментирует сахарозу) и по ферментации лактозы. Лечение включает интенсивную антибактериальную терапию (гентамицин, тетрациклин, левомицетин). Остальные виды рода *Vibrio* сходны по морфологии и физиологии. Встречаются в природе редко, малоопасны для человека, редко идентифицируются в микробиологических лабораториях.

Представители родов *Aeromonas, Plesiomonas*

Биологические свойства. Бактерии рода *Aeromonas* представляют собой подвижные коккобациллы размером 1,0+3,5х0,3-И,0 мкм, с одним полярным жгутиком. В мазках располагаются одиночно, парами, короткими цепочками. Хемоорганотрофы. Метабо-

лизм окислительный и бродильный. Температурный оптимум 22–28 °С, большинство растет при 37 °С. Оксидаза- и каталазаположительны. Разжижают желатин, восстанавливают нитраты, продуцируют ДНКазу, органилдегидролазу, уреазу. Устойчивы к вибриоциду 0/129. Обитают в пресной и морской воде, в сточных водах. Род *Aeromonas* включает в себя виды *A. hydrophila* и *A. veronii.* Типовой вид *A. hydrophila* патогенен для рыб и амфибий; для человека условно-патогенны: у лиц с иммунодефицитами могут вызывать гастроэнтериты.

Эпидемиология. Поскольку аэромонады встречаются в пресной и морской воде и патогенны для гидробионтов, человек может заразиться при проведении ремонтных работ в мелиоративных системах и при купании. Возбудитель проникает через поврежденную кожу и вызывает раневые инфекции (целлюлиты, мионекрозы). При наличии заболеваний желудочно-кишечного тракта, печени, в случае проглатывания инфицированной воды при купании, могут возникнуть гастроэнтериты.

Патогенез. *A. veronii* и *A. hydrophila* образуют холероподобный токсин (токсин Азао), индуцирующий обильную водянистую диарею с болями в животе. К факторам патогенности можно отнести внеклеточные ферменты: протеазы, амилазы, липазы, нуклеазы.

Клиника. Аэромонады могут вызывать: 1) раневые инфекции при контакте инфицированной водой, почвой в теплый сезон; 2) диареи, регистрируемые в теплый сезон (купальные вспышки); 3) септицемии, обычно наблюдающиеся после раневых инфекций (мионекроз, целлюлит); 4) редко наблюдают внутрибрюшинные абсцессы, перитониты, эндокардиты, пневмонии.

Микробиологическая диагностика. Бактериологическая диагностика основана на выделении и идентификации возбудителя. Материалом для исследования служат испражнения или ректальные мазки, кровь, раневое отделяемое. Аэромонады хорошо растут на обычных средах; на кровяном агаре с ампициллином (10 мкг/л) образуют зоны р-гемолиза; большинство аэромонад не ферментируют лактозу (агар Плоскирева). Дифференциацию аэромонад проводят на средах для идентификации энтеробактерий. В отличие от последних, они оксидазаположительны, устойчивы к вибриоциду О/129 (что отличает их от вибрионов) и образуют индол (что отличает их от псевдомонад).

Лечение и профилактика. Обычно диареи, вызываемые аэромонадами, не требуют этиотропного лечения (только симптоматическое). Другие формы болезни требуют антибактериальной терапии. Возбудители обычно резистентны к пенициллинам и цефалоспоринам I и II поколений; чувствительны к аминогликозидам, фторхинолонам и цефалоспоринам III поколения.

Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика носит санитарно – просветительный характер.

Таблица 17. 12.

Представители рода Vibrio, имеющие медицинское значение (кроме V. choierae)

Название видов	Эпидемиология	Клинические проявления
V. parahaemolyticus	Распространен повсеместно в пресной и морской воде. Заболевание эпидемично в Японии и в других странах Юго-Восточной Азии, заражаются при употреблении сырых морских продуктов и при купании	Острый гастроэнтерит, раневая инфекция

V. vulnificus	Распространен в прибрежных водах морей и устьях рек; заражаются при употреблении гадробионтов (устриц, рыб, крабов) и при купании	Энтерит, целюлит, септицемия
V. alginolyticus	Распространен в морской воде; заражение происходит (через поврежденные кожные покровы) при купании	Раневая инфекция, поражение мягких тканей
V. minicus	Распространен в прибрежных водах морей; заражение происходит при употреблении сырых гидробионтов (устрицы и др.)	Диарея
V. hollisae	Распространен в прибрежных водах Атлантического и Тихоокеанского побережья США; заражаются при употреблении сырых гидробионтов	Диарея, гастроэнтерит, патогенность предполагается
V. furnissii	Распространен в морской воде и устьях рек стран Ближнего Востока и Юго-Восточной Азии; заражаются при купании (через поврежденную кожу) и при употреблении гадробионтов.	Диарея, гастроэнтерит, поражение мягких тканей
V. fluviales	Распространен повсеместно, эндемичен в Бангладеш, США; заражаются при употреблении сырых гидробионтов и при купании в контаминированной воде	Холероподобный гастроэнтерит
V. damasela	Распространен в морской воде, заражение происходит через поврежденную кожу при купании в контаминированной воде	Раневая инфекция
V. metschnicovi	Распространен повсеместно в пресной и морской воде; заражаются при употреблении сырых гидробионтов и при купании	Инфекции мочевого тракта, перитониты, раневая инфекция

Плезиомонады (род *Plesiomonas*)

К роду *Plesiomonas* относится единственный (типовой) вид – *Plesiomonas shigelloides* (ранее входил в семейство *Enterobacteriaceae*). Его образуют прямые подвижные (лофотрихи) палочки размером 3,0х0,8+1,0 мкм. Хемоорганотрофы. Метаболизм ферментативный и окислительный. Температурный оптимум 30 °С. Углеводы. Ферментируют с образованием кислоты (но не газа). Оксидаза- и каталазаположительны. Образуют индол, восстанавливают нитраты, реакция Фогеса–Проскауэра отрицательна, образуют орнитин и лизин, декарбоксилазу и аргинин, дегидролазу. Большинство штаммов чувствительны к вибриоциду 0/129.

Выделяются из гидробионтов (моллюски, рыбы) и млекопитающих. У человека могут вызывать диареи.

Плезиомонады встречаются в почве и в поверхностных слоях пресноводных водоемов, в устьях субтропических и тропических рек. В теплый сезон их можно выделить из

морской воды. Бактерии можно обнаружить в амфибиях, рептилиях, свиньях, коровах, курах, кошках, собаках. В тропиках их можно обнаружить в моллюсках, рыбах. Человек заражается, употребляя в пищу контаминированную воду, сырых моллюсков, неправильно приготовленных ракообразных, мясо птицы. Заболевание регистрируется редко.

К факторам патогенности относятся цитотоксины и энтеротоксин, похожие на холероген, а также адгезины (обеспечивающие колонизацию тонкого кишечника); жгутики и эндотоксин.

Плезиомонады вызывают гастроэнтериты, реже – внекишечные поражения (на фоне иммунодефицита). Обычно заболевания встречаются редко и протекают легко (хотя не исключены кровавые диареи). У иммуноде-фицитных больных могут быть менингиты, септицемии, артриты, холециститы и т.п. ; особенно тяжело протекают менингиты у новорожденных (летальность – до 80%).

Микробиологическая диагностика. Основана на выделении и идентификации возбудителя. Исследуемый материал – испражнения или ректальные мазки, при внекишечных локализациях – мазки из очагов поражений. Возбудитель хорошо растет на простых средах.

На кровяном агаре вырастают серые, мутные негемолизирующие S-колонии, на среде Плоскирева – лактозаотрицательные колонии. Идентификация возбудителя проводится по биохимическим тестам для энтеробактерий.

Для лечения рекомендуется антибиотикотерапия. Возбудитель обычно чувствителен к большинству антибиотиков широкого спектра действия, устойчив к пенициллинам.

СЕМЕЙСТВО PASTEURELLACEAE

В семейство *Pasteurellaceae* входят гемофильные бактерии (род *Haemophilus)* и пастереллы (род *Pasteurella).*

Гемофильные бактерии (род Haemophilus)

В группу гемофильных бактерий объединены мелкие, грамотрицательные бактерии, которые способны расти только на обогащенных питательных средах, содержащих цельную или лизированную кровь или ее производные в качестве факторов роста (см. ниже). В названии рода *Haemophilus* отражена зависимость этих бактерий от крови при росте на искусственных питательных средах (от греч. *haima* – кровь, *philos* – любить). Многие микроорганизмы этого рода в норме обитают на слизистых оболочках дыхательных путей человека.

Наиболее важными патогенами для человека являются *Haemophilus influenzae,* преимущественно типа Ь, вызывающие инфекции с респираторным механизмом заражения (менингиты, синуситы, бронхиты и др.), а также возбудитель мягкого шанкра *H. ducreyi.*

Haemophilus influenzae

Гемофильные палочки впервые были выделены русским бактериологом М.И. Афанасьевым в 1891 г. и позднее, в 1892 г., немецким бактериологом Р. Пфейффером от больных, умерших от гриппа. Поэтому *H. influenzae* долгое время считали возбудителем гриппа; в связи с чем, эти бактерии носили названия «палочка инфлюэнцы» (от англ. *influenza* – грипп) или «палочка Пфейффера».

Таксономическое положение. Бактерии рода *Haemophilus* относятся к семейству *Pasteurellaceae* и насчитывают около 20 видов. Наибольшее значение в патологии человека имеют *H. influenzae* (в том числе, биовар *aegyptius)* и *H. ducreyi.*

Морфология и тинкториальные свойства. Гемофилы представляют собой мелкие грамотрицательные сферические, овоидные или палочковидные бактерии, иногда образующие пары, короткие цепочки или нити. Такое свойство микробов принято называть «плеоморфизмом». Морфология этих бактерий зависит от возраста чистой культуры или типа питательной среды. Гемофильные бактерии неподвижны, спор не образуют, имеют пили (фимбрии). Образование капсулы является непостоянным признаком и ее обнаружение может служить своеобразным маркером вирулентности штамма (см. далее).

Культуральные свойства. Гемофильные бактерии – факультативные анаэробы, однако, лучше растут в аэробных условиях. Практически все виды нуждаются в готовых факторах роста, присутствующих в крови: X-факторе (протопорфирин IX в составе гематина или гемина), а также V-факторе (никотинамидадениндинуклеотид – НАД или НАД-фосфат – НАДФ). Это связано с тем, что гемофилы не способны синтезировать гем, входящий в состав ферментов дыхательной цепи, и/или НАД (НАДФ), являющийся кофактором окислительно-восстановительных ферментов.

Для культивирования гемофильной палочки применяют шоколадный агар – питательную среду коричневого цвета, которую получают путем прогревания кровяного агара при 80 °С в течение 15 мин. В результате нагревания, происходит гемолиз и высвобождение из эритроцитов гемина и НАД. Оптимальная температура роста бактерий 35–37 °С. Колонии появляются через 36–48 ч. Для *H. influenzae* характерна способность к образованию R- и S-форм колоний (R-, S-диссоциация). Слизистые, более крупные (3–4 мм в диаметре), радужные S-формы колоний характерны для капсульных штаммов. Слабовирулентные бескапсульные варианты гемофильной палочки образуют R-колонии – более мелкие (около 1 мм), мелкозернистые, с неровными краями.

Для гемофильных бактерий характерен так называемый «феномен кормушки» или «феномен сателлита», который проявляется в их способности расти на кровяном агаре вокруг колоний стафилококков или других бактерий, продуцирующих НАД или вызывающих осгемолиз. Для самих гемофильных палочек, способность вызывать гемолиз не характерна. Таким образом, мелкие радужные колонии гемофильных бактерий могут быть обнаружены на кровяном агаре в зоне гемолиза, образуемой *S. aureus.*

Идентификация гемофильных палочек основана на их потребности в факторах роста (табл. 17.13) и некоторых биохимических тестах.

Биохимическая активность. Гемофильные бактерии – хемоорганотрофы. Метаболизм дыхательный и бродильный. Утилизируют глюкозу до кислоты, восстанавливают нитрат до нитрита. Другие углеводы ферментируют плохо. *H. influenzae* разделяют на 8 биоваров (I–VIII), в зависимости от их способности продуцировать индол, уреазу, орнитиндекар-боксилазу. Кроме того, вид *H. influenzae* включает биовар *aegyptius* (табл. 17.14). Каталазная и оксидазная активность у различных видов гемофильных бактерий – вариабельный признак.

Антигенные свойства. *H. influenzae* обладают соматическим О-антигеном и капсульным полисахаридным К-антигеном. Различают 6 серотипов *H. influenzae* (a, Ь, c, d, e, f), в зависимости от особенностей строения кап-сульного антигена. Капсульный антиген гемофильной палочки серотипа b представляет собой полимер рибозы и рибитола – полирибозорибитол фосфат (PRP). Капсульные варианты гемофилов могут быть типированы с помощью теста «набухания капсулы» или РИФ с помощью специфических сывороток. Большинство вариантов *H. influenzae,* представителей нормальной микрофлоры верхних отделов респираторного тракта, являются бескапсульными формами, которые принято называть «нетипируемыми».

Факторы вирулентности. Ведущим фактором вирулентности *H. influenzae* является

капсула, которая защищает бактерии от фагоцитоза, обеспечивает выживаемость бактерий в организме и способствует распространению инфекции. Штаммы, имеющие капсулу (преимущественно типа b), вызывают наиболее тяжело протекающие инфекции.

Гемофильные палочки могут продуцировать ***IgA-протеазу,*** способную инактивировать секреторные антитела. ***Пили*** и ***IgA-протеаза*** возбудителя играют ведущую роль в прикреплении микроорганизмов к эпителию респираторного тракта и его колонизации.

Экзотоксин *H. influenzae* не продуцирует. ЛПС наружной мембраны играет роль эндотоксина, участвуя также в процессах адгезии и инвазии гемофильной палочки. ***Эндотоксин*** может также вызывать паралич ресничек мерцательного эпителия респираторного тракта человека, способствуя тем самым, микробной колонизации верхних дыхательных путей.

Резистентность. Бактерии малоустойчивы в окружающей среде: быстро погибают, находясь вне организма человека. Гемофилы довольно чувствительны к нагреванию и обычным дезинфицирующим средствам. Однако, у *H. influenzae* выявлена способность к продукции β-лактамаз, что обуславливает их высокую устойчивость к некоторым (β-лактамным) антибиотикам.

Эпидемиология. *H. influenzae* патогенны только для человека.

Источник инфекции – человек, больной или бактерионоситель. Бескапсульные маловирулентные штаммы способны в норме колонизировать слизистые оболочки верхних дыхательных путей здоровых детей (около 60–90%) и взрослых (около 35%). Однако, и имеющие капсулу штаммы *H. influenzae* типа b выделяются из носоглотки у 2% бессимптомных носителей.

Ведущий механизм заражения гемофильной инфекцией – респираторный, путь передачи – воздушно-капельный (при распылении капель секрета верхних дыхательных путей при кашле, разговоре, чихании).

Наиболее подвержены гемофильной инфекции дети в возрасте от 2 месяцев до 6 лет. Однако, менингиты и септицемии, вызванные *H. influenzae* типа b, чаще встречаются у детей от 6 месяцев до 2 лет. Пневмонии, синуситы и другие инфекции дыхательных путей встречаются также и у пожилых людей, пациентов с хронической легочной паталогией, со сниженным иммунитетом, а также у курильщиков.

Патогенез. Проникая через верхние дыхательные пути, *H. influenzae* прикрепляется к мерцательному эпителию и колонизирует его. Бескапсульные варианты гемофильных бактерий часто остаются во входных воротах инфекции, не вызывая симптомов заболевания (бессимптомное носительство). Тем не менее, у людей со сниженным иммунитетом они способны проникать в подслизистый слой и с помощью эндотоксина, вызывать местные ГВЗ – средние отиты (поражение среднего уха), синуситы (воспаление придаточных пазух носа), ларинготрахеиты, бронхиты, пневмонии.

H. influenzae, преимущественно типа b, может распространяться в организме гематогенно, вызывая септицемию, септический артрит, эндокардит. После проникновения через гематоэнцефалический барьер, капсульные варианты гемофильной палочки вызывают тяжелые гнойные менингиты. Поражение мозга является следствием воспалительной реакции в ответ на инвазию возбудителя. Воспалительный экссудат накапливается в спинномозговом канале и желудочках мозга и служит хорошей питательной средой для гемофильной палочки, способствуя ее размножению. Нарушение оттока жидкости из субарахноидального пространства приводит к повышению внутричерепного давления, субдуральному отеку, а васкулит и тромбофлебит мягкой мозговой оболочки ведут к некротическим изменениям мозговой ткани. Гнойный менингит, вызванный *H. influenzae* типа b, заканчивается летально в 5% случаев, даже при проведении адекватной терапии.

H. influenzae типа b является также возбудителем острого бактериального эпиглотти-

та (воспаление надгортанника) у детей 2–5 лет, который приводит к нарушению проходимости дыхательных путей и асфиксии.

Клиника. Клиническая картина заболевания определяется локализацией воспалительного процесса. Симптомы менингита, вызванного гемофильными бактериями, не отличаются от таковых при менингококковой или пневмококковой инфекциях, поэтому диагностика базируется, главным образом, на выделении и идентификации возбудителя. Гнойные поражения твердой и мягкой мозговых оболочек приводят к тяжелым осложнениям – потере зрения, глухоте, гидроцефалии, слабоумию.

У детей возможны фулминантные молниеносные формы ларинготрахеита и эпиглоттита с отеком гортани, требующие срочной трахеотомии и интубации.

По данным мировой статистики, гемофильная инфекция занимает одно из первых мест, среди причин детской смертности. Летальность при гнойном менингите, сепсисе и эпиглоттите в отсутствие адекватного лечения, составляет 90%.

Иммунитет. В течение первых 3–6 месяцев жизни, дети защищены от инфекции материнскими IgG, полученными пассивно через плаценту. Поэтому в этом возрасте заболевания редки, а пик заболеваемости гемофильной инфекцией (в особенности типа Ь) приходится на возраст от 6 месяцев до 2 лет, когда концентрация материнских IgG снижается, а ребенок не способен самостоятельно синтезировать необходимое количество антител к полисахаридному капсульному антигену *H. influenzae.* Это объясняется тем, что полирибозорибитолфосфат капсульного антигена типа b является Т-независимым антигеном, антитела к которому образуются без участия Т-хелперов. У младенцев способность синтезировать антитела к таким антигенам снижена. Антитела же против других антигенов *H. influenzae* не способны опсонизировать капсульные штаммы гемофильной палочки.

Иммунитет после перенесенной гемофильной инфекции мало изучен. Однако, известно, что к 5–6 годам в сыворотке крови многих детей (даже не иммунизированных и не переболевших) имеются естественно приобретенные протективные антитела против капсульного антигена *H. influenzae* типа b (анти-PRP антитела). Тем не менее, пневмония и артрит, вызванные *И. influenzae,* могут развиваться у взрослых в присутствии таких антител.

Микробиологическая диагностика. *Материал для исследования* – мазок из носоглотки, кровь, мокрота или ликвор. При отитах или синуситах исследуют также гнойное отделяемое, а при септических артритах – суставную жидкость.

Методы диагностики. Микроскопическое исследование малоинформативно, однако, применяется при гнойном менингите (изучение мазков из цереброспинальной жидкости, окрашенных по Граму). Для ускоренной диагностики и дифференциации гемофильной палочки от других возбудителей менингита используют серологические тесты с целью обнаружения Ь-капсульного антигена *H. influenzae:* встречный иммуноэлектрофорез, прямую РИФ или реакцию латекс-агглютинации с анти-b-антителами. При высокой концентрации возбудителя в исследуемом материале возможна также постановка «теста набухания капсулы».

Для выделения и идентификации возбудителя из материала от больных применяют бактериологический метод исследования. Посев для выделения гемофилов производят на шоколадный или кровяной агар (как описано выше) и инкубируют до появления колоний в течение 24–48 ч. Я. *influenzae* дифференцируют от других близкородственных грамнегативных палочек по их потребности в X- и V-факторах роста, отсутствию гемолиза на кровяном агаре и другим тестам.

Лечение. Проводят с помощью антибиотиков. Для антимикробной терапии «гемофильного менингита», важным принципом выбора антибиотика является его способность накапливаться в ликворе. В отсутствие адекватного лечения, уровень летальных исходов состав-

ляет около 90%, причем, смерть может наступить в первые 24 ч от начала заболевания. Поэтому, лечение назначают эмпирически, до получения результатов антибиотикограммы. Препаратами выбора являются цефалоспорины III поколения (например, цефтриаксон, цефотаксим). Многие штаммы *H. influenzae* типа b чувствительны к ампициллину, но около 25% продуцируют Р-лактамазу, которая контролируется трансмиссивной плазмидой.

При синуситах, отитах и других инфекциях дыхательных путей, вызванных гемофилами, назначают 3-лактамные антибиотики с ингибиторами (3-лактамазы (например, амоксициллин с клавулановой кислотой) или бисептол.

Профилактика. Для создания искусственно приобретенного активного иммунитета против Я. *influenzae* типа b, применяют субкорпускулярную вакцину, содержащую очищенный капсульный антиген (RPR). Однако, ввиду низкой иммуногенности этого препарата, его назначают только детям старше 1,5 лет.

Для повышения эффективности вакцинации против *H. influenzae* b-инфекции, предложено использовать конъюгированные вакцины, содержащие RPR-антиген на белке-носителе. В качестве таких носителей применяют дифтерийный, либо столбнячный анатоксины или белки наружной мембраны менингококка группы В (комбинированная вакцина для профилактики менингококкового и гемофильного менингитов). Схема вакцинации предусматривает повторное многократное введение препарата детям, начиная с 2–3-месячного возраста, вместе с введением АКДС, а также вакцин против гепатита В и полиомиелита.

Массовая вакцинация против гемофильной инфекции за рубежом позволила значительно снизить частоту развития менингитов гемофильной этиологии у детей. Применение вакцины, однако, не защищает от носительства гемофильных палочек. В России отечественной вакцины нет, но разрешены к применению зарубежные препараты. Иммунизация против гемофильной инфекции в России пока не включена в календарный план обязательной вакцинации детей.

Пассивная иммунизация с помощью донорских сывороточных препаратов, содержащих высокие концентрации IgM, может быть назначена детям со слабым иммунным ответом на вакцину и иммунодефицитным лицам.

Контакт с пациентами, страдающими гемофильной инфекцией, малоопасен для взрослых, но представляет определенный риск для неиммунизированных детей. Поэтому, детям в возрасте до 4 лет, находившимся в тесном контакте с больным, а также для санации бактерионосителей рекомендуется введение рифампицина с профилактической целью. Рифампицин выделяется со слюной, что уменьшает концентрацию возбудителя в верхних дыхательных путях, снижая тем самым, риск распространения возбудителя в популяции. Однако, злоупотреблять химиопрофилактикой гемофильной инфекции не следует из-за возможности развития лекарственной устойчивости *H. influenzae.*

Haemophilus influenzae биовар aegyptius

H. influenzae биовар *aegyptius* (прежнее название – *H. aegyptius)* был выделен Р. Кохом в 1883 г. в Египте от больного с гнойным конъюнктивитом. Эти бактерии принято называть «бацилла Коха–Уикса» или «*H. influenzae* биотип III».

Морфологические, тинкториальные и культуральные свойства этих бактерий не отличаются от таковых *H. influenzae.* **Биохимические признаки** для их дифференциации приведены в табл. 17.14.

H. influenzae биовар *aegyptius* вызывает гнойный конъюнктивит с высокой контагиоз-

ностью, распространенный повсеместно. Передается от человека к человеку контактным путем, через грязные руки, полотенце, контактные линзы, косметику (тушь для ресниц), а также иногда респираторно. Инкубационный период составляет 1–3 дня.

Полагают также, что биовар *aegyptius* гемофильной палочки вызывает пурпурную (красную) бразильскую лихорадку – тяжелое инфекционное заболевание детей, которое характеризуется лихорадкой, пурпурой, шоком и заканчивается гибелью больного. Механизм заражения бразильской лихорадкой – респираторный.

При конъюнктивите исследуют мазок со слизистой оболочки глаз или гнойное отделяемое. **Для диагностики** бразильской лихорадки берут кровь пациента. Применяют бактериоскопический и бактериологический методы исследования. Идентификацию возбудителя проводят с помощью реакции агглютинации со специфической сывороткой. **Для лечения** применяют антибиотики, при конъюнктивите антибиотики назначают местно – мази и глазные капли с тетрациклином, аминогликозидами и сульфаниламидами. **Специфическая профилактика** не разработана.

Haemophilus ducreyi

Возбудитель мягкого шанкра был выделен русским врачом О. В. Петерсеном (1887), а подробно описан итальянским венерологом А. Дюкре (1890).

Мягкий шанкр (син. шанкроид) – это венерическое (сексуально-трансмиссивное) заболевание, симптомы которого напоминают сифилис.

Источником инфекции является больной человек. Механизм заражения – контактный, путь инфицирования – половой и контактно-бытовой. Заболевание довольно распространено в странах Африки и Южной Америки.

Инкубационный период составляет 3–5 дней, однако, первые симптомы заболевания (красное пятно в месте проникновения возбудителя) можно наблюдать уже в первые сутки после инфицирования. Характерные для шанкроида поражения появляются в очаге инвазии возбудителя: на гениталиях или иногда – экстрагенитально, в результате аутозаражения. Локально процесс представляет собой мягкую шероховатую язву со значительным отеком. Регионарные лимфоузлы увеличены и болезненны. Мягкий шанкр отличается от твердого шанкра при сифилисе болезненностью при пальпации и кровоточивостью. Язва заживает медленно и существует риск проникновения возбудителя в кровоток. Заболевание необходимо дифференцировать с сифилисом, простым герпесом и венерической лимфогранулемой.

Иммунитет после перенесенного заболевания не вырабатывается.

Микробиологическая диагностика. Основана на обнаружении мелких грамотрицательных палочек в отделяемом из язвы, обычно в ассоциации с другими гноеродными микробами. При бактериологическом исследовании определяют потребность *H. ducreyi* в факторах роста (требует X-фактор, но не нуждается в добавлении V-фактора). Растет на шоколадном агаре, содержащем ванкомицин (3 мкг/мл), при температуре 33 °С в атмосфере с 10% CO_2 *H. ducreyi* образуют мелкие сероватые колонии без гемолиза.

В некоторых странах для идентификации возбудителя применяют ПЦР. С этой целью также исследуют содержимое язвы.

Лечение. Проводят с помощью антибиотиков: назначают внутримышечно цефтриаксон, перорально триметоприм – сульфометоксазол (бисептол) или эритромицин в течении 2 недель. Тетрациклин, сульфаниламиды и пенициллин, в настоящее время, не применяют из-за формирования у *H. ducreyi* устойчивости к ним.

Специфическая профилактика. Не разработана.

Другие виды бактерий рода Haemophilus

H. parainfluenzae напоминает *H. influenzae* и является обычным обитателем респираторного тракта человека. Не нуждается в X-факторе для роста. Вирулентность значительно ниже, чем у *H. influenzae,* но иногда этот возбудитель выделяется от больных с пневмонией, при инфекционном эндокардите и уретрите.

H. haemoglobinophilus нуждается в X-факторе *и* не требует V-фактора; вызывает заболевания у собак, для человека непатогенна.

H. haemolyticus встречается в норме в носоглотке человека и может вызывать инфекции верхних дыхательных путей у детей.

H. aphrophilus является представителем нормальной микрофлоры полости рта и респираторного тракта и иногда обнаруживается в материале от больных при инфекционном эндокардите и пневмонии. По своим свойствам напоминает бактерии рода *Actinobacillus,* которые также относятся к семейству *steurellaceae* вызывает заболевание, симптомы которого напоминают актиномикоз.

Таблица 17. 13.

Герметика потребности бактерий рода Haemophilus в факторах роста

Вид	Потребность в факторах роста		Способность к гемолизу
	X-фактор	V-фактор	
H. influenzae (в том числе, H. influenzae биовар aegyptius)	+	+	–
H. parainfluenzae	–	+	–
H. ducreyi	+	–	–
H. haemolyticus	+	+	+
H. parahaemolyticus	–	+	+
H. aphrophilus	–	–	–

Примечание. «+» – наличие признака; «–» – отсутствие признака; X – гемин; V – никотинамидадениндинуклеотид

Таблица 17. 14.

Дифференциация биоваров H. influenzae

Признак	Биовары *H. influenzae*								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	gyptius
Образование индола	+	+	–	–	+	–	+	–	–
Уреазная активность	+	+	+	+	–	–	–	–	+
Орнитиндекарбоксилаза	+	–	–	+	+	+	–	–	–
D-ксилоза	+	+	+	+	+	+	+	+	–

Пастереллы (род *Pasteurella*)

Род *Pasteurella* включает группу бактерий, преимущественно патогенных для животных, которые могут также обнаруживаться на слизистых оболочках верхних дыхательных путей и пищеварительного тракта человека. Первоначально к этому роду относили также все иерсинии и франциселлы.

Некоторые виды пастерелл вызывают болезни человека. Это – бактериальные зоонозные инфекционные заболевания с контактным механизмом передачи, которые носят локальный характер и характеризуются поражением наружных покровов *и* лимфаденитами.

Таксономическое положение. Бактерии рода *Pasteurella* относятся к семейству *Pasteurellaceae*. Род *Pasteurella* включает 4 вида бактерий: *P. multocida, P. haemolytica, P. pneumotropica* и *P. ureae*.

Морфологические и тинкториальные свойства. Пастереллы – это мелкие неподвижные грамотрицательные коккобактерии сферической или овальной формы, а также палочки, располагающиеся одиночно, попарно или реже, в коротких цепочках. Пастереллы обычно окрашиваются биполярно, особенно в препаратах, приготовленных из инфицированных тканей животных.

Культуральные и биохимические свойства. Пастереллы – факультативные анаэробы, которые хорошо растут на обычных питательных средах при температуре 37 °С. Все они оксидаза- и каталаза-позитивные, ферментируют глюкозу до кислоты (без газообразования), восстанавливают нитрат до нитрита. Внутри рода бактерии различаются по биохимической активности.

Антигенные свойства. Мало изучены. У пастерелл имеется О-антиген, как и у прочих грамотрицательных бактерий.

Факторы патогенности. Пастереллы, подобно франциселлам и иерсиниям, являются факультативными внутриклеточными паразитами. Среди факторов патогенности следует отметить наличие ***эндотоксина.***

Эпидемиология. Ведущий механизм заражения человека при инфекциях, вызванных пастереллами, – контактный, путь – раневой при укусе животных.

Резервуаром возбудителя являются различные виды диких и домашних животных и птиц. *Pasteurella multocida* вызывает геморрагическую септицемию различных животных (лошадей, овец, свиней, кур, кроликов, кошек и др.); холеру птиц и пневмонию сельскохозяйственных животных. Бактерии этого вида распространены повсеместно. Выделяют их из респираторного и пищеварительного тракта многих домашних и диких животных. Этот микроорганизм иногда обнаруживается в составе нормальной микрофлоры человека. *P. multocida* может также вызывать заболевания различных органов у человека и является наиболее частым микроорганизмом, обнаруживаемым в ране у человека, нанесенной кошкой или собакой при укусе.

Pasteurella haemolytica обнаруживается в верхних отделах респираторного тракта крупного рогатого скота, овец, свиней, лошадей и кур. Вызывает пневмонию и «транспортную лихорадку» у крупного рогатого скота, овец и коз. *P. haemolytica* является частой причиной эпизоотии пневмонии крупного рогатого скота и овец или куриной холеры у цыплят и индеек, приводящих к большим экономическим потерям. Инфекции человека вызывает редко.

Pasteurella pneumotropica – нормальный обитатель респираторного тракта и кишечника мышей и крыс, может вызывать пневмонию и сепсис при дисбактериозе у грызунов. Некоторые инфекции человека могут быть связаны с укусами животных.

Pasteurella ureae редко обнаруживается у животных, но встречается в ассоциации с другими микроорганизмами при хронических респираторных заболеваниях и других гнойных инфекциях человека.

Клиника. Наиболее часто проявление инфекции, вызванной бактериями рода *Pasteurella,* связано с укусом животного. Инкубационный период 1–5 дней. Заболевание характеризуется острым началом с покраснением, отеком и болью в очаге в первые часы после укуса. Возможна регионарная лимфаденопа-тия, температура тела повышается незначительно.

Иногда бактериемия или хроническая респираторная инфекция, вызванные пастереллами, развиваются без видимого контакта с животными. В этих случаях, возможный механизм заражения – аэрогенный.

Иммунитет. После перенесенного заболевания мало изучен.

Микробиологическая диагностика. Поскольку клиническая симптоматика заболеваний, вызываемых пастереллами неспецифична, микробиологическая диагностика позволяет помочь клиницистам в постановке правильного диагноза. Основной метод исследования – бактериологический. *Материал для исследования* – кровь, раневое отделяемое, мокроту – засевают на питательные среды, культивируют и проводят идентификацию выделенных микроорганизмов. Следует дифференцировать пастереллы и сходные с ними по ряду признаков бактерии родов *Haemophilus, Actinobacillus, Yersinia* и *Francisella.*

Лечение. Проводят с помощью антибиотиков (например, тетрациклинов).

Специфическая профилактика. Не разработана.

ДРУГИЕ РОДЫ

Возбудитель донованоза (род Calymmatobacterium)

Донованоз (гранулема венерическая, син. пятая венерическая болезнь) вызывается *Calymmatobacterium granulomatis* (палочка Арагана–Вианны). Характеризуется хроническим течением (инкубационный период – от одной недели до 3 месяцев), поражением кожи половых органов в виде неравномерных папилломатозных разрастаний эпидермиса и сосочкового слоя дермы, наличием язв. Передается половым, реже бытовым путем. Мужчины болеют чаще, чем женщины. Встречается, главным образом, в тропических и субтропических странах.

Бактерии рода *Calymmatobacterium* - плеоморфные палочки размером 0,5-5-1,5x1,0-5-2 мкм, с закругленными концами. Имеют капсулу, неподвижны. Могут выращиваться в желточном мешке куриного эмбриона или на средах, содержащих яичный желток.

Микробиологическая диагностика. Основывается на клинических и микроскопических данных. При микроскопии мазков из пораженных участков кожи, окрашенных по Романовскому–Гимзе, обнаруживают внутриклеточные бактерии (тельца Донована).

Лечение. Эффективны ампициллин, тетрациклины.

Профилактика. Не специфическая, такая же, как при гонорее.

Эйкенеллы (род Eikenella)

Представители нормальной микрофлоры человека, способные при определенных условиях вызывать гнойно-воспалительные процессы (абсцессы) различной локализации.

Таксономия. Род *Eikenella.* Вид *Eikenella corrodens.*

Морфология и тинкториальные свойства. Эйкенеллы – мелкие грамотрицательные палочки, размер 1,5–4 мкм. В мазке располагаются беспорядочно, могут образовывать короткие цепочки. Жгутиков не имеют, неподвижны, спор не образуют.

Культуральные и биохимические свойства. По типу дыхания эйкенеллы – факультативные анаэробы.

Оптимальная температура культивирования 35–37 °С. Требовательны к питательным средам. На жидких средах с добавлением холестерола или 3% сыворотки крови, дают скудный рост. Для выделения в аэробных условиях необходимо добавление к питательной среде гемина. На плотных средах образуют мелкие колонии, которые вырастают, как бы в углублениях среды. Культуры на плотных средах имеют запах хлорной извести. Рост микроорганизмов стимулирует повышение концентрации CO_2 до 5–10%.

Эйкенеллы обладают слабой ферментативной активностью. Разлагают лизин, восстанавливают нитраты в нитриты, дают положительную оксидазную реакцию. Не имеют уреазы и каталазы. Глюкозу *и* аргинин не разлагают, индол не продуцируют.

Факторы патогенности. Обладают слабой *гемолитической активностью* (гемолиз).

Распространение. Встречаются в полости рта и в кишечнике человека.

Могут вызывать оппортунистические инфекции, высеваются в ассоциациях с другими микробами при абсцессах головы, шеи, органов брюшной полости. Выделяются из крови при сепсисе.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования – гной, кровь, раневое отделяемое. Основной метод диагностики – бактериологический.

Лечение. Применяют антибиотики тетрациклинового ряда, цефалоспорины, аминогликозиды.

Специфическая профилактика. Не разработана.

17.3. Палочки грамотрицательные аэробные

Бордетеллы (род Bordetella)

Бордетеллы – это группа мелких грамотрицательных бактерий, обитающих в респираторном тракте человека и некоторых видов животных. Для человека патогенны *Bordetella pertussis, B.parapertussis,* которые вызывают коклюш и паракоклюш, соответственно. Возбудитель коклюша впервые был выделен из мокроты больного ребенка в 1906 г. бельгийским бактериологом Ж. Борде и французским ученым О. Жангу, отчего получил название «палочка Борде–Жангу». Современное название рода *Bordetella* – в честь Ж. Борде.

Возбудители коклюша **и паракоклюша – *B. pertussis и B. parapertussis***

Микробиологическая характеристика *Bordetella pertussis.*

Возбудитель коклюша – *Bordetella pertussis*, выделенный в 1906 г. J. Bordet и O. Gengou, относится к роду *Bordetella*, который включает также *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* и *B. avium*. В 1994–95 гг. появились публикации, в которых описывались новые виды бордетелл: *B. holmesii* и *B. hinzii*. Ранее существовало представление о *B. Parapertussis,* как о патогене исключительно человека, однако, в последующем он был выделен от здоровых и больных пневмонией ягнят. *B. pertussis* вызывает заболевание у человека, *B. bronchiseptica* – преимущественно у домашних животных (у человека всего в 0,1–0,5% случаев), *B. avium* – у птиц. *B. holmesii* (15 штаммов) была выделена из крови пациентов, у некоторых из которых, имелись нарушения функции иммунной системы. Штаммы *B. hinzii,* сходные с *B. avium*, были выделены из дыхательных путей индеек и цыплят, 2 штамма – из слюны и крови больного СПИДом.

Бордетеллы представляют собой мелкие (0,5–2,0?0,2–0,5 мкм) грамотрицательные коккобациллы. На плотных питательных средах образуют гладкие, влажные, выпуклые, ровные, блестящие колонии с жемчужным оттенком. Самые мелкие колонии (1–2 мм) характерны для *B. pertussis*, рост которых определяется через 48–72 ч (*B. parap-ertussis* – через 24–48 ч, *B. bronchiseptica* – 18–24 ч). *B. pertussis* неподвижна, обладает низкой ферментативной активностью (положительный тест на оксидазу). *B. parapertussis* также неподвижна, вырабатывает ферменты тирозиназу и уреазу (отрицательный тест на оксидазу). Наиболее активна *B. bron-chiseptica*: подвижна, вырабатывает уреазу, оксидазу, утилизирует цитраты, переводит нитраты в нитриты. Более того, *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica* менее прихотливы и растут на простом агаре, в то время, как для роста *B. pertussis* требуются сложные питательные среды. *B. bronchiseptica* и *B. avium* способны расти в фосфатно-солевом буфере и пресной воде, которые теоретически могут являться источниками инфекции.

Коклюшный токсин. К факторам патогенности *B. pertussis* относят, в первую очередь, *коклюшный токсин* (КТ). Он представляет собой экзотоксин – белок с молекулярной массой 117 кДа, состоящий из двух функциональных частей (А и В) и пяти структурных субъединиц. Участок А (соответствует субъединице S1) обладает ферментативной активностью и катализирует АДФ-зависимое рибозилирование трансдуцина – белка мембраны клетки-мишени, являющегося частью системы, ингибирующей клеточную аденилатциклазу. Нарушение контроля функционирования аденилатциклазы способствует накоплению цАМФ, что приводит к нарушению функции клеток-мишеней. Участок В состоит из субъединиц S2–S5 и отвечает за связывание токсина с рецепторами клеток-мишеней. В организме хозяина КТ, обладающий высокой иммуногенностью, приводит к развитию лимфоцитоза и повышает выработку инсулина. У пациентов с бактериологически подтвержденным диагнозом коклюша проверяли иммунный ответ на различные антигены *B. pertussis* в парных сыворотках. Наиболее выраженной, особенно у детей до 1 года, была реакция на КТ. В экспериментах на мышах показана протективная роль КТ. После аэрозольного заражения у животных вырабатывались антитела класса G к КТ (при минимальном уровне антител к другим антигенам *B. pertussis*), а после повторного заражения выздоровевших животных элиминация возбудителя происходила существенно быстрее, чем у мышей, иммунизированных бесклеточной вакциной, у которых на момент инфицирования преобладали антитела к *филаментозному гемагглютинину* (ФГА). С КТ связывают тяжесть заболевания и системные проявления при коклюше. Однако, в ряде исследований указывается на присутствие практически всех симптомов коклюша у больных паракоклюшем, при котором токсин не вырабатывается (отсутствие продукции токсина для исключения смешанной инфекции проверялось в эксперименте); единственным отличием является отсутствие лейкоцитоза при паракоклюше. В геноме каждую субъединицу токсина ко-дируетотдельный ген. Субъединицы S2 и S3 гомологичны на 70% по аминокислотному составу и на 75% по составу нуклеотидов. Экспрессия генов (как и других генов, кодирующих факторы вирулентности *B. pertussis*) регулируется двухкомпонентной сигнальной системой BvgAS. BvgA является транскрипционным активатором участков генома, кодирующих КТ и ФГА. Субъединицы синтезируются по отдельности, накапливаются в периплазме клетки, где и соединяются в токсин. При изучении штамма-мутанта с включением транспозона Tn5 в ген S3 оказалось, что остальные субъединицы продуцировались и накапливались в клетке, но не объединялись в токсин и не покидали клетку. Экспрессия токсина у этого штамма не была выявлена.

Филаментозный гемагглютинин. ФГА является поверхностным белком, который участвует в адгезии микроорганизма. Адгезия осуществляется с помощью лектиноподобных

участков, взаимодействующих с сульфатированными сахарами поверхностных гликоконъюгатов, и *арг-гли-асп* последовательности, которая распознает находящиеся на поверхности клеток человека белки-рецепторы из семейства интегринов. В экспериментах на животных ФГА не проявляет токсичности, при активной иммунизации мышей защищает их от последующего инфицирования. В исследованиях уровень антител к ФГА у иммунизированных школьников коррелировал со степенью защищенности их от коклюша. Экспрессия гена, кодирующего ФГА, регулируется BvgAS системой.

Агглютиногены и фимбрии. Агглютиногены являются поверхностными белками, которые стимулируют синтез антител, связывающихся с бактериальными клетками, что приводит к агглютинации. Всего у бордетелл выделено 16 агглютиногенов, из них 7-й является общим для всего рода *Bordetella*, а 1-й – основным для *B. pertussis*. В зависимости от наличия 2-го и 3-го агглютиногена выделяют 4 серотипа *B. pertussis*: 2,0; 0,3; 2,3; 0,0. Кроме того, у *B. pertussis* выделяют также 4-, 5-, 6-, 13-, 15- и 16-й агглютиногены. Общевидовым агглютиногеном для *B. bronchiseptica* является 12-й, для *B. parapertussis* – 14-й. Агглютиногены 8-, 9- и 10-й – общие для *B. bronchiseptica* и *B. parapertussis*, 11-й встречается только у *B. bronchiseptica*.

Агглютиногены тесно связаны с белками таких образований, как фимбрии (Fim). Существует несколько типов фимбриальных белков: Fim2, Fim3, FimX. Серотипирование *B. pertussis* основано на реакции агглютинации бактериальных клеток с моноклональными антителами к белкам фимбрий. Выделены эпитопы белков Fim2 и Fim3, которые ответственны за связывание антител, при этом максимальная активность иммуноглобулинов А и G связана с разными эпитопами. Фимбрии состоят из большой (Fim2 или Fim3) и малой субъединиц (FimD). Малая субъединица связывается с рецептором Vla-5 (интегрином), находящимся на поверхности моноцитов. Посредством большой субъединицы фимбрии *B. pertussis* связываются с сульфатированными сахарами, в том числе, с хондроитинсульфатом, гепарансульфатом и декстрансульфатом, имеющимися на поверхности эпителия во всех отделах дыхательных путей человека. Сравнительный анализ гепаринсвязывающего участка Fim2 и гомологичных участков Fim3 и FimX показал, что они совпадают по основным аминокислотам и тирозину. Основные участки, ответственные за связывание с гепарином, которые обнаружены в Fim2, входят в состав эпитопов, распознаваемых антителами человека и, следовательно, расположены на поверхности фимбрий и являются иммунодоминантными. Фимбрии *B. pertussis* обладают низкой перекрестной серологической реактивностью. В связи с этим, различия в первичной структуре гепаринсвязывающих участков фимбриальных белков Fim2, Fim3 и FimX могут влиять на связывание с антителами, но не с гепарином, позволяя микроорганизму избежать воздействия антител за счет переключения экспрессии фимбриального гена. В эксперименте на мышах показано, что иммунизация белками фимбрий 2-го и 3-го типа защищала мышей от последующего аэрозольного заражения *B. pertussis* и в значительно меньшей степени – от инфицирования *B. parapertussis*, что свидетельствует о различиях антигенного состава фимбрий этих двух видов бордетелл.

Аденилатциклазный гемолизин. Аденилатциклазный гемолизин представляет собой токсин, который обладает АДФ-рибозилирующей активностью и катализирует синтез цАМФ, что приводит к накоплению последнего в клетке и нарушению ее функций. Состоит из аденилатциклазного участка (N-конец), ответственного за инвазию в клетки (фагоциты) и расположенного на С-конце гемолизина, содержащего длинные богатые глицином повторы. Этот токсин является незаменимым фактором патогенности, действующим на начальных этапах развития инфекции. Протективные свойства аденилатциклазного гемолизина связаны с его С-концевым участком. При интраназальном заражении мышей

штаммом, выделенным из легких инфицированных животных (но не штаммом, полученным путем субкультивирования на питательных средах), отмечалось накопление нейтрофилов в жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже и снижение количества альвеолярных макрофагов, в результате их апоптоза. При этом, указанные явления были значительно меньше выражены у мышей, инфицированных штаммом-мутантом со сниженной экспрессией аденилатциклазного гемолизина, что подчеркивает ключевую роль токсина в этом процессе.

Белки наружной мембраны. Белок наружной мембраны ***пертактин*** (69 кДа), относится к генетически контролируемой системе адгезинов, продуцируемых бактерией при попадании в организм человека. Подобно ФГА, адгезия осуществляется за счет различных механизмов: лектиноподобных сайтов, взаимодействующих с поверхностными гликоконъюгатами и *арг-гли-асп* последовательности, которая распознает находящиеся на поверхности клеток человека белки-рецепторы из семейства интегринов. При иммунизации мышей очищенным пертактином и последующем аэрозольном заражении их *B. pertussis* этот белок защищал их от инфекции. Так, при введении 1 мкг пертактина выживало 50% мышей, у 38% наблюдался выраженный лейкоцитоз; при введении 16 мкг выживало 100%, выраженного лейкоцитоза не наблюдалось ни у одной мыши. В сыворотке крови и лаважной жидкости мышей определялись IgG к пертактину. Пассивная иммунизация (введение IgG к пертактину) также оказалась эффективной, при этом, иммуноглобулины проникали из крови в легкие. Это позволило предположить, что защита от инфекции связана с наличием в легких специфических антител.

В экспериментах у бордетелл также обнаружен белок, сходный с пертактином (гомология 29%) и участвующий в адгезии и инвазии микроорганизма. Этот белок получил название **BrkA** (Bordetella resistance to killing) и кодируется одноименным локусом (*brk*). Предполагается, что он отвечает за устойчивость микроорганизма к классическому комплемент-зависимому пути элиминации антигенов. Гомологичный белок продуцируется *B. bronchiseptica*, однако, он не связан с таким свойством, как устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови. Штамм-мутант *B. pertussis* с включением транспозона Tn5 lac в область генома, кодирующую BrkA, обладает сниженной вирулентностью и в 10 раз более чувствителен к воздействию системы комплемента, чем дикие штаммы. Исследования показали, что штаммы с мутациями в других bvg-регулируемых участках генома, кодирующих КТ, аденилатциклазный гемолизин, ФГА, дермонекро-токсин, фактор колонизации трахеи, белок Vag8 (95 кДа), не становятся более чувствительными к воздействию системы комплемента.

Другой белок, кодируемый локусом *brk* и обеспечивающий устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови, получил название **BrkB**. Он содержит участки, гомологичные различным транспортным белкам и предположительно локализуется в цитоплазматической мембране.

К другим белкам, вероятно, также являющимся факторами патогенности бордетелл, относятся белки наружной мембраны, имеющие молекулярную массу 92, 30 и 32 кДа. N-концевые последовательности белков 30 и 32 кДа гомологичны С-концевому участку P93-предшественника пертактина. При определенных условиях, очищенный белок 32 кДа защищает мышей от интрацеребрального заражения *B. pertussis*. Белок 92 кДа становится протективным в присутствии небольшого (непротективного) количества КТ. Также было обнаружено, что степень защиты при интрацеребральном заражении коррелирует соотношением – белок 92 кДа/белок 138 кДа (порин), входящих в состав комплекса белков наружной мембраны.

Кроме того, у бордетелл выделен белок **Vag8** с молекулярной массой 95 кДа, относящийся к числу bvg-регулируемых белков.

Липополисахарид. Липополисахарид бордетелл отличается от липополисахаридов энтеробак-терий. В его состав входят два липида: А и Х. Липид Х определяет биологическую активность липополисахарида. Липид А обладает низкой пирогенностью, не токсичен, но сохраняет противовирусную активность, адъювантные свойства и обеспечивает неспецифическую защиту от некоторых видов бактерий. В целом, липополисахарид обладает иммуногенностью; с ним также связывают реактогенность цельноклеточной коклюшной вакцины.

Патогенез коклюша

В патогенезе коклюша выделяют три стадии:

I стадия – адгезия. В ней участвуют КТ, ФГА, фимбрии, пертактин и фактор колонизации трахеи. Предполагается, что эти адгезины последовательно или одновременно действуют в процессе всего развития заболевания.

II стадия – локальное повреждение. После адгезии и размножения в месте входных ворот *B. pertussis* начинают продуцировать различные токсины. К основным факторам патогенности, действующим на этой стадии, относятся *трахеальный цитотоксин*, вызывающий цилиостаз и нарушающий отток слизи (способствуя, тем самым, развитию инфекции) и аденилатциклазный гемолизин, который нарушает функцию эпителиальных и фагоцитирующих клеток дыхательных путей. КТ оказывает непосредственное повреждающее действие на ткани, однако, до конца его роль остается неизученной.

III стадия – стадия системных проявлений. В этой стадии возбудитель редко обнаруживается в клиническом материале, а ведущая роль в патогенезе отводится КТ. Однако, как уже указывалось выше, это положение подвергается сомнению.

Необходимо отметить, что в нескольких исследованиях бордетеллы были выделены также из крови пациентов, а у *B. pertussis* была обнаружена способность выживать в эпителиальных клетках и фагоцитах. Это может изменить представление о бордотеллах, как неинвазивных микроорганизмах со сродством к реснитчатому эпителию. Так, например, описан случай развития тяжелой энцефалопатии при заболевании коклюшем у 7-летней не привитой девочки. Определяли соотношение общего уровня IgG в спинномозговой жидкости и сыворотке крови, а также такое же соотношение для антител к КТ и ФГА. Соотношение уровней противококлюшных антител (к КТ и ФГА) в ликворе и сыворотке крови, оказалось выше общего уровня IgG в 11 и 9 раз соответственно. Это наблюдение также ставит под сомнение сложившееся представление о патогенезе коклюша.

Лабораторная диагностика коклюша

Методы определения возбудителя и его антигенов

Среди методов выявления возбудителя коклюша основным был и остается *бактериологический*. Материалом для исследования служит слизь из верхних дыхательных путей. Впервые J. Bordet и O. Gengou выделили бордетелл путем посева мокроты, собранной в конце приступа спазматического кашля. Позднее Шиевиц и Мейер предложили использовать метод «кашлевых пластинок», для выполнения которого, однако, приходилось ждать приступа кашля. Для устранения этого неудобства были предложены методы активного забора материала через нижние носовые ходы или через рот с использованием заднеглоточного тампона.

J. Bordet и O. Gengou выделили культуру на картофельно-глицериновом агаре с добавлением 50% свежей крови (в последующем количество крови сократили до 20%). Затем была предложена другая среда – молочно-кровяной агар, обеспечивавший хорошие результаты, но также требовавший добавления большого количество крови. В то же вре-

мя, для производства вакцин требовалось выращивание возбудителя на средах, не содержащих чужеродного белка. По этим причинам, исследования шли в направлении использования полусинтетических сред, без добавления крови или с добавлением минимального ее количества. Другие работы были направлены на устранение действия ингибиторов роста коклюшной палочки (ненасыщенных жирных кислот), что достигалось добавлением в среду активированного угля. Для устранения роста контаминационной посторонней микрофлоры в питательную среду стали добавлять пенициллин.

В России материал берется с помощью заднеглоточного тампона через рот, в других странах – носоглоточным тампоном. Последний метод считается технически более легким и сопровождается меньшим риском контаминации материала. Затем производят либо прямой посев на чашку с питательной средой, либо используют транспортные среды (в России не применяют). При транспортировке используют: если менее 2 ч – среду, содержащую 1% казаминовой кислоты; если в течение первых суток – угольную среду без крови или бульон Steiner-Scholte с циклодекстрином. При необходимости транспортировки в течение более одних суток, используется угольно-кровяной агар. Сравнение режимов транспортировки показало, что оптимальная температура составляет 4 °С; при температуре 35 °С возможна инкубация в транспортной среде (50% угольно-кровяной агар) в течение 1–2 сут, что по мнению ряда исследователей, улучшает ростовые свойства культуры. Транспортировка при температуре 25 °С существенно снижает процент положительных результатов культурального исследования.

Основной питательной средой для выделения бордетелл остается угольно-кровяной агар (среда Regan–Lowe). Такие работы были проведены в НИИ прикладной микробиологии (Оболенск, Россия). Полученная в этом институте среда на основе казеиново-угольного агара позволила существенно повысить эффективность метода, при этом, стало возможным добавлять минимальное количество крови. Оптимальным считается добавление в среду лошадиной или бараньей крови; использование человеческой крови дает худшие результаты. Возможно добавление вместо крови или в дополнение к ней сыворотки крупного рогатого скота (5%) и среды № 199 (1%).

В качестве ингибитора сопутствующей микрофлоры в России используется бензилпенициллин. Однако, часть штаммов возбудителя коклюша чувствительна к пенициллину, в связи с чем, использование этого антибиотика снижает процент положительных проб. Для предотвращения отрицательного влияния пенициллина на бордетелл в некоторых лабораториях используют уменьшенную дозу антибиотика (0,1 мл рабочего разведения на 100 мл среды вместо 0,3 мл). В зарубежной практике для этих целей используется цефалексин (40 мг на 1 л среды), а иногда и амфотерицин В (50 мг на 1 л среды) – для подавления грибковой флоры. В отличие от пенициллина, цефалексин не подавляет рост *B. pertussis* и *B. parapertussis* и более активен в отношении сопутствующей микрофлоры.

Инкубация осуществляется при температуре 35 °С, без добавления CO_2, в условиях повышенной влажности. Иногда продолжают использовать среду Борде–Жангу, получая практически те же результаты, что и при использовании среды Regan–Lowe (угольно-кровяной агар). В целом, эффективность бактериологического метода, в идеале составляющая 80%, на практике оказывается гораздо ниже – 10–20%. Это связано с особенностями возбудителя, его медленным ростом, контаминацией исследуемого материала, недостаточной кратностью обследования, неправильным забором материала, поздним обследованием больных, низким качеством питательных сред. Существенно снижает результативность обследования предшествующая антибактериальная терапия.

Следует отметить, снижение внимания врачей к работе в очагах инфекции. При проведении целенаправленных исследований в каком-либо очаге, выявляемость возбудителя

не только культуральным, но и другими методами существенно возрастает. Это связано с тем, что на фоне массовой иммунизации значительная часть заболеваний протекает бессимптомно или с минимальными клиническими проявлениями, особенно, у детей 4–6 лет, имеющих достаточно высокий уровень поствакцинального иммунитета. Это подтверждается результатами совместного исследования, проведенного в Финляндии и Швейцарии. В Швейцарии заболеваемость коклюшем среди детей 1–6 лет выше, чем в Финляндии, где график иммунизации предполагает введение бустерной дозы вакцины, в возрасте 2 лет. При этом, в Финляндии бессимптомные случаи инфекции наиболее часто встречаются у детей до 7 лет. Существует, по-видимому, и здоровое носительство. Практически не диагностируется коклюш у взрослых, что, вероятно, связано со стертой клиникой и отсутствием лейкоцитоза, а также отношением врачей к коклюшу, как к исключительно детской инфекции. Проведенное в Японии исследование показало, что в семейных очагах коклюша в 11% случаев источником инфекции был взрослый; у 61,3% взрослых с клиническими проявлениями коклюша диагноз подтвердился при бактериологическом или серологическом обследовании. Из обследованных взрослых без симптомов коклюша у 25% была выявлена субклиническая форма инфекции.

Другим методом выделения возбудителя коклюша является ***иммунофлюоресцентный***, описанный применительно к данной инфекции в 1960 г. P. Donaldson и J. Whitaker. При наличии качественных реактивов и квалифицированного персонала чувствительность метода составляет 60%, специфичность – 90%. Однако, при нарушении данных условий, эти показатели резко снижаются, поэтому метод используется только в качестве дополнительного. Повышение его специфичности может быть достигнуто использованием моноклональных антител, в частности, к липополисахариду коклюшной палочки .

Блот-ELISA представляет собой исследование визуально определяемых колоний *B. Pertussis,* с использованием моноклональных антител к ФГА и липополисахариду. Чашки с первичным посевом инкубируются при обычных условиях в течении 40 ч, затем на них помещаются нитроцеллюлозные диски, и инкубация осуществляется еще в течение 10 мин. при температуре 22 °С. Диски снимаются с чашек, обрабатываются лизирующим раствором, инкубируются с моноклональными антителами, затем с субстратом. В результате, удается выявить единичные колонии *B. pertussis*. Перекрестных реакций с представителями других родов не отмечено. С помощью антител к ФГА выявлялись также такие возбудители, как *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica*; антитела к липополисахариду давали единичные перекрестные реакции с другими бордетеллами. В настоящее время, широкого распространения этот метод не получил.

Современным и перспективным методом диагностики является ***полимеразная цепная реакция (ПЦР)***. После предварительной экстракции ДНК проводят амплификацию необходимого фрагмента гена микроорганизма с последующей детекцией амплифицированного участка. Применение ПЦР для идентификации *B. pertussis* описано S. Houard и соавт. Чувствительность метода составляет несколько бактерий в образце, а специфичность приближается к 100%. Срок получения результата – в течении одного дня. Положительные результаты культурального исследования подтверждаются соответствующими результатами ПЦР в 73–100% случаев, при отрицательных результатах посева, ПЦР оказывается положительной в 71% случаев. В 6–11% случаев, получают положительные результаты ПЦР при отрицательных результатах бактериологического исследования и иммуноферментного анализа.

В настоящее время, разработаны тест-системы для идентификации различных участков генома *B. pertussis*: гена КТ, порина, аденилатциклазного гемолизина, повторяющегося участка ДНК. Все участки, за исключением последнего, встречаются и в геноме *B.*

parapertussis. Повторяющиеся участки ДНК обнаружены также и в геноме *B. bronchiseptica*, однако, из-за низкой распространенности этого вида возбудителя у человека, это не имеет принципиального значения для исследования. Выбор в качестве объекта поиска повторяющегося участка ДНК, предпочтительнее также в связи с тем, что повышает чувствительность метода при меньшем количестве циклов амплификации. Это, в свою очередь, снижает вероятность получения ложноположительных результатов. Для повышения чувствительности и специфичности метода используют метод ПЦР с вложенными праймерами (nested-PCR), в котором после 20–25 циклов с внешними праймерами проводится 25–30 циклов с внутренними праймерами. Также предложен протокол для параллельного определения *B. pertussis* и *B. parapertussis*. Для этого используются праймеры к повторяющимся последовательностям в геноме *B. pertussis* (80 копий) и *B. parapertussis* (20 копий). Для исключения влияния большого числа копий участка ДНК *B. pertussis* на чувствительность реакции с ДНК *B. Parapertussis,* предложено использовать праймеры в соотношении, обратно пропорциональном количеству копий в ДНК, то есть 4:1. Забор материала осуществляется носоглоточными тампонами или путем аспирации слизи из носоглотки. Получены данные о том, что использование тампонов из альгината кальция и транспортировка материала в транспортной среде резко снижают эффективность метода, что связано с наличием факторов, ингибирующих ПЦР. В связи с этим, рекомендовано использовать тампоны типа Dacron и «сухую» транспортировку, а еще более предпочтительно, получать материал из носоглотки путем аспирации. Для визуализации результата исследования использую токрашивание в агарозном геле, блот-гибридизацию. Для исключения ложно положительных результатов, необходим набор отдельных помещений: для выделения ДНК, собственно амплификации и детекции результатов. Иногда, в состав реакционной смеси дополнительно вносят дУТФ и урацил-N-гликозилазу с целью предотвращения получения ложноположительных результатов, вследствие контаминирования продуктами ПЦР. В качестве одного из возможных методов контроля ложноотрицательных результатов, вследствие ингибирования или деградации ДНК, может использоваться параллельная амплификация ДНК человека из исследуемых клинических образцов. В этом случае, результат амплификации ДНК *B. pertussis* учитывается, как истинно отрицательный, только при обнаружении положительной реакции на ДНК человека. Другим методом контроля ложноотрицательных результатов, является коамплификация так называемого гетерогенного внутреннего стандарта – искусственно созданной и добавляемой в реакцию последовательности ДНК, амплификация которой происходит только при наличии двух праймеров: одного для ДНК *B. pertussis*, другого – для ДНК *B. parapertussis* (контроль работы праймеров).

Выявление антигенов *B. pertussis* в клиническом материале можно проводить с помощью ***иммуноферментного анализа (ИФА)***. Одним из вариантов этого метода исследования, является определение КТ. Для этого, разработана «сэндвич»-техника ИФА, с применением очищенных аффинных антител к КТ. Носоглоточный тампон после посева на казеиново-угольный агар, погружают в пробирки с жидкой средой (среда обогащения), затем полученный материал исследуют ИФА. Чувствительность метода составляет 3 нг/мл. Специфичность оценивалась в реакции с дифтерийным и столбнячным токсином – перекрестных реакций не было. Диагностическая эффективность сравнивалась с эффективностью бактериологического метода на 247 пациентах. При культуральном исследовании, положительные результаты были получены в 14,6% случаев, при проведении ИФА – в 42,9% случаев. В зависимости от выраженности клинических проявлений инфекции, эффективность ИФА варьировала от 36,6% – у контактных лиц и до 69,7% – у больных с бактериологически подтвержденным диагнозом. В то же время, при посеве

клинического материала от лиц, контактировавших с больными и пациентов с подозрением на коклюш, количество положительных результатов оказалось очень низким и составило 5%. При выборочном исследовании с помощью ИФА первичного клинического материала, совпадение результатов этого метода и бактериологического исследования составило 100%.

Серологические методы

Серологические методы лабораторной диагностики коклюша основываются на определении уровня специфических антител к определенным антигенам или группам антигенов коклюшной палочки. Классическим методом серологической диагностики коклюша, применяемым уже более 50 лет, является ***реакция агглютинации***. Она позволяет обнаружить антитела, индуцированные агглютиногенами возбудителей, находящихся в I фазе. Эта реакция длительное время использовалась для оценки постинфекционного и поствакцинального иммунитета. Ее результаты коррелируют с данными определения концентрации IgG и IgA методом ИФА при титрах антител выше 1:320. Недостатками реакции являются низкая чувствительность и отсутствие стандартизованной методики.

Для проведения ***реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)*** обработанные эритроциты животных сенсибилизируются комплексом антигенов коклюшной палочки. Эта реакция характеризуется более высокой чувствительностью, чем реакция агглютинации. Однако, в процессе создания диагностикумов использовались различные методы сенсибилизации и стабилизации эритроцитов, а получение адсорбируемого антигена (целые клетки возбудителя или клеточные компоненты) проводилось различными способами, что привело к различной информативности получаемых данных. В связи с этим, РНГА не нашла широкого применения на практике.

Одной из модификаций реакции агглютинации является реакция ***латекс-микроагглютинации***. Принцип метода состоит в следующем: полистироловый латекс сенсибилизируют компонентами клеток коклюшной палочки и на стеклянной пластине смешивают с двукратно разведенным исследуемым субстратом. Результаты учитывают после окрашивания. Эта реакция отличается легкостью интерпретации результатов и позволяет выявить противококлюшные антитела на ранних сроках заболевания. Тем не менее, в связи с использованием в качестве антигена продуктов распада клеток возбудителя, данный метод может давать ложноположительные результаты.

Реакция нейтрализации цитопатогенного действия КТ в культуре клеток яичников китайских хомяков, основана на регистрации морфологических изменений клеточного монослоя, вызываемых токсином и блокируемых токсиннейтрализующими антителами. Стандартизация условий реакции позволила сделать ее высокоспецифичной и добиться высокой воспроизводимости результатов. Она позволяет провести количественное определение КТ и токсиннейтрализующих антител. Однако, этот метод очень трудоемок, поэтому, в основном, используется при проведении научных исследований и не имеет широкого распространения в практике.

Bordetella bronchiseptica. Bordetella avium

B. bronchiseptica и *B. avium* представляют собой мелкие грамотрицательные палочки, имеющие жгутики. Являются паразитами млекопитающих и птиц. Локализуются и размножаются среди ресничек эпителия дыхательного тракта. Антигенные и другие свойства, а также принципы идентификации и дифференциальной диагностики описаны выше.

B. bronchiseptica крайне редко вызывает у людей заболевание, напоминающее паракоклюш. Иногда обнаруживается в носоглотке людей со сниженным иммунитетом, а также у людей, содержащих домашних животных (кроликов, собак и др.). Возможно бессимптомное носительство у человека. Патогенность *B. avium* для человека не доказана.

Бруцеллы (род Brucella)

Бруцеллы являются возбудителями бруцеллеза – острого или хронического антропозоонозного инфекционного заболевания, которое характеризуется интоксикацией, преимущественным поражением опорно-двигательного аппарата, нервной, сердечно-сосудистой, мочеполовой систем и других органов, аллергизацией организма, затяжным течением, приводящим, как правило, к инвалидизации.

Характеристика возбудителя: возбудители бруцеллеза относятся к роду *Brucella,* который включает в себя следующие виды: *B. melitensis, B. abortus, B. suis, B. ovis, B. canis, B. meotomae.* Название рода связано с именем Д. Брюса, открывшего в 1886 г. возбудителя бруцеллеза.

Морфология. Бруцеллы – мелкие грамотрицательные микробы шаровидной, овоидной или палочковидной формы. Спор не образуют, неподвижны. При действии специфического бактериофага или при выращивании на среде с 10% иммунной сывороткой образуют нежную капсулу.

Культуральные свойства. Аэробы. Требовательны к питательным средам: на простых питательных средах не растут, растут на сложных питательных средах (сывороточно-декстрозный и кровяной агар).

Характеризуются замедленным ростом на питательных средах, посевы инкубируют не менее 3 недель. В жидких средах вызывают равномерное помутнение с небольшим осадком, но без пленки на поверхности. На плотных средах формируют мелкие круглые выпуклые гладкие прозрачные голубовато-серые колонии. Гемолиза не дают, пигмента не образуют. Наблюдается диссоциация от S- к R-формам колоний. В гладкой форме некоторые штаммы бруцелл лизируются бруцеллезным фагом. Температурный оптимум роста – 37 °С, оптимум pH 6,6–7,4. Под действием антибиотиков превращаются в L-формы. Хорошо культивируются в желточном мешке куриного эмбриона.

Биохимическая активность. Очень низкая: содержат каталазу и оксидазу, нитраты редуцируют в нитриты, цитраты не утилизируют, реакция Фогеса–Проскауэра отрицательна, продуцируют сероводород. Дифференциально-диагностические признаки бруцелл представлены в табл. 17. 20.

Антигенная структура. Сложная и близкая для разных видов бруцелл. Имеют соматический О- и капсульный антигены. Различные виды бруцелл различаются количественным соотношением А- (абортус) и М- (мелитензис) антигенов.

Факторы патогенности. Бруцеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами млекопитающих, включая человека. Обладают высокой инвазивной способностью, образуют фермент агрессии гиалурони-дазу. Основными факторами вирулентности являются эндотоксин и капсула.

Устойчивость в окружающей среде и к антимикробным препаратам. Бруцеллы длительно сохраняются в окружающей среде: в молоке – до 45 дней; в масле, сливках, простокваше и свежих сырах – в течении всего периода их пищевой ценности; в брынзе – до 60 дней; в замороженном мясе – свыше 5 мес, в засоленных шкурах – 2 мес, в шерсти – до 3-4

мес, в воде – до 5 мес; в почве – до 3 мес. Малоустойчивы к высокой температуре, при кипячении погибают моментально, при 60 °С – в течении 30 мин.

Чувствительны к большинству антибиотиков; к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов в обычных концентрациях.

Эпидемиология. Резервуаром возбудителя в природе являются сельскохозяйственные и домашние животные – крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, реже – олени, лошади, собаки, кошки.

Бруцеллез распространен на всех континентах, особенно, в странах с развитым животноводством. Источник инфекции – больные сельскохозяйственные и домашние животные. Возбудителями бруцеллеза крупного рогатого скота являются *B. abortus,* мелкого рогатого скота – *B. melitensis,* свиней – *B. suis,* оленей – *B. neotome,* собак – *B. canis,* баранов – *B. ovis.* Наибольшее эпидемическое значение для человека имеют *B. melitensis, B. abortus* и *B. suis.* Больной человек не заразен, является биологическим тупиком. Как для всех зоонозов, для бруцеллеза характерна множественность механизмов и путей передачи. Больные животные выделяют бруцеллы с молоком, мочой, калом, околоплодными водами и др. Человек заражается главным образом фекально-оральнопищевым путем (сырое молоко, молочные продукты, мясо и др.) и контактно при уходе за больными животными и т.п. Восприимчивость человека к бруцеллам высокая. Заболевания носят спорадический характер или в виде отдельных вспышек, что зависит от видовой принадлежности возбудителей.

Патогенез. Бруцеллы проникают в организм через кожу или слизистые оболочки и распространяются по лимфатическим путям. В отличие от туляремии, сибирской язвы, при бруцеллезе на месте внедрения не развивается первичный аффект. Иногда наблюдается увеличение регионарных лимфатических узлов. Дальнейшая судьба возбудителя зависит от ряда факторов: вирулентности, величины инфицирующей дозы, иммунореактивности организма. При попадании в организм больших доз вирулентных бруцелл очень быстро может наступить диссеминация возбудителя. При малых инфицирующих дозах и при пониженной вирулентности бруцеллы могут длительно задерживаться в регионарных лимфатических узлах, фаза генерализации запаздывает или вообще отсутствует. В основе развивающихся в ранний период бруцеллеза диффузных изменений сосудов и паренхиматозных органов лежит токсическое действие бруцелл. Из кровотока бруцеллы оседают в воспалительных очагах, лимфатических узлах, селезенке и костном мозге, где длительно могут сохраняться, располагаясь внутриклеточно. При обострениях процесса, бруцеллы вновь усиленно размножаются, попадают в кровоток, вызывая повторные волны генерализации. Длительное пребывание возбудителя в организме, приводит к его аллергизации. Со 2–3-й недели, а иногда и с самого начала заболевания на первый план в патогенезе выдвигаются аллергические поражения. Аллергия при бруцеллезе играет двоякую роль. С одной стороны, аллергическое воспаление лежит в основе большинства клинических проявлений болезни, особенно в хронической стадии. С другой стороны, аллергическая реакция препятствует распространению бруцелл в организме, что имеет большое значение для предупреждения повторных генерализаций процесса.

Таблица 17. 15

Дифференциально-диагностические примеры

Вид бруцелл и их биовар	Потребность в CO_2	Образование H_2S	Рост на средах с красками			Агглютинация			Лизис фагом	Окисление субстрата										
				тионин																
			основной фуксин	1:25 тыс.	1:50 тыс.	А-сыворотки	М-сыворотки	R-сыворотки		мальтин	эритрит	L-глутаминовая кислота	арабиноза	сахароза	рибоза	глюкоза	галактоза	ксилоза	адонитол	дульцин	инозит
Brucella melitensis	I	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	+	–	–	–
	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	+	–	–	–
	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	+	–	–	–
Brucella abortus	I	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	+	+	–	–	–	–	–	–
	2	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	–	–	+	–	–	–
	3	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
	4	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	+	+	–	–	–	+	–	–
	5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	+	+	–	–	+	–	–	–
	6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	–	–	+	–	–	–
	7	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	+	+	–	–	–	–	–	–
	8	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	–	–	+	–	–	–
	9	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
Brucella suis	I	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	+	+	–	–
	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	–	+	+	–	–
	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	+	+	–	–
	4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
Brucella neotome		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–	–	–	+	–	–
Brucella ovis		–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Brucella canis		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	+	–	–	–

Клиника. Инкубационный период колеблется в пределах 1–3 недель, но может затягиваться и до нескольких месяцев. Болезнь начинается постепенно, иногда – остро. Болезнь протекает с длительной лихорадкой, ознобами, потливостью, болями в суставах, мышцах, с симптомами поражения сердечнососудистой, нервной, мочеполовой систем, опорно-двигательного аппарата и т.д. Клиника бруцеллеза характеризуется большим полиморфизмом и зависит от характера пораженного органа. Выделяют острый (с давностью до 3 мес), подострый (с давностью до 6 мес.), хронический (с давностью свыше 6 мес.) и латентный бруцеллез. При хроническом бруцеллезе возможны состояния компенсации, субкомпенсации и декомпенсации. Хронический бруцеллез может быть первично-хронический или вторично-хронический; то же относится и к латентному бруцеллезу.

Иммунитет при бруцеллезе клеточно-гуморальный, в основном, нестерильный и относительный. После выздоровления иммунитет угасает, возможна реинфекция. Ввиду относительности иммунитета, большие инфицирующие дозы бруцелл могут вызвать его прорыв, у больных хроническим или латентным бруцеллезом, что ведет к тяжелому течению болезни.

Микробилогическая диагностика. Материалом для исследования служат: кровь, пунктат красного костного мозга, моча, испражнения, молоко и молочные продукты, кусочки органов.

Для диагностики бруцеллеза используют все методы микробиологической диагностики. Серодиагностику и аллергические пробы проводят в базовых лабораториях, чистую культуру бруцелл выделяют и идентифицируют в специальных лабораториях с соблюдением правил техники безопасности.

Посев крови, для выделения гемокультуры, проводят в первые дни болезни при наличии лихорадки; при отрицательных результатах, исследование многократно повторяют (бактериемия может наблюдаться в течение года и более). Учитывая медленный рост бруцелл, посевы выдерживают в термостате до 1 мес. Пунктат костного мозга засевают на те же среды; миелокультуры при бруцеллезе удается получить в 1,5–2 раза чаще, чем гемокультуру. Миелокультуры могут быть получены в остром, подостром и даже хроническом периоде заболевания. Мочу для выделения уринокультуры предварительно центрифугируют, из осадка делают посевы. Уринокультуры выделяют, как при остром бруцеллезе, так и в период реконвалесценции. Процент высеваемости невелик и зависит от периода заболевания (5–14%). Аналогичным образом поступают с молоком. Копрокультуры выделяют крайне редко. Нередко культура бруцелл выделяется из желчи. Незначительный процент положительных результатов дают бактериологические исследования мокроты. суставной жидкости, влагалищных выделений и др. Наибольшую высеваемость бруцелл, особенно из бактериально загрязненного материала, получают при посевах исследуемого материала в желток свежего куриного яйца или в желточный мешок куриного эмбриона. Зараженные яйца выдерживают в термостате 5 дней, а затем делают высев на питательные среды.

Для биопробы используют белых мышей и морских свинок. Животных заражают кровью внутрибрюшинно; осадком мочи и молока – подкожно. Через 20–30 дней у зараженного животного берут кровь и ставят с ней реакцию агглютинации. Затем животных забивают, вскрывают и делают посевы крови из сердца, взвеси внутренних органов и лимфатических узлов. Выделенные чистые культуры бруцелл дифференцируют по способности роста в отсутствие повышенной концентрации углекислого газа, выделению сероводорода, чувствительности к бруцеллезному фагу и бактериостатическому действию анилиновых красителей (фуксина и тионина). Преимуществом биологического метода исследования, является возможность выделения бруцелл из материалов, контаминиро-

ванных посторонней микрофлорой или содержащих небольшое количество возбудителей.

В сыворотке больных бруцеллезом накапливаются агглютинирующие (вначале IgM, затем IgG), неполные блокирующие (IgA, IgG) и опсонические (IgG) антитела. Для их выявления с диагностической целью используют реакцию Райта (развернутая агглютинация) и Хеддельсона (пластинчатая агглютинация), РПГА, РИФ, ИФА, реакцию Кумбса, опсонофагоцитарную реакцию. Реакция агглютинации – один из основных диагностических методов при бруцеллезе у людей и сельскохозяйственных животных. Агглютинины, как правило, появляются в крови в ранние сроки после заражения, поэтому наибольшую диагностическую ценность реакция агглютинации представляет при остром бруцеллезе. РСК также является специфической для бруцеллеза, она появляется позже, чем реакция агглютинации, но держится дольше, что повышает ее диагностическую ценность у больных хроническим бруцеллезом. Гемагглютинирующие антитела в РПГА можно обнаружить в 91–100% случаев, у больных острым и подострым бруцеллезом; при хроническом бруцеллезе и резидуальных явлениях, гемагглютинины обнаруживаются реже, однако, значительно чаще, чем агглютинины. РИФ выявляет антитела в сыворотке при остром, подостром и хроническом бруцеллезе чаще, чем реакция агглютинации. Реакция Кумбса рекомендуется в качестве диагностического метода при хронических и латентных формах бруцеллеза. Опсонофагоцитарную реакцию проводят с 15–20-го дня болезни. Она основана на способности сегментоядерных нейтрофилов фагоцитировать бруцеллы, благодаря наличию в крови человека специфических опсонинов, нарастающих в процессе бруцеллезной инфекции. Реакция специфична и чувствительна, однако, не отражает количества опсонинов в крови. В условиях массового обследования на бруцеллез применяют пластинчатую реакцию агглютинации Хеддельсона в сочетании с кожно-аллергической пробой Бюрне. Рекомендуется определять состав сывороточных иммуноглобулинов в различные фазы заболевания. В ранние сроки после заражения, появляются IgM, в более поздние – IgG. Эти иммуноглобулины дифференцируют с помощью цистеиновой пробы.

Аллергический метод применяют для выявления ГЗТ к бруцеллам, наблюдающейся у больных бруцеллезом, инфицированных бруцеллами лиц и привитых живой бруцеллезной вакциной. Ее ставят с 15–20-го дня болезни. Аллергическая реакция бывает положительной в течении многих лет после перенесенного заболевания и у привитых. Серологические реакции и кожно-аллергическая проба по своему диагностическому значению не равноценны, вследствие чего, не могут заменить друг друга. Это обуславливает необходимость применения комплексного сероаллергического метода, являющегося наиболее надежным способом диагностики бруцеллеза.

Лечение. При остром и хроническом бруцеллезе с выраженными признаками активности, необходимо назначение антибиотиков широкого спектра. Наиболее эффективно сочетание стрептомицина с препаратами широкого спектра действия. Антибиотики не действуют на бруцеллы, расположенные внутриклеточно, поэтому их можно назначать только при наличии бактериемии, а при хроническом бруцеллезе они неэффективны. Кроме того, антибиотики не предупреждают рецидивов бруцеллеза, поэтому широко применяется специфическая иммунотерапия убитой лечебной бруцеллезной вакциной (5–7 внутривенных вливаний в нарастающих дозах 1-2 раза в неделю) или бруцеллина (внутримышечно по 2 раза в неделю). При острых и рецидивирующих формах назначают бруцеллезный иммуноглобулин.

Профилактика. Направлена на ликвидацию источника инфекции; на разрыв механизма и путей передачи инфекции и на создание невосприимчивости коллектива. Для специфической профилактики применяют живую бруцеллезную вакцину, предложенную П. А.

Вершиловой, из штамма ВА-19А, полученную из *B. abortus* и создающую перекрестный иммунитет против других видов бруцелл. Вакцинацию проводят по эпидпоказаниям. Не специфическая профилактика такая же, как и при других зоонозах и сводится в основном к санитарно-ветеринарным мероприятиям.

Франциселлы (род Francisella)

Francisella tularensis является возбудителем **туляремии** – острого или хронического системного природно-очагового заболевания человека и животных, которое характеризуетея лихорадкой, интоксикацией и поражением лимфатических узлов.

Возбудитель туляремии *Francisella tularensis,* был открыт в местечке Туляре (Калифорния) в 1911 г. Г. Мак-Коем и Х. Чепином; детально изучен Э. Френсисом. Выделяют 3 подвида, отличающихся по антигенным свойствам и вирулентности: голарктический, распространенный в Европе, Азии и Северной Америке, умеренно патогенный для домашних кроликов; среднеазиатский – распространенный в долинах рек Средней Азии, умеренно патогенный для домашних кроликов; неарктический или американский – распространенный в Северной Америке, высокопатогенный для домашних кроликов. Голарктический подвид делится на биовары: японский – распространенный на Японских островах; эритромициночувствительный – распространенный в Европе, Азии, Северной Америке и чувствительный к антибиотикам-макролидам; эритромицинустойчивый – распространенный в Восточной Европе и Западной Сибири.

Морфология. Возбудитель туляремии представляет собой очень мелкие (0,3–0,5 мкм) полиморфные грамотрицательные палочки; спор не образует, неподвижен, может образовывать капсулу.

Культуральные свойства. Факультативный анаэроб. На простых питательных средах не растет. Культивируются на желточных средах (среда Мак-Коя или Чепина) или на средах с добавлением крови и цистеина (среда Френсиса). Оптимальная температура роста 37–38 °С, оптимум pH 6,8-7,4. На плотных средах образует мелкие колонии молочно-белого цвета. Хорошо культивируется в желточном мешке куриного эмбриона. При культивировании на искусственных питательных средах происходит аттенуация бактерий и превращение их из вирулентной S-формы в авирулентную и неиммуногенную R-форму.

Вакцинные штаммы бактерий представляют собой промежуточную форму изменчивости, которую обозначают, как SR-вариант.

Биохимическая активность. Очень низкая, ферментируют до кислоты глюкозу и мальтозу; непостоянно ферментируют маннозу, левулезу, образуют сероводород.

Антигенная структура. Содержит соматический О- и поверхностный Vi-антигены. Имеют антигенную близость с бруцеллами. В R-форме теряют Vi-антиген, а вместе с ним, вирулентность и иммуногенность.

Факторы патогенности. Неарктический подвид обладает высокой патогенностью для человека при кожном пути заражения, голарктический и среднеазиатский подвиды умеренно патогенны. Вирулентными являются S-формы колоний. Патогенные свойства связаны с оболоченным антигенным комплексом и токсическими веществами типа эндотоксина. Возбудитель патогенен для млекопитающих многих видов, особенно для мелких грызунов и зайцев. Из лабораторных животных к нему высокочувствительны морские свинки и белые мыши.

Экологическая ниша. Резервуаром возбудителя в естественных условиях являются дикие животные (около 50 видов), главным образом мелкие грызуны и зайцы; среди домашних животных – овцы, свиньи, крупный рогатый скот.

Устойчивость в окружающей среде. *В* окружающей среде бактерии могут долго сохраняться, особенно, при низкой температуре. Они нестойки к высоким температурам и УФ-лучам. При 60 °С гибнут через 5–10 мин, а при кипячении – через 1–2 мин. При 0– 4 °С сохраняются в воде и фураже до 6 мес. Чувствительны к большинству антибиотиков (стрептомицин, тетрациклин, левомицетин, эритромицин и др.). Высокочувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов (лизол, хлорамин убивают их через 3–5 мин).

Эпидемиология. Туляремия – природно-очаговое заболевание. Источником инфекции в естественных условиях являются, главным образом, мелкие грызуны (полевые мыши, водяные крысы, ондатры, хомяки) и зайцы. На территории природных очагов туляремией могут заражаться овцы, свиньи, крупный рогатый скот. Как и для всех зоонозов, для туляремии характерна множественность механизмов путей и факторов передачи. Передача возбудителя среди млекопитающих, чаще всего, происходит через кровососущих членистоногих: иксодовые клещи, комары, в меньшей степени блохи, слепни и гамазовые клещи. Человек заражается контактным, алиментарным, аэрозольным и трансмиссивным путями. Восприимчивость человека очень высока.

Туляремия распространена в Европе, в том числе, в России, а также в Азии, Северной Америке; встречается в виде спорадических случаев или эпидемических вспышек. Болеют чаще жители сельской местности и лица, имеющие профессиональный контакт с грызунами (сельскохозяйственные работы, охота и т.д.).

Патогенез. Возбудитель туляремии попадает в организм человека через кожу, слизистые оболочки глаз, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта. В патогенезе туляремии выделяют несколько фаз: внедрение и первичная адаптация возбудителя, лимфогенное распространение, первичные регионарно-очаговые и общие реакции организма, гематогенные метастазы и генерализация процесса, вторичные очаги, реактивно-аллергические изменения, обратный метаморфоз и выздоровление. Ведущее значение в патогенезе имеет фаза лимфогенного распространения возбудителя. В месте его внедрения нередко развивается первичный аффект с регионарным первичным лимфаденитом. Периаденит выражен умеренно. Микроб и его токсины проникают в кровь, что приводит к бактериемии и генерализации процесса, метастазированию и развитию вторичных туляремийных бубонов.

Иммунитет. После перенесенной инфекции сохраняется длительно, иногда пожизненно; развивается аллергизация организма к антигенам возбудителя.

Клиника. Инкубационный период длится от нескольких часов до 3 недель, в среднем 3–7 дней. Болезнь начинается остро, внезапно, без продрома с повышения температуры тела до 38–39 °С; появляется озноб, резкая головная боль, интоксикация. Клиническая картина обусловлена характером пораженных органов. Различают бубонную, язвенно-бубонную, глазо-бубон-ную, абдоминальную, легочную и генерализованную (септическую) клинические формы туляремии. Болезнь протекает длительно (около месяца). Летальность при заражении неарктическим подвидом – около 6%; при заражении другими подвидами – 0,1% и ниже.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования – кровь, пунктат из бубона, соскоб из язвы, отделяемое конъюнктивы, налет из зева, мокрота и др. – определяется клинической формой болезни. Кроме того, на исследование можно брать воду и пищевые продукты. В природных очагах туляремии проводят плановые систематические исследования для выделения возбудителя туляремии от грызунов.

Для диагностики применяют все методы микробиологической диагностики. Исследование проводят в режимных лабораториях.

Бактериологический метод в диагностике туляремии у человека редко дает положительные результаты. Чистую культуру, как правило, выделяют после накопления ее на восприимчивых лабораторных животных. Для биопробы применяют белых мышей и морских свинок. Мышей заражают подкожно, морских свинок – внутрибрюшинно; животные погибают на 3–6-е сутки, иногда позднее. Зараженных животных содержат в особых условиях (как при диагностике чумы) и наблюдают за ними в течении 6–14 дней. Если экспериментальные животные на протяжении 7–15 дней не погибают, их забивают на 15–20-й день и трупы вскрывают. При наличии туляремии обнаруживают патологоанатомические изменения, в виде продуктивного процесса с некрозом. Чистую культуру выделяют из внутренних органов на желточной среде, глюкозоцистеиновом кровяном агаре, среде Емельяновой и др. При идентификации опираются на морфологию и тинкториальные свойства возбудителя, отсутствие роста на МПА, агглютинацию гомологичной сывороткой, патогенность для белых мышей и морских свинок. Чистую культуру можно выделить, заражая 12-дневные куриные эмбрионы в желточный мешок. Для выделения чистой культуры возбудителя из воды последнюю центрифугируют или фильтруют через бактериальные фильтры и полученным осадком заражают лабораторных животных. При исследовании пищевых продуктов их промывают мясопептонным бульоном – МПБ, цетрифугируют и осадком заражают лабораторных животных.

Параллельно с бактериологическим исследованием из исследуемого материала готовят мазки-отпечатки, которые окрашивают по Романовскому–Гимзе. В мазках из органов можно обнаружить мелкие кокковидные и палочковидные бактерии, которые располагаются внутриклеточно и в виде скоплений, образуя нежную капсулу.

Для серодиагностики используют развернутую реакцию агглютинации, РПГА, РСК на холоде, РИФ.

Аллергические пробы применяют для ранней диагностики туляремии (с 5-го дня от начала болезни). Используют два вида тулярина и, соответственно, 2 способа их введения: накожный и внутрикожный. Так как концентрация аллергена в обоих видах тулярина различная, недопустимо использовать накожный тулярин для внутрикожной пробы и наоборот. Результаты аллергической реакции учитывают в динамике через 24–36–48 ч. За положительный результат принимают инфильтрат диаметром не менее 5 мм. У вакцинированных или переболевших туляремией лиц в течение ряда лет аллергические пробы остаются положительными (анамнестическая реакция).

Лечение. Применяют антибиотики стрептомицинового и тетрациклинового ряда. В случаях затяжного течения заболевания, проводят комбинированную антибиотикотерапию и вакцинотерапию с применением убитой лечебной вакцины, которая вводится различными путями в дозах от 1 до 15 млн. микробных тел с интервалом 3–6 дней. Курс лечения 6–10 инъекций.

Профилактика. Проводится в направлении всех трех звеньев эпидемического процесса: мероприятия 1 -й группы направлены на источник инфекции; мероприятия 2-й группы – на разрыв механизма и путей передачи; мероприятия 3-й группы – на восприимчивый коллектив. Для специфической профилактики применяют живую туляремийную вакцину, полученную отечественными учеными Б. Я. Эльбертом и Н. А. Гайским из штамма № 15. Вакцина обеспечивает прочный иммунитет при заражении европейским и голарктическим подвидами и эффективна против американской разновидности возбудителя. Вакцинацию проводят по эпидемическим показаниям, а также лицам, относящимся к группам риска. Допускается одновременная вакцинация против туляремии и бруцеллеза; туляремии и чумы; а также против туляремии и некоторых других инфекций.

Неспецифическая профилактика такая же, как при других зоонозах, и направлена, в первую очередь, на борьбу с грызунами.

Легионеллы (род Leogionella)

Легионеллез – инфекционная болезнь бактериальной природы, характеризующаяся тяжелой пневмонией, лихорадкой и в ряде случаев, сопровождающаяся нарушением функции почек и желудочно-кишечного тракта, обусловленная различными видами микроорганизмов, относящихся к роду Legionella.

Типичным представителем этого рода является L. pneumophila, вызывающая пневмонию, получившую название «болезнь легионеров». Остальные виды рода Legionella вызывают разные заболевания органов дыхания, сходные по клинике с болезнью легионеров, но отличающиеся эпидемиологическими аспектами, тропностью к отдельным участкам респираторного тракта, степенью тяжести и др. Все эти заболевания объединены термином «легионеллезы».

История. Впервые легионеллы выделены в 70-х годах нашего века. Название связано со вспышкой в 1976 г. в Филадельфии тяжелого респираторного заболевания (по типу пневмонии), унесшего жизни 34 из 220 заболевших делегатов съезда Американского легиона. Эпидемиологические обследования показали, что речь идет о новой инфекционной болезни, которая получила название «болезнь легионеров». В 1977 г. Мак-Дейд и Шепард (McDade, C. C. Shepard) с соавт. выделили из легочной ткани людей, погибших от этой болезни, неизвестную ранее бактерию Legionella pneumophilla и доказали *ее* этиологическую роль.

С тех пор, эпидемические вспышки легионеллеза регистрировались неоднократно. Самая массовая из них, унесшая жизни более 30 человек, случилась в 2001г. На ежегодной выставке цветов в Голландии, где рассадником инфекции стал фонтан в одном из действующих павильонов. Хотя по распространенности, риску летального исхода, неблагоприятным последствиям болезнь легионеров значительно уступает такому заболеванию, как СПИД вследствие ВИЧ-инфекции, проблема остается насущной. Более того, проблема скорее расширилась, чем приблизилась к успешному разрешению. Каждый год отмечается в Европе новыми зарегистрированными случаями заболевания людей легионеллезом при заражении от работающих кондиционеров. Вообще же, легионелл находят нетолько в бассейнах и декоративных водоемах, но и везде, где есть подходящие условия для существования и развития этих бактерий.

Характеристика возбудителя L.pneumophila – распространенный в природе гидрофильный микроорганизм, в природных водоемах паразитирующий в амебах и инфузориях. В системах водоснабжения, кондиционирования воздуха, иных инженерно-технических системах, связанных с циркуляцией воды, происходит колонизация легионеллами различных металлических, резиновых и синтетических поверхностей. При высокой концентрации возбудителя в таких системах в сочетании с возможностью аэрозольного распространения весьма вероятно возникновение легионеллезной инфекции.

Возбудитель легионеллеза – бактерии, имеющие длину 2–3 *мкм,* а порой до 50 *мкм,* ширину 0,3– 0,4 *мкм,* не окрашивающиеся по Граму, не относящиеся к группе кислотоустойчивых; особенностью их является резко выраженная заостренная форма концов, подтвержденная электронной микроскопией, которая выявила также структуру клеточной стенки, характерную для грамотрицательных бактерий. Выделение возбудителя болезни легионеров проводилось на морских свинках. Суспензию легочной ткани людей, погибших от легионеллеза, внутрибрюшинно вводили морским свинкам, которые через 12–48

часов заболевали с подъемом температуры до 39,5–41,0 °С, пространией, поражением глаз и гибли на 3–6-й день. В перитонеальном экссудате, печени и селезенке морских свинок, забитых в агональном состоянии, содержалось большое количество бактерий. Введение суспензии легких, печени, селезенки зараженных морских свинок в желток куриных эмбрионов, вызвало гибель эмбрионов. При окраске гомогената желточных мешков по методу Хименеса обнаруживалось большое количество возбудителя. Для выделения и культивирования возбудителя болезни легионеров используют – агар Мюллера–Хинтона и угольно-дрожжевую среду с добавлением пирофосфата железа и Л-цистеина. На поверхности твердой питательной среды возбудитель образует на 3–5-й день колонии с коричневым пигментом, диффундирующим в агар.

Легионеллы очень чувствительны к составу pH питательных сред, культивирование их представляет собой длительный трудоемкий процесс. Чувствительны легионеллы к эритромицину, рифампицину и в меньшей степени – к тетрациклинам. Возбудители болезни легионеров типично присутствуют в природной и искусственной водной экосистеме. В природных экосистемах, так же, как и в системах городского водоснабжения, легионелла отмечена в очень низких концентрациях. Однако, в искусственных экосистемах при определенных условиях концентрация организмов может драматически возрастать. Такой процесс называется «амплификация». Следовательно, систему, в которой происходит такая амплификация, называют амплификатор. Благоприятные условия для амплификации: температура воды 25-42 °С, застой воды, осадок, отложения, биопленка, а также присутствие амеб. Легионеллу можно считать простейшей, т.к. она естественно инфицируют свободно живущую амебу и при благоприятных условиях попутно заражают фагоцитарные клетки в легких человека. Внутриклеточный рост легионеллы внутри одноклеточных и/или внутри разных микробных биопленок может стать главным способом ее размножения и распространения.

Следовательно, благоприятная среда для распространения возбудителя – разнообразные, сложные микробные сообщества, обеспечивающие необходимые питательные вещества и защиту от окружающей среды.

Lpneumophila чрезвычайно трудный для культивирования микроорганизм. Метод выделения культуры возбудителя демонстрирует широкий диапазон чувствительности от 11 до 80% (в сравнении с детекцией антигена).

Эпидемиология. Легионеллы распространены во всем мире и составляют часть микробной флоры многих естественных и искусственных водных экологических систем. Наибольшее эпидемиологическое значение имеет пребывание возбудителей в системе водоснабжения и кондиционирования воздуха гостиниц и больниц. Предположение о различной вирулентности легионелл в зависимости от географических условий и резко отличающийся уровень антител в крови в различных популяциях населения не исключают возможности, что в ряде регионов, эта инфекция может быть эндемичной. Более подвержены заболеванию, лица среднего и пожилого возраста. Предрасполагающими факторами являются курение, хроническая почечная недостаточность, злокачественные новообразования и иммунодепрессия. Заболевания чаще возникают в летние месяцы. Несмотря на то, что ежегодно регистрируют сотни спорадических случаев, наибольшее внимание всегда обращают на вспышки болезни, вовлекающие большое количество людей, заразившихся из одного источника.

Патогенез. Воротами инфекции является слизистая оболочка респираторного тракта. Проникновение возбудителя в организм происходит при вдыхании водных аэрозолей (душ, кондиционеры воздуха, ванна, ультразвуковые распылители воды, увлажнители систем искусственной вентиляции легких, фонтаны и т.п.). Несмотря на то, что в мокроте боль-

ных обнаруживаются легионеллы, фактов передачи инфекции от человека к человеку не установлено. Отмечено значительное повышение (4-кратное и более) титра специфических сывороточных антител в период между острой стадией болезни и периодом реконвалесценции (3–5 нед.). В последующие месяцы титры антител постепенно уменьшаются. Длительность гуморального иммунитета неизвестна.

Большинство случаев заболевания легионеллезом, связано с поражением легких (эти механизмы также являются наиболее изученными). Патологические изменения охватывают, как правило, не менее одной доли легкого и протекают в виде сливной пневмонии. Воспалительный процесс распространяется на терминальные бронхиолы и альвеолы (более проксимальные отделы обычно интактны). В зоне поражения обнаруживается массивная экссудация полиморфоядерных нейтрофилов и макрофагов с явлениями интенсивного лизиса лейкоцитов, накопление ядерного детрита и фибрина. Отмечается также выраженный отек интерстициальной ткани. Предполагается, что эти явления связаны с выделением легионеллами токсинов, обусловливающие другие клинические проявления болезни. Следует отметить, что все описанные изменения не являются патогномоничными для легионеллеза и встречаются при пневмониях другой этиологии.

Клиника. Инкубационный период продолжается от 2 до 10 суток (чаще 5-7). Различают следующие клинические формы легионеллеза:

1. Болезнь легионеров (тяжелая пневмония).

2. Понтиакская лихорадка (вспышка в г. Понтиак в штате Мичиган, характеризовалась острым началом, гриппоподобным течением умеренной тяжести, головной болью, лихорадкой, миалгией, но без признаков пневмонии).

3. Лихорадка «Форт-Брагг» (лихорадка, кожные высыпания).

4. Другие возможные формы заболевания

Заболеванию предшествовует ряд событий. Как показано на схеме, процесс начинается с появления источника легионеллы. Этот событие не зависит от особенностей системы и ее работы. Однако, следующие три звена в цепи – амплификция, распространение и передача – могут быть обусловлены особенностями конструкции и эксплуатации системы. Остальные звенья обусловлены состоянием здоровья человека



Схема 17. 1 Передача возбудителя легионеллы

Заболевание протекает с рядом симптомов, ни один из которых не может рассматриваться, как характерный только для этой болезни. Продолжительность инкубационного периода от 2 до 10 дней. Начальные симптомы проявляются головной болью, общим недомоганием, мышечными болями. В течении первых суток наблюдается подъем температуры, озноб, насморк, появляется сухой кашель, часто сопровождающийся болью в груди, возможен плеврит. У многих больных одышка, боли в животе. На 2–3-й день болезни температура достигает 39–40 °С. В легких выслушиваются хрипы. У большинства больных болезнь прогрессирует еще в течении 2–3 дней. Перемежающаяся лихорадка заканчивается постепенным падением температуры. В этот период кашель обычно с мокротой, однако, гнойные выделения наблюдаются редко. Диагноз основывается на данных клинической картины, лабораторных исследований и эпидемиологического анамнеза. У 90% больных обнаруживают рентгенологические изменения в легких. Зоны затемнения или пятнистые интерстициальные инфильтраты чаще выявляются в начальный период болезни. Позднее они увеличиваются в объеме, образуя более широкие области затемнения. Приблизительно в половине случаев, имеют место лишь односторонние поражения.

У пациентов, благополучно перенесших болезнь, рентгенологическая картина обычно улучшается к 10-му дню болезни.

На ранних этапах заболевания, примерно у 65% больных, обнаруживаются односторонние инфильтраты, представляющие собой округлые тени с тенденцией к слиянию, занимающие не менее одной доли. В большинстве случаев к моменту наивысшего развития болезни процесс обычно становится двухсторонним. У 30% больных отмечается незначительный плевральный выпот. Лейкоцитоз отмечается примерно у 20% больных, СОЭ повышена чаще. Возможны умеренные нарушения функции печени и почек. На протяжении первых 4-6 дней, состояние больных прогрессивно ухудшается. Клинические признаки улучшения появляются обычно лишь по прошествии еще 4-5 дней мощной антибиотикотерапии. Средняя продолжительность лихорадки 13 дней. Рассасывание инфильтратов в легких значительно отстает во времени от улучшения остальных клинических показателей. В ряде случаев, наблюдаются остаточные явления в виде ограниченного пневмосклероза. Период реконвалесценции часто составляет несколько недель и проявляется слабостью и повышенной утомляемостью.

Осложнения. Самым грозным осложнением болезни легионеров является дыхательная недостаточность. Почти у 30% госпитализированных больных отмечаются симптомы выраженных гипервентиляции и гипоксемии. Практически половина из них нуждается в интубации и проведении искусственной вентиляции легких. Причиной смерти, в первую очередь, являются дыхательная недостаточность, а также коллапс, шок с вторичной почечной недостаточностью.

Необходимо дифференцировать легионеллез с тяжелыми пневмониями, вызываемыми вирусами и микоплазмами. Подозрение на легионеллез должно возникать в случае тяжелой прогрессирующей пневмонии, плохо поддающейся лечению пенициллином и его аналогами, когда бактериологическая диагностика методом посева плеврального пунктата на обычные питательные среды дает отрицательный результат. Вероятность легионеллеза возрастает в случаях, когда больной среднего или пожилого возраста, курильщик, принимает иммуиодепрессанты. Методы лабораторной диагностики следует применять при всех случаях тяжелых пневмоний неясной этиологии. Лабораторная диагностика включает выделение возбудителя от больных из плеврального пунктата посевом на специальные среды, обнаружение возбудителя в пунктате методом прямой иммунофлюоресценции и серологическую диагностику (непрямую иммунофлюоресценцию с антигеном из бактерий L. pneumophila).

Тест прямой иммунофлюоресценции наиболее популярен в клинической практике. Он очень быстр в выполнении, но его чувствительность вариабельна и относительно невысока (18-75%). Чувствительность прямой иммунофлюоресценции возрастает до 80%, если этот метод подкрепляется культуральным или если респираторные секреты (трахеальный аспират или жидкость бронхоальвеолярного лаважа) предварительно обработаны.

Специфичность теста может достигать 94%. Спустя 4-6 дней после начала адекватной антибактериальной терапии, определение антигена становится невозможным.

Лечение. Клиническая практика показала, что наименьший показатель смертности отмечается при применении эритромицина в дозе от 0,5 г до 1,0 г каждые 6 ч для взрослых и в дозе 15 мг/кг каждые 6 ч для детей. В тяжелых случаях, эритромицин иногда сочетают с рифампицином. Применяют антибиотики.

Диагностика. Как уже указывалось, клинические проявления легионеллеза далеко не специфичны. Заподозрить наличие данного заболевания дают основание эпидемиологические предпосылки, тяжелое течение пневмонии и слабый эффект от традиционной терапии воспаления легких.

Рутинные исследования, включая бактериологические анализы крови и мокроты, дают отрицательные результаты на наличие легионелл. В аспирате из нижних дыхательных путей, выявляется большое количество гранулоцитов и альвеолярных макрофагов. Однако, грамположительные микробы в них не обнаруживаются, а посевы на обычные питательные среды роста не дают.

Диагноз легионеллеза наиболее точно устанавливается при использовании специальных сред, при условии тщательного забора материала (через кожный транстрахеальный аспират, лаважная жидкость), при котором исключается попадание микрофлоры из полости рта. Иммунофлюоресцентные методы диагностики считаются менее чувствительными, чем культуральные и используются реже.

Дифференциальный диагноз. Болезнь легионеров следует, в первую очередь, дифференцировать с пневмониями, требующими также специальной антибиотикотерапии. К ним относят микоплазмозную пневмонию, орнитоз и лихорадку Ку.

Прежде всего, следует помнить об особенностях эпидемиологического анамнеза легионеллеза. Объединяют все эти заболевания, как правило, тяжелое течение, интоксикация, скудные физикальные данные. Вместе с тем, при легионеллезе отмечается весьма характерная рентгенологическая картина и изменения гемограммы, менее свойственные вышеуказанным заболеваниям.

Наиболее популярная сегодня диагностика легионеллеза предполагает идентификацию специфических антител непрямая иммунофлюоресценция, ИФА и микроагглютинация. В типичных случаях, сероконверсия (четырехкратное нарастание титра специфических антител) наблюдается через 48 недель, однако, у лиц старших возрастных групп этот временной интервал может достигать 14 недель. Следует также учитывать тот факт, что 30% пациентов, переносящих острую легионеллезную инфекцию, не демонстрируют нарастания титра антител. ИФА характеризуется высокой специфичностью (95%) и приемлемой чувствительностью (85%) при определении специфических IgG и IgM. Описываются отдельные наблюдения перекрестных реакций с Pseudomonas aeruginosa, Chlamydia/ Chlamydophila spp., Mycoplasma pneumoniae и Campylobacter spp.

Профилактика не разработана.

Лучший способ предотвращения заражения легионеллезом -контроль численности популяции простейших и других микроорганизмов. Основополагающей стратегией предотвращения большинства заболеваний, включая легионеллу, является предотвращение передачи вируса на большинстве участков цепи.

Бартонеллы (род Bartonella)

Бартонеллы объединяют группу грамотрицательных факультативно-аэробных внутриклеточных бактерий, нуждающихся для своего роста в гемине или продуктах расщепления эритроцитов. Бартонеллы вызывают ряд болезней, именуемых бартонеллезами.

Возбудители бартонеллезов выделены в отдельные семейство *Bartonellaceae* подгруппы альфа-2 протеобактерий. включающее 12 видов, 5 из которых патогенны для человека.

Морфологические и культуральные свойства. Бартонеллы – короткие палочки размером 0,3-х0,5х1ч-3 мкм, иногда кокковидной формы. Грамотрицательны, по Романовскому–Гимзе окрашиваются в красно-фиолетовый цвет. Для *B. henselae* и *B. bacilliformis* характерно наличие 1–4 жгутиков, имеются пили. Бактерии имеют трехслойную клеточную стенку, состоящую из 12 протеинов (молекулярная масса 28–174 кДа); размер генома невелик.

Внутриклеточные паразиты, размножаются простым делением в эритроцитах и клетках системы моноцитарных фагоцитов, эндотелиальных клетках; требовательны к условиям культивирования. Растут на питательных средах, содержащих кровяной агар, могут культивироваться в РКЭ, в платяных вшах, кошачьих блохах. Оптимальная температура 26-37 °С.

Бартонеллы чувствительны к действию обычных дезинфектантов.

Факторы патогенности. Плохо изучены. Известно, что внедрение бартонелл в клетку происходит с помощью адгезинов, т.е. протеинов внешней мембраны. На месте внедрения иногда возникает «первичный аффект» (например, при болезни кошачьих царапин). Основными мишенями бартонелл являются эритроциты и эндотелиальные клетки. В местах прикрепления бартонелл к чувствительным клеткам формируются скопления (кластеры) микроорганизмов, возникает воспалительная реакция с разрастанием клеток эндотелия и прилегающих тканей. Часть клеток эндотелия подвергается некрозу. В результате этого процесса, развивается ангиоматоз или лимфоаде-нопатия с поражением костномозговых клеток и эритроцитов. Бактерии, при этом, могут быть обнаружены в эритроцитах и клетках эндотелия сосудов, селезенки, лимфатических узлах, печени, костного мозга, кожи.

Эпидемиология, клиника и диагностика. Человек высоковосприимчив к некоторым видам бартонелл. Резервуаром и источником возбудителя является больной или носитель, иногда – обезьяны. Механизм передачи, трансмиссивный или парентеральный.

Бартонеллез широко распространен, встречается в Южной и Северной Америке, а также, в Европе, в том числе, в России. Клиника болезней, вызываемых бартонеллами, крайне разнообразна – от легких местных расстройств лимфо- и кровообращения (болезнь кошачьих царапин, лимфоаденопатия, бациллярный ангиоматоз кожи) до более тяжелых острых, часто рецидивирующих (траншейная лихорадка) или длительно текущих болезней (пурпурный гепатит, эндокардит, перуанская бородовка и др.). Наиболее злокачественно протекает лихорадка Оройя, при которой смертность достигает 40%.

После перенесенного заболевания остается иммунитет.

Диагноз ставится на основании клинико-эпидемиологических данных и подтверждается микробиологическими методами. Применяют микроскопию, мазки крови, окрашенные по Романовскому–Гимзе, посев крови на среды с кровяным агаром, заражение РКЭ, культур клеток, а также серологические методы (РСК, РПГА, ИФА, ПЦР).

Лечение и профилактика. Прогноз зависит от формы бартонеллеза. Лечение – антибиотиками (группа тетрациклина, макролиды, фторхинолоны), а также другими антибкатериальными препаратами (новарсенол).

Специфическая профилактика не разработана. Неспецифические меры борьбы сводятся к уничтожению переносчиков (москиты, вши, блохи, клещи), устранению контактов с больными, санации домашних животных (кошек).

Возбудитель болезни ***кошачьих царапин*** (син. лимфоретикулез доброкачественный). Известен в США, Франции и России. Возбудитель *B. henselae* назван в честь Д. Хенсель, выделившей возбудителя.

Заражение человека происходит контактным путем, через повреждения кожи или конъюнктиву глаза. Инкубационный период 3–12 суток. Проявляется в виде одиночных или группы папул или папулопустул на месте царапин или укуса кошки с последующим развитием лимфаденита и нарушением общего самочувствия. Возможно заражение через укус кошачьих блох.

Лечение – антибиотиками. Прогноз благоприятный.

Возбудитель окопной или траншейной лихорадки (син. волынская лихорадка и др.). Возбудитель *B.quintana*. Острая форма бартонеллеза, отличается полиморфностью клинического проявления с острым началом (температура 39–39,5 °С), нарушением общего самочувствия, появлением розеолезной сыпи (у 20-80%). Возможны повторные приступы лихорадки и рецидивы.

Заражение – трансмиссивно платяными вшами через расчесы. Заболевание неконтагиозно. Инкубационный период 10–14 суток. Прогноз благоприятный. Диагноз ставится на основании клинико-эпидемиологических данных, а также обнаружения антигенов и антител в крови постановкой ПЦР. Иммунитет непродолжительный. Лечение – антибиотиками.

Возбудитель болезни Карриона *(B. bacilliformis).* Болезнь распространена в Южной Америке (Перу, Эквадор, Колумбия и др.). Выделяют две формы: 1) острая, протекающая с высокой температурой, резко выраженной анемией и летальностью до 40%, известная, как лихорадка Оройя; 2) кожная форма, развивающаяся спустя 1–2 мес. после острой формы с формированием на коже и слизистых оболочках сыпи и множественных кровоточащих папул, в силу чего, болезнь получила название перуанской бородавки.

Тождество двух форм болезни доказано студентом медицинского факультета г. Лимы Д. Каррионом (в опыте самозаражения), по имени которого и названо заболевание.

Переносчиками инфекции являются москиты. Инкубационный период 17-21 сутки. Резервуар возбудителя–мышевидные грызуны. Заболевание неконтагиозно. После перенесенного заболевания остается пожизненный иммунитет.

Клинико-эпидемиологический диагноз подтверждается выявлением бартонелл в крови и серологическими реакциями.

Лечение – антибиотиками.

Возбудитель бациллярного гепатита. Заболевание протекает с преимущественным поражением паренхимы печени, вследствие бациллярного поражения мелких сосудов печени (формирования в них кист), что ведет к застойным явлениям в этом органе. Развивается гепатоспленомегалия, анемия, тромбоцитопения.

Диагноз подтверждается микроскопическим исследованием препаратов.

Аэробные неферментирующие грамотрицательные палочки

Группа аэробных неферментирующих бактерий включает оксидазаположительные грамотрицательные палочки, окисляющие, а не ферментирующие углеводы (см. ниже). К неферментирующим относят представителей родов *Pseudomonas, Burkholderia, Alcaligenes, Eikenella, Flavobacterium, Kingella, Moraxella* и некоторые другие. Многие

из этих бактерий хорошо растут на простых питательных средах и в норме обитают в окружающей среде (почве, воде, на растениях), а также обнаруживаются в организме человека. В то же время, они являются возбудителями оппортунистических инфекций человека и животных.

Псевдомонады (род Pseudomonas)

Таксономическое положение. Современная классификация псевдомонад основана на методах молекулярной гибридизации и культуральных особенностях микроорганизмов. Некоторые бактерии рода *Pseudomonas* сравнительно недавно получили новое наименование – *Burkholderia*.

Род *Pseudomonas* включает вид *Pseudomonas aeruginosa* – синегнойную палочку, возбудитель многих ГВЗ; род *Burkholderia* – виды *Burkholderia (Pseudomonas) mallei* – возбудитель сапа и *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei* – возбудитель, вызывающий мелиоидоз и другие.

Синегнойная палочка (Pseudomonas aeruginosa) – основной возбудитель инфекционных поражений человека, вызываемых псевдомонадами. Первое описание раневой инфекции, вызванной синегнойной палочкой, принадлежит Люке (1862 г.), отметившему характерное сине-зеленое окрашивание перевязочного материала. Чистая культура микроорганизма была выделена Жессаром (1882 г.), изучившим его культуральные свойства.

Первая вспышка госпитальной инфекции, вызванной P. aeruginosa, зарегистрирована в 1897 г. (Багински), но уже в 1899 г. С.Н. Серковский указывал, что патогенные свойства бактерии чаще реализуются в организме лиц, с ослабленным иммунитетом (у детей и истощенных больных). Начиная с 70-х годов XX века P. aeruginosa – один из основных возбудителей локальных и системных гнойно-воспалительных процессов, особенно в условиях стационаров.

Общая характеристика.

Растет в широком диапазоне температур (4–42 °С), что указывает на способность длительно сохраняться в окружающей среде и противостоять защитному повышению температуры тела. Отличительная способность – ограниченная потребность в питательных веществах, обеспечивающая сохранение жизнеспособности в условиях почти полного отсутствия источников питания.

Синегнойная палочка хорошо растет 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; слизь придает характерную вязкость бульонным культурам и колониям мукоидных штаммов. На жидких питательных средах образует характерную серовато-серебристую пленку; по мере старения культур, возникает помутнение среды сверху вниз. На плотных питательных средах образует весьма разнообразные колонии. При росте на плотных средах у многих штаммов наблюдают феномен радужного лизиса, развивающийся спонтанно. Феномен характерен только для P. aeruginosa, его можно рассматривать как таксономический признак. Более того, он индивидуально выражен у отдельных штаммов и его можно использовать для внутривидовой дифференциальной диагностики. При образовании пигмента происходит окрашивание некоторых сред (например, агара Мюллера–Хинтона) в зеленый цвет. Протеолитическая активность сильно выражена: разжижает желатин, свертывает сыворотку крови, гидролизирует казеин; утилизирует гемоглобин. Сахаролитическая активность, наоборот, низкая: окисляет только глюкозу с образованием глю-

коновой кислоты. Эта бактерия продуцирует бактериоцины – пиоцины, способность к синтезу и чувствительность к которым широко варьирует у различных штаммов псевдомонад. На этом основано пиоцинотипирование псевдомонад, применяемое для внутривидовой дифференциальной диагностики чистых культур этого микроорганизма. Кроме продукции пиоцинов, синегнойная палочка может образовывать пигменты – характерный и имеющий важное диагностическое значение признак. Среди пигментов наиболее часто встречают:

• Пиоцианин. Окрашивает питательную среду, отделяемое ран и перевязочный материал в сине-зеленый цвет.

• Флюоресцин (пиовездин), флюоресцирующий при УФ-облучении (длина волны – 254 нм).

• Пиорубин (красный).

• Пиомеланин (черный).

• L-оксифеназин (желтый).

Метаболизм

Эти бактерии выраженные хемоорганотрофы, метаболизм дыхательный, строгие аэробы. В качестве источника энергии синегнойная палочка использует H2 или CO. Универсальный акцептор электронов – молекулярный кислород. Как и большинство патогенных гноеродных микроорганизмов, эти бактерии каталазоположительны. Подобно прочим аэробам, синтезируют цитохромоксидазу, а оксидазный тест – один из ведущих при идентификации этих микроорганизмов. Синтезирует триметиламин, придающий культурам запах жасмина, винограда или карамели. Синегнойная палочка не нуждается в факторах роста, способна расти на протяжении нескольких пассажей в чисто минеральной среде при добавлении подходящего источника углерода. Ассимилирует ацетат, пируват, сукцинат. Может утилизировать глюкозу, L-аланин при их содержании в среде не менее 0,5%.

Патогенез поражений

Патогенное действие P. aeruginosa обусловлено образованием веществ, проявляющих свойства экзотоксинов и высвобождением эндотоксинов при гибели и распаде бактериальной клетки.

Экзотоксины бактерий представлены продуктами жизнедеятельности с широким спектром биологической активности. Среди них основное значение имеют:

1. Экзотоксин А – белок с молекулярной массой 66 000–72 000 Д. Молекула токсина состоит из одной полипептидной цепи с 4 дисульфидными мостиками, свободных сульфгидридных групп не содержит. Токсин термолабилен, расщепляется трипсином, панкреатической эластазой, проназой, а также распадается под действием собственных протеолитических ферментов. Механизм действия связан с модификацией белков через АТФ-рибозилирование. Его мишень – фактор элонгации 2 (ФЭ-2); следствие – нарушение организации матрицы белкового синтеза (аналогичным свойством обладает дифтерийный токсин). Действие проявляется (в экспериментах на подопытных животных) в токсическом действии общего характера: отеках, некрозах, гипертензии с последующим коллапсом, метаболическом ацидозе, дыхательной недостаточности, параличе внутриклеточного синтеза белков и т.д.

2. Экзоэнзим S – белок с АДФ-трансферазной активностью; термостабилен. Инактивируется под действием денатурирующих и восстанавливающих агентов, ионов Cu2+ и

Fe2+. Образуется в двух формах: первая – ферментативно активный белок с молекулярной массой 49 000 Д; вторая - неактивный белок-предшественник с молекулярной массой 53 000 Д. Этот экзоэнзим в очищенном виде, нетоксичен для животных. In vivo вызывает глубокие патологические процессы в легких.

3. Цитотоксин оказывает выраженное цитотоксическое действие на полиморфно-ядерные нейтрофилы; способствует развитию нейтропении. Вызывает ультраструктурные изменения в клетках, нарушение физиологических градиентов K+, Na+, Ca2+ и глюкозы через повышение проницаемости клеточных мембран; последнее обусловливает набухание клеток и потерю ими крупных (например, белковые) молекул.

4. Гемолизины. Бактерия образует две гемолитические субстанции – термолабильный гемолизин с лецитиназной активностью (фосфолипаза С) и термостабильный гемолизин (фосфолипаза). И первый, и второй гемолизины вызывают сенсобилизацию и гидролиз фосфолипидов с образованием фосфорилхолинов. In vivo гемолизины приводят к развитию некротических поражений, особенно в печени и легких.

Среди эндотоксинов, образуемых синегнойной палочкой, выделяют:

1. Энтеротоксический фактор. Несмотря на то, что он не выделен в чистом виде, в настоящее время, подтверждены его белковая природа, термолабильность и чувствительность к действию трипсина.

2. Фактор проницаемости, также лабильный к нагреванию и действию трипсина. Подтверждена его роль в развитии патологических процессов в тканях.

3. Нейраминидаза. Она нарушает процессы метаболизма веществ, содержащих нейраминовые кислоты, например, в соединительнотканных элементах. Этот фермент способен в 2–3 раза усиливать действие других токсинов синегнойной палочки.

Несмотря на наличие большого набора факторов вирулентности, синегнойную палочку все же следует рассматривать как оппортунистический патоген, так как синегнойная инфекция редко наблюдается у иммунокомпетентных лиц с неповрежденными анатомическими барьерами. Большинство штаммов P. aeruginosa обладает поверхностными микроворсинками, обеспечивающими адгезию к эпителию. Взаимодействие с клетками реализируется через рецепторы, включающие N-ацетилнейраминовые кислоты; определенную роль играет и вырабатываемая бактериями слизь. Прикрепление к субстратам стимулирует дефицит фибронектина, наблюдаемый при многих заболеваниях, особенно при муковисцидозе и других хронических заболеваниях легких.

Псевдомонады – типичные внеклеточные микроорганизмы и их размножение напрямую обусловлено способностью противостоять действию факторов колонизационной резистентности макроорганизма. В частности, слизь и секретируемые цитотоксины затрудняют элиминацию бактерий фагоцитами и иммунокомпетентными клетками, что особенно выражено у пациентов с иммунодефицитами.

Клинические проявления

Поскольку возбудитель особенно обильно обсеменяет медицинское оборудование и циркулирует среди персонала и пациентов больниц, то госпитализация существенно увеличивает риск колонизации больного синегнойной палочкой и развития у него внутрибольничной инфекции – ВБИ (см. таблицу).

Pseudomonas aeruginosa вызывает до 15–20% всех ВБИ. Она считается, одним из основных возбудителей нозокомиальных пневмоний, вызывает треть всех поражений мочеполовой системы у урологических больных и считается причиной 20–25% гнойных хирургических инфекций и первичных грамотрицательных бактериемий.

Лечение и профилактика

Инфекции, вызванные синегнойной палочкой, плохо поддаются антибиотикотерапии, что обусловлено, частым выделением полирезистентных штаммов.

Резистентность к антибиотикам, обусловлена двумя основными механизмами – блокада транспорта препарата к внутриклеточной мишени и его инактивация бактериальными ферментами. Первый обеспечивают анатомические особенности поверхностных структур P. aeruginosa. Второй обусловлен способностью бактерии синтезировать бета-лактамазы (инактивирующие пенициллины и цефалоспорины), ацетилтрансферазы, нуклеотидазы (инактивирующие аминогликозиды). Кроме того, в формировании резистентности к антибактериальным препаратам у P. aeruginosa имеют значение и другие механизмы, в частности, активное выведение (efflux), что может обусловливать неэффективность цефалоспоринов, карбапенемов, фторхинолонов.

В настоящее время, наиболее эффективными антибиотиками при лечении синегнойной инфекции, являются антипсевдомонадные цефалоспорины (цефтазидим, цефепим), карбапенемы (меропенем, имипенем); часто в лечении используются комбинации этих антибиотиков с фторхинолонами (ципрофлоксацин) или аминогликозидами (амикацин).

Особые трудности представляет профилактика синегнойной инфекции, так как возбудитель также часто устойчив к действию антисептиков и дезинфектантов. Более того, доказана возможность длительного сохранения возбудителя в растворах фурацилина, используемого для хранения катетеров и хирургического инструмента, а также для промывания ран.

Pseudomonas aeruginosa может вырабатывать вещества, способные нейтрализовать некоторые дезинфектанты. В то же время, она чувствительна к высушиванию, действию хлорсодержащих дезинфицирующих препаратов, быстро погибает под действием высокой температуры и давления.

Буркхольдерии (род *Burkholderia*)

Возбудитель сапа – *Burkholderia (Pseudomonas) mallei*

Возбудитель сапа – *Burkholderia mallei* был открыт в 1882 г. Ф. Леффлером и Х. Шутцем.

Биологические свойства. Возбудитель сапа – мелкая грамотрицательная палочка; жгутиков, спор и капсул не имеет. Аэроб. Хорошо растет на простых питательных средах, пигмента не образует. Штаммы возбудителя сапа различаются по антигенной структуре. Ведущим фактором патогенности является эндотоксин (маллеин), который действует на клетки гладкой мускулатуры различных органов, вызывает лихорадку и снижение массы тела.

Резистентность. *Burkholderia mallei* чувствительны к высушиванию, нагреванию и многим дезинфектантам (кроме лизола). Во влажной среде и гниющих материалах сохраняется около месяца.

Эпидемиология. Сап – зооантропонозная, особо опасная инфекция. Основным резервуаром возбудителя и источником инфекции являются парнокопытные животные (лошади, ослы, мулы, верблюды, зебры), а также хищники, поедающие мясо этих животных. Случаи заражения человека от животных, обычно связаны с профессиональной деятельностью человека (ветеринарные врачи, работники животноводства). Заболевание может передаваться от человека к человеку, однако, заболеваемость людей обычно носит спорадический характер. Описаны случаи внутрисемейного заражения сапом.

Механизм заражения, чаще всего, контактный (при уходе за больными животными), возможны также фекально-оральный (путь заражения – пищевой) и респираторный механизмы передачи возбудителя.

Сап встречается в странах Средиземноморья, Юго-Восточной Азии. В России существует опасность завоза инфекции из-за рубежа.

Патогенез и клиника. Входными воротами инфекции являются слизистые оболочки глаз, носа, верхних дыхательных путей, поврежденные кожные покровы. На месте проникновения возбудителя образуются папулы, которые затем превращаются в пустулы и язвы. Инфекционный процесс редко носит локальный характер. При сапе наблюдается бактериемия, септицемия с образованием вторичных гнойных очагов в мышцах и внутренних органах.

Инкубационный период составляет в среднем 1–5 дней. Заболевание протекает тяжело. Во внутренних органах формируются гранулемы и абсцессы. Острая форма сапа длится 7–14 дней и в 100% случаев заканчивается летально.

Иммунитет. Изучен плохо.

Микробиологическая диагностика. Основана на обнаружении возбудителя в отделяемом из носа, в содержимом гнойных язв, мокроте или крови, а также в секционном материале после аутопсии. Исследование проводят только в специализированных лабораториях, с соблюдением правил работы с возбудителями особо опасных инфекций. Применяют бактериоскопический (ориентировочный), бактериологический (выделение и идентификация возбудителя) и серологический (РСК, реакция агглютинации) методы. Кожно-аллергическая проба с маллеином (фильтратом бульонной культуры возбудителя) также позволяет поставить диагноз сапа.

Лечение. Применяют антибиотики – аминогликозиды, тетрациклины.

Специфическая профилактика. Не разработана. Неспецифическая профилактика сапа включает тщательное соблюдение правил индивидуальной защиты при уходе за больными животными и при работе с инфекционным материалом, а также ветеринарный надзор с целью выявления больных животных и инфицированных продуктов животного происхождения.

Возбудитель мелиоидоза – *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei*

Возбудитель мелиоидоза (ложного сапа) – *Burkholderia pseudomallei* был выделен в 1912 г. английским врачом Р. Уайтмором в Бирме.

Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei – мелкая, подвижная, неспорообразующая, грамотрицательная палочка. Окрашивается биполярно. Аэроб. Хорошо растет на простых питательных средах, образует кремовые или оранжевые колонии, гладкие или шероховатые. Растет медленно (около 72 ч). Подобно синегнойной палочке, может расти при температуре 42 °С. Окисляет глюкозу, лактозу и некоторые другие углеводы. Имеет О- и Н-анти-гены. Среди факторов патогенности называют летальный и дерматонекротический токсины, Л ПС, протеазы и гемолизин.

Резистентность. *Burkholderia pseudomallei* довольно устойчива в окружающей среде: в отличие от возбудителя сапа, сохраняет жизнеспособность при высушивании, в течение месяца сохраняется в моче, фекалиях и трупах животных. Однако, весьма чувствительна к различным дезинфектантам.

Эпидемиология. Возбудитель мелиоидоза распространен в природе: его выделяют из образцов почвы, воды, на рисовых полях, с поверхности овощей и фруктов.

Мелиоидоз – зоонозное инфекционное заболевание, протекающее по типу септикопиемии. Источником инфекции являются грызуны, различные сельскохозяйственные (свиньи, лошади, крупный и мелкий рогатый скот) и дикие животные. Случаев заражения человека от человека не описано.

Возбудитель проникает в организм человека через поврежденную кожу (контактный механизм заражения), слизистые оболочки (респираторный и фекально-оральный механизмы). Не исключается также заражение через переносчиков (кровяной механизм, путь передачи инфекции – трансмиссивный). Естественная восприимчивость людей невысокая.

Мелиоидоз – эндемичное заболевание, встречается преимущественно в странах Юго-Восточной Азии и Австралии.

Патогенез и клиника. Патогенез мелиоидоза мало изучен. Из первичного очага возбудитель быстро попадает в кровь, вызывая бурную интоксикацию. Оседая в различных внутренних органах, он приводит к возникновению множественных абсцессов.

Инкубационный период составляет в среднем 2–3 дня. Заболевание протекает остро, хотя возможно и латентное течение. Болезнь в большинстве случаев заканчивается летально.

Иммунитет. Не изучен.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования – кровь, моча, испражнения, мокрота, рвотные массы, гной, секционный материал. Применяемые методы исследования: бактериоскопический (обнаруживают биполярно окрашенные палочки), бактериологический (выделение и идентификация возбудителя), биологический (биопроба на мышах или морских свинках) и серологический (реакция агглютинации, РСК, РПГА).

Лечение. Применяют сульфаниламидные препараты и антибиотики.

Специфическая профилактика. Не разработана. Основные профилактические мероприятия сводятся к ветеринарному надзору и санитарно-разъяснительной работе в очагах возникновения болезни.

Кингеллы (род Kingella)

Бактерии рода *Kingella* получили свое название в честь американского бактериолога Э. Кинг, которая впервые подробно описала их. Кингеллы относят к группе так называемых неферментирующих грамотрицательных бактерий.

Кингеллы являются представителями нормофлоры полости рта и носоглотки, однако, способны вызывать оппортунистические инфекции.

Таксономическое положение. Род *Kingella* включает 3 вида: *K. kingae, K. denitrificans, K. indologenes,* из которых *K. kingae* имеет наибольшее медицинское значение. Семейство кингелл не определено.

Морфологические и тинкториальные свойства. Кингеллы – грамотрицательные прямые палочки длиной 1 мкм с закругленными или квадратно очерченными концами, расположенные попарно или в виде коротких цепочек. Спор и капсул не образуют. Жгутиков не имеют. Обычно неподвижны, однако, могут иметь фимбрии (пили), благодаря которым, способны передвигаться рывками, особенно, по поверхности твердого субстрата.

Культуральные свойства. Аэробы или факультативные анаэробы, лучше культивируются в аэробных условиях. Оптимальная температура роста 33–37 °С. Плохо растут на простых питательных средах, так как нуждаются в факторах роста животного происхождения. На кровяном агаре образуют зоны β-гемолиза.

Кингеллы способны образовывать колонии двух типов: 1) плоские, распространяющиеся по поверхности, вызывающие коррозию плотной питательной среды, – R-формы. Этот тип колоний связан со способностью бактерий к движению, благодаря наличию фимбрий; 2) гладкие, выпуклые S-колонии, характерные для неподвижных кингелл, не имеющих фимбрий.

Биохимические свойства. Кингеллы обладают слабо выраженной биохимической активностью: сбраживают глюкозу и некоторые другие углеводы до кислоты, без газообразования. Обладают слабой протеолитической активностью: расщепляют казеин, могут образовывать индол на среде с триптофаном. Оксидазаположительны, каталазаотрицательны.

Антигенные свойства. Мало изучены. Имеют О-антиген.

Факторы патогенности. Вирулентность кингелл, вероятно, определяется наличием эндотоксина, а также фимбриями. Адгезины бактерий и пили обеспечивают их способность к адгезии.

Резистентность. Кингеллы малоустойчивы в окружающей среде. Довольно быстро погибают при высоких температурах: уже при температуре 45 °С, их гибель наступает через 10–15 мин. Они также высокочувствительны к антисептикам и антибиотикам (например, пенициллину, ампициллину и эритромицину).

Эпидемиология и клиника. Кингеллы выделяют со слизистых оболочек верхних дыхательных путей и полости рта человека, считая их представителями нормальной микрофлоры полости рта, комменсалами носоглотки человека.

Бактерии рода *Kingella* вызывают так называемые оппортунистические инфекции, у лиц со сниженным иммунитетом. *K. kingae,* например, является возбудителем менингитов, артритов и остеомиелитов, а также септических эндокардитов, в особенности, у людей с искусственными клапанами сердца. Считается, что эти бактерии способны проникать в кровоток даже при таких простых манипуляциях, как чистка зубов, если эта процедура сопровождается повреждением десен или другими микротравмами.

Иммунитет. Мало изучен.

Микробиологическая диагностика. Основана на применении бактериологического метода исследования различных клинических материалов: крови (при септическом эндокардите или септицемии), спинномозговой жидкости (при менингите), синовиальной жидкости (при септическом артрите) и др.

Лечение. Поскольку кингеллы отличаются высокой чувствительностью к β-лактамным антибиотикам и макролидам, пенициллин, ампициллин и эритромицин могут быть назначены при лечении заболеваний, вызванных этими микроорганизмами.

Специфическая профилактика. Не разработана..

***Моракселлы (род Moraxella)* и бранхамеллы (подрод *Branhamella*)**

Бактерии рода *Moraxella* являются представителями нормальной микрофлоры слизистых оболочек верхних дыхательных путей человека и некоторых животных. Могут вызывать различные заболевания, у людей с нарушениями иммунитета.

Подобно кингеллам, моракселлы относятся к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий. Впервые были выделены офтальмологами В. Мораксом и К. Аксенфельдом в 1896 г. Бактерии под-рода *Branhamella* названы так, в честь американского бактериолога С. Э. Брэнэм (S. E. Branham).

Таксономическое положение. Семейство мораксел не определено. Род *Moraxella* разделен на два подрода. Подрод *Moraxella* объединяет 6 видов бактерий: *Moraxella lacunata* (типовой вид), *M. atlantae, M. bovis, M. nonliquefaciens, M. osloensis, M. phenylpyruvica.* К подроду *Branhamella* относятся следующие виды бактерий: *Branhamella catarrhalis, B. caviae, B. cuniculi, B. ovis.*

Морфологические и тинкториальные свойства. Моракселлы – это мелкие грамотрицательные палочки (подрод *Moraxella*) или кокки (подрод *Branhamella*), расположенные попарно или в виде коротких цепочек. Для мораксел характерен плеоморфизм – в культурах наблюдается изменчивость размера и формы клеток: встречаются нитевидные клетки

и длинные цепочки бактерий. Плеоморфизм мораксел усиливается в отсутствие кислорода или при температуре выше оптимальной. У бранхамелл клетки имеют форму кокков, они обычно мелкие, расположены одиночно или попарно; соприкасающиеся стороны клеток уплощены.

Клеточная стенка мораксел имеет истинные воски. Все моракселлы образуют капсулу. Они неподвижны. Бактерии подрода *Moraxella* могут иметь фимбрии. Так же как и у кингелл, у мораксел имеется способность к движению рывками по твердой поверхности благодаря наличию фимбрий.

Культуральные свойства. Моракселлы – аэробы. Оптимальная температура роста 33–35 °С, бранхамеллы могут расти и при 22 °С. Все бактерии рода *Moraxella* требовательны к составу питательных сред, нуждаются в добавлении аминокислот, биотина, лактата (сукцината), в качестве источника углерода и энергии.

Бактерии подрода *Moraxella* на плотных питательных средах могут образовывать два типа колоний: 1) шероховатые с неровными краями, иногда с коррозией питательной среды у фимбриеобразующих штаммов; 2) очень мелкие, гладкие колонии с ровными краями у штаммов без фимбрий.

Бактерии, относящиеся к подроду *Branhamella,* образуют мутные складчатые колонии с приподнятым центром.

Биохимические свойства выражены слабо. Моракселлы относятся к неферментирующим бактериям, поэтому при утилизации углеводов кислото-образование не наблюдается. Могут восстанавливать нитраты. Каталаза- и оксидазапозитивны.

Branhamella catarrhalis по своим морфологическим и тинкториальным свойствам похожа на бактерии рода *Neisseria,* однако, отличается от них по биохимическим свойствам: неспособностью окислять углеводы, а также ДНКазной активностью. *B. catarrhalis* продуцирует бутират эстеразу, обнаружение которой используется при экспресс-диагностике заболеваний, вызываемых этим микроорганизмом.

Антигенные свойства мораксел мало изучены.

Факторы патогенности. Вирулентность мораксел определяется наличием эндотоксина, фимбрий. Бранхамеллы способны, кроме того, продуцировать ДНКазу.

Резистентность. Все моракселлы малоустойчивы в окружающей среде. Отличаются также высокой чувствительностью к пенициллину, за исключением *Branhamella catarrhalis,* продуцирующей р-лактамазу.

Эпидемиология и клиника. Бактерии рода *Moraxella* обнаруживаются в норме на слизистых оболочках верхних дыхательных путей человека и животных. Однако, способны вызывать различные заболевания, преимущественно у людей, со сниженной иммунологической реактивностью. Эти заболевания развиваются как эндогенные оппортунистические инфекции. Они характеризуются различной локализацией и клинической симптоматикой. Моракселлы могут вызывать у человека эндокардит, конъюнктивит, менингит, уретрит, различные респираторные инфекции (бронхит, пневмонию, фарингит, отит, синусит).

Иммунитет. Мало изучен.

Микробиологическая диагностика. Основана на бактериологическом исследовании материала, взятого от больных.

Лечение. Большинство мораксел чувствительны к (3-лактамным антибиотикам. Однако, учитывая способность бранхамелл продуцировать Р-лактамазу, для лечения инфекций, вызванных всеми видами мораксел и бранхамелл, рекомендуется применять антибиотики других групп.

Специфическая профилактика. Не разработана.

Ацинетобактер (род Acinetobacter)

Относится к нормофлоре человека, вызывает госпитальные инфекции.

Таксономия. Род *Acinetobacter,* вид *Acinetobacter calcoaceticus, 2* варианта: *anitratus и Iwoffl.*

Морфология и тинкториальные свойства. Короткие толстые полиморфные грамотрицательные палочки, длиной 1,5–2,5 мкм; часто имеют кокковидную или овоидную форму. В мазке располагаются беспорядочно, но могут наблюдаться в виде коротких цепочек. Спор не образуют. Отмечается наличие фимбрий. Жгутиков не имеют. Могут образовывать капсулу.

Культуральные и биохимические свойства. По типу дыхания ацинетобактерии – строгие аэробы.

Метаболизм дыхательного типа. Хорошо растут на обычных питательных средах, при температуре 30–35 °С, pH – 7. На плотных средах образуют мелкие блестящие колонии. При росте на кровяном агаре возможно образование зоны а-гемолиза. Биохимические свойства ацинетобактерий выражены слабо. Полисахариды не разлагают, но некоторые виды способны ферментировать моносахариды с образованием кислоты, на чем основана их видовая дифференциация. Индол и сероводород не образуют, лизин не декарбоксилируют.

Факторы патогенности. ЛПС клеточной стенки, Капсула, которая препятствует фагоцитозу, адгезины, обеспечивающие прикрепление микроба к эпителию.

Эпидемиология и клиника. Ацинетобактерий широко распространены в природе. Обитают в почве, воде. Часто обнаруживаются на коже и на слизистой носоглотки здоровых людей.

Вызывают госпитальные инфекции (второе место после псевдомонад), сепсис, перитониты, эндокардиты, раневую и ожоговую инфекции, особенно, у детей младшего и среднего возраста. Выделяются при поражении кожных покровов и слизистых оболочек респираторного и урогенитального трактов. Возникновение инфекции наблюдается, как правило, у иммунодефицитных лиц.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования – кровь, гной, раневое отделяемое. Возможен микроскопический метод исследования. Выделяют чистую культуру, идентификация проводится по биохимичесим свойствам.

Лечение. Микроб чувствителен к неомицину и полимиксину.

Специфическая профилактика. Не разработана.

17.4. Палочки грамотрицательные анаэробные

Облигатные анаэробные бактерии представляют собой чрезвычайно многочисленную сборную группу микробов, относящихся к различным родам и семействам, морфологически представленную как грамположительными, так и грамотрицательными кокками, палочками, а также извитыми и ветвящимися формами; характеризуются строгим анаэробиозом и чувствительны к токсическому действию кислорода воздуха, обладают сложными питательными потребностями.

Облигатные анаэробные бактерии, имеющие клиническое значение в патологии человека и животных, можно условно разделить на две группы: 1) *образующие споры,* или *клостридии;* 2) *неспорообразующие анаэробы.*

К первой группе относятся возбудители анаэробных *клостридиальных инфекций:* столбняка, ботулизма, газовой гангрены, псевдо-мембранозного колита.

Бактерии второй группы чрезвычайно многочисленны и разнообразны по видовому составу, принадлежат к различным таксономическим группам, но в организме человека и животных все

эти микробы способны вызывать сходный патологический процесс, клинически характеризующийся гнойно-септическими заболеваниями различной локализации. Среди облигатных анаэробных бактерий есть патогенные (*Treponemapallidum, Borreliarecurrentis*), условно-патогенные и сапрофитические виды. Большинство облигатных анаэробных бактерий – условно-патогенные микробы, которые преобладают в нормальной микрофлоре человека и животных. К облигатным анаэробным бактериям относятся палочковидные бактерии – представители родов *Anaerorhabdus, Bacteroides, Bilophila, Butyrivibrio, Centipeda, Desulfomonas, Fusobacterium, Leptotrichia, Mitsuokella, Mobiluncus, Porphyromonas, Prevotella, Selenomonas, Succinimonas, Succinivibrio, Wolinella* и кокки родов *Acidaminococcus, Megasphaera* и *Veillonella*. Классификация облигатных анаэробных бактерий, имеющих клиническое значение, представлена в табл. 17.16.

Бактероиды (род *Bacteroides*)

Морфология. Вариабельные по своим размерам грамотрицательные палочки, которые отличаются высокой степенью полиморфизма. Морфология варьирует от коккобациллярных до ветвящихся форм. Большинство неподвижно, спор не образуют. Некоторые виды образуют капсулу. Типовой вид – *Bacteroides fragilis*. Бактерии группы *Bacteroides fragilis* (*B. thetaiotaomicron, B. ovatus, B. vulgatus, B. distasonis*) в мазках из клинического материала представлены бледными полиморфными палочками с закругленными концами. Клетки *B. ureolyticus* и *B. gracilis* тонкие, с закругленными концами. **Культуральные свойства.** Облигатные анаэробы, хемоорганотрофы. Культивируются на анаэробном кровяном агаре, тиогликолевой среде; лучше растут на комплексных средах (например, агаре с сердечно-мозговым экстрактом) в условиях анаэробиоза. Образуют жемчужно-серые или белые колонии. Добавление гемина и менадиона (витамин К) стимулирует рост культуры. На анаэробном кровяном агаре бактероиды группы «фрагилис» образуют серовато-белые, прозрачные или мутноватые мелкие S-формы колоний без зоны гемолиза; B. ovatus чаще образует слизистые колонии, а колонии B. thetaiotaomicron обычно белого цвета. Ключевые признаки группы – *способность расти в присутствии 20% желчных солей, резистентность к канамицину* (100 мкг), *ванкомицину* (5 мкг) и *колистину* (10 мкг). На плотных питательных средах с желчью, колонии могут быть окружены осадком желчных солей. На анаэробном кровяном агаре *B. ureolyticus* и *B. gracilis* образуют мелкие полупрозрачные колонии, у некоторых изолятов – распластанные на поверхности. *Вызывают зеленое окрашивание и коррозию среды.* Для роста нуждаются во внесении в среду фумаратов и формиатов.

Биохимическая активность. Протеолитическая активность умеренная, лецитиназу не образуют, не вызывают гемолиза эритроцитов, гиппурат не гидролизуют (родовой признак), образование индола непостоянно. *B. ureolyticus* уреаза-положителен, *B. gracilis* – уреазаотрицателен. Основные дифференциальные признаки представлены в табл. 17.17.

Антигенная структура. Содержат соматический О-АГ, могут иметь Н- и К-АГ.

Факторы патогенности. Образуют капсулу и продуцируют супероксиддисмутазу, что защищает бактерии от бактерицидного действия внеклеточных и внутриклеточных факторов, а также фагоцитов. Содержат эндотоксин, отличающийся от ЛПС других грамотрицательных бактерий и проявляющий умеренную биологическую активность. Штаммы *Bacteroides fragilis* продуцируют нейраминидазу, гиалуронидазу, фибринолизин, являющиеся факторами патогенности.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистые полости рта, верхних дыхательных путей, гениталий и кишечника.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Резистентны к пенициллинам, цефалоспоринам I и II поколений, особенно, *B. distasonis* и *B. thetaiotaomicron*. Препараты выбора – левомицетин, метронидазол, имипенем. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Порфиромонады (род Porphyromonas)

Морфология. Короткие грамотрицательные палочки размером 1.0+3,0x0,5+0.8 мкм. Неподвижны, спор не образуют. Клетки из молодых культур могут быть грамвариабельны. Род представлен тремя видами: *P. asaccharolytica* (типовой вид), *P. gingivalis* и *P. endodontalis.*

Культуральные свойства. На анаэробном кровяном агаре на 6–14-е сутки культивирования образуют слизистые темно-коричневые или черные колонии. Быстрое пигментообразование наблюдается на агаре с кровью кролика. Рост существенно стимулирует внесение в питательную среду белковых гидролизатов, например, пептона или дрожжевого экстракта. До появления пигмента (через 24–48 ч анаэробного культивирования) колонии флюоресцируют рубиново-красным или коралловым цветом при длинноволновом УФ-облучении. Для роста нуждаются в гемине и менадионе.

Биохимическая активность. Очень низкая. Инертны по отношению к углеводам. Дифференциальные признаки весьма немногочисленны: *P. asaccharolytica* синтезирует *а*-фукозидазу, а *P. gingivalis* агглютинирует эритроциты барана. Все виды образуют индол. Ключевые признаки – отсутствие способности расти в присутствии 20% желчных солей. Резистентность к канамицину (100 мкг) и колистину (10 мкг), но чувствительность к ванкомицину (5 мкг).

Антигенная структура. Мало изучена.

Факторы патогенности. *P. gingivalis* связывает и разрушает фибриноген, продуцирует коллагеназу, повреждающую дентин, а также агглютинирует эритроциты.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистые полости рта и верхних дыхательных путей.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Резистентны к пенициллинам и цефалоспоринам. Препараты выбора – метронидазол, левомицетин, имипенем и клиндамицин. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Превотеллы (род Prevotella)

Морфология. Полиморфные неподвижные аспорогенные палочки, близкие к бактероидам. В мазке напоминают порфиромонады. Типовой вид – *Prevotella melaninogenica.*

Культуральные свойства. Хемоорганотрофы, облигатные анаэробы. На анаэробном кровяном агаре образуют пигментированные от светло-коричневых до черных колонии. Морфология колоний может быть различной. Например, *P. intermedia* образует коричневато-черные сухие колонии, а колонии *P. melaninogenica, P. loescheii* и *P. denticola* – коричневатые, гладкие и блестящие, что обусловлено наличием капсулы. Обычно пигмент образуется на 5–14-е сутки культивирования, на агаре с кровью кролика. До образования пигмента, колонии превотелл могут флюоресцировать ярко-красным цветом при проходящем УФ-облучении.

Таблица 17. 16.

Классификации облигатных анаэробных микробов

МОРФОЛОГИЯ	РОД	ВИД
	Грамотрицательные	
Палочки	Bacteroides	B. fragilis B. thetajotaomicron B. vulgaris и т.д.
	Porphyromonas	P. assacharolyticum P. endodontalis P. gingivalis P. melaninogenica
	Prevotella	P. oralis P. bivia и т.д.

	Fusobacterium	F. nucleatum F. necrophorum F. varjum и т.д.
	Leptotrichia	L. buccalis и т.д. M. cortisli
	Mobiluncus	M. mulieris и т.д.
	Wolinella	W. recta и т.д.
Кокки	Veillonella	V. parvulla V. atipica V. dispar и т.д.
	Trepomema	T. pallidum и т.д.
Извитые	Borrelia	B. reccurentis и т.д.
Грамположительные		
Палочки	Propionibacterium	P. acnes P. avidum и т.д.
	Eubacterium	E. lentum и т.д.
	Lactobacillus	L. acidophylus и т.д.
	Bifidobacterium	B. adolescentis B. longum и т.д.
	Peptococcus	P. niger P. magnus
Кокки	Peptosteptococcus	P. micros P. anaerobius и т.д.
Ветвящиеся	Actinomyces	A. bovis A. israelii и т.д.

Биохимическая активность. Проявляют умеренную сахаролитическую активность. Основные продукты ферментации углеводов – сукцинаты и ацетаты. Дифференциальные признаки различных видов представлены в табл. 17.18. Ключевые признаки превотелл – отсутствие способности расти в присутствии 20% желчных солей. Резистентность к канамицину (100 мкг) и ванкомицину (5 мкг), но чувствительность к колистину (10 мкг).

Антигенная структура. Мало изучена.

Факторы патогенности. Основной фактор патогенности – эндотоксин, активность которого выше, чем у бактероидов (особенно у *P. bivia*). *P. melaninogenica* и *P. intermedia* выделяют также фосфолипазу А, нарушающую целостность мембран эпителиальных клеток, что вызывает их гибель.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистые полости рта, верхних дыхательных путей, гениталий и кишечника.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Резистентны к пенициллинам и цефалоспоринам. Препараты выбора – метронидазол, левомицетин, имипенем и клиндамицин. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Лептотрихии (род Leptotrichia)

Морфология. Прямые или слегка изогнутые, неподвижные, грамотрицательные палочки размером 5+15x1+1,5 мкм с закругленными или заостренными концами. Две или более клетки объединены в септированные нити различной длины. В старых культурах нити длиной до 200 мкм могут переплетаться друг с другом. При лизисе клеток в нити появляются крупные кокковидные тела или луковицеобразные вздутия. Вдоль оси клетки равномерно распределены гранулы.

Культуральные свойства. Анаэробы. Для оптимального роста необходимо 5% CO_2. Гетеротрофы со сложными пищевыми потребностями.

Биохимическая активность. Ферментируют глюкозу до кислоты без образования газа; главные продукты – молочная и уксусная кислоты; масляную кислоту не образуют. Не образуют сероводород и аммиак, каталазаотрицательны. Нитраты не восстанавливают; желатину не разжижают.

Экологическая ниша. – ротовая полость человека.

Устойчивость в окружающей среде. Нагревание при 60 °С в течение 10 мин. ведет к гибели клеток.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Фузобактерии (род Fusobacterium)

Морфология. Полиморфные, часто веретенообразные, неподвижные аспорогенные палочки. В мазках из клинического материала фузобактерии представлены длинными тонкими веретенообразными нитевидными клетками с заостренными концами. Иногда образуют короткие цепочки из двух (редко трех) клеток. Некоторые из них могут иметь эллиптические утолщения.

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы. Окисление среды подавляет рост многих видов. На анаэробном кровяном агаре образуют мелкие (1–2 мм) выпуклые желтоватые колонии, окруженные зоной гемолиза. На жидких средах образуют осадок. Через 48 ч *F. necrophorym* формирует мелкие колонии палевого цвета без зоны гемолиза, иногда наблюдается зеленое окрашивание прилегающих участков питательной среды после контакта с воздухом.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы. Утилизируют пептон и углеводы, но в целом ферментативная активность низкая (табл. 17.19). Основные продукты метаболизма – масляная (реже молочная) и уксусная кислоты. Обычно каталазаотрицательны. Характерные особенности – образование больших количеств масляной кислоты, как конечного продукта метаболизма и индола, что придает культурам гнилостный запах.

Антигенная структура. Мало изучена.

Факторы патогенности. У фузобактерий обнаружены фосфолипаза А, которая облегчает инвазию бактерий в глубокие ткани, и лейкоцидин, который обладает цитотоксическим действием на различные клетки.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистые полости рта, верхних дыхательных путей, гениталий и кишечника.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. По сравнению с бактероидами более чувствительны к антибиотикам, хотя выделены штаммы *F. necrophorum*, продуцирующие Р-лактамазу. Большинство фузобактерий чувствительны к цефокситину, левомицетину, клиндамицину, имипенему и метронидазолу. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Селеномонады (род *Selenomonas)*

Морфология. Клетки – от изогнутых дуг до спиральных палочек, концы которых обычно сужаются и закругляются, что придает клетке форму почки или месяца. Длинные клетки и цепочки клеток имеют спиральную форму. Подвижные, лофотрихи, активно кувыркаются. Встречаются длинные клетки с несколькими пучками жгутиков. Грамотрицательные. Капсулу не образуют. Типовой вид – *Selenomonas sputigena.*

Культуральные свойства. Строгие анаэробы. Растут на сложных питательных средах, нуждаются в органических факторах роста. Температурный оптимум роста 35–40 °С, могут расти в диапазоне температур 20-45 °С; оптимум pH 4,4-5,0.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы. Метаболизм бродильного типа. Субстратами служат углеводы, аминокислоты и молочная кислота. При сбраживании глюкозы образуются ацетат, пропионат, $C0_2$ и лактат. Каталазу не образуют.

Антигенная структура и факторы патогенности. Изучены недостаточно.

Экологическая ниша. ЖКТ млекопитающих; встречаются также в грязной речной воде.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология анаэробной неклостридиальной инфекции плохо изучена.

Патогенез. Так как неспорообразующие анаэробные бактерии являются преобладающими представителями нормальной микрофлоры организма человека, то и подавляющее большинство анаэробных инфекций (до 90%) носит эндогенный характер. При снижении резистентности организма анаэробы нормальной микрофлоры транслоцируются через тканевые барьеры, в норме для них непреодолимые и вызывают гнойно-септический процесс. К патологическим состояниям, способствующим развитию анаэробной инфекции, относят: сахарный диабет, терапию кортикостероидными гормонами и цитостатиками, иммунодепрессантами, лейкопению, гипогаммаглобулинемию, спленэктомию, коллагеновые заболевания, гипоксию тканей, повреждение и некроз тканей, сопутствующую аэробную инфекцию, инородные тела, отложение солей кальция и расстройства периферического кровообращения. Плохое кровоснабжение и некроз тканей снижают их окислительно-восстановительный потенциал, что способствует бурному размножению анаэробов. В ряде случаев, например, при аспирационной пневмонии анаэробы из полости рта и верхних дыхательных путей могут быть занесены в легкие, в норме свободные от этих микробов, колонизировать их и вызывать гнойно-воспалительный процесс.

Таблица 17. 17.

Основные дифференциальные признаки бактерий рода Bacteroides

ВИД	Образование индола	Гидролиз желатина	Гидролиз эскулина	Образование H_2S	Образование кислоты при ферментации			
					рамнозы	глюкозы	лактозы	сахарозы
B. fragillis	–	+/- (слабо)	+	+	–	+	+	+
B. thetaiotaomicron	+	+	+	+	+	+	+	+
B. vulgatus	–	+	+	+	+	+	+	+
B. distasonis	–	+/- (слабо)	+	+	+/-	+	+	+
B. uniformis	+	–	+	?	–	+	+	+
B. caccae	–	+/- (слабо)	+	–	+/-	+	+	+
B. ovatus	+	+/- (слабо)	+	+	+	+	+	+
B. merdea	–	+/- (слабо)	+	+	+	+	+	+
B. stercoris	+	–	+	?	+	+	+	+
B. ureolyticus	–	+/-	–	+	–	–	–	–
B. gracilis	–	–	–	+	–	–	–	–

Иммунитет. Изучен недостаточно; в любом случае, он нестойкий и непродолжительный.

Клиника. Облигатные анаэробные бактерии, как и все УПМ, не обладают органным тропизмом, поэтому клиническая картина анаэробной неклостридиальной инфекции, как и всех оппортунистических инфекций, весьма разнообразна и не имеет нозологической специфичности. Она определяется не видом бактерий, а состоянием иммунного статуса организма.

Наиболее частыми клиническими признаками анаэробной неклостридиальной инфекции являются:

Зловонный запах гнойного отделяемого. Большинство облигатных анаэробных бактерий продуцирует летучие жирные кислоты, обладающие резким неприятным запахом.

Локализация воспалительного очага около поврежденной слизистой оболочки. Нарушение при травме или оперативном вмешательстве целостности слизистых оболочек, может привести к контаминации подлежащих тканей облигатными анаэробными бактериями нормальной микрофлоры.

Локализация воспалительного очага в месте укуса.

Развитие инфекции на фоне лечения аминогликозидными антибиотиками. Ряд анаэробов (бактероиды) обладают природной устойчивостью к аминогликозидным антибиотикам.

Образование газа в тканях, который может наблюдаться при целлюлитах, вызванных пептострептококками.

Черное окрашивание экссудата, обусловленное наличием среди возбудителей темнопигментированных бактероидов. Эти микробы продуцируют черный или темно-коричневый пигмент.

Затяжное, вялое, часто субклиническое течение заболевания.

Обширные некротические изменения тканей, несоответствие между выраженностью клинических симптомов и объемом деструктивных изменений (преобладание деструктивных изменений над клинической симптоматикой), мало кровоточащие на разрезе ткани.

Главное значение в постановке диагноза анаэробной неклостридиальной инфекции приобретает микробиологическая диагностика.

Микробиологическая диагностика. Для микробиологической диагностики анаэробной неклостридиальной инфекции используют *бактериоскопический* и *бактериологический* методы. Серологический метод имеет ограниченное практическое применение из-за отсутствия коммерческих наборов диагностикумов. Для экспресс-диагностики применяется *ГЖХ*.

Бактериоскопический метод при диагностике анаэробной неклостридиальной инфекции имеет незначительную информативность, поскольку анаэробы морфологически не отличаются от аэробных микробов, кроме редких случаев, когда анаэробы имеют характерную морфологию, как, например, *Fusobacterium nucleatum*.

Поскольку облигатные анаэробные бактерии высокочувствительны к токсическому действию кислорода воздуха, для работы с ними необходимо использовать *анаэробную микробиологическую технику исследования*. Для транспортировки образцов, предназначенных для исследования на облигатные анаэробные бактерии, используют флаконы с транспортными средами, создающие анаэробные условия при транспортировке.

Таблица 17. 18.

Дифференциальные признаки бактерий рода Prevotella

ВИД	Гидролиз желатина	Гидролиз эскулина	Гидролиз крахмала	Пигментообразование	Образование кислоты при ферментации			
					рамнозы	глюкозы	лактозы	сахарозы
P. melaninogenica	+	+/- (слабо)	+	Коричневый	–	+	+	+
P. intermedia	+	–	+/- (слабо)	Коричневый	–	+	–	+
P. loesheii	+	+	+	+/-коричневый	–	+	+	+
P.denticjla	+	+	+	+/-коричневый	–	+	+	+
P.bivia	+	–	+	–	–	+	+	–
P.diciens	+	–	+	–	–	+	–	–
P.oralis	+	+	+	–	+/-	+	+	+
P.buccalis	–	+	–	–	–	+	+	+
P. veroralis	–	+	+	–	–	+	+	+
P. corporis	+	–	+	Коричневый	–	–	–	–
P. oulola	–	+	–	–	–	+	+	+

Таблица 17. 19.

Дифференциальные признаки бактерий рода Fusobacterium

ВИД	Гибролиз	Индол	Образование H_2S	Гемолиз	Образование кислоты при ферментации				
					глюкозы	маннозы	мальтозы	сахарозы	силицина
F. nucleftum	+/-	+	+/-	+/-(b)	+/-	–	–	–	–
F. mortiferum	+/-	–	+	–	+/-	+/-	+/-	–	–
F. necrogenes	–	–	+	+/-	+/-	+/-	–	+/-	+/-
F. necrophorum	–	+	+	+ (a, b)	+/-	–	–	–	–
F. periodonticum	+	+	+	–	+	–	–	–	–
F. prausnitzii	+	–	+	–	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
F. ulcerans	–	–	–	–	+	–	–	–	–

Бактериологическое исследование на облигатные анаэробные бактерии длительно, дорого и трудоемко. Окончательный ответ получают через 7–10 дней, с момента забора патологического материала. Посев производят на кровяные среды, обогащенные факторами роста (гемин, менадион, редуцирующие добавки). Посевы инкубируют в анаэробных условиях в анаэростатах или перчаточных боксах. Идентификацию выделенных чистых культур проводят на основании изучения культуральных, морфологических и тинкториальных свойств и ферментативной активности. Антигенные свойства облигатных анаэробных бактерий изучают редко из-за отсутствия коммерческих наборов диагностических сывороток. Для создания анаэробиоза в анаэростате сначала из последнего откачивают воздух, а затем заполняют бескислородной газовой смесью или используют химическое связывание свободного кислорода. Для контроля анаэроби-

оза в процессе инкубации посевов, используют индикаторы анаэробиоза – резазурин или метиленовую синь. Для выявления в исследуемом материале темнопигментированных бактероидов, превотелл, порфиромонад пробу исследуют в лучах длинноволнового ультрафиолетового света. При наличии указанных микробов микроколонии или весь материал светятся красным светом.

Идентификацию облигатных анаэробных бактерий проводят в два этапа. На первом этапе, ориентировочно определяют родовую принадлежность изолированных культур (табл. 17.20). На втором этапе, проводят окончательную идентификацию до вида по биохимическим тестам, антигенным свойствам и по изучению конечных продуктов бактериального метаболизма в среде культивирования с помощью метода ГЖХ. При наличии в первичном посеве культур, медленно растущих облигатных анаэробных бактерий, а также при выявлении в жидкой среде видов анаэробов, не выросших в первичном посеве на плотной среде, время получения окончательного развернутого ответа затягивается на 2–3 суток.

Анаэродиски с антибиотиками и бриллиантовым зеленым: зона задержки роста > 12 мм – чувствительны, зона задержки роста < 12 мм – устойчивы.

Газовая хроматография. Для экспресс-диагностики анаэробной инфекции применяют метод ГЖХ, основанный на хроматографическом определении в материале от больных специфических продуктов метаболизма облигатных анаэробных бактерий – летучих жирных кислот, которые служат метаболическими маркерами возбудителя в исследуемом материале.

Высокоспецифичными конечными продуктами метаболизма углеводов у облигатных анаэробных бактерий являются жирные кислоты: короткоцепочечные или летучие жирные кислоты C_2–C_7 и длинноцепочечные – нелетучие. Определение в исследуемом материале наличия жирных кислот с помощью ГЖХ является убедительным доказательством анаэробной этиологии воспалительного процесса. Технически проще определять ГЖХ летучие жирные кислоты: при этом, метаболическими маркерами облигатных анаэробных бактерий являются изомасляная и масляная, изовалерианова и валериановая, изокапроновая и капроновая, гексановая и каприловая кислоты. Аэробные бактерии летучие жирные кислоты не продуцируют. Обнаружение в исследуемом материале одной или нескольких летучих жирных кислот, особенно, изокислот с разветвленной углеродной цепочкой, является убедительным доказательством наличия облигатных анаэробных бактерий. Для более подробной информации о метаболической активности присутствующих в исследуемом материале микробов, определяют длинноцепочечные жирные кислоты. Важное значение при индикации облигатных анаэробных бактерий в патологическом материале приобретают *ложноположительные* и *ложноотрицательные* результаты ГЖХ-анализа. Причины ложных результатов ГЖХ-анализа при исследовании на анаэробы представлены в табл. 16. 2.

Таблица 17. 20.

Ориентировочная идентификация облигатных анаэробных бактерий с помощью анаэродисков

Морфология облигатных анаэробных бактерий и чувствительность к анаэродискам Микроорганизмы:	Морфология клеток	Окраска по Граму	Люминесценция	Желчь 5 мкг	Бриллиантовый зелёный 100 мкг	Канамицин 1000 мкг	Пенициллин 2 ЕД	Полимиксин 100 ЕД	Эритромицин 60 мкг	Рифампицин 15 мкг	Ристомицин 5 мкг
Группа Bacteroides fragilis	п	гр	–	у	ч	у	у	у	ч	ч	у

Группа Prevotella melaninogenica	п, кб	гр$^{+/-}$	+	ч	ч	у	ч	ч/у	ч	ч	ч/у
Prevotella oralis	п	гр	+	ч	ч	у	ч	ч/у	ч	ч	у
Prevotella corrodens	п	гр	+(-)	ч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	у
Fusobacterium mortiferum и F Varium	п	гр		у	у	ч	ч/у	ч	у	у	у
Fusobacterium necrophorum	п	гр	-	ч/у	у	ч	ч	ч	ч/у	ч	у
Fusobacterium nucleatum	п	гр	-	ч	у	ч	ч	ч	ч/у	ч	у
Peptococcus и Peptostrepto-coccus	к	гр	-	ч	в	ч	ч	у	ч	ч	ч
Veillonella	к	гр	-(+)	ч	в	ч	ч	ч	ч	ч	у

Условные обозначения: п – палочки; ч – чувствительны; «-» – отсутствие; к – кокки; у – устойчивы; «+» – наличие; кб – коккобациллы; в – вариабельны; Анаэродиски с желчью: наличие зоны задержки роста – чувствительны, отсутствие – устойчивы.

Лечение. Препаратами выбора для лечения анаэробной неклостридиальной инфекции являются химиопрепараты нитроимидазольного ряда: метронидазол, тинидазол, орнидазол и другие, и антибиотик клиндамицин. Препараты резерва – производные нитрониазолов (ниридазол и др.), которые превосходят по своей активности метронидазол и тинидазол в 100–200 раз.

Основными направлениями в лечении анаэробной неклостридиальной инфекции являются: создание в организме больного условий, делающих размножение возбудителей невозможным (дренирование гнойников, удаление мертвых тканей, антибактериальная химиотерапия, гепарин, повторные ревизии раны); предотвращение внедрения бактерий в здоровые ткани; обезвреживание и выделение токсинов возбудителей (инфузионная терапия, гепарин, экстракорпоральная дезинтоксикация); создание в организме больного условий, способствующих борьбе с возбудителем (гемотрансфузии, улучшение микроциркуляции и оксигенации очагов, коррекция системных и органных нарушений, иммуностимуляция).

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика заключается в назначении при плановых операциях на органах брюшной полости и малого таза, за 24 ч до операции, 100 мл раствора метронидазола или другого нитроимидазольного препарата внутривенно, в своевременной обработке ран и выявлении гнойно-воспалительных очагов.

17. 5. Палочки спорообразующие грамположительные

Сибиреязвенные бациллы (род *Bacillus)*

Сибирская язва (anthrax, злокачественный карбункул) – острая антропозоонозная инфекционная болезнь, вызываемая *Bacillus anthracis,* которая характеризуется тяжелой интоксикацией, поражением кожи, лимфатических узлов и других органов и высокой летальностью.

Заболевание сибирской язвой известно с глубокой древности, со времен Гиппократа, Галена и Цельса заболевание известно под названиями «священный огонь» или «персидский огонь». Болезнь впервые была описана русским врачом С. С. Андриевским в XVIII в. во время эпидемии на Урале. Возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis* выделен Р. Кохом в 1876 г.; относится к роду *Bacillus.*

Морфология. Сибиреязвенные бациллы – очень крупные (5+10x1+2 мкм) грамположительные палочки с обрубленными концами, в мазке из чистой культуры располагаются в виде длинных цепочек (стрептобациллы), слегка утолщенных на концах и образующих сочленения («бамбуковая трость»). Неподвижны. Образуют расположенные центрально споры, а также капсулу. В клиническом материале располагаются парами или короткими цепочками, окруженными общей капсулой. Капсулы образуются только у бактерий, выделенных из организма либо выращенных на питательной среде, содержащей нативную сыворотку. Капсулы более устойчивы к действию гнилостной микрофлоры, чем бактериальные клетки и в материале из гнилых трупов, нередко можно обнаружить лишь пустые капсулы («тени» микробов). Для обнаружения капсул мазки окрашивают метиленовой синькой Леффлера (клетки – синие, капсулы – малиново-красные). Споры сибиреязвенных бацилл – овальной формы, размером 0,8+1,0x1,5 мкм, сильно преломляют свет. В живом организме и невскрытом трупе споры не образуются, что обусловлено поглощением свободного кислорода в процессе гниения; для спорообразования необходим свободный кислород и определенная температура (12–42 °С).

Культуральные свойства. Аэробы. Хорошо растут на простых питательных средах, бактерии можно выращивать на сыром или вареном картофеле, настое соломы, экстрактах злаков и бобовых в диапазоне температур 12–45 °С; температурный оптимум роста на плотной среде – 35–37 °С, на жидкой – 32–33 °С. Оптимум pH 7,2–8,6. На жидких средах дает придонный рост в виде комочка ваты, не вызывая помутнения среды; на плотных средах образует крупные, с неровными краями, шероховатые матовые колонии (R-форма). Под лупой колонии напоминают гриву льва или голову медузы. На свернутой лошадиной сыворотке растет в виде гладких прозрачных S-форм колоний, тянущихся за петлей. На средах, содержащих 0,05–0,5 ЕД/мл пенициллина, сибиреязвенные бациллы через 3-6 ч роста образуют сферопласты, расположенные цепочкой и напоминающие в мазке жемчужное ожерелье (тест «жемчужного ожерелья»).

Биохимическая активность. Достаточно высокая: ферментирует до кислоты глюкозу, сахарозу, фруктозу, мальтозу, крахмал, инулин, характеризуется протеолитической и липолитической активностью. Гидролизуют крахмал, образуют ацетилметилкарбинол. Выделяют желатиназу, обладают слабой гемолитической, лецитиназной и фосфатазной активностью. В отличие от почвенных бацилл, практически лишены фосфатазы и не разлагают фосфаты, содержащиеся в питательной среде.

Очень медленно и слабо коагулируют жидкую желточную среду (5–7 суток при 37 °С), в то время, как почвенные бациллы разлагают ее за 6–10 ч. Молоко свертывают за 3–5 суток, затем сгусток медленно пептонизируется и разжижается; выделяется аммиак и накапливается бурый пигмент.

Антигенная структура. Содержит родовой соматический полисахаридный антиген и видовой белковый капсульный антиген. Образует белковый экзотоксин, обладающий антигенными свойствами. Капсульные АГ и экзотоксин кодируются плазмидами, потеря которых делает бактерии авирулентными.

• Капсульные АГ представлены полипептидами, соединенными с молекулами D-глутаминовой кислоты. По капсульным АГ выделяют единственный серовар, антитела к капсульным АГ не обладают протективным действием.

• Соматический АГ представлен полисахаридами клеточной стенки, антитела к нему не обладают протективным действием.

• Сибиреязвенный экзотоксин имеет сложную структуру и включает в себя протективный АГ.

Факторы патогенности. Патогенен для человека и многих животных (крупный и мелкий рогатый скот, лошади, свиньи, дикие животные). Вирулентные штаммы в восприимчивом организме синтезируют большое количество капсульного вещества, обладающего выраженной антифагоцитарной активностью и сложный экзотоксин, который представляет собой белковый комплекс, состоящий из вызывающего *отек* (проявляет эффект аденилатциклазы, повышает концентрацию цАМФ и вызывает отеки), *протективного* и *летального* компонентов (проявляет цитотоксический эффект и вызывает отек легких). Эти компоненты по отдельности не способны проявлять токсическое действие.

Экологическая ниша. Крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, олени, буйволы, верблюды и свиньи.

Устойчивость в окружающей среде. Вегетативная форма неустойчива к факторам окружающей среды: при кипячении гибнут мгновенно, при 60 °С – через 15 мин; в невскрытых трупах погибают через 2–7 суток. Однако, споры чрезвычайно устойчивы и сохраняются в окружающей среде десятки лет (в воде – до 10 лет, в почве – до 30 лет и более), выдерживают кипячение в течение 5–10 мин. и автоклавирование в течение 40 мин; 1% раствор формалина и 10% раствор едкого натра убивают споры через 2 ч. Спороцидным эффектом обладают раствор хлорамина и перекиси водорода. Чувствительны к пенициллину и другим антибиотикам.

Эпидемиология. Сибирская язва распространена повсеместно, особенно в районах с развитым животноводством. Источник инфекции – больные животные, чаще всего крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, олени, буйволы, верблюды и свиньи. Резервуар возбудителя – почва. Человек является биологическим тупиком. Как и для всех зоонозов, для сибирской язвы характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи. Человек заражается чаще всего контактным путем, реже – алиментарно, аэрогенно и другими путями, при уходе за больными животными, убое, переработке животного сырья, употреблении мяса и других животноводческих продуктов. Восприимчивость к возбудителю относительно невысокая.

Патогенез. Входными воротами возбудителя сибирской язвы, в большинстве случаев, являются поврежденная кожа, значительно реже – слизистые оболочки дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. В основе патогенеза лежит действие экзотоксина возбудителя, отдельные фракции которого вызывают коагуляцию белков, отек тканей, приводят к развитию токсико-инфекционного шока. На месте внедрения возбудителя в кожу развивается сибиреязвенный карбункул – очаг геморрагически-некротического воспаления глубоких слоев дермы на границе с подкожной клетчаткой, сопровождающийся отеком и деструкцией тканей; в центре очага – некроз кожи с образованием бурочерной корки (*anthrax* – уголь), сопровождающейся отеком. Возбудитель из входных ворот заносится макрофагами в регионарные лимфатические узлы, в которых развивается воспаление без серьезных нарушений барьерной функции, в силу чего, генерализация процесса не наступает или наступает в относительно поздние сроки от начала воспалительного процесса. При вдыхании пылевых частиц, содержащих сибиреязвенные споры, макрофаги захватывают возбудителя со слизистой дыхательных путей и заносят в трахеобронхиальные лимфатические узлы, в которых развивается воспаление с исходом в тотальный некроз, способствующий гематогенной генерализации инфекции.

Клиника. Продолжительность инкубационного периода сибирской язвы – от нескольких часов до 12 дней, в среднем 2–3 дня. Клиническая картина обусловлена характером пораженных органов. Различают кожную, легочную и кишечную клинические формы сибирской язвы, которые могут закончиться сепсисом. Генерализованные формы в 100% случаев, заканчиваются летально; при кожной форме летальность не превышает 5%.

Иммунитет. После перенесенного заболевания развивается стойкий перекрестный клеточно-гуморальный иммунитет, хотя отмечаются отдельные случаи повторного заболевания.

Микробиологическая диагностика

Материалом для исследования служат: содержимое карбункула и пузырьков, мокрота, испражнения, кровь и моча. При патолого-анатомическом исследовании забирают кусочки органов или целые органы. По эпидемиологическим показаниям, исследуют различные объекты внешней среды, а также шерсть и щетину животных. Все образцы помещают в герметичные сосуды и транспортируют закупоренными в опломбированных боксах или деревянных ящиках в лаборатории особо опасных инфекций.

Микробиологическую диагностику проводят с соблюдением правил техники безопасности, как при особо опасных инфекциях. Для диагностики применяют все пять методов микробиологической диагностики.

Первоначально из материала готовят мазки и окрашивают их по Граму и для обнаружения капсул (по Романовскому–Гимзе) и спор (по Ауэске). Наличие в мазках крупных грамположительных стрептобацилл, окруженных капсулой, дает возможность поставить предварительный диагноз. Люминесцентная микроскопия применяется как дополнительный метод диагностики сибирской язвы, при этом сибиреязвенные бациллы, обработанные люминесцирующей сывороткой, выглядят как палочки с ободком, светящиеся зеленоватым светом.

Для выделения чистой культуры, исследуемый материал засевают на МПА и МП Б, а также заражают лабораторных животных (белые мыши, морские свинки). Выделенную чистую культуру идентифицируют по общепринятой схеме, с учетом морфологии, характера роста на МПА и МПБ, разжижения желатина в виде перевернутой елочки, отсутствия подвижности, положительного теста «жемчужного ожерелья» и лизиса сибиреязвенным бактериофагом «ВА-9» и «Саратов». Дополнительно определяют лецитиназную, фосфатазную и гемолитическую активность. Дифференциально-диагностические признаки сибиреязвенных и почвенных бацилл представлены в табл. 17.21.

В биопробе патологический материал или испытуемую культуру вводят подкожно: морским свинкам в паховой области, мышам в корень хвоста. Обычно мыши погибают через 1–2 суток, морские свинки – через 2–4 суток. Наблюдение за животными продолжают в течение 10 дней. У павших животных исследуют печень, селезенку, лимфатические узлы, почки, кровь из полостей сердца, места введения исследуемого материала. О наличии возбудителя сибирской язвы, свидетельствуют типичная патолого-анатомическая картина у подопытных животных: отек в месте введения исследуемого материала, темная не свернувшаяся кровь, кровоизлияния в клетчатке, рыхлая селезенка и плотная красная печень. В мазках-отпечатках из органов и крови – наличие грамположительных капсулированных палочек.

Серодиагностика проводится в тех случаях, когда не удается обнаружить возбудителя в материале. Для определения антител в сыворотке крови больного, используют реакцию латексной агглютинации или РПГА с протективным сибиреязвенным АГ. Сибиреязвенные антигены определяют в РИФ, ИФА, РСК, РИГА, РП в геле и реакции термопреципитации по Асколи. Реакция Асколи имеет большое значение, так как позволяет обнаружить возбудитель при отрицательных результатах бактериологического исследования. Наличие сибиреязвенного антигена в разложившемся или мумифицированном трупе животного, коже (свежей, сухой, выделанной) и изделиях из нее, шкурках, мехе, шерсти

определяют с помощью реакции термопреципитации по Асколи. Однако, для прижизненной диагностики, она не дает серьезных преимуществ перед бактериологическим и серологическим методами.

Для ретроспективной диагностики при эпидемиологических исследованиях, ставят кожные аллергические пробы с антраксином. Антраксин вводят внутрикожно объемом 0,1 мл, результаты учитывают через 24–48 ч. Пробу считают положительной при наличии гиперемии диаметром более 16 мм и инфильтрата.

Лечение. Применяют антибиотики и сибиреязвенный иммуноглобулин. Для антибактериальной терапии препарат выбора – пенициллин, при его непереносимости – тетрациклин.

Профилактика. Проводится в направлении всех трех звеньев эпидемического процесса: мероприятия 1 группы направлены на источник инфекции, мероприятия 2 группы – на разрыв механизма и путей передачи, мероприятия 3 группы – на восприимчивый коллектив. Для специфической профилактики применяется живая сибиреязвенная вакцина СТИ (Санитарно-технический институт). Вакцина получена Н. Н. Гинсбургом с соавт. в 1942 г. Иммунизацию проводят по эпидемическим показаниям, группам риска. Для экстренной профилактики назначают сибиреязвенный иммуноглобулин. Неспецифическая профилактика такая же, как и при всех зоонозах, и сводится в основном к санитарно-ветеринарным мероприятиям:

1. Изоляция больных и подозрительных животных.
2. Сжигание трупов погибших животных и зараженных объектов (подстилка, навоз).
3. Обеззараживание мест содержания больных животных.
4. Очистка водопоев.
5. Осушение заболоченных участков (перепахивание, хлорирование).
6. Организация скотомогильников. При невозможности сжигания трупов их хоронят на отдельных сухих и пустынных участках; глубина ямы должна быть не меньше 2 м, труп кладут на толстый слой хлорной извести и засыпают ею сверху слоем до 10 см. Все мероприятия по захоронению следует проводить с соблюдением санитарных норм.
7. Санитарный надзор за предприятиями, занятыми переработкой животного сырья. Все поступающее сырье проверяют в реакции термопреципитации по Асколи, меховые изделия изготовляют только из сырья, давшего отрицательный результат в этой реакции.

Спорообразующие бактерии рода *Clostridium*

К роду *Clostridium* относятся подвижные палочки (реже неподвижные), которые образуют овальные или круглые споры, придающие клеткам веретенообразную форму (от греч. *kloster* – веретено). С возрастом могут изменять отношение к окраске по Граму, но на ранних стадиях культивирования всегда грамположительны. Хемоорганотрофы; одни виды проявляют сахаролитическую, другие – протеолитическую активность (возможно сочетание этих свойств, либо их полное отсутствие). Наиболее характерные признаки – способность вызывать масляно-кислое брожение и анаэробный распад углеводов с образованием масляной кислоты и газов (CO_2, водород, иногда метан). Восстанавливают сульфиты до сульфидов. Большинство видов – строгие анаэробы; также имеются аэротолерантные виды. Типовой вид – *Clostridium butyricum* – первый анаэроб (вызывает масляно-кислое брожение углеводов), открытие которого позволило Луи Пастеру (1861) выделить анаэробные микробы; термин «клостридии» ввел Трекюль (1863). Род включает виды, обитающие в почве, на дне пресных и соленых водоемов, в кишечнике человека и животных; отдельные виды патогенны, а другие нашли применение в биотехнологическом производ-

стве некоторых органических кислот и спиртов. Современная систематика выделяет пять групп микробов, разделяемых по расположению спор, способности гидролизовать желатину и особым требованиям для роста. По экологическим свойствам выделяют 3 группы клостридии: возбудители бродильных процессов (с преобладанием сахаролитических свойств); возбудители процессов гниения (с преобладанием протеолитических свойств) и патогенные виды (могут быть протеолитическими и сахаролитическими). Последнюю группу составляют: возбудители раневых клостридиозов (газовой гангрены, столбняка); возбудители энтеральных клостридиозов и непатогенные виды, вызывающие патологические процессы в ассоциациях с другими патогенными клостридиями. Клостридиозы, как правило, имеют экзогенное происхождение. Из более, чем 80 видов, в патологии человека играют роль около 20 видов; их основные дифференциальные признаки представлены в табл. 17.22.

Таблица 17. 21.

Дифференциальио-диагностические признаки сибиреязвенных и почвенных бацилл

Вид бацилл	Подвижность	Капсула	Характер роста		Потогенность для		
			на бульене с кровью	в лакмусовой молочной сыворотке	мышей	морских свинок	кроликов
B. abthracis	–	+	Нет гемолиза	Покраснение	Гибель через 24 ч	Гибель через 24-26 ч	Гибель через 36-72 ч
B. antracoides	Слабая	–	Гемолиз	Посинение	Патогенна при введении большого количества внутрибрюшинно	Непатогенна	
B. subtilis	Активная	–	*	*	Патогенны некоторые шраммы в больших дозах		Непатогенна
B. megaterium	Умеренная	–	Нет гемодиза	*	То же	*	
B. cereus	Слабая	–	Гемолиз	*	*	*	

Клостридии столбняка *(Clostridium tetani)*

Столбняк (tetanus) тяжелая раневая инфекция, вызываемая *Clostridium tetani;* характеризуется поражением нервной системы, приступами тонических и клонических судорог.

Возбудитель столбняка, практически одновременно, открыли Н. Д. Монастырский (1883) и А. Николайер (1884); в чистой культуре впервые выделен С. Китазато (1889).

Морфология. Гамположительные палочки с закругленными концами, длиной 4–8 мкм и толщиной 0,3–0,8 мкм (в молодых культурах иногда образуют нитевидные клетки); располагаются одиночно или цепочками; подвижны (содержат 20 и более жгутиков, перитрихи), в старых культурах (30 суток и более) преобладают неподвижные формы. Споры круглые, реже овальные; расположены терминально; их диаметр в 2–3 раза превышает толщину бактерий, вследствие чего, клетка имеет форму «барабанной палочки».

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы; отличаются высокой чувствительностью к кислороду. На МПА и желатине в строго анаэробных условиях возбудитель растет медленно и образует тонкие прозрачные колонии с ровными или шероховатыми краями; рост колоний характерный – сначала на поверхности среды появляется «сеточка», образованная сливающимися колониями с отростками. Растет в виде прозрачных или серовато-желтых шероховатых (R-) и гладких (S-) колоний. При посеве столбиком в полужидкий агар через 24-48 ч формирует колонии в виде «чечевичек» (R-форма) или «пушинок» с плотным коричневым центром (S-форма). Спорообразование начинается на 2–3-е сутки; на 4–6-е сутки роста на жидкой среде вегетативные клетки разрушаются, и в среде остаются почти одни споры.

Биохимическая активность. Низкая, отсутствуют цитохромы, цитохромоксидаза, пероксидаза и каталаза. Основные продукты метаболизма – уксусная, масляная, пропионовая кислоты и этанол. Большинство штаммов не обладает сахаролитической активностью, но выделено несколько штаммов, ферментирующих глюкозу. Проявляет слабые протеолитические свойства; медленно расщепляет белки и пептоны до аминокислот, последние разлагаются до угольной кислоты, водорода, аммиака, летучих кислот и индола. Для роста необходимы аргинин, гистидин, тирозин, валин, изолейцин, лейцин и триптофан. Образуют желатиназу и ренинноподобный фермент, обуславливающий появление затемненных зон вокруг колоний на молочном агаре.

Антигенная структура. Имеют О- и Н-АГ; по жгутиковым АГ выделяют 10 сероваров, все серовары продуцируют идентичные по своим антигенным свойствам экзотоксины.

Факторы патогенности. Патогенность обусловлена способностью продуцировать экзотоксины – *тетаноспазмин* и *тетанолизин*.

* *Тетаноспазмин* – полипептид; M_r – 150 000 Да; действует дистанционно, так как, бактерии редко покидают рану. Антигенно однороден; хотя обнаружено 4 группы детерминант, но их структура и локализация недостаточно изучены. Токсин фиксируется на поверхности отростков нервных клеток, проникает в них за счет лиганд-опосредованного эндоцитоза и посредством ретроградного аксонного транспорта попадает в ЦНС. Механизм действия связан с подавлением высвобождения тормозных нейромедиаторов, в частности, глицина и g – аминомасляной кислоты, в синапсах (токсин связывается с синаптическими белками синаптобревином и целлюбревином). 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-му дню. Разрушается при длительном хранении в термостате, под действием света и кислорода.

• *Тетанолизин* (тетаногемолизин) обладает гемолитическим, кардиотоксическим и летальным эффектами, 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.

Таблица 17. 22.

Основные дифференциальные признаки патогенных для человека клостридий

ВИД	Споры	Аэробный рост	Лецитин	Липаза	Гидолиз желатина	Индол	Основные продукты метаболизма
C. botulinum							
- I группа	ОС	–	–	+	+	–	УК, МК, и МК, и ВК
- II группа	ОС	–	–	+	+	–	УК, МК
- III группа	ОС	–	+	+	+	–	УК, ПК, МК
- IV группа	КТ	–	–	–	+	–	УК, ПК, МК, и МК, ФУК
C. tetani	ОС	–	–	–	+	±	УК, МК, ПК
C. perlringens	С	–	+	–	+	–	УК, МК
C. difficile	ОС	–	–	–	±	–	УК, МК, и МК, ВК, и ВК, и КК
C. sordellii	ОС	–	+	–	+	+	УК
C. nivyi A	ОС	–	+	+	+	–	УК, ПК, МК
C. novyi B	ОС	–	+	–	+	–	УК, ПК, МК
C. hictoliticum	ОС	+	–	–	+	–	УК
C. septicum	ОС	–	–	–	+	–	УК, МК
C. difermentans	ОС	–	+	–	+	+	УК
C. sporogenes	ОС	–	–	+	+	–	УК, МК, и ВК
C. tertium	ОС	+	–	–	–	–	УК, МК
C. ramosum	К/ОС	–	–	–	–	–	УК
C. Butiricum	ОС	–	–	–	–	–	УК, МК
C. bryantii	К/ОС/Т	–	+	–	–	–	УК, МК, МолК

Примечание. Споры: О – овальные; К – круглые; С – субтерминальные; Т – терминальные. Метаболиты: УК – уксусная кислота; МК (иМК) – масляная (изомасляная) кислота; ПК – пропионовая кислота; ВК (иВК) – валериановая (изовалериановая) кислота; иКК – изокапроевая кислота; МолК – молочная кислота. КА – кровяной агар.

Устойчивость в окружающей среде. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде: в регионах с теплым климатом, способны прорастать и размножаться в почве.

Чувствительность к антисептикам и дезинфектантам. Споры отличает высокая устойчивость 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.

Эпидемиология. Естественный резервуар и источник возбудителя инфекции – почва; хотя многие исследователи склонны считать резервуаром инфекции толстый кишечник сельскохозяйственных и диких животных. Повышенную заболеваемость отмечают в регионах с теплым климатом, создающим условия, не только для длительного сохранения спор в почве, но и для их прорастания и размножения вегетативных форм. Механизм передачи – контактный, путь – раневой (бытовая травма, огнестрельные ранения и др.). Восприимчивость – высокая; заболеваемость значительно возрастает среди раненных во время военных действий; основная группа риска в мирное время – работники сельского хозяйства, жители сельских районов (80–86% заболевших), дорожные и строительные ра-

бочие и т.д. Ежегодная смертность от столбняка превышает 1.2 млн. человек. Столбняк часто поражает новорожденных при родах в антисанитарных условиях. У них развивается «пупочный столбняк», от которого ежегодно гибнет более 1 млн новорожденных.

Патогенез. Входные ворота инфекции – бытовые и производственные травмы, причем, наиболее часто, поверхностные или колотые, когда больной не обращается за медицинской помощью. Столбняк – токсинемическая инфекция, основным патогенетическим фактором которой является столбнячный токсин. Возбудитель остается в ткани на месте входных ворот; продуцирует экзотоксин, который поступает в кровь и распространяется по организму по кровеносным и лимфатическим сосудам, а также по нервным стволам и достигает спинного и продолговатого мозга. Токсин фиксируется на поверхности отростков нейронов, проникает в них за счет лиганд-опосредованного эндоцитоза и посредством ретроградного аксонного транспорта попадает в ЦНС. Механизм действия токсина связан с подавлением высвобождения тормозных нейромедиаторов, в частности, глицина и g –аминомасляной кислоты, в синапсах (токсин связывается с синаптическими белками синаптобревином и целлюбревином), в результате чего, нарушается проведение импульсов по нервным волокнам. Первоначально токсин действует на периферические нервы, вызывая местные тетанические сокращения мышц. При столбняке поражается не только нервная система – в патологический процесс вовлекаются все системы организма.

Клиника. Инкубационный период 6–14 дней. Легкая форма (локальный столбняк) характеризуется периодическими спазмами в пораженной области. Генерализованный столбняк – наиболее часто встречаемая форма с характерными мышечными спазмами; из других проявлений можно отметить разбитость, тахикардию, аритмии, менингит, гипокальциемию.

Ведущее проявление болезни – судорожный синдром, включающий болезненные сокращения мышц *(тетанус)* и длительное напряжение мышц *(мышечная ригидность)*. Характерными проявлениями последнего, считаются *опистотонус* (тетанический спазм, при котором позвоночник и конечности согнуты; больной лежит на спине и опирается на затылок и пятки) и *сардоническая улыбка* (подобие оскала, вызванного спазмом лицевых мышц). Мозговые поражения включают поражения черепно-мозговых нервов (наиболее часто – VII пары); характерны тонические спазмы лица и глотки. У человека столбняк носит нисходящий характер. Столбняк новорожденных протекает в основном так же, как и у взрослых.

Иммунитет. Естественный иммунитет у человека к столбняку отсутствует. Постинфекционный иммунитет, как правило, не формируется, поскольку токсигенная доза столбнячного токсина во много раз ниже, дозы иммуногенной и отмечаются повторные случаи заболевания.

Микробиологическая диагностика. Микробиологические исследования лишь подтверждают клинический диагноз. Возбудитель обычно обнаруживают в месте его 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; необходимо обратить внимание на старые рубцы после ранений, так как возбудитель может долго в них сохраняться; в некоторых случаях исследуют слизь из носа, бронхов, глотки, налет 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 селезенки (20–30 г).

Для диагностики применяют *бактериоскопический, бактериологический* и *биологический* методы.

Обнаружение в мазках из материала, взятого от больного или трупа, тонких длинных грамположительных палочек с круглыми терминальными спорами «барабанные палочки» вызывает подозрение на наличие *Clostridium tetani,* однако, на основании бактериоскопии нельзя делать заключение о присутствии возбудителя, так как в материале могут находиться морфологически сходные с ним клостридии.

Выделение возбудителя проводят по обычной схеме. Исследованию подлежат материал от больного или трупа, перевязочный и шовный хирургический материал, а также почва, пыль и воздух. Исследуемый материал засевают на среду Китта–Тароцци, инкубируют в термостате 3–4 суток, после чего, пересевают на плотные среды для получения колоний. Выделенную культуру идентифицируют и определяют ее токсигенность на белых мышах или в РП в геле.

При исследовании материала от больного или трупа параллельно бактериологическому анализу проводят обнаружение столбнячного токсина в *биологической пробе* на мышах. Для этого материал измельчают, добавляют двойной объем физиологического раствора, фильтруют: часть фильтрата смешивают с противостолбнячной сывороткой из расчета 0,5 мл (200 АЕ/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 столбнячного токсина у животных первой группы развиваются симптомы столбняка.

Лечение направлено на нейтрализацию столбнячного токсина антитоксином. Применяют противостолбнячную лошадиную сыворотку в дозе 50–100 тыс. МЕ (курс – 2 инъекции, в тяжелых случаях – 3 инъекции дробно) или донорский противостолбнячный иммуноглобулин в дозе 900 МЕ.

Профилактика. При травмах обязательна хирургическая обработка раны. Для специфической профилактики проводится плановая или экстренная иммунизация.

Для создания искусственного активного иммунитета в плановом порядке применяют столбнячный анатоксин, сорбированный на гидроокиси алюминия в составе вакцин АКДС. АДСм, АСм или секстанатоксин. Первичную вакцинацию проводят детям в 3-месячном возрасте (курс включает 3 инъекции АКДС с интервалом 30–40 суток), затем в соответствии с календарем прививок периодически проводят ревакцинации. Для иммунизации военнослужащих используют секстанатоксин.

Экстренная профилактика проводится при травмах, ожогах и обморожениях, укусах животных, при внебольничных абортах путем введения ранее привитым, одного столбнячного анатоксина (0,5 мл). Непривитым вводят 1 мл столбнячного анатоксина и 250 МЕ донорского иммуноглобулина (если он отсутствует, то проведя предварительную внутрикожную пробу, вводят 3000 МЕ противостолбнячной сыворотки по Безредке).

Клостридии ботулизма (*Clostridium botulinum*)

Ботулизм – острая пищевая токсикоинфекция, протекающая с преимущественным поражением центральной и вегетативной нервной системы.

В России первое клинико-эпидемиологическое описание ботулизма привел Зенгбуш (1818); возбудитель открыл Э. Ван Эрменген (1869).

Морфология. Палочки с закругленными концами размером 4+8х0,6+0,8 мкм; подвижны, перитрихи. При неблагоприятных условиях образуют субтерминально расположенные споры; их диаметр в 2–3 раза превышает толщину бактерий, вследствие чего, клетка имеет форму «теннисной ракетки». Молодые культуры окрашиваются грамположительно, 4–5-суточные – грамотрицательно.

Культуральные свойства. Строгие анаэробы. На кровяном агаре с глюкозой образуют очень мелкие сероватые или желтоватые мутные колонии линзообразной формы с зоной гемолиза различной ширины. На печеночном агаре образуют полиморфные звездчатые колонии; на желатине – сероватые, окруженные зоной разжиженного желатина. В столбике агара можно обнаружить диссоцианты: R-формы имеют форму чечевичных зерен, S-формы – пушинок. Хорошо растут на жидких средах (на среде Китта–Тароцци, бульонах из гидролизатов казеина, мяса или рыбы) при условии предварительного удаления кислорода из среды кипячением в течение 15–20 мин с быстрым охлаждением. Вызывают помутнение среды и газообразование; иногда имеется запах прогорклого масла, но этот признак непостоянен. Оптимум pH для роста – 7,3–7,6; для прорастания спор – 6,0–7,2. Температурный оптимум роста 25–35 °С.

Биохимическая активность. По биохимическим свойствам выделяют 4 группы:

• 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, но лишены протеолитической активности;

• бактерии III группы – проявляют липазную активность и гидролизуют желатину;

• бактерии IV группы – гидролизуют желатину, но не проявляют сахаролитических свойств и липазной активности, что послужило основанием для предложения выделить их в отдельный вид – *Clostridium argentiense*.

Все типы *Clostridium botulinum* образуют желатиназу, лецитиназу и H_2S. Проявляют широкий спектр сахаролитической активности: бактерии типов A, B, E и F ферментируют глюкозу, левулезу, фруктозу, мальтозу и сахарозу; типов C и D – глюкозу и мальтозу, тип G инертен к углеводам. *Clostridium botulinum* типов A и B обладают выраженными протеолитическими свойствами, разлагают свернувшийся яичный белок и гидролизуют желатину.

Антигенная структура. Имеются группоспецифические жгутиковые (H-) и типоспецифические соматические (O-АГ) бактерии, не проявляющих токсических свойств. По структуре экзотоксинов, бактерии разделяют на 8 сероваров: A, B, $C_{(1)}$, $C_{(2)}$, D, E, F и G.

Факторы патогенности. Патогенность обусловлена сильным экзотоксином, чувствительность к которому различна у человека и животных. Человек наиболее чувствителен к токсинам типов A, B, E, а животные и птицы – к токсинам типов C, D, F; однако, известны случаи заболевания человека, вызванные токсинами типов C и F. Ботулотоксин – белок, проявляющий нейротоксическое действие, молекулярная масса может варьировать от 60 до 150 кДа. Токсин разрушается при кипячении в течении 20 мин; легко кристаллизуется в белый хлопьевидный порошок. Человек и животные очень чувствительны к токсинам ботулизма. Ботулотоксин является самым сильным ядом, известным человеку. По расчетным данным, 1 г кристаллического токсина содержит 10^{12} смертельных для человека доз токсина. Токсины всех типов проявляют гемолизирующее действие. Оптимальная температура для токсинообразования варнабельна: для бактерий типов A, B, C и D – 35 °С, для бактерий типов E и F – 28-30 °С.

Устойчивость в окружающей среде. *C. botulinum* обитает в почве. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде; в регионах с теплым климатом способны прорастать и размножаться. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям. Инактивация спор может быть достигнута автоклавированием при 160–170 °С в течение 60–120 мин.

Эпидемиология. Заболевание регистрируют повсеместно, исключая районы вечной мерзлоты. Наиболее часто заболевания вызывают типы A, B и E. Типы E и F впервые выявлены в России; тип G первично выявлен в Аргентине. Естественный резервуар и источник возбудителя инфекции – почва и различные животные. Повышенную заболеваемость отмечают в регионах с теплым климатом, создающим условия не только для длительного сохранения спор в почве, но и их прорастания и размножения вегетативных форм. Механизм передачи – фекально-оральный, путь – алиментарный. Споры, попадая в пищевые продукты (мясные, овощные, особенно консервированные), прорастают, образуют токсин, который при употреблении пищи вызывает отравление.

Патогенез. Ботулизм – токсинемическая инфекция; основным патогенетическим фактором является токсин, который поступает в кровь и распространяется по организму по кровеносным сосудам. Фармакокинетическая активность токсинов различных типов практически одинакова, они сорбируются на клетках слизистой оболочки кишечника, проникают в кровь и в периферические нервные окончания. Действие токсина 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 серотипов B, D, F расщепляют синаптобревин, A и E – SNAP-25, C – синтаксин, D и F – целлюбревин. Избирательно поражают а-моторные нейроны передних рогов спинного мозга, что обусловливает характерные параличи мышц.

Клиника. Инкубационный период обычно составляет 24 ч, но может варьировать от 4–6 до 96 ч и более. Проявления зависят от природы продукта, ставшего причиной отравления, количества накопившегося в нем и поступившего в организм токсина, состояния больного. Первые, но не постоянные признаки – расстройства ЖКТ (тошнота, рвота, боли в животе). Часто больные жалуются на сухость во рту или гиперсаливацию. Одновременно развиваются головная боль и нервно-паралитические явления – *нарушение глотания, диплопия* (двоение в глазах), *птоз* (опущение век), *анизокория* (поражение сфинктера зрачка). Затем возникает парез и паралич мышц шеи, конечностей, дыхательной мускулатуры и сердечной мышцы, в результате чего, наступает смерть.

Иммунитет. Естественный иммунитет человека к ботулизму отсутствует. Перенесенное заболевание не оставляет иммунитета, поскольку токсигенная доза ботулотоксина во много раз ниже, дозы иммуногенной. Чувствительность к ботулиническому токсину у различных животных подвержена резким колебаниям. Абсолютно резистентные виды неизвестны, но всеядные животные обладают меньшей чувствительностью.

Микробиологическая диагностика. Исследованию подлежат остатки пищевых продуктов; рвотные массы, промывные воды желудка, фекалии, моча, кровь, секционный материал. Кровь берут из вены в количестве 5–10 мл и разводят 3–4% раствором цитрата натрия в соотношении 2:1; промывные воды из желудка забирают в объеме 50–100 мл; кал – 50–60 г. От трупа забирают кусочки печени (50–60 г), отрезки кишечника и желудка и их содержимое, лимфатические узлы, головной и спинной мозг, кровь. До поступления в лабораторию образцы хранят на холоде.

Исследования проводят одновременно в двух направлениях: обнаружение в материале ботулотоксина и выделение возбудителя. Ботулотоксин определяют в биопробе на животных или в РИГА. Для выявления ботулотоксина и определения его типа, что крайне важно при назначении антитоксической терапии, мышам вводят исследуемый материал и смесь материала с антитоксической ботулинической сывороткой типов A, B, C и др. По гибели животных устанавливают наличие токсина и его тип. Кровь исследуют только на наличие токсина в биологической пробе на мышах или морских свинках. Испражнения

исследуют только на наличие возбудителя посевом на питательные среды, весь остальной материал – на наличие токсина и возбудителя. Банки с консервированными продуктами выдерживают в термостате 10–12 суток, стерильно отбирают 50– 100 г, растирают в ступке и центрифугируют; в надосадочной жидкости определяют токсин, в осадке – возбудитель. 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.

Выделение возбудителя проводят по общепринятой схеме.

Лечение. Для лечения по Безредко больному внутривенно вводят одну международную лечебную дозу (содержит по 10 000 МЕ сывороток типов А и Е и 5000 МЕ типа В); однократного введения обычно бывает недостаточно, поэтому ее вводят ежедневно до достижения клинического эффекта. После лабораторного выявления типа возбудителя вводят сыворотку только против данного типа.

Профилактика. Для специфической профилактики применяют ботулинический полианатоксин, содержащий анатоксины А, В и Е. Для экстренной профилактики используется поливалентная (типов А, В, Е) лошадиная сыворотка, выпускаемая в жидком и сухом виде. При производстве консервированных (мясных, рыбных, овощных) продуктов необходимо соблюдать санитарно-гигиенические условия стерилизации консервов и их хранения, исключающие накопление токсина в продукте. При консервировании мяса широко применяют нитриты.

Клостридии газовой гангрены

Анаэробная раневая газовая инфекция (газовая гангрена, анаэробный миозит) – тяжелая раневая инфекция человека и животных, вызываемая бациллами рода *Clostridium* в ассоциации между собой и с аэробными или анаэробными УПМ, которая характеризуется острым тяжелым течением, быстро наступающим и распространяющимся некрозом преимущественно скелетных мышц с развитием отеков и газообразованием, тяжелой интоксикацией и отсутствием выраженных воспалительных явлений.

Впервые раневая госпитальная гангрена была описана А. Паре в 1562 г. А. Вельпо (1839) опубликовал свои наблюдения над подобным заболеванием, названным им «травматическая эмфизема». Полное описание клинической картины и течения различных форм газовой инфекции дал Н. И. Пирогов во время Севастопольской и Кавказской военных кампаний. В 1861 г. Л. Пастер описал *Vibrion septique* (септический вибрион), который со времени выделения культуры Пастером совместно с Ж. Жубером (1877) длительное время оставался единственным идентифицированным микробом, с которым связывали многие заболевания. М. В. Вейнберг и К. Сеген (1891) установили, что открытая ими бацилла злокачественного отека (*Clostridium oedematiens* типа А) способна вызывать инфекции у человека; позднее возбудитель был охарактеризован Ф. Нови (1894) и получил имя исследователя. *Clostridium perfiingens* типа А открыли американские патологи М. Уэлч и Г. Неттал (1892); в чистой культуре получили А. Вейон и Ж. Жубер (1893), давшие ему название perfringens. Дальнейшая история открытия возбудителей анаэробных инфекций включает выделение сапрофитов *C. putrificus* (Бинштok, 1883) и *Clostridium sporogenes* (И. И. Мечников, 1908), а в 1915 г. М. В. Вейнберг и К. Сеген выделяют *C. fallax*, «бациллу злокачественного отека» *Clostridium oedematiens* (1915) и «тканерасплавляющую» бациллу *Clostridium histolyticum* (1917). *Clostridium sordellii* выделена Сорделли от больного газовой гангреной в Буэнос-Айресе (1922).

Clostridium perfringens

Морфология. Вегетативные клетки – крупные, грамположительные, неподвижные. Классические формы представлены короткими палочками с обрубленными под прямым углом концами (0,6+1,0x1+1,5 мкм). Хорошо окрашиваются анилиновыми красителями; в старых культурах могут быть грамотрицательными. Форма может варьировать: например, на углеводных безбелковых средах могут образовывать коккобациллярные формы, а на белковых безуглеводных средах – нити с заостренными концами. В организме образуют капсулы; в течение некоторого времени капсулы сохраняются и при культивировании на средах, содержащих нативный белок; капсулы наиболее выражены у вирулентных штаммов, резистентных к фагоцитозу. Споры крупные, овальные, расположены центрально (у *C. perfiingens* типа А – также субтерминально); клетка практически не деформируется.

Культуральные свойства. На плотных питательных средах *C. perfiingens* типа А образует S- и R-колонии. S-колонии круглые, куполообразные, с гладкими ровными краями; в начале роста прозрачные, напоминающие капли росы, позднее становятся мутными, серовато-белыми. R-колонии неправильной формы, бугристые, с шероховатыми неровными краями; в глубине агара напоминают комочки ваты. У некоторых штаммов отмечают слизистые М-колонии. Колонии окружены зоной гемолиза; который может быть полным, либо частичным. Зона гемолиза может быть двойной: вокруг колоний полный гемолиз за счет действия гемолизинов, на отдалении – неполный за счет действия лецитиназы. При контакте с кислородом колонии могут приобретать зеленоватую окраску. Рост на жидких и полужидких средах, особенно содержащих глюкозу, происходит очень бурно с образованием H_2 и $C0_2$ и обычно заканчивается через 8–12 ч; при стоянии среда постепенно светлеет и образуется обильный осадок; культуры *C. perfiingens* типа А имеют характерный запах масляной кислоты. Оптимум pH – 7,2–7,4, но могут расти в интервале 5–8,5. Первые признаки роста на среде Китта–Тароцци могут проявляться уже через 1 –2 ч особенно при 43 °С; последние проявляются появлением пузырьков газа из-под кусочков печени при встряхивании. Помутнение среды и активное газообразование можно наблюдать через 4–8 ч культивирования.

Таблица 17. 23.

Токсины Clostridium perfringens

Токсин	Биологическая активность	Тип				
		A	B	C	D	E
a	Дерматонекротизирующее, гемолитическое, детальное действие, опосредованное лецитиназной активностью	+	+	+	+	+
b	Некроз тканей, летальное действие на морских свинок альбиносов		+	+		
d	Гемолитическая активность в отношении эритроцитов барана, детальное действие на лабораторных животных		+	+		
q	Гемолитическое, дерматонекротизирующее, летальное действие, разрушает эритроциты барана, лошади, мыши	+/-	+/-	+	+/-	+/-
e l	Летальное, дерматонекротизирующее действие		+		+	+

κ	Летальное, некротизирующее действие, разрушает ретикулярную ткань мышц и коллагеновые волокна соединительной ткани; активность усиливает цистеин в присутствии Fe^{2+}	+		+	+/-	+
l	Расщепляет денатурированный коллаген и желатин					
g и h	Летальное действие на лабораторных животных					
m	Повышение проницаемости тканей					
n	Расщепляет нуклеиновые кислоты					

Биохимическая активность. Расщепляет с образованием кислоты и газа глюкозу, ксилозу, галактозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, раффинозу, маннозу, крахмал, гликоген и инозит; глицерин разлагают не все штаммы; не сбраживает маннит, дульцит; редко ферментирует салицин и инулин. От прочих клостридий отличается способностью восстанавливать нитраты, расщеплять лактозу, образовывать лецитиназу. Протеолитическая активность слабая; разжижает желатину, не разлагает казеин; только некоторые штаммы медленно разжижают свернувшуюся сыворотку. Интенсивно створаживают молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка уже через 3 ч, феномен известен как «штормовая реакция».

Антигенная структура. Выделяют 6 сероваров (A, B, C, D, E, F), различающихся по антигенным свойствам продуцируемых экзотоксинов. Все серовары образуют α-токсин (лецитиназу). Тип А включает много подтипов, идентифицируемых в РА, что облегчает диагностику в случаях пищевых токсикоинфекций и анаэробных раневых инфекций.

Факторы патогенности. Для человека патогенны *C. perfringens* типов A, C и D; типы B, C, D и E вызывают аналогичные заболевания у сельскохозяйственных животных (см. табл. 17.24). Возбудитель образует как минимум 12 идентифицированных токсинов и ферментов, игравших роль в патогенезе газовой гангрены (табл. 17.23). Мишенью для действия основных токсинов являются биологические мембраны клеток; в основе механизма поражения лежат ферментативные процессы, катализирующие гидролитическое расщепление и нарушение клеточной проницаемости, что в последующем ведет к отеку в области поражения тканей, который сопровождается снижением окислительно-восстановительного потенциала в клетках, активацией эндогенных протеаз, приводящих к аутолизу тканей, характерному для газовой гангрены.

C. perfringens типов A и C образуют энтеротоксин, вызывающие пищевые токсикоинфекции; по своей природе этотермолабильный протеин, продуцируемый при спорулящии бактерий в толстой кишке; его практически не образуют лабораторные культуры и он быстро разрушается при термической обработке пищевых продуктов, что значительно затрудняет его биохимическое изучение и идентификацию. Энтеротоксин 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 счет дилатации и повышения проницаемости капилляров.

Экологическая ниша. *C. perfringens* широко распространен в окружающей среде; его выделяют из воды, почвы, сточных вод; часто обитает в кишечнике людей и животных. Наиболее часто в почве и испражнениях обнаруживают серотип А.

Место постоянного обитания представителей серотипа С, ответственных за пищевые токсикоинфекции у человека, пока не установлено; возбудителей выделяют из мясных и рыбных консервов и органов людей, скончавшихся от «некротического энтерита».

Устойчивость в окружающей среде. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде; способны вегетировать в почве, богатой гумусом. *C. perfiingens* типа А относительно толерантен к кратковременным кислородным воздействиям, хотя имеются чувствительные штаммы, погибающие при воздействии 0_2 на культуру в течение 3 мин. При варке мяса некоторые споры погибают в течение нескольких мин, тогда как другие выдерживают кипячение в течение 2 ч; споры, находящиеся в жировой ткани, выживают на протяжении длительного времени. Термоустойчивость спор серотипов 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. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

Clostridium novyi

Clostridium novyi (*Clostridium oedematiens* типа А) – наряду с *C. perfringens* основной возбудитель анаэробной раневой инфекции. В годы Второй мировой войны инфекции, вызванные С. *novyi,* составляли 42% от всех регистрируемых случаев гангрены.

Морфология. Крупные или слегка изогнутые подвижные грамположительные палочки размером 4н-10х1+2 мкм; перитрихи, имеют 20–25 жгутиков. Обладает выраженным полиморфизмом, некоторые штаммы образуют короткие цепочки или нити. В молодых культурах похожи на *C. perfringens,* но отличаются подвижностью. Молодые клетки хорошо окрашиваются основными анилиновыми красителями; бактерии из старых культур могут изменять отношение к окраске по Граму. Споры овальные, расположены субтерминально. На мясных и казеиновых средах спорообразование наблюдают на 2–6-е сутки; на обогащенных средах спорообразование менее обильное и более медленное.

Культуральные ***свойства.*** Облигатный анаэроб. На плотных средах в анаэростате уже через 48 ч образует круглые сочные сероватые полупрозрачные колонии, иногда с зернистой поверхностью и неровными краями. С. *Novyi* типов А, В и С имеют тенденцию к образованию дочерних и подвижных колоний. На кровяном агаре образуют шероховатые колонии; у бактерий типов А, В и С они окружены зоной гемолиза. Бактерии типа D эритроциты не разрушают. Колонии типов А и В, выросшие на кровяном агаре с бензидином, быстро чернеют на воздухе за счет образования H_20_2. В глубине агара образуются колонии, напоминающие линзы, комочки ваты, снежные хлопья и т.д.; часто окрашены в желтоватый или коричневатый цвет. На жидких средах растет сравнительно медленно и вызывает сдвиг pH в кислую сторону за счет образования органических кислот и H_2S. На МПА с 0,5% глюкозы или 3% декстрина при 37 °С происходит равномерное помутнение среды, затем образуется рыхлый осадок.

Таблица 17. 24.

Токсины Clostridium novyi

Токсин	Биологическая активность	Тип			
		A	B	C	D
a	Термолабильный; летальный, некротический	Анаэробная инфекция	Анаэробная инфекция; «черная» болезнь травоядных	Хронический остеомиелит буйволов	Бациллярная гемоглобинурия телят
b	Лецитиназа С; летальный, некротический, гемолитический				
g	Лецитиназа; некротический, гемолитический				
d	O_2-лабильный; гемолизин				
e	Липаза				
o	Гемолизин; O_2-стабильный				
h	Тропомиозиназа				
q	Неизвестна; вызывает помутнение лецитовителлина				

Биохимическая активность. Типы А, В и С ферментируют глюкозу, фруктозу и мальтозу, а тип D – только глюкозу; все штаммы разлагают глицерин. Показано наличие у типа А глицерокиназы, а-амилазы и а-глюкозидазы, что указывает на способность разлагать полисахариды путем гидролиза и фосфорилирования. Протеолитические свойства выражены слабо; все штаммы разлагают желатину, медленно сворачивают молоко, но не разлагают свернувшийся яичный белок; тип D образует индол и H_2S.

Антигенная структура. У штаммов типов А, В и D представлена двумя одинаковыми соматическими АГ, находящимися в различных соотношениях; сыворотки к штаммам типа В могут иногда перекрестно реагировать с АГ других типов.

Факторы патогенности. Вырабатывает 8 токсинов, определяющих патогенность (табл. 17.24); у- и 3-токсины не тождественны одноименным токсинам *C. perfringens,* но соответствуют а-токсину. Образует гиалуронидазу, идентичную ц-токсину *C. perfringens.*

Устойчивость в окружающей среде. Широко распространены в природе; выделяются из почвы и ЖКТ здоровых животных. Устойчивы к нагреванию, выживают при кипячении в течение 1–2 ч; в костях животных сохраняются до 10 лет. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

Clostridium histolyticum

Морфология. Палочка размером 3+5 х х 0,5-0,8 мкм; грамположительна (в старых культурах может быть грамотрицательной). 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 трехслойной оболочкой, не деформирующие клетку.

Культуральные свойства. Строгий анаэроб, растет при давлении 3–15 мм рт. ст. (оптимум – 8 мм рт. ст.), обладает аэротолерантностью. В аэробных условиях растет плохо и не образует спор. В анаэробных условиях на кровяном агаре образует прозрачные выпуклые колонии диаметром 0,5–1 мм, окруженные тонкой зоной гемолиза. При продолжительном отборе можно получить штаммы, формирующие колонии в виде «головы Медузы». В толще агара неподвижные штаммы образуют «пушинки» с уплотненным центром, подвижные – чечевицеобразные колонии или колонии с протуберанцем. Вызывают сплошное помутнение жидких сред с протеолизом кусочков мяса и печени на дне. Через 2 суток среда становится прозрачной, а на дне образуется осадок. pH почти не меняется; запах отсутствует.

Биохимическая активность. Инертен к углеводам; к ферментации без образования кислоты способны лишь некоторые штаммы; не образует индол, вырабатывает в больших количествах сероводород. Проявляет выраженные протеолитические свойства – разлагают желатину, свернувшуюся сыворотку, яичный белок и коллаген (табл. 17.25).

Факторы патогенности. Продуцирует 5 типов токсинов:

а-токсин (основной токсин), проявляющий летальное и некротическое действие;

^-*токсин* (коллагеназа), расщепляющий азоколл и желатину;

у-токсин (протеиназа), активируемый восстановителями и не разрушающий нативный коллаген, но расщепляющий азоколл, желатину и казеин;

Ъ-токсин (эластаза), проявляющий аналогичную активность;

г-токсин, проявляющий O_2-зависимую гемолитическую активность (лабилен к кислороду, в антигенном отношении близок к стрептолизину О).

У человека *C. histolyticum* иногда вызывает газовую гангрену, обычно в ассоциации с другими анаэробами.

Устойчивость в окружающей среде. Экологическая ниша – почва. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде; вегетативные формы остаются жизнеспособными в аэробных условиях в течение 10 ч. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

Clostridium septicum

Морфология. Полиморфные, подвижные палочки размером 4+5х0,8 мкм; в тканях способны образовывать нити длиной до 500 мкм. В культурах клетки могут быть яйцевидные, веретеновидные, образуют цепочки. При контакте с кислородом теряют подвижность, но не так быстро, как *C. oedematiens.* Через 24 ч культивирования образуют субтерминальные споры.

Культуральные свойства. Строгие анаэробы; растут при давлении 8– 15 мм рт. ст. (выдерживают до 25 мм рт. ст.). На поверхности твердых сред образуют блестящие полупрозрачные колонии с неровными краями, имеют тенденцию к ползучему росту. На агаре Цейсслера через 48 ч палочки образуют сплошной нежный налет, окруженный зоной гемолиза. В столбике 1% агара образуют колонии с отходящими переплетающимися нитями, на 2% агаре колонии имеют вид дисков, иногда с протуберанцем. На среде Китта–Тароцци дает обильный рост; газообразование вариабельное; через 2 суток образует осадок.

Биохимическая активность. Ферментирует некоторые углеводы, не разлагает сахарозу, что используют для дифференциальной диагностики с *C. chavoei;* протеолитическая активность выражена умеренно (см. табл. 17.25).

Факторы патогенности. Продуцирует 4 экзотоксина:

α-токсин, проявляющий летальную, некротизирующую и гемолитическую активность;

^-токсин, обладающий свойствами ДНКазы;

у-токсин (гиалуронидаза);

Ъ-токсин, проявляющий свойства 0 -лабильного гемолизина.

Совместно с другими анаэробами вызывает газовую гангрену у человека и животных.

Устойчивость в окружающей среде. Экологическая ниша – почва. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде: вегетативные формы остаются жизнеспособными при доступе кислорода в течение 10 ч. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

Таблица 17. 25.

Дифференциальные признаки клостридий газовой гангрены

Признак	Clostridium perfringens	Clostridium nivyi	Clostridium sepli cum	Clostridium histolyticum	Clostridium aporogenes	Clostridium difermentans	Clostridium sordellii	Clostridium faltax
Подвижность	–	+	+	+	+	+	+	+
Ферментация:								
- Глюкоза	+	+	+	±	+	+	+	+
- Левулеза	+	±	+	±	–	–	+	+
- Лактоза	+	±	+	±	–	–	–	±
- Сахароза	+	±	±	±	–	–	+	+
- Галактоза	+	±	+	±	+	–	–	±
- Мальтоза	+	±	+	±	+	–	+	+
- Инулин	–	–	–	±	–	–	–	±
- Маннит	±	±	±	±	–	–	±	–
- Дулыпит	–	–	–	–	–	–	–	–
- Салицин	–	±	+	±	–	+	–	±
- Глицерин	±	+	±	±	–	–	+	–
- Крахмал	+	–	–	–	–	–	–	–
Свернутая сыворотка	±	–	–	+	+	+	+	–
Гемолиз	±	+	+	+	+	+	+	±
Лакмусовое молоко	КГ, сгусток через 3-16 ч	Свертывание через несколько суток	То же	Пептонизация	То же	То же	То же	Медленная пептонизация
Агар с бензидином	–	Почернение	–	–	–	–	–	–

Clostridium sporogenes

Морфология. Подвижные палочки размером 3-^6x0,5 мкм.

Культуральные свойства. Напоминают другие клостридии.

Биохимическая активность. Проявляют выраженные протеолитические свойства и инертны в отношении большинства углеводов (см. табл. 17.25).

Антигенная структура. Мало изучена.

Факторы патогенности. Не образуют токсинов, участвующих в патогенезе анаэробной раневой инфекции. При смешанных анаэробных инфекциях увеличивают вирулентность *Clostridium perfringens* и *Clostridium septicum;* при попадании жизнеспособных спор в мышцы способны вызывать гнойные процессы.

Экологическая ниша. Почва.

Clostridium sordellii

Морфология. Подвижная палочка размером 2-^4x0,6-^1 мкм.

Культуральные свойства. Факультативный анаэроб; на плотных питательных средах уже через 24–48 ч образует выпуклые сероватые колонии с неровными краями. На агаре с эритроцитами лошади дает узкую зону гемолиза, а на шоколадном агаре образует узкую зону просветления (за счет протеолиза). На агаре с куриным желтком, молоком и лактозой формирует зону опалесценции вокруг колоний. На жидких мясных средах дает интенсивный рост, часто с образованием слизи.

Биохимическая активность. Ферментирует многие углеводы, но не лактозу и сахарозу, проявляет выраженные протеолитические свойства (см. табл. 17.25).

Антигенная структура. Изучена недостаточно.

Факторы патогенности. 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 в-токсина *C. perfringens* типа А и 6-токсина *C. novyi* и *C. septicum.*

Экологическая ниша. Почва.

Clostridium fallax

Морфология. Подвижная, прямая палочка размером 2-5-5x0,5 мкм с закругленными концами.

Культуральные свойства. Строгий анаэроб; на поверхности агара через 24–48 ч образует мелкие плоские прозрачные колонии с неровными краями; на кровяном агаре дает узкую полоску гемолиза.

Биохимическая активность. Ферментирует углеводы; проявляет умеренную протеолитическую активность (см. табл. 17.25), сворачивает молоко с образованием кислоты. Не образует H_2S, индола, не восстанавливает нитраты.

Антигенная структура. Изучена недостаточно.

Факторы патогенности. Вырабатывает летальный токсин, не идентифицированный до настоящего времени.

Экологическая ниша. Почва.

Clostridium bifermentans

Морфология. Неподвижная палочка размером 4+8x1ч-1,5 мкм, в молодом возрасте грамположительная; в мазках располагается цепочками. Быстро образует центральные или субтерминальные споры, не деформирующие клетку.

Культуральные свойства. На агаре Цейсслера обуславливает нежный рост, напоминающий рост *C. oedematiens.* На средах с кровью дает ос-гемолиз; проявляет лецитиназную активность (лецитиназа С). На среде Китта–Тароцци газ не образуется, через 24 ч культивирования появляется осадок. Рост сопровождается гнилостным запахом.

Биохимическая активность. Разжижает свернувшуюся сыворотку, гидролизует желатину, ферментирует глюкозу, левулезу и мальтозу.

Антигенная структура. Изучена недостаточно.

Факторы патогенности. Образует лецитиназу С.

Экологическая ниша. Почва.

Дифференциальные признаки клостридий газовой гангрены представлены в табл. 17.25.

Эпидемиология газовой гангрены. Естественный резервуар и источник возбудителя инфекции – почва. Механизм передачи – контактный, путь – раневой. Восприимчивость – высокая; заболеваемость значительно возрастает во время военных действий у раненых; основная группа риска в мирное время – работники сельского хозяйства, дорожные и строительные рабочие, шахтеры. В мирное время заболеваемость возрастает при стихийных бедствиях, таких как землетрясения; часто сопровождает крашсиндром.

Патогенез газовой гангрены. Все виды травматизма могут служить причиной развития газовой гангрены. Возникновению последней способствует загрязнение ран землей, наличие обширных очагов размоккжения и некроза тканей. В некротизированных тканях в условиях гипоксии споры прорастают и образуют вегетативные формы. Газовая гангрена – токсинемическая инфекция, основными патогенетическими факторами которой являются гангренозные токсины и ферменты агрессии, повреждающие здоровые ткани и вызывающие тяжелую общую интоксикацию организма. Возбудители продуцируют экзотоксины, которые поступают в кровь, распространяются по организму по кровеносным и лимфатическим сосудам и достигают мышечной ткани. Лецитиназа расщепляет лецитин, являющийся важным компонентом мембран клеток. Образующийся в результате биохимической активности клостридий газ, расслаивает мышцы, а гиалуронидаза и коллагеназа увеличивают проницаемость тканей.

Клиника газовой гангрены. Инкубационный период составляет 1–3 дня. Клиническая картина разнообразна, проявляется отеком, газообразованием в ране, выраженной интоксикацией организма. Для поражений характерны некроз тканей и образование газа с гнилостным запахом. Характерная особенность гистологических препаратов из очагов поражения – практически полное отсутствие фагоцитов в очаге некротических поражений.

C. perfringens у человека вызывает два типа поражений – *газовую гангрену* и *пищевые токсикоинфекции* (табл. 17.26).

Газовая гангрена развивается при попадании *C. perfringens* на раневые поверхности, где бактерии активно размножаются в условиях пониженного содержания кислорода. Споры микробов могут быть занесены в раны из внешней среды, а также с кожи или из ЖКТ пациента.

Таблица 17. 26.

Заболевания, вызываемые Clostridium perfringens

Тип	Форма патологии
A	Газовая гангрена людей и животных, пищевые токсикоинфекции
B	Дизентерия молодняка сельскохозяйственных животных, энтеротоксемия овец и коз
C	Некротический энтерит человека; геморрагическая энтеротоксемия овец, коз, поросят и телят
D	Инфекционная энтеротоксемия человека; овец, коз, кроликов, телят, «травяная болезнь» лошадей
E	Энтеротоксемия телят и ягнят

Пищевые токсикоинфекции, вызванные серотипами А и С, приобретают все большую значимость, представляют актуальную проблему для здравоохранения большинства стран мира. *C. perfringens* типа А вызывает преимущественно токсикоинфекции легкой и средней тяжести; инкубационный период составляет 6–24 ч; заболевания развиваются остро. с ощущениями боли в животе, рвотой (иногда с кровью) и диареей до 20 раз в сутки: общие нарушения проявляются слабостью, головокружениями; повышение температуры наблюдают редко. Симптомы исчезают в последующие 12–24 ч. Летальные исходы наблюдают редко, обычно у ослабленных пациентов – пожилых лиц, хронических больных и детей с нарушениями питания. Следует помнить о способности микробов проникать в кровоток и вызывать тяжелый анаэробный сепсис. Более тяжело протекает некротический энтерит, вызванный штаммами серотипа С. При острых формах болезнь может закончиться смертью пациента в течение 12–24 ч; симптомы аналогичны таковым при поражениях, вызываемых бактериями серотипа А и обусловлены действием -токсина; подобные пациенты нередко попадают на операционный стол с диагнозом «кишечная непроходимость»; смертность достигает 35%. Заболевание регистрируют достаточно редко, большое число случаев наблюдали в Германии после Второй мировой войны (в 1945–1948 гг. – 1056 случаев), а в настоящее время, периодически отмечают в Новой Гвинее, что связано с особенностями национальной кухни.

Иммунитет. Естественный иммунитет у человека к газовой гангрене отсутствует. Перенесенное заболевание не оставляет антитоксического иммунитета, поскольку токсигенная доза гангренозных токсинов во много раз ниже иммуногенной дозы. Ведущая роль в защите от токсинов принадлежит антитоксинам.

Микробиологическая диагностика газовой гангрены. Исследуемый материал – пораженные и некротизированные ткани, взятые на границе со здоровыми, экссудат, гной. раневое отделяемое, кровь. От трупов берут кусочки мышц, печени, селезенки; кровь из сердца, раневое отделяемое. При пищевых токсикоинфекциях исследуют рвотные массы. фекалии, кровь, остатки пищевых продуктов.

Для диагностики используют *бактериоскопический, бактериологический* и *биологический* методы.

Готовят мазки из исследуемого материала, окрашивают по Граму, микроскопируют, обращая внимание на наличие грубых грамположительных палочек или отдельных спор.

Сеют на казеиновые или мясные жидкие и плотные среды (кровяной агар, среда Вильсона–Блера); посевы инкубируют в анаэростате при 37 °С. Выделяют и идентифицируют чистую культуру по общепринятой схеме. Фильтраты культур или центрифугат проверя-

ют на наличие токсина в опытах на мышах либо морских свинках или используют для проведения реакции нейтрализации с диагностическими сыворотками *C. perfringens, C. septicum, C. sordellii, C. oedematiens* A и B. Необходимо четко идентифицировать роль C. perfringens в развитии тех или иных клинических состояний, так как микроб часто входит в состав нормальной микрофлоры кишечника и его содержание может достигать 10^3 микробных тел или 10 спор в 1 г фекалий здорового человека.

Для ускоренной диагностики исследуемый материал центрифугируют и с центрифугатом проводят реакцию нейтрализации со специфическими антитоксическими сыворотками.

К быстрым методам диагностики относится выявление лецитиназы в фильтратах и нейтрализация ее специфическими сыворотками.

При пищевых токсикоинфекциях проводят бактериологическое исследование с целью выделения и идентификации возбудителя, определения массивности обсеменения исследуемого материала данным микробом и типа выделяемого им токсина.

Лечение. Направлено на нейтрализацию гангренозных токсинов антитоксином; хирургическое удаление некротизированных тканей. Применяют антитоксические сыворотки, антибиотики и гипербарическую оксигенацию.

Профилактика. При травмах проводится хирургическая обработка раны; соблюдение правил асептики и антисептики при операциях; борьба с травматизмом.

Для специфической профилактики проводится плановая или экстренная иммунизация. Для создания искусственного активного иммунитета применяют секстанатоксин, в состав которого кроме столбнячного анатоксина и ботулинических анатоксинов типа A, B, E входят анатоксины *C. perfringens* и *C. oedematiens.*

Клостридии диффициле (Clostridium difficile)

Clostridium difficile открыта Холлом и О'Тулом в 1935 г.

Морфология. Грамположительные палочки с овальными спорами.

Культуральные свойства. Как у клостридии других видов.

Биохимическая активность – см. табл. 17.25.

Антигенная структура. Изучена недостаточно.

Факторы патогенности. Бактерии продуцируют два вида экзотоксина: токсин A (энтеротоксин) с M_r 44 000–50 000 Да (оказывает диареягенное и летальное действие, стимулирует гуанилатциклазу) и токсин B (цитотоксин) с M_r 47 000 Да (оказывает летальное действие, значительно превосходящее действие токсина A; нарушает функции мембран с потерей K^+ и фибронектина; ингибирует синтез белка).

Устойчивость в окружающей среде. Обитает в толстом кишечнике человека. Споры обладают высокой устойчивостью к факторам окружающей среды. Проявляет высокую резистентность к антибиотикам широкого спектра действия, что создает предпосылки для обширной колонизации кишечника и секреции больших доз токсинов, вызывающих изменения кишечной стенки; чувствительна только к действию ванкомицина.

Эпидемиология. Носительство *C. difficile* особенно распространено у новорожденных (до 50%), но именно у них наблюдают самый низкий уровень поражений. По мере развития нормальной микрофлоры (6–12 мес.) число носителей уменьшается; среди взрослых лиц не превышает 3%. Псевдомембранозный колит – госпитальная инфекция. Среди новорожденных возможна контактная передача от ребенка ребенку или с руками персонала (при пеленании, кормлении и купании «одними и теми же руками»); среди взрослых доминируют контактно-бытовые пути госпитального распространения.

Патогенез. Возбудитель вызывает псевдомембранозный энтероколит на фоне нерациональной терапии антибиотиками (клиндамицином, ампициллином и цефалоспоринами) и цитостатиками, вызывающими глубокий дисбаланс микрофлоры и колонизацию кишечника *C. difficile*.

Клиника. Псевдомембранозный энтероколит характеризуется образованием и выделением с калом пленчатого материала – структур, представленных фибрином и слизью. Больные жалуются на коликообразные боли в животе, температура тела может достигать 39 °С и выше. У больных профузные водянистые диареи; у 50% пациентов выявляют лейкоциты в кале и лейкоцитоз.

Иммунитет. Не изучен.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат фекалии. Для диагностики применяют бактериологический метод: выделяют возбудитель из фекалий. Для обнаружения токсина в фекалиях используют чувствительные культуры клеток (человеческие эмбриональные фибробласты и др.).

Лечение. Ванкомицин.

Профилактика. Специфическая профилактика отсутствует; неспецифическая профилактика сводится к рациональной антибиотикотерапии и профилактике дисбиозов.

17.6. Палочки грамположительные правильной формы

Лактобациллы (род Lactobacillus)

Морфология. Палочковидные бактерии размером 1,0+10х0,5+1,2 мкм, форма которых варьирует от вытянутых палочек до коккобацилл, образующих короткие цепочки, особенно в поздней фазе логарифмического роста. Большинство видов неподвижны, подвижные – перитрихи. Спор не образуют. Грамположительны, однако, в старых культурах и при повышении pH становятся грамотрицательными; при окраске по Граму или метиленовым синим у некоторых штаммов выявляют биполярные тельца, цитоплазматическую зернистость и исчерченность. Типовой вид – *Lactobacillus delbrueckii*.

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы, некоторые штаммы аэротолерантны, капнофилы. Имеют сложные пищевые потребности в аминокислотах, витаминах, пептидах, жирных кислотах, углеводах, нуклеиновых кислотах, индивидуальные для каждого вида. Температурный оптимум роста 30–40 °С, однако, способны расти в широком диапазоне температур – от 5 до 53 °С; оптимум pH – 5,5–5,8. В анаэробных условиях лучше растут при внесении в питательную среду тиогликолята и цистеина. На кровяном агаре образуют как крупные сероватые S-формы колоний, так и мелкие колонии, окруженные зоной α-гемолиза, напоминающие колонии зеленящих стрептококков. Газообразующие лактобациллы на плотных средах, таких как молочно-печеночный агар с дрожжевым экстрактом, образуют, мягкие, вязкие беловатые колонии, а газонеобразующие лактобациллы чаще образуют плоские и узорчатые колонии. Редко продуцируют пигмент от кремового до красно-кирпичного цвета.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы; метаболизм бродильного типа. Каталазаотрицательны, цитохромоксидазаотрицательны. Ферментируют сахара. При сбраживании глюкозы pH снижается на одну единицу и более, не менее половины конечных продуктов ферментации составляет лактат. Нитраты практически не восстанавливают (очень редко, при pH>6), желатину не разжижают, казеин не расщепляют, индол и H_2S не образуют. Разделяются на строго гомоферментативные, строго гетероферментативные и факультативно-гетероферментативные. Облигатные гомоферментативные лактобациллы

ферментируют глюкозу, фруктозу, галактозу, мальтозу, сорбит с образованием преимущественно молочной кислоты (85%). Облигатные гетеро-ферментативные лактобациллы ферментируют глюкозу, арабинозу, ксилозу, рамнозу с образованием меньших количеств молочной кислоты (50%). Факультативно-гетероферментативные лактобациллы занимают промежуточное положение: они ферментируют пентозы (арабинозу, ксилозу и др.): гексозы (глюкоза, фруктоза, мальтоза и др.) сбраживают с образованием молочной кислоты: при дефиците глюкозы расщепляют ее до уксусной кислоты и спирта.

Факторы патогенности. Практически не проявляют патогенных свойств.

Экологическая ниша. Являются представителями нормофлоры ротовой полости, кишечника и влагалища человека. В ротовой полости встречаются *L. casei, L. acidophilus, L.fermentum, L. salivarius, L. plantarum, L. brevis* и *L. buchneri;* в толстой кишке их содержание в 1 г фекалий достигает 10^6–10^{10} и более; основные виды – *L. acidophilus, L. plantarum, L. casei, L, fermentum, L. salivarius, L. brevis.* Являются доминирующей микрофлорой влагалища женщин детородного возраста, их число достигает 10^5–10^7/мл. Преобладают следующие виды: *L. casei, L. acidophilus, L.fermentum, L. brevis* и *L. cellobiosis.*

Устойчивость в окружающей среде и к антимикробным препаратам. При попадании на воздух мгновенно погибают. Чувствительны к пенициллинам, клиндамицину и цефалотину, а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Листерии (род Listeria)

Листерии получили название в честь шотландского хирурга Д. Листера. Род *Listeria* включает в себя несколько видов. В патологии человека наибольшее значение имеет вид *L. monocytogenes,* впервые описанный в 1911 г. М. Хамфесом.

Листерии вызывают зоонозную природно-очаговую инфекцию – листериоз, характеризующийся полиморфизмом клинической картины с поражением лимфатической системы, часто с септицемией и поражением нервной системы.

Морфология. Листерии – мелкие грамположительные палочки (0,5^-2x0,4+0,5 мкм), обладающие плеоморфностью. В мазках из чистой культуры располагаются под углом друг к другу, формируя структуры, напоминающие иероглифы. Подвижные, спор не образуют; могут образовывать капсулу.

Культуральные свойства. Могут расти на простых питательных средах при pH 7,0–7,2. Но лучше растут на средах с добавлением крови. На кровяном агаре образуют мелкие полупрозрачные колонии, окруженные тонкой зоной гемолиза. Некоторые штаммы образуют желтый или красноватый пигмент. Являясь микроаэрофилами, листерии лучше растут в атмосфере 5–10% CO_2. Температура культивирования 37 °С.

Физиология. Могут сбраживать глюкозу и некоторые другие сахара с образованием кислоты. H_2S и индол не продуцируют, желатину не разжижают. Каталазаположительны.

Антигенная структура. Обладают О- и Н-антигенами. Установлено 7 сероваров *L. monocytogenes.*

Факторы патогенности. Патогенез листериоза, в основном, связан со способностью *L. monocytogenes* вызывать незавершенный фагоцитоз. Причем, микроб фагоцитируется как «профессиональными фагоцитами», так и нефагоцитарными клетками, например эндотелиальными, в которых он реплицируется в цитозоле, освобождаясь из фагосомы. Этот процесс обеспечивается следующими факторами патогенности: *интернализином* – богатым лейцином белком, связанным с клеткой бактерии, который обеспечивает поглощение микроба фагоцитами и эндотелиальными клетками; *листериолизином* – ферментом металлопротеазой, вызывающим разрушение мембраны фагосомы и могущим также вызвать ге-

молиз эритроцитов. Кроме того, *L. monocytogenes* обладает двумя *фосфолипазами С*, которые разрушают клеточные мембраны, позволяя микробу распространяться по тканям организма и *гемолизином*, вызывающим гемолиз эритроцитов.

Распространение в природе. *L. monocytogenes* широко распространен в природе. Микроб является сапронозом, способным к свободному существованию в почве, воде, где он может находиться в симбиотических связях с простейшими или в некультивируемом состоянии. Способность находиться в почве, воде в некультивируемом состоянии приводит к формированию эндемических очагов инфекции. Также установлено, что *L. monocytogenes* способен заражать через корневую систему растения, делая их инфицированными.

Многие животные, как дикие (кабаны, лисы, зайцы, грызуны), так и домашние (овцы, крупный рогатый скот, кошки, собаки, свиньи), а также куры, утки, куропатки заражаются листериями через инфицированную воду и корма. У большинства диких животных листериоз протекает доброкачественно. При этом, инфицированные листериями животные, выделяя микроб с испражнениями и мочой, контаминируют окружающую среду.

Эпидемиология. Листерии хорошо переносят низкие температуры, замораживание, высушивание. В молоке и мясе при температуре +4 °С не только не гибнут, но и размножаются. Чувствительны к дезинфицирующим веществам и кипячению.

Человек заражается в основном алиментарным путем через инфицированные овощи, сырое молоко, сыры и другие молочные продукты, недостаточно термически обработанное мясо, а также через зараженную воду. Возможны контактный путь заражения при уходе за больными животными и воздушно-пылевой при вдыхании инфицированной пыли. Заражение человека от человека не установлено. Но возможно заражение плода от больной матери трансплацентарно и во время родов. Восприимчивость людей не очень высокая, заболевание возникает в основном при наличии иммунодефицитов.

Патогенез и клиническая картина. Листериоз – инфекция, характеризующаяся поражением мононуклеарных фагоцитов и различными вариантами течения, с возможностью развития септицемии и энцефаломенингитов у иммунодефицитных лиц, беременных женщин и новорожденных. У лиц с нормальным иммунным статусом заболевание может протекать в виде легкого недомогания, респираторного заболевания или ангины. Инкубационный период – от 3 до 45 дней, обычно 18–20 дней.

Из входных ворот листерии распространяются лимфогенным и гематогенным путями. Диссеминация во внутренние органы (ЦНС, миндалины, печень, селезенка, легкие, лимфоузлы) приводит к размножению в них листерий с образованием некротических узелков – листериом, представляющих собой скопление пораженных клеток соответствующего органа, мононуклеарных фагоцитов и возбудителя. Образование листериом в нервной системе обуславливает картину менингита, энцефалита и менингоэнцефалита.

У беременных женщин гранулемы образуются в плаценте, из которой возбудитель попадает в плод, вызывая внутриутробную инфекцию и перинатальный врожденный листериоз. Врожденный листериоз характеризуется образованием листериом в печени, селезенке, ЦНС и заканчивается гибелью плода, спонтанным абортом, преждевременными родами, аномалиями развития плода. При заражении плода во время родов процесс затрагивает ЦНС и характеризуется развитием менингита у новорожденного в течение первых 3 недель жизни, который в 54–90% случаев, заканчивается летально.

Иммунитет. У переболевших в сыворотке крови обнаруживаются антитела, которые не обладают протективной активностью. Наибольшее значение имеет клеточный иммунный ответ, который сопровождается ал-лергизацией организма.

Микробиологическая диагностика. Используются бактериологический, серологический методы, аллергическая проба и ПЦР.

Материалом для исследования при бактериологическом методе служат ликвор, кровь, пунктат лимфоузлов, слизь из носоглотки. отделяемое влагалища, околоплодные воды, плацента, трупный материал, из которых выделяют чистую культуру возбудителя. В этих материалах листерий можно обнаружить также ПЦР.

Для серологической диагностики используют РСК, РИГА, ИФА, исследуя нарастание титра антител в парных сыворотках. Определяют также содержание IgM.

Лечение. Этиотропная антибиотикотерапия (тетрациклин, левомицетин и др.).

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к санитарно-ветеринарным мероприятиям в эндемическом очаге.

17.7. Палочки грамположительные неправильной формы, ветвящиеся бактерии

Коринебактерии (род Corynebacterium)

Коринебактерии представляют собой грамположительные, прямые или слегка изогнутые, неправильной формы, тонкие палочки, размером 0,3+0,8х1,5+8,0 мкм с заостренными или, иногда, булавовидными концами,. В микропрепаратах располагаются по одиночке или в парах, часто V-образной конфигурации, либо в стопках, в виде частокола из нескольких параллельно лежащих клеток. Некоторые клетки по Граму окрашиваются неравномерно и имеют вид четок. Внутри клеток, как правило, образуются метахроматиновые гранулы полифосфата (зерна волютина). Коринебактерии неподвижны, спор не образуют, некислотоустойчивые. Факультативные анаэробы, при культивировании обычно нуждаются в богатых питательных средах, таких как сывороточная или кровяная среда. Хемоорганотрофы. Метаболизм бродильного типа. Каталазаположительные. Широко распространены на растениях; у животных и человека преимущественно являются нормальными обитателями кожи и слизистых оболочек верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и мочеполовых путей. Род состоит из 20 видов, большинство из которых являются условно-патогенными. **Типовой вид – *Corynebacterium diphtheriae*, являющийся патогенным для человека.**

Возбудитель дифтерии (Corynebacterium diphtheriae)

Дифтерия (греч. diphthera кожа, пленка) – острая инфекционная болезнь с воздушно-капельным путем передачи возбудителя, характеризующаяся воспалительным процессом в зеве, гортани, трахее, реже в других органах с образованием фибринозных налетов и явлениями интоксикации.

1. История. Эпидемии дифтерии были известны еще Гиппократу. Первое достоверное описание дифтерии принадлежит историку-врачу Аретею, жившему в I веке нашей эры. Эта инфекция описывалась под разными названиями: египетская или сирийская болезнь, чумная язва глотки, злокачественная ангина, трахеальная ангина, удушающая болезнь, болезнь дыхательной трубки и т.д. С XVIII века по настоящее время применяется термин «круп» при поражении дифтерийным процессом гортани. Существует мнение, что родина дифтерии Азия, откуда она проникла в Европу и постепенно распространилась по всему земному шару. Известны обширные эпидемии дифтерии в XVII и XVIII столетиях, наводившие ужас на население Европы, особенно Италии и Испании. В XVIII веке дифтерия появилась в Англии, Германии, Голландии, Швейцарии, Северной Америке. С первой половины XIX века эпидемии дифтерии регистрировались почти во всех странах мира, с

высокой детской смертностью. Предполагают, что в Россию дифтерия была занесена из Румынии сначала в северные, затем в южные губернии. Со второй половины XIX века заболеваемость ею в России резко повысилась.

Несмотря на давность и повсеместность распространения дифтерии, она в самостоятельную нозологическую единицу была выделена лишь в двадцатых годах XIX столетия французским ученым Bretonneau и его учеником Trousseau. Bretonneau установил связь между отдельными локализациями процесса и характерный признак образование пленки. Отмечены идентичность дифтеритической и крупозной пленок, а также связь удушья при дифтерии с узостью гортани ребенка. Он же подробно разработал и операцию трахеотомии.

Bretonneau предложил назвать болезнь «дифтеритом», что по-гречески означает «ложная кожа», «ложная пленка». С 1846 года применяется термин «дифтерия», подчеркивающий значение общих явлений в картине болезни.

Возбудитель дифтерии был обнаружен в 1883 году Clebs на срезах пленок, снятых из зева больных. В 1884 году эти данные были подтверждены Loffler выделением чистой культуры бактерий дифтерии и изучением некоторых их свойств. В 1884-1888 годах Roux и Lersen был получен дифтерийный токсин, изученный ими в эксперименте на животных, что позволило окончательно решить вопрос об этиологической роли данного микроба при дифтерии. В 1890 году русским ученым Орловским обнаружен в крови антитоксин. В результате этих исследований, была представлена возможность создания противодифтерийной сыворотки. Это лечебное средство, позволившее резко снизить летальность при дифтерии, получено независимо друг от друга в 1892-1894 годах Roux во Франции, Behring в Германии и Я. Ю. Бардахом в России.

Специфическую профилактику дифтерии впервые разработал в России в 1902 году С.К. Дзержиковский, проведший опыт на себе.

В 1912 году Schick предложил кожную реакцию с токсином для выявления лиц, восприимчивых к дифтерии.

В 1913 году Behring использовал с целью профилактики дифтерийный токсин, нейтрализованный антитоксической сывороткой; в 1923 году Катон рекомендовал проводить иммунизацию анатоксином.

Впервые противодифтерийная сыворотка была применена с лечебной целью в 1894 году в детской клинике Московского университета Н. Ф. Филатовым, Р. Н, Габричевским. К. А. Раухфус (1897) с убедительностью доказал эффективность ее. Значителен вклад В. И. Молчанова и его учеников в развитие учения о дифтерии. Тщательно были разработаны некоторые вопросы патогенеза, специфического и неспецифического лечения болезни и ее осложнений, создана классификация клинических форм дифтерии. Учеными установлены закон периодичности дифтерийных эпидемий, их зависимость от времени года, влияние возраста и индивидуальных особенностей организма на заболеваемость и смертность от дифтерии, улучшена методика активной иммунизации против дифтерии.

Характеристика возбудителя

Возбудитель дифтерии – Corynebacterium diphtheriae – относится к роду Corynebacterium), группе коринеформных бактерий, морфологически представляет собой полиморфные тонкие, слегка изогнутые палочки 0,5 X X 1,0–3,0–5,0 *мкм* (встречаются ветвящиеся, сегментированные и кокковидные формы, цвета. При электронно-микроскопическом изучении видна трехслойная клеточная стенка, у многих штаммов есть микрокапсула в цитоплазме имеются нуклеоид, внутрицитоплазматические мембраны – мезосомы, вакуоли, а также как необязательный компонент – скопления полифосфата, так

называемые зерна волютина или Бабеша–Эрнста. При окраске фиксированных бактерий дифтерии анилиновыми красителями, зерна окрашиваются метахроматически по отношению к цитоплазме; скопления нуклеиновых кислот в клетках придают им полосатость. Бактерии дифтерии грамположительны. Благодаря делению клеток в виде излома и расщепления, они нередко располагаются под углом друг к другу. Жгутиков не имеют, спор не образуют. Морфологически Cor. diphtheriae бывает неотличима от многих штаммов других коринебактерий, встречающихся на коже и слизистых оболочках человека (так наз. дифтероидов) и для определения видов внутри рода требуется изучение комплекса культуральных и биохимических признаков.

По устойчивости к воздействию факторов окружающей среды бактерии дифтерии не отличаются от неспорообразующих патогенных бактерий. Возбудитель дифтерии весьма чувствителен к действию многих антибиотиков – пенициллина, тетрациклина, эритромицина. Однако, в носоглотке больных и носителей, несмотря на лечение этими препаратами, бактерии дифтерии могут находиться длительное время. Возбудитель дифтерии – гетеротроф. При его культивировании в искусственных условиях питательные среды должны содержать в качестве источников углерода и азота аминокислоты – β-аланин, цистин, метионин, валин и некоторые другие. Оптимальное значение pH 7,6; оптимальная температура культивирования 36– 38°. Микроб является факультативным анаэробом.

Для роста Cor. diphtheriae применяют питательные среды, приготовленные на основе обычных бульонов – мясопептонного, Мартена, Хоттингера, с добавлением 5–15% сыворотки или гемолизированной крови. В конце XIX в. Э. Ру предложил использовать свернувшуюся лошадиную сыворотку; Ф. Леффлер перед свертыванием добавлял к ней 25% бульона, содержащего 1% глюкозы. На поверхности плотных кровяных или сывороточных сред дифтерийные культуры развиваются макроскопически через 18–24 часа. Колонии круглые, 0,5–1,0 *мм* в диаметре, суховатые, кремовато-желтого цвета, не сливающиеся даже при сплошном посеве, иногда крошатся при прикосновении петлей. Cor. diphtheriae расщепляет без газа с образованием кислот глюкозу и мальтозу, изредка сахарозу, а некоторые разновидности – крахмал, гликоген, декстрин. Наиболее постоянным признаком для всех штаммов Cor. diphtheriae является расщепление цистина с образованием H_2S, а также отсутствие ферментов уреазы и фосфатазы. Способность коринебактерий дифтерии и некоторых других восстанавливать металлический теллур из его солей, также используется в целях дифференциальной диагностики. Важно, что теллуриты K и Na являются не только субстратом восстановления, но и ингибиторами микрофлоры, встречающейся в зеве.

Основным фактором вирулентности возбудителя дифтерии является экзотоксин. В комплекс, определяющий патогенность Cor. diphtheriae, помимо токсина, входят *гиалуронидаза,* нейраминидаза, поверхностно расположенный липид корд-фактор, фактор В, а также гипотетический эндотоксин, антифагоцитарные факторы. Удельное значение их, кроме токсина дифтерии, пока неясно.

Дифтерийный токсин является белком с молекулярным весом 62 000 дальтонов. Получен в кристаллическом виде в 50-х гг. Силу токсина определяют по его местному–некротическому или общему – летальному действию на восприимчивое животное (морские свинки, кролики). Минимальная смертельная доза токсина – Dosis letalis minima– представляет собой наименьшее количество токсина, вызывающее гибель морской свинки весом 250 *г* на 4–5-е сутки при внутрибрюшном введении. Токсин обладает специфическими иммуногенными свойствами, которые сохраняются при обработке формалином, но при этом теряются его ядовитые свойства. Протективная активность токсина (анатоксина) не всегда совпадает с его антигенностью, на что указывал еще П. *Эрлих.*

Молекула токсина состоит из двух фрагментов, один из которых – первый (А) стабилен, обладает только ферментативной активностью, а второй – (В) лабилен и несет протективную функцию.

Предполагают, что синтезированный внутриклеточно токсин выделяется в окружающую среду через каналы в клеточной стенке Cor. diphtheriae. Для синтеза токсина требуются те же условия, что и для роста бактерий дифтерии, но добавочное значение имеют глюкоза, мальтоза и их метаболиты, а также ростовые факторы – никотиновая и пимелиновая кислоты. Оптимальная реакция среды для токсинообразования при pH 7,8–8,0. В опытах in vivo и in vitro перенос фага из лизогенной и токсигенной клетки Cor. diphtheriae к нетоксигенным и чувствительным к данному фагу культурам Cor. diphtheriae и из других коринебактерий приводит к приобретению последними лизогенности и токсигенности. Открытый в 1951 г. Фрименом феномен фаговой конверсии нетоксигенных дифтерийных штаммов в токсигенные трактуется следующим образом. Ген, детерминирующий токсигенез, инкорпорирован в хромосому одного из дифтерийных умеренных фагов (наиболее изучен 3-фаг), поэтому токсигенность присуща лизогенным штаммам, несущим умеренные фаги.

Вид Cor. diphtheriae неоднороден. Он подразделяется на токсигенные и нетоксигенные разновидности, а также на различные культурально-биохимические серологические и фаготипы. Выделяют два основных культурально-биохимического типа: гравис и митис, а также ряд промежуточных форм – тип интермедиус и тип минимус. Наиболее четко типы дифференцируются по форме колоний на среде Мак-Лауда – варианте кровяного теллуритового агара. Колонии типа гравис через 48–72 часа роста имеют диам. 1,0–2,0 *мм*, волнистые края, отличаются радиальной исчерченностью и уплощенным центром, напоминают цветок маргаритки. Цвет их благодаря восстановлению теллура и соединению его с одновременно образующимся сероводородом (H_2S) серо-черный, поверхность колоний матовая. На бульоне представители типа гравис растут в виде крошащейся пленки. Около 90% штаммов расщепляет крахмал, декстрин и гликоген с образованием кислот. Второй биотип – митис – на поверхности кровяного теллуритового агара формирует круглые, слегка выпуклые, черные, матовые колонии, нередко окруженные валиком с ровными краями, диам. 1,0–2,0 *мм* на бульоне растет обычно в виде равномерной мути. Большинство штаммов не ферментирует крахмал, декстрин и гликоген. Колонии типа интермедиус круглые и выпуклые, мельче, чем у типа митис, не имеют валика, черные, с блестящей поверхностью; отношение к крахмалу и другим полисахаридам непостоянное. Все биотипы продуцируют идентичный токсин, хотя токсигенность присуща типу гравис. Обозначения типов были введены английскими авторами слагавшими, что гравис ассоциируется с более тяжелыми, а митис – с более легкими формами болезни. Последующие наблюдения не смогли подтвердить четкой связи между биотипами и формами заболевания дифтерии, а также степенью их эпидемиологической опасности.

Серологическая неоднородность вида Cor., diphtheriae обусловлена типоспецифическими поверхностными термолабильными термостабильными антигенами. Во многих странах мира были предложены схемы серологичкской классификации бактерий дифтерии. В СССР с 1961 г. принята схема В. С. Сусловой и М. В. Пелевиной, в которой сделана попытка объединить отечественные и зарубежные классификации. Однако, и эта схема не позволяет классифицировать большую часть нетоксигенных штаммов.

Патогенез. Источником инфекции при дифтерии являются люди – больные или здоровые носители токсигенных дифтерийных микробов. Наибольшую эпидемическую опасность представляют больные дифтерией зева, носа и гортани, активно выделяющие возбудителей заболевания во внешнюю среду с выдыхаемым воздухом. Незначительное в

этом отношении значение играют больные дифтерией глаз, кожи, раны и других локализаций, способные распространять инфекцию контактным путем (через руки, предметы быта). Инфицирующая способность здоровых носителей токсигенных коринебактерий в десятки раз ниже, чем больных с поражением тканей органов респираторного тракта. Однако отсутствие у них каких-либо внешних признаков наличия носительства патогенных микробов, не позволяет контролировать распространение ими инфекции и осуществлять в этих случаях противоэпидемические мероприятия. Здоровых носителей токсигенных дифтерийных палочек выявляют только в случаях массовых обследований организованных коллективов, осуществляемых по эпидемическим показаниям. В результате не менее 90% заболеваний дифтерией, связаны с инфицированием от здоровых носителей коринебактерий. Различают 5 видов носительства возбудителей дифтерии: транзиторное (однократно выявляемое), кратковременное (продолжающееся до 2 нед), средней продолжительности (от 15 сут до 1 мес), затяжное (до 6 мес) и хроническое (более 6 мес). Восприимчивость людей к дифтерии определяется наличием антитоксического дифтерийного иммунитета. Содержание в крови 0,03 АЕ/мл специфических антител обеспечивает их защиту от заболевания. Однако, оно не препятствует формированию носительства патогенных микробов.

Входными воротами возбудителей дифтерии могут быть практически все области покровов (кожи и слизистых) макроорганизма. Однако, наиболее часто ими является слизистая оболочка ротоглотки, намного реже – гортани, носа, конъюнктив, половых органов, раневая поверхность, кожа и др. Токсигенные коринебактерии фиксируются на клетках тканей, размножаются и в процессе жизнедеятельности продуцируют экзотоксин, оказывающий местное и общее воздействие, обусловливающее практически все проявления патологического процесса. Микробные клетки за пределы тканей, являющихся воротами инфекции, как правило, не распространяются и непосредственного участия в поражении макроорганизма не принимают.

Дифтерийный экзотоксин состоит из нескольких фракций, каждая из которых обладает самостоятельным биологическим действием. Одна из них – гиалуронидаза: разрушает гиалуроновую кислоту капилляр и повышает их проницаемость. Это ведет к выходу за пределы сосудов жидкой части крови, пропитыванию пораженных тканей плазмой, содержащей наряду с другими компонентами фибриноген. Вторая – некротоксин -вызывает некроз эпителия на месте ворот инфекции, сопровождающийся выделением из эпителиальных клеток тромбокиназы. Последняя способствует превращению фибриногена в фибрин и образованию на поверхности пораженных тканей фибринной пленки. Небные миндалины, в отличие от других органов, покрыты многорядным эпителием. В результате, образующаяся при дифтерии фибринная пленка проникает глубоко внутрь эпителиального покрова и плотно спаяна с тканями. Третья фракция дифтерийного токсина – истинный дифтерийный токсин (основной его компонент) способен вытеснять из клеточных структур цитохром Б и таким образом, блокировать в них процессы клеточного дыхания и синтеза белковых молекул. Наиболее чувствительными к этим изменениям являются миокард, капилляры и нервные клетки. В кардиомиоцитах развиваются явления миокардиодистрофии с последующим их некрозом, миолизом и развитием инфекционно-токсического миокардита. Поражение капилляров при дифтерии сопровождается инфекционно-токсическим шоком. Повреждение нервных клеток сопровождается дистрофическими изменениями шванновских клеток и демиелинизацией нервных волокон. Наряду с отмеченным, общее действие дифтерийного токсина проявляется явлениями общей интоксикации. Инкубационный период дифтерии длится 2–7 дней, редко удлиняясь до 10 дней.

Клиника. Классификация дифтерии основывается на сведениях о локализации местного патологического процесса и клинических его проявлениях. В соответствии с этим, раз-

личают дифтерию зева, гортани, носа, глаз, половых органов, кожи, раны и др. Независимо от локализации патологического процесса, она протекает в атипичной (катаральной) или в типичной (с наличием пленчатых налетов) формах. Типичная дифтерия, в свою очередь, бывает локализованной, распространенной и токсической. Исключением является дифтерия гортани, которая протекает только в локализованной или распространенной формах. Наряду с приведенным, существует комбинированная дифтерия, для которой характерно поражение нескольких анатомически отдаленных органов.

Спорадическая заболеваемость дифтерией взрослых людей в подавляющем большинстве случаев (92,0%), сопровождается поражением ротоглотки (дифтерия зева) и очень редко -гортани (1,0%), носа (0,5%), глаз (0,3%) и кожи (0,2%). Несколько чаще (7,0%), чем дифтерия гортани, носа, глаза, кожи, встречается комбинированная форма заболевания (как правило, это дифтерия зева с дифтерией другой локализации).

Дифтерия зева. Катаральная форма заболевания проявляется 1–2-дневной субфебрильной температурой тела, незначительной болезненностью в горле при глотании, гиперемией миндалин, увеличением до 0.5–1.0 см в диаметре углочелюстных лимфатических узлов. Отмеченные изменения постепенно (в течение 3–4 дней) исчезают или прогрессируют и заболевание переходит в более тяжелую форму.

Типичные формы дифтерии зева. Независимо от тяжести течения патологического процесса типичные формы дифтерии зева характеризуются рядом общих для них признаков. Они могут иметь как острое, так и постепенное начало. Продолжительность лихорадки при них сравнительно небольшая (3-5 сут). При этом нормализация температуры тела не является признаком наметившейся тенденции к выздоровлению. Инфекционный процесс продолжает прогрессировать на фоне нормальной температуры тела. Интоксикация характеризуется, в основном, тяжестью в голове, вялостью, адинамией, сонливостью и бледностью кожи. Только токсическая дифтерия может сопровождаться ознобом, головной болью. Местный воспалительный процесс сопровождается сравнительно невыраженной болью в горле при глотании, не яркой гиперемией с синюшным оттенком пораженных тканей, наличием на них пленчатого налета, а также пропорционально его площади – отека миндалин. Налет выступает над поверхностью тканей. В первые 2-3 дня заболевания он имеет белый цвет, а затем – серый или желтовато-серый, плотно спаян с тканями и снимается с трудом (его можно снять только с помощью пинцета). Часто на этом месте остается кровоточащий дефект ткани. Налет имеет вид пленки плотной консистенции (не растирается твердыми предметами), не способной растворяться в воде и тонущей при погружении в сосуд с водой. Изменения периферической крови при дифтерии сопровождаются нейтрофильным лейкоцитозом и повышением СОЭ пропорционально тяжести течения заболевания.

Локализованная дифтерия зева протекает в виде островчатой и пленчатых форм заболевания. Она характеризуется субфебрильной (при пленчатой форме – более высокой) температурой тела, умеренно выраженными явлениями интоксикации (общей слабостью, тяжестью в голове, бледностью кожи), острым тонзиллитом, сопровождающимся сравнительно небольшой болью в горле при глотании, гиперемией (в большинстве случаев, с застойно-синюшным оттенком) и отеком миндалин, наличием на их поверхности пленчатых налетов (при островчатой форме – в виде островков размером до 5 мм в диаметре, а при пленчатой – более обширных размеров). Локализованная дифтерия в течение 6–7 сут. заканчивается исчезновением основных проявлений заболевания или переходит в более тяжелую форму.

Дифтерия зева у привитых. У людей, подвергавшихся прививкам, дифтерия зева протекает в легкой (локализованной) форме и в значительной мере атипично. Температура тела повышается до субфебрильного уровня. Налет на миндалинах хотя и носит пленча-

тый характер, снимается легко и не оставляет после себя дефекта ткани. В части случаев, он расположен не на поверхности миндалин, а исходит из лакун. Однако, и в этих случаях, налет имеет плотную консистенцию и не растворяется в воде.

Дифтерия зева, вызванная сочетанной со стрептококками инфекцией, имеет острое начало с ознобом, ломотой в суставах, сопровождается выраженной интоксикацией (возбуждение, головная боль, отсутствие аппетита, гиперемия лица), фебрильной лихорадкой, острым тонзиллитом со значительной (как и при ангине) болью в горле при глотании, яркой гиперемией тканей ротоглотки, отчетливой болезненностью при пальпации углочелюстных лимфатических узлов. Только пленчатый фибринный (плотной консистенции, не тонущий в воде) налет на миндалинах клинически отличает эту форму дифтерии от ангины.

Дифтерия гортани. Отсутствие клетчатки в гортани ограничивает резорбцию дифтерийного токсина и не способствует развитию лихорадки и интоксикации. В связи с этим, заболевание характеризуется субфебрильной температурой тела, незначительным нарушением самочувствия, а также признаками поражения респираторного тракта, которые в течение первых двух суток проявляются кашлем с мокротой и изменением голоса (катаральный период). У части больных, вскоре наступает потеря голоса, становится беззвучным кашель и затрудняется вдох – отмечается втяжение податливых мест грудной клетки на вдохе (стенотический период). Он продолжается от нескольких часов до 1-2 сут и сменяется асфиктическим периодом, который характеризуется присоединением возбуждения, потливости, цианоза, ослабления дыхания, тахикардии, аритмии, сонливости. Однако, в связи со сравнительно большими размерами дыхательного отверстия у взрослых людей, у них крайне редко локализованная дифтерия сопровождается острой дыхательной недостаточностью. Возникновение ее, как правило, является результатом распространения инфекционного процесса на трахею, бронхи, а нередко и на бронхиолы (распространенная дифтерия гортани).

Дифтерия носа. Заболевание протекает на фоне нормальной или субфебрильной температуры тела при отсутствии интоксикации. Первоначально поражается лишь один из носовых ходов. Из него появляется серозно-гнойное или кровянисто-гнойное отделяемое.

Вскоре поражается и второй носовой ход. На крыльях носа появляются участки мокнутья и корочки. Сухие корочки без воспалительной реакции возникают на щеках, лбу и подбородке. При катаральном характере поражения риноскопия выявляет разрыхление, эрозии и кровоточивость слизистой оболочки носа. При локализованной форме заболевания на переднем и среднем отделах нижних носовых раковин видны пленчатые налеты. При распространении дифтерии носа в патологический процесс вовлекаются придаточные пазухи. При токсической дифтерии носа наблюдается отек подкожной клетчатки щек и шеи.

Дифтерия глаза. Катаральная форма заболевания характеризуется теми же признаками, что и банальный конъюнктивит – умеренная гиперемия и отек конъюнктивы века, небольшое количество серозно-гнойного отделяемого из конъюнктивального мешка, а также безуспешность неспецифических терапевтических мероприятий. Пленчатая дифтерия глаза отличается от катаральной выраженным отеком век, наличием на их конъюнктиве трудно снимаемых серовато-белого цвета пленок. Токсическая дифтерия глаза, наряду с отмеченным, сопровождается также и отеком околоорбитальной клетчатки.

Дифтерия раны. Для нее характерны длительное незаживление раневого процесса, гиперемия краев поврежденных тканей, наличие на них грязно-серого налета, плотная инфильтрация окружающей кожи.

Диагностика. Распознавание дифтерии зева затрудняется наличием атипичных форм, особенно у привитых детей, а также большим сходством с другими болезнями. Дифтерия может быть смешана с фолликулярной, лакунарной и флегмонозной ангиной, фузоспиро-

хетозной ангиной Симановского–Венсана, с мононуклеозом, с ангинами, возникающими при болезнях крови, и др. При распознавании следует учитывать отличительные особенности дифтерия зева: наличие на миндалинах фибринозных налетов, трудно отделяемых от подлежащей ткани, умеренно выраженные гиперемию зева и боли при глотании, относительно мало выраженную реакцию со стороны регионарных лимфоузлов; для токсической формы типичны обширные дифтеритического характера налеты в зеве, отек шейной клетчатки и явления общей интоксикации.

Отличительными особенностями дифтерийного крупа служат постепенно нарастающее расстройство голоса, прогрессирующее циклическое течение; типична комбинация с пленчатой ангиной или ринитом.

Дифтерийный круп следует дифференцировать с крупом другой этиологии, особенно возникающим при гриппе и других острых респираторных инфекциях. Реже приходится дифференцировать со стенозами нижних дыхательных путей, развивающимися в результате сдавливания (гипертрофии зобной железы, увеличения трахеобронхиальных лимф, узлов) и инородными телами гортани и трахеи.

Дифтерия глаз следует дифференцировать с пленчатыми конъюнктивитами, вызываемыми аденовирусами, реже пневмококком, палочкой Коха–Уикса и др.

Лабораторная диагностика. Исследуется слизь из зева и носа, а при подозрении на экстрафарингеальные формы – отделяемое из ран, язв, конъюнктивы глаза, половых органов и т.д. Взятие материала производится натощак или не ранее, чем через 2 часа после приема пищи или полоскания зева. Тампоны с исследуемым материалом доставляются в лабораторию не позднее, чем через 3 часа после взятия. Пробы засеваются на поверхность плотной элективной среды в чашку Петри. Возможна прямая бактериоскопия мазков, окрашенных анилиновым красителем; результат микроскопии расценивается, как предварительный.

При подозрении на дифтерию носа или бактерионосительство исследуемый материал, помимо плотной среды, засевают в полужидкую среду обогащения, после инкубации в термостате в течении 6–18 час. делается высев в чашку Петри с элективной средой.

На поверхности сред в чашках через 24–48 час. появляются хорошо развитые колонии бактерий дифтерии, которые используют для выделения чистых культур с целью последующей идентификации. Установление принадлежности культуры к роду коринебактерий проводится идентификация вида Cor. diphtheriae – на основании комплекса биохимических свойств (способности продуцировать H2S на средах с цистином и неспособности расщеплять мочевину). Биотипы гравис и митис различаются по ферментации крахмала с учетом морфологии колоний. Токсигенность определяется in vitro, методом преципитации в агаре по Оухтерлоню. Количественное определение степени токсигенности возможно на живых моделях – in vivo! – морских свинках или 9-дневных куриных эмбрионах. Учитывая многообразие тестов и необходимость получения ответа в кратчайшие сроки, наиболее рациональным является следующий порядок действий: выросшая на поверхности элективной среды в чашке хорошо развитая подозрительная колония отсеивается, одновременно на среду Леффлера или Ру в пробирку (для получения чистой культуры), на поверхность среды для определения токсигенности (в виде «бляшки») и в столбик среды с цистином. По возможности делают отсевы двух или более колоний. Через 24 часа культуру изучают в микроскопе. При подозрении на принадлежность к роду коринебактерий учитывается результат на среде с цистином (проба Пизу) и ставится проба на уреазу. На этом этапе (т.е. через 48 час. от начала исследования, если не применялся метод обогащения) возможна выдача окончательного ответа. К этому же сроку, могут появиться линии преципитации на среде для определения токсигенности; в случае их отсутствия, результа-

ты определяются еще через одни сутки (т. е. через 72 часа от начала исследования). Выросшая культура бактерий дифтерии используется для определения биотипа, серотипа и фаготипа.

Лечение. Успех в лечении дифтерии зависит исключительно от своевременного введения противодифтерийной сыворотки. Доза сыворотки зависит от формы и тяжести дифтерии.

Раннее введение сыворотки обеспечивает благоприятный исход даже при тяжелых токсических формах. Для предупреждения анафилактического шока предварительно вводят под кожу 0,1 мл сыворотки, через 30 мин 0,2 мл и еще через 1-1,5 ч внутримышечно остальное количество.

Для выявления повышенной чувствительности проводится предварительная кожная проба с лошадиной сывороткой, разведенной в 100 раз.

При локализованных формах дифтерии сыворотку вводят обычно однократно, но если задерживается очищение зева от налетов, через 24 ч вводят сыворотку повторно. При токсической форме П-Ш степени противодифтерийную сыворотку вводят 2 раза в сутки на протяжении первых 2 или 3 дней лечения. Введение сыворотки прекращают после явной тенденции к уменьшению налетов.

Лечение бактерионосителей. Носители нетоксигенных дифтерийных палочек не нуждаются в изоляции и не требуют специального лечения. Нет необходимости лечить и так называемых транзиторных носителей токсигенной дифтерийной палочки (однократное обнаружение дифтерийной палочки).

В случае упорного носительства токсигенной дифтерийной палочки, рекомендуется проводить общеукрепляющую терапию (поливитамины, рациональное питание, УФО, прогулки и т.д.), лечение хронических заболеваний носоглотки (санация зубов, аденотомия и т.д.).

При упорном носительстве дифтерийной палочки назначают эритромицин, тетрациклин и другие антибиотики.

Профилактика. Основное значение в профилактике дифтерии имеет активная иммунизация. Для этих целей применяют дифтерийный анатоксин в составе комбинированной АКДС-вакцины (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина). Вакцинацию начинают в возрасте 3 мес. Вводят по 0,5 мл вакцины АКДС троекратно с интервалом 30-40 дней. Через 1,5 года проводят первую ревакцинацию той же вакциной и в той же дозе. Вторую и третью ревакцинации проводят в 6 и 11 лет АДС-М анатоксином (адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин с уменьшенным количеством анатоксина) в дозе 0,5 мл. Дети, имеющие относительные противопоказания к прививкам, прививаются АДС-М анатоксином. По показаниям АДС-М анатоксином прививают также подростков и взрослых.

Коринеформные бактерии

По морфологическим и культуральным свойствам с *C. diphtheriae* сходна большая группа микроорганизмов, относящихся к роду *Corynebacterium* и обозначаемых как **коринеформные бактерии** или **дифтероиды.** Они представляют собой неподвижные, грамположительные, аспорогенные палочки, имеющие неправильную, часто булавовидную форму и содержащие в цитоплазме метахроматические гранулы. Помимо представителей рода *Corynebacterium*, к коринеформным бактериям относятся микроорганизмы, входящие в состав родов *Arthrobacter, Cellulomas, Kurthia* и др. По ряду признаков, к ним близки актиномицеты и пропионибактерии. Данные микроорганизмы широко распространены в окружающей среде – в воде, воздухе, почве, а также в некоторых пищевых продуктах,

например, молоке. Они плохо изучены, поэтому роль их в патологии человека неясна. От человека их наиболее часто выделяют со слизистой оболочки носоглотки, где они доминируют наряду со стафилококками, а также с эпителия влагалища, особенно у детей и из различных ран. Большинство видов относится к микробам – комменсалам; некоторые виды патогенны для животных и растений.

Наиболее изучены *C. pseudodiphtheriticum* (*C. hofmannii*). Они представляют собой короткие и толстые прямые палочки. Полиморфизм для них не характерен. В мазках данные микроорганизмы располагаются параллельно в виде равномерного частокола, практически не содержат зерен волютина. Факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых питательных средах при температуре 37 °С. На теллуритовых средах образуют сухие мелкие серовато-белые S-формы колоний, цвет которых может варьировать вплоть до черного, что обусловлено разной способностью восстанавливать теллур. На среде Бучина образуют голубоватые колонии. *Углеводов не ферментируют.* Разлагают мочевину. Токсин не продуцируют. Непатогенны, однако, могут вызывать поражения в виде эндокардита или развитие оппортунистических инфекций при попадании в ток крови.

C. xerosis является представителем нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек глаз, носа и носоглотки человека. Непатогенны. Характеризуются бочкообразной формой. Хорошо растут при 22 и 37 °С, образуя через 24 ч на МПА мелкие гладкие колонии. На теллуритовых средах образуют выпуклые влажные серого или коричневого цвета колонии. На среде Бучина растут в виде бесцветных колоний. Ферментируют глюкозу, мальтозу, галактозу, *сахарозу* без выделения газа; *мочевину не разлагают,* сыворотку не разжижают, дают отрицательную пробу на цистиназу. Непатогенны для лабораторных животных, токсин не продуцируют. На коже человека обитают липофильные варианты, которые для своего роста нуждаются в липидах. В ряде случаев, они могут быть причиной развития оппортунистических инфекций.

C. ulcerans вызывает дифтериеподобные поражения, фарингит у лиц с иммунодефицитами, кожные поражения. Данный микроорганизм выделяется от здоровых лиц, а также от больных дифтерией. Патогенен для крупного рогатого скота. Имеются сведения о контаминации им молочных продуктов и тары для их перевозки, а также о случаях заболевания, при употреблении сырого молока (ангина у лиц с иммунодефицитами). По морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам *C. ulcerans* сходен с биоваром *gravis C. diphtheriae,* но отличается по антигенной структуре. Некоторые штаммы данного микроорганизма продуцируют токсин, аналогичный по свойствам и антигенной структуре токсину *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. bovis*), вызывающему казеозные и гнойные лимфадениты у овец и язвенные поражения у различных домашних животных. Патогенен для лабораторных животных.

C. jeikeium входит в состав нормальной микрофлоры кожных покровов человека. Чаще обнаруживается у мужчин, что обусловлено наличием у них на коже большого количества свободных жирных кислот, необходимых для роста данного микроорганизма. У человека может вызывать развитие кожных поражений, пневмонии, эндокардиты, перитониты, инфекционные процессы в ранах. Большинство случаев заражения, носит госпитальный характер. Практически каждый случай сопровождается бактериемией, представляющей особую опасность для пациентов с патологией кроветворения и сосудистыми шунтами.

C. cystitidis наиболее часто колонизирует кожу и слизистые оболочки, особенно в области промежности. Данный микроорганизм разлагает мочевину, вызывает повышение pH мочи и образование камней в мочевыводящих путях. Инфицирование *C. cystitidis* чаще выявляют у женщин. Данный микроорганизм также часто обуславливает развитие цисти-

тов, пиелонефритов и бактериурию у пациентов старшего возраста, имеющих в анамнезе урологическую патологию или принимавших антибиотики широкого спектра действия. Отмечены случаи возникновения госпитальных бактериемий и пневмоний.

C. minutissimum является возбудителем эритразмы, характеризующейся поражением кожных покровов в виде красновато-коричневой сыпи, локализующейся преимущественно в подмышечной и паховой областях. Заболевание диагностируют по кораллово – красному свечению пораженных участков, облучаемых лампой Вуда, а также по наличию плеоморфных грамположительных палочек в мазках из очагов поражения. *C. minutissimum* способны вызывать также развитие абсцессов легких, эндокардиты и септико-пиемии.

Arcanobacterium haemolyticum (ранее *C. haemolyticum*) является возбудителем хронических тонзиллитов и хронических кожных поражений, целлюлитов, септицемии, абсцессов головного мозга, остеомиелитов. Облигатные паразиты глотки человека и сельскохозяйственных животных, которые и являются резервуаром и источником данного микроорганизма. Основной путь передачи *A. haemolyticum* – воздушно-капельный. Факультативный анаэроб. На МПА растет медленно, лучший рост наблюдается на агаре с кровью, где микроб образует мелкие выпуклые прозрачные колонии, окруженные зоной полного гемолиза, через 2 суток инкубации при 37 °С. В микропрепаратах из колоний обнаруживают палочки, сходные по морфологическим и тинкториальным свойствам с возбудителями дифтерии. Обладают метаболизмом бродильного типа с образованием кислоты, но не газа из глюкозы и немногих других углеводов. Основные продукты брожения – уксусная, молочная и янтарная кислоты. Обычно каталазаотрицательные. Индол не образуют; нитрат восстанавливают до нитрита.

Микобактерии (сем. Mycobacteriaceae)

Семейство *Mycobacteriaceae* включает род *Mycobacterium* (от греч. *myces* – гриб и *bacteria* – палочка), в состав которого входит более 160 видов микобактерий. Это полиморфные микроорганизмы, образующие прямые или слегка изогнутые палочки размером 0,2+0,7x1,0+10 мкм, иногда ветвящиеся; возможно образование нитей наподобие мицелия, легко распадающихся на палочки или кокки. Характерной особенностью микобактерий является их кислото-, спирто- и щелочеустойчивость на одной из стадий роста, обусловленная наличием большого количества ли-пидов в клеточной стенке. Они плохо воспринимают анилиновые красители, по Граму окрашиваются с трудом, обычно слабо грамположительны. Неподвижные, спор и капсул не образуют; аэробы и хемоорганотрофы. Растут медленно или очень медленно. Каталаза- и арилсульфотазаположительны; устойчивы к лизоциму. Содержание ГЦ равно 62–70 мол. %.

По заключению Международной рабочей группы по таксономии микобактерий, род *Mycobacterium* в практических целях подразделяют на 3 большие группы:

1. медленнорастущие, которые при оптимальных условиях питания и температуры, дают на плотных средах рост макроскопически видимых колоний через 7 дней и более (*M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum, M. microti, M. kansasii, M. marinum, M. simiae, M. gastri* и др.);

2. быстрорастущие, дающие на плотных средах рост видимых невооруженным глазом колоний в течение менее 7 дней (*M. phlei, M. vaccae, M. diernhoferi, M. smegmatis, M.fortuitum* и др.);

3. организмы, предъявляющие особые требования к питательным средам или не культивируемые *in vitro* (*M. leprae, M. lepraemurium, M. haemophilium*).

Данные микроорганизмы являются возбудителями микобактериальных заболеваний: *туберкулеза, лепры* и *микобактериозов*.

Возбудители туберкулеза (Mycobacterium tuberculosis и др.)

В истории медицины известны практики и колдуны, бравшиеся за лечение туберкулеза. Корни его уходят в глубокое прошлое. Еще за 3000 лет до н.э. туберкулез был известен китайцам. Они пользовались своеобразной системой оценки тяжести этой болезни: если у пациента пульс был «жесткий», лечение уже не проводили, больной считался безнадежным. Если же пульс был «мягкий», врачи брались за лечение.

Во времена эллинской культуры туберкулез был описан достаточно точно, однако, формы лечения носили скорее ритуальный характер. Эврифрон фон Книдос рекомендовал больному принять женское молоко непосредственно из женской груди. Он касался его шеи и груди кончиком раскаленной шпильки.

В Египте была обнаружена мумия человека с пораженными внутренними органами, возраст которой насчитывает более 2 тысяч лет. Материал из пораженных участков исследовали на специальных питательных средах и была получена палочка Коха, которая имела способность к размножению. И это спустя 2 тысячи лет!

В XVI в. впервые стала рассматриваться вероятность заражения и в конце XVII в. уже начали принимать меры против переноса болезни. В 1882 г. Роберту Коху удалось идентифицировать микроорганизм- возбудитель туберкулеза и размножить его в культуре. В том же году, Карло Форланини разработал метод лечения и через несколько лет сам принял его; этот метод до недавних пор являлся самым действенным в лечении туберкулеза. В определенных случаях он применяется и сейчас; этот метод называется пневмоторакс.

В течение тысячелетий врачи методом проб и ошибок искали способы борьбы с этой болезнью. В XIX веке произошел значительный прогресс в понимании природы болезни. Большую роль в этом сыграли трое ученых международного масштаба: Рене-Теофиль Лэннек, Жан-Антуан Виллемин и Роберт Кох. Лэннэк был создателем так называемого анатомо-клинического метода, который предполагал использование стетоскопа, изобретенного им же. Виллемин на основе скрупулезных и систематических экспериментов доказал, что болезнь заразна и может передаваться как от человека человеку, так и от одного вида другому. Кох в 1882 году открыл микобактерию туберкулеза, которую впоследствии назвали его именем.

Спустя восемь лет после открытия бациллы эксперименты по иммунологии, проводимые Кохом на туберкулезных культурах, стали давать обнадеживающие результаты не только для лечения, но и для предупреждения болезни.

Характеристика возбудителя

Возбудители туберкулеза – Mycobacterium tuberculosis (человеческий вид), Mycobacterium africanum (промежуточный вид) и Mycobacterium bovis (бычий вид) относятся к роду Mycobacterium, семейству Mycobacteriaceae, порядку Actinomycetales . Микобактерий туберкулеза человеческого вида наиболее часто (в 92% случаев) являются возбудителями туберкулеза у человека, микобактерий туберкулеза бычьего вида и промежуточного вида вызывают развитие туберкулеза у человека соответственно в 5 и 3% случаев. В современной микробиологической классификации микобактерий птичьего вида (avium) относят к нетуберкулезным микобактериям комплекса aviumintracellulare, которые могут быть возбудителями микобактериоза у человека и животных.

Морфология и физиология микобактерии туберкулеза– тонкие, прямые или слегка изогнутые палочки длиной 1–10 (чаще 1–4) *мкм*, шириной 0,2–0,6 *мкм*, гомогенные зернистые со слегка закругленными концами. Они неподвижны, не образуют эндоспор и кап-

сул. Морфология и размер бактериальных клеток подвержена значительным колебаниям, что зависит от их возраста и особенно условий существования и состава питательной среды.

Микобактерии туберкулеза весьма устойчивы к воздействию факторов окружающей среды, характеризуются выраженным многообразием форм существования, большим полиморфизмом и широким диапазоном изменчивости биологических свойств. Описаны многочисленные морфологические варианты микобактерий: гигантские формы с колбовидно утолщенными разветвлениями, нитевидные, мицелиеподобные и булавовидные. Микобактерии туберкулеза могут быть длиннее или короче обычных, толще или тоньше, гомогенными или зернистыми. Иногда они представляют собой цепочки или отдельные скопления кокковидных зерен. Микобактерии туберкулеза способны образовывать фильтрующиеся формы, биологическая и патогенетическая роль которых окончательно не выяснена. Описаны биологические свойства и изучена патогенетическая роль L-форм микобактерии туберкулеза, обусловливающих различные проявления процесса.

Наряду с морфологической изменчивостью микобактериям туберкулеза свойственна широкая изменчивость и других признаков, в частности, кислотоустойчивости. Последняя проявляется способностью сохранять окраску даже при интенсивном обесцвечивании кислотой или кислым спиртом и является характерной особенностью всех видов микобактерий, обусловленной высоким содержанием в них миколовой кислоты и липидов. Частичная или полная утрата кислотоустойчивости ведет к образованию смешанной, состоящей из кислотоустойчивых и некислотоустойчивых особей или полностью из некислотоустойчивой популяции.

При микроскопическом исследовании в теле микобактерии туберкулеза, легко выявляются зернистые образования, число которых колеблется от 2 до 10. Микобактерии туберкулеза могут существовать в виде некислотоустойчивых гранул (зерен Муха), состоящих, главным образом, из метафосфата.

Электронно-микроскопически выявляется микрокапсула микобактерии, которая отделена от гомогенной клеточной стенки осмиофобной зоной. К клеточной стенке плотно прилегает трехслойная цитоплазматическая мембрана. В цитоплазме дифференцируются отдельные органеллы: гранулы, вакуоли, рибосомы, полисомы и ядерная субстанция.

Культуральные свойства микобактерии туберкулеза считаются аэробами, хотя имеются сведения, что некоторые их виды можно рассматривать, как факультативные анаэробы. Размножаются микобактерии туберкулеза очень медленно (одно деление клетки происходит за 14–18 час). Микроскопически видимый рост микроколоний, культивируемых на жидких средах при $t°$ 37 °С, выявляется на 5–7-е сутки, видимый рост колоний на плотных средах, культивируемых при той же температуре,– на 14–20-е сутки.

Для нормального развития микобактерии туберкулеза требуются специальные *питательные среды,* содержащие углерод, азот, кислород, водород, фосфор, магний, калий, натрий, железо, хлор, серу. Микобактерии туберкулеза нуждаются и в ряде факторов роста, к числу которых относятся соединения, родственные витаминам группы В, биотин, никотин, рибофлавин и др. Все эти факторы входят в состав применяемых для культивирования микобактерии туберкулеза специальных питательных сред; из их числа выделяют среды, содержащие глицерин, белковые (яичные, сывороточные, картофельные) и безбелковые (синтетические) среды, в состав которых входят минеральные соли. По консистенции различают плотные, полужидкие и жидкие среды. Наиболее широко применяются плотные яичные среды Левенштейна – Йенсена, Огавы, Петраньяни, Гельбера, разнообразные агаровые среды Миддлбрука, синтетические и полусинтетические среды Сотона, Дюбо, Проскауэра-Бека, Шулы, Школьниковой и др.

На жидких питательных средах микобактерии туберкулеза растут в виде сухой морщинистой пленки (R-форма) кремового цвета, поднимающейся на стенки сосуда; среда при этом остается прозрачной. При внутриклеточном развитии микобактерии туберкулеза, а также культивировании их на жидких средах хорошо выявляется характерный корд-фактор (трегалоза-6,6-димиколат). Он обнаруживается на поверхности клеток многих микобактерий и по мнению некоторых исследователей, имеет отношение к их вирулентности, способствуя сближению микробных клеток и росту их в виде серпантинообразных кос.

На плотных средах микобактерии туберкулеза растут в виде светло-кремового морщинистого или суховатого чешуйчатого налета, колонии с неровными краями, приподнятые в центре: по мере роста они приобретают бородавчатый вид, напоминающий цветную капусту.

Под влиянием антибактериальных средств микобактерии туберкулеза могут приобретать лекарственную устойчивость. Культуры таких микобактерий не всегда бывают типичными, они могут быть влажными, мягкими (S-вариант), иногда содержать отдельные гладкие или пигментированные колонии.

Патогенез. Источниками возбудителей инфекции являются больной туберкулезом человек, а также больные туберкулезом животные. В настоящее время, туберкулез встречается у млекопитающих 55 видов и у птиц более, чем 80 видов. Однако, эпидемиологическую опасность для человека представляют лишь немногие из них. Это, главным образом, крупный рогатый скот, верблюды, козы, овцы, свиньи, собаки, кошки, куры. Особое значение, как источник возбудителей инфекции имеет крупный рогатый скот, больной туберкулезом.

Микобактерии туберкулеза могут попадать в организм через верхние дыхательные пути, иногда через слизистые оболочки и поврежденную кожу. Описаны редкие наблюдения заражения плода через плаценту. Наиболее распространен аэрогенный путь заражения. Инфицирование микобактериями туберкулеза, далеко не всегда вызывает развитие туберкулезного процесса. Многочисленными исследованиями доказана ведущая роль в распространении туберкулеза, особенно его тяжелых форм, неблагоприятных условий жизни (изнурительный труд, недостаточное питание, неудовлетворительные жилищные условия и т.п.). По мере осуществления социальной политики, направленной на рост благосостояния народа, его материальной обеспеченности, улучшение жилищных условий, питания, условий труда, проведения профилактических мероприятий, развития здравоохранения, на первый план выступают эндогенные факторы реактивации туберкулезной инфекции, изменяющие *реактивность организма.* Вместе с тем, отдельные эндогенные факторы, связанные с нерациональным образом жизни, продолжают играть известную роль в возникновении и развитии туберкулеза. К факторам, способствующим развитию туберкулеза, относятся сахарный диабет, заболевания, по поводу которых требуется длительное назначение кортикостероидов, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки и особенно состояние после резекции желудка, психические болезни, сопровождающиеся депрессивным состоянием.

Основным источником экзогенного инфицирования являются больные активным туберкулезом с наличием воспалительных и деструктивных изменений, выделяющие микобактерии туберкулеза (резервуар инфекции). Заболеваемость первичными формами туберкулеза и инфицированность населения зависят от величины резервуара инфекции. При выздоровлении больных и прекращении бактериовыделения уменьшаются инфицированность и заболеваемость туберкулезом. Подтверждением этого, служит резкое снижение заболеваемости туберкулезом детского населения (наиболее восприимчивого к этой

инфекции), инфицированность которого, в течение последних лет, значительно снизилась. При сохраняющемся резервуаре инфекции риск заболевания первичным туберкулезом уменьшается при осуществлении профилактических прививок вакциной БЦЖ новорожденным, детям и подросткам, неинфицированным туберкулезом.

Определенное влияние на заболеваемость туберкулезом сельского населения, особенно животноводов, оказывает уровень пораженности туберкулезом крупного рогатого скота. Наиболее убедительным критерием эпидемиологической опасности туберкулеза сельхоз животных является выделение от лиц, больных туберкулезом, микобактерии туберкулеза бычьего вида.

Больные животные выделяют микобактерии туберкулеза с молоком, мокротой, калом, мочой. В местах содержания больного скота микобактерии туберкулеза обнаруживают в смывах со стен, полов, бидонов, халатов доярок, полотенец. Некоторое значение в передаче возбудителей инфекции может иметь и мясо больных животных.

Клиника. Туберкулез может иметь самые различные формы проявления, поэтому очень трудно вкратце описать связанные с ним симптомы, так как они сильно варьируют в зависимости от места и величины повреждений. Самые типичные симптомы – кашель с более или менее обильной мокротой, содержащей очень много микобактерии туберкулеза, потливость и легкая лихорадка. Относительно часто болезнь может вспыхивать вновь, причем, вышеназванные симптомы усиливаются и сопровождаются похуданием, потерей аппетита и чувством подавленности. Достаточно часто следствием может быть кровохаркание. По аналогии с изменениями в легких нарушается и легочное кровообращение.

В области каверн сеть альвеолярных капилляров разрушена, поэтому оставшаяся здоровая ткань, чтобы снабдить организм кислородом, вынуждена прогонять больше крови. В результате и сердце вынуждено больше работать, так, что при хронических формах туберкулеза типичным последствием является гипертрофия правого желудочка и последующая сердечная недостаточность. Это ведет к снижению дыхательной функций, уменьшению насыщаемостью крови кислородом, которая проявляется в виде цианоза и одышки при физических нагрузках. Туберкулез чаще всего поражает легкие, но и другие органы могут страдать при этом заболевании – кости, почки, мочевыделительная система.

Формы туберкулеза легких могут быть разные. Очагово-инфильтративный туберкулез легких нередко выявляется при профилактических рентгенологических осмотрах. В верхних долях легкого с одной или двух сторон обнаруживаются очаги затенения. Одновременно выясняется, что у человека с этими изменениями наблюдается немотивированное недомогание, кашель, небольшое повышение температуры. Иногда туберкулез начинается как крупозная, тяжелая пневмония. Очень характерна сильная потливость, кашель, кровохарканье. Поражаются верхняя или средняя доли. Частой формой туберкулеза является фиброзно-кавернозная. При этой форме заболевания процесс течет длительно. Заболевание начинается медленно, исподволь. Появляется немотивированная слабость, субфебрилитет, небольшой кашель с минимальным количеством мокроты. В результате распада легочной ткани, образуются полости (каверны). Мокроты становится больше, она не имеет запаха, **может быть кровохарканье.** Каверны выявляются с помощью рентгеновского исследования. Еще одной формой туберкулеза легких является поражение плевры с накоплением в ее полости воспалительной жидкости – экссудата. Больше всего, больных беспокоит одышка из-за сдавления легких жидкостью.

Лечение. Правильное лечение обычного (чувствительного) туберкулеза почти всегда заканчивается полным выздоровлением. Неправильное лечение обычного (чувствительного) туберкулеза, приносит больше вреда, чем пользы, так как, оно превращает легко излечимую форму болезни в трудно излечимый лекарственно-устойчивый туберкулез.

1. Лечение туберкулеза должно быть комплексным, с применением различных методов, строго индивидуальным, с использованием отработанных схем, проводится с учетом характера процесса объема общего состояния больного, направленным на весь организм больного (повышение и восстановление сил).

2. Лечение должно быть непрерывным. Палочка Коха не должна иметь возможность опомниться от «бомбардировки» ее мощной артиллерией противотуберкулезных препаратов, до полного ее уничтожения.

Методы лечения туберкулеза

1. Химиотерапия.

2. Дополнительные медикаментозные методы лечения (противовоспалительные средства и гормональные препараты и витамины, туберкулинотерапия и симптоматическое лечение).

3. Диетическое и санаторно-курортное лечение.

4. Коллапсотерапия, хирургическое лечение в сочетании с химиотерапией.

Профилактика.

1. Профилактические меры, проводимые в России, можно разделить на специфические и неспецифические. Неспецифические: оздоровление всех детей и взрослых, повышение у них иммунитета, озеленение городов, улучшение условий труда, жизни, рациональное питание и т.д.

2. Чтобы уменьшить вероятность первичного заражения в домашних условиях, в целях дезинфекции, можно пользоваться хлорсодержащими растворами. Хорошим и простым методом обеззараживания является проветривание и вывешивание на солнце одеял, шерстяных и хлопчатобумажных вещей, т.к. прямой солнечный свет убивает ТБ бактерии в течение 5 минут (в то же время, в темноте бациллы долго сохраняют жизнеспособность и поэтому наибольшее распространение инфекции происходит в темных помещениях). Бактерии разрушаются при нагревании: в течение 20 минут при 60 °С и в течение 5 минут – при 70 °С.

Следующие факторы оказывают влияние на способность организма противостоять развитию активного туберкулеза, в случае заражения и увеличивают вероятность активации латентной инфекции:

Качество питания. Существуют веские доказательства того, что голодание или недостаточность питания снижают сопротивляемость организма.

Потребление токсичных продуктов. Курение табака и употребление большого количества алкоголя значительно снижают защитные силы организма. Такое же влияние оказывают иммунодепрессанты, применяемые при лечение некоторых заболеваний.

Другие заболевания. Туберкулезу также подвержены ВИЧ инфицированные, больные диабетом, лейкозами или лепрой.

Стресс. Доказано, что стресс и депрессия отрицательно влияют на состояние иммунной системы.

Диагностика. Диагностика туберкулез весьма сложна. Распознавание туберкулеза органов дыхания основывается первоначально на отборе больных с различными заболеваниями легких из числа всех обратившихся за медпомощью. С этой целью применяют *флюорографию*, которую рекомендуют проводить всем лицам, обратившимся в поликлинику по любому поводу впервые в данном году. При отсутствии в поликлинике флюорографа в виде исключения производят *рентгеноскопию*. Больные туберкулезом легких могут быть выявлены среди лиц, обратившихся с жалобами на кашель и выделение мокроты. В этих случаях, важное значение имеет исследование мокроты на наличие в ней микобактерий туберкулеза

Дальнейшее углубленное обследование отобранных больных с легочной патологией включает ряд методов исследования, анализ полученной информации, построение предположительного диагноза на основе отобранных признаков, проведение дифференциальной диагностики, формулирование развернутого клинического диагноза, проверку правильности установленного диагноза в процессе наблюдения и лечения больного.

Формулируя диагноз, сначала указывают клиническую, форму туберкулеза (обычно лишь одну клиническую, форму туберкулеза органов дыхания, а при поражении нескольких органов перечисляют все локализации туберкулезного процесса). При туберкулезе легких приводят локализацию поражения по долям или сегментам, а затем характеризуют фазы процесса, наличие или отсутствие бактериовыделения, осложнения.

При постановке диагноза используют обязательные методы исследования (обязательный диагностический минимум), дополнительные и факультативные методы. Обязательный диагностический минимум включает изучение анамнеза и жалоб больного, целенаправленное клиническое обследование с использованием физикальных, рентгенологических исследований, микроскопического и бактериологического исследования, туберкулиновых проб, клиники, анализов крови и мочи. При этом, важно выявление не только ярких, но и маловыраженных симптомов, а также сопутствующих заболеваний. Например, при обнаружении изменений в легком с помощью флюорографии необходимо провести тщательную перкуссию и аускультацию (больного просят дышать глубже, покашлять, обращая внимание, не появились ли после этого хрипы). Важное значение имеет правильная интерпретация данных перкуссии и аускультации у лиц пожилого и старческого возраста. Следует учитывать возрастные изменения грудной клетки и легких, которые могут ослаблять или полностью затушевывать характерные для туберкулеза стетоакустические данные.

При ограниченных формах туберкулеза, на ранних этапах его развития, заболевание может протекать с минимальными клиническими проявлениями, на которые сами больные нередко не обращают внимания. В этих случаях, заболевание может быть выявлено при проведении профосмотров. Однако, в период обострения туберкулез может быть обнаружен при обращении больного к врачу, чаще всего, по поводу появившегося недомогания, слабости, повышения температуры до субфебрильных цифр. Интоксикация у таких больных продолжается недолго и через 1 нед.– 2 мес, как правило, исчезает. Притупление легочного звука, изменение характера дыхания, хрипы при ограниченном туберкулезном процессе обычно не выявляются. Выраженная интоксикация, кашель, выделение мокроты отмечаются при более обширном, особенно кавернозном, поражении легких. Бронхиальное дыхание и хрипы обычно выявляются у больных туберкулезом легких при обширном деструктивном процессе, а еще более часто при хронических формах заболевания. При этом, могут быть обнаружены изменения формы грудной клетки, притупление легочного звука, влажные и сухие хрипы разного калибра.

Бактериологическое исследование направлено на выделение возбудителя инфекции на мокроты, отделяемого свища, мочи и др. При отсутствии *мокроты* можно исследовать промывные воды бронхов, а также, по мнению ряда специалистов, мазки из зева. Микобактерии туберкулеза, как правило, обнаруживают у больных деструктивными формами туберкулеза, применяя метод посева на питательные среды. С этой целью, кроме микроскопического исследования мокроты или другого материала, должно быть произведено трехкратное бактериологическое исследование. Возрастная атрофия слизистой в мышечной оболочек трахеи и бронхов, бронхоэктазы, затрудненное откашливание мокроты и др. препятствуют обнаружению микобактерии туберкулеза даже при наличии каверн. Поэтому у больных пожилого и старческого возраста наряду с бактериоскопическими

методами (обычная бактериоскопия, метод флотации) следует многократно производить посев материала на питательные среды. Возможно однократное обнаружение микобактерии туберкулеза в мокроте и при отсутствии активного туберкулеза легких, например, при вовлечении в зону распада опухоли или абсцесса старого туберкулезного очага.

Выявление микобактерии туберкулеза является важным диагностическим признаком туберкулеза. Во многих случаях, он играет решающую роль в диагностике этого заболевания. Обнаружение микобактерии, кроме диагностического, имеет важное эпидемиологическое значение. Поэтому в каждом случае выявления микобактерий туберкулеза, должно быть направлено специальное извещение в районный (городской) противотуберкулезный диспансер и СЭС для регистрации больного, представляющего эпидемическую опасность для окружающих и проведения комплекса профилактических мер в очаге.

Бактериоскопический метод наименее чувствителен, т. к. позволяет выявить микобактерии туберкулеза при наличии 100–500 тыс. микроорганизмов в 1 *мл* исследуемого материала. Преимущество этого метода заключается в быстроте получения результата и невысокой стоимости исследования. Для повышения чувствительности метода применяют разнообразные способы обогащения материала (флотация, седиментация), а также усовершенствованные методы окраски и микроскопии. Основным методом, используемым для окраски мазков, является классический метод Циля – Нильсена, при котором микобактерии туберкулеза окрашиваются фуксином в красный цвет. В последние годы получил распространение метод, предложенный Мурахаси и Иосидой, позволяющий дифференцировать в мазках живые и погибшие микобактерии туберкулеза. Микроскопию окрашенных мазков производят в световом микроскопе под иммерсией.

Для оценки тяжести процесса, эффективности лечения и прогноза заболевания, большое значение приобретает количественная оценка микобактериальной популяции с помощью метода Гаффки – Стинкена, в различных его модификациях. Принцип метода заключается в том, что на калиброванное предметное стекло наносят дозированное количество материала и в приготовленном таким образом мазке, производят подсчет числа микобактерии в определенном числе полей зрения. Соответствующий несложный математический пересчет позволяет определить количество микобактерий, выделяемых больным за сутки и оценить количественную величину вегетирующей микобактериальной популяции, обычно характеризующую активность туберкулезного процесса.

В настоящее время, наиболее результативным методом бактериоскопической диагностики туберкулеза, является метод *люминесцентной микроскопии*, преимущества которого заключаются в его высокой чувствительности, особенно, при микроскопии материала, содержащего малое количество микобактерии, в возможности выявить микобактерии туберкулеза с измененными культуральными и тинкториальными свойствами.

Культуральные методы выявления микобактерий туберкулеза отличаются большей чувствительностью, чем бактериоскопические; они позволяют выделить микобактерий при наличии в исследуемом материале нескольких десятков жизнеспособных микобактерий, однако, методика предварительной обработки материала довольно сложна, для выделения требуются специальные *питательные среды*, а для получения роста – длительный период времени до 12 нед. Основным преимуществом культурального метода является возможность получения чистой культуры микобактерий, что позволяет провести ее идентификацию, изучение вирулентности, биохимических и биологических особенностей, а также определить чувствительность к лекарственным средствам.

Один из важнейших этапов лабораторной диагностики туберкулеза – идентификация выделенных культур микроорганизмов с помощью комплекса специальных микробиоло-

гических и биохимических методов исследования. Она представляет большие трудности, так как наряду с резко измененными и трансформированными микобактериями туберкулеза, возможно выделение атипичных или нетуберкулезных микобактерий, в т. ч. кислотоустойчивых сапрофитов.

Определение спектра и степени чувствительности микобактерий туберкулеза к противотуберкулезным средствам, является одним из важнейших и обязательных этапов микробиологической диагностики туберкулеза. Чувствительными к противотуберкулезным средствам считают те микобактерии туберкулеза, на которые препарат оказывает бактерио-статическое или бактерицидное действие в концентрации, достигаемой в очаге инфекции. Чувствительность микобактерий туберкулеза измеряется минимальной концентрацией препарата, задерживающей их рост при стандартных условиях.

Лекарственную чувствительность микобактерий туберкулеза определяют с помощью бактериологических методов разведений на плотной или жидкой среде. Она может быть установлена с помощью прямого и непрямого методов. При прямом методе необходимо наличие в материале, взятом от больного, бактериоскопически выявляемых микобактерий; при непрямом методе необходим предварительный посев и получение роста культуры.

Наиболее чувствительным методом выявления микобактерий туберкулеза в патологическом материале является заражение им морских свинок – биологическая проба. Туберкулезные изменения в органах морской свинки могут быть обнаружены при содержании в 1 *мл* материала даже единичных (1 – 5) микобактерий. Однако, в связи с появлением лекарственно-устойчивых микобактерий туберкулеза, чувствительность биологической пробы снизилась. С целью повышения чувствительности биологической пробы, предложены различные методы, искусственно снижающие естественную резистентность морских свинок к туберкулезу: введение больших доз кортизона, интратестикулярный метод заражения и др., которые с успехом применяют для выделения лекарственно-устойчивых и других измененных форм возбудителя туберкулеза.

Туберкулиновые пробы – внутрикожное введение 2 ТЕ стандартного *туберкулина* или градуированная кожная проба с различными его разведениями. У лиц пожилого и старческого возраста туберкулинодиагностика имеет свои особенности. Положительная реакция на туберкулин у таких больных появляется позже (через 72 – 96 часа, вместо 48), папулы имеют небольшие размеры, окружающая их зона не гиперемирована, редко наблюдаются гиперергические реакции.

Клинические анализы крови и мочи, как правило, не позволяют выявить специфических признаков, характерных только для туберкулеза. Однако, в сочетании с другими данными они играют важную роль в установлении диагноза и контроле за влиянием лекарственных средств на организм больного. Определенное влияние на результаты этих исследований, оказывают возрастные изменения и сопутствующие заболевания. Так, ускоренная РОЭ не всегда является показателем активности специфического процесса, особенно в старческом возрасте и должна учитываться только в совокупности с другими клинико-рентгенологическими данными. Кроме того, при хронических деструктивных формах туберкулеза, у лиц пожилого и старческого возраста, а также при обострении сопутствующих хронических неспецифических заболеваний легких, эти изменения могут свидетельствовать об активизации вторичной флоры.

Возбудитель лепры (Mycobacterium leprae)

Лепра – первично хроническое заболевание человека, сопровождающееся гранулематозными поражениями кожи и слизистой оболочки верхних дыхательных пугей. а также периферической нервной системы и внутренних органов.

Название заболевания происходит от греч. *lepros* – чешуйчатый, шероховатый, шелушащийся. Основу лепрозных поражений, как и при туберкулезе, составляет специфическая гранулема.

Возбудитель заболевания – *Mycobacterium leprae,* был открыт норвежским врачом Г. А. Гансеном в 1874 г. при микроскопическом исследовании неокрашенных соскобов, полученных с поверхности разреза узла больного лепрой.

Лепра регистрируется практически во всех странах мира и является одной из наиболее важных проблем мирового здравоохранения. Наибольшая заболеваемость (более 85%) приходится на страны Юго-Восточной Азии и Центральной Африки, где она остается эндемичной.

Таксономия. Возбудитель лепры относится к семейству *Mycobacteriaceae,* роду *Mycobacterium,* виду *M. leprae.*

Морфологические и культуральные свойства.

M. leprae имеет вид прямой или изогнутой палочки размером 1-^7x0,2-й),5 мкм с закругленными концами. По своим морфологическим свойствам близки к возбудителям туберкулеза, грамположительные, спор и капсул не образуют, имеют микрокапсулу, жгутиков не имеют. Характерной особенностью *M. leprae,* является кислото- и спиртоустойчивость, что обуславливает их элективную окраску по Цилю–Нельсену. Воздействие антилепрозных препаратов, приводит к изменению их морфологии, снижению и исчезновению кислото- и спиртоустойчивости.

M. leprae является облигатным внутриклеточным паразитом каповых макрофагов и проявляет выраженный тропизм к клеткам кожи и периферических нервов. Данный микроорганизм не культивируется на искусственных питательных средах.

Разработаны культуры клеток для культивирования *M. leprae. M. leprae* размножается только в цитоплазме клетки, путем поперечного деления на 2–3 дочерние клетки, которые остаются на месте, отделены от цитоплазмы фаголизосомной мембраной и постепенно образуют типичные для возбудителя лепры *шаровидные скопления* **(«globi»),** в которых отдельные микобактерии располагаются параллельно друг другу. напоминая «сигары в пачке». В лепрозных поражениях *M. leprae* могут встречаться в разных количествах (от единичных скоплений, до 200–300 клеток в виде шаровидных скоплений, представляющих собой, как бы чистую культуру бактерий). Характерной особенностью *лепрозных клеток,* относящихся к макрофагам, является наличие бледного ядра и «пенистой» цитоплазмы за счет содержания липидов –- продуктов метаболизма микобактерии, а также явление незавершенного фагоцитоза. В цитоплазме лепрозной клетки выявляется высокий уровень окислительно-восстановительных ферментов и не обнаруживается активность липаз. Наличие микрокапсулы и «плотної» клеточной стенки, богатой липидами, делает *M. leprae* устойчивой к действию фаголизосомных ферментов. *На долю липидов,* представляющих собой фосфатиды. жиры. воски, у *M. leprae* приходится от 25 до 40%. Кроме миколовой кислоты, они содержат воск – лепрозин и лепрозиновую кислоту. которая есть только у *M. leprae.* В составе *M. leprae* имеется безуглеводный липид – фтиоцералдимикоцерозат, отличающийся от липидов других микобактерий. Возбудитель лепры, как и возбудители туберкулеза, размножается медленно, что и объясняет наличие длительного инкубационного периода при данном заболевании. Время генерации (ско-

рость одного деления) – от 12 до 20–30 дней. *M. leprae* обладают тропизмом к тканям с низкой температурой. Оптимальная для роста и размножения температура 34–35 °С. Токсинов не образует, поэтому, несмотря на бактериемию, интоксикации у больных нет.

Как и возбудители туберкулеза, *M. leprae* характеризуются значительным *полиморфизмом*. В лепрозных поражениях, наряду с гомогенно окрашенными формами, встречаются также фрагментированные и зернистые формы, что необходимо учитывать при бактериоскопическом исследовании. Показано, что в активных, прогрессирующих высыпаниях при клинически выраженной лепре преобладают гомогенные с наличием делящихся форм микобактерий, а в старых, регрессирующих высыпаниях – зернистые и фрагментированные формы. Переход *M. leprae* в зернистые формы и последующее разрушение до фуксинофильной пыли связывают с эффективным лечением. Однако, вопрос о роли зернистых форм не решен однозначно, так как некоторые негомогенно окрашивающиеся формы (зернистые, гантелевидные, булавовидные, не сплошные и т.д.), по аналогии с возбудителями туберкулеза, остаются жизнеспособными и могут играть решающую роль в распространении лепры, возникновении обострений и рецидивов. Предполагают, что они также могут образовывать L-формы бактерий.

Биохимические свойства. *M. leprae* утилизируют глицерин и глюкозу в качестве источников углеводов и имеют специфический фермент *0-дифенолоксидазу* (ДОФА-оксидаза), отсутствующий у других микобактерий. Обладают способностью продуцировать внеклеточные липиды, а значительная часть обычного для других видов микобактерий аланинау них заменена глицином. Выявление на мембранных структурах микроорганизма окислительно-восстановительных ферментов: пероксидазы, цитохромоксидазы, супероксиддисмутазы, сукцинатдегидрогеназы. НАД-Н-диафоразы – свидетельствует о наличии автономных систем дыхания и принадлежности к *аэробам*.

Антигенная структура. Особенностью антигенных свойств *M. leprae* является более выраженная по сравнению с другими микобактериями способность суспензий микроорганизмов усиливать клеточные иммунные реакции без добавления адъювантов. *Ряд антигенов M. leprae являются общими* для всех микобактерий, в том числе, с вакцинным штаммом BCG, что используется для профилактики лепры. Показано наличие *гетерофильных антигенов* у *M. leprae* и лиц с группой крови 0(I), M+, Rh-, P+. Эти лица более восприимчивы к данному заболеванию, так как антигенная мимикрия способствует персистенции *M. leprae* в макроорганизме.

Из экстрактов *M. leprae* выделен и идентифицирован *видоспецифический фенольный гликолипид* с наличием уникального трисахарида, состоящего из 3,6-ди-О-метилглюкозы, 3-О-метилрамнозы и 2,3-ди-О-метилрамнозы, который является ключевой антигенной детерминантой (концевая ди-О-метилглюкоза отсутствует во всех известных природных углеводах). Антитела к фенольному гликолипиду обнаруживаются только у больных лепрой, что используется для активного выявления больных лепрой при обследовании больших групп лиц с помощью *ИФА*. Фенольный гликолипид предложено также применять для постановки *кожных аллергических проб* и *РБТЛ*.

Восприимчивость лабораторных животных. В экспериментальных условиях к *M. leprae* восприимчивы *мыши* и *девятипоясные броненосцы*.

У мышей происходит *медленное локальное* размножение *M. leprae* при заражении в подушечку лапки **(метод Шепарда).** Генерализации процесса удается достичь подавлением клеточного иммунитета путем тимэктомии, сублетальным облучением и применением антилимфоцитарной сыворотки. Медленное размножение в подушечке лапки мыши *M. Leprae* и определение ДОФА-оксидазы применяется для их идентификации. Заражение мышей используют для определения жизнеспособности *M. leprae* при лечении лепры, при

испытании новых противолепрозных средств, а также для установления устойчивости *M. leprae* к действию физических и химических факторов. С помощью этого метода было установлено, что *M. leprae* остаются жизнеспособными после 10–12 лет хранения лепром при комнатной температуре в 40% формалине.

По методу Шепарда стали успешно заражать *крыс* и *хомяков.*

Имеются сообщения о восприимчивости к *M. leprae* некоторых видов *низших приматов* (обезьян-мангобеев – *Cercocebus),* но *наилучшей экспериментальной моделью лепры человека является заражение девятипоясных броненосцев,* которые в филогенетическом отношении близки к приматам. При заражении их большими дозами *M. leprae* внутривенно у 80% броненосцев через 18–35 месяцев развивается *генерализованный специфический процесс* с наличием в пораженных тканях большого количества *M. leprae.* Клиническое течение заболевания и морфологическая картина у броненосцев соответствуют лепроматозному типу лепры у человека. Но, в отличие от человека, у броненосцев рано и интенсивно поражается легочная ткань. Разработка данной модели позволила значительно продвинуться в изучении биологических свойств *M. leprae* и вплотную подойти к изготовлению диагностических и вакцинных препаратов.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Лепра относится к малоконтагиозным *антропонозным заболеваниям,* при которых пораженность населения зависит, прежде всего, от социально-экономических факторов, влияющих на состояние резистентности макроорганизма. Естественным *резервуаром* и *источником возбудителя* в природе является **больной человек,** который при кашле и чихании, а также при разговоре выделяет в окружающую среду со слизью или мокротой большое количество бактерий. Особенно опасны больные антибиотикоустойчивой лепроматозной формой лепры, у которых содержится много *M. leprae* в носовом секрете.

Резервуаром *M. leprae* в природе могут быть броненосцы и низшие приматы, но они не играют важной роли в эпидемиологии заболеваний у человека.

Основной механизм заражения – *аэрогенный,* путь передачи – *воздушно-капельный.* Учитывая, что *M. leprae* обнаруживается в отделяемом из открытых язв, образовавшихся при распаде лепром и инфильтратов и в других биологических выделениях (семенная жидкость, менструальная кровь и т.д.), возможен *контактный механизм заражения,* в результате прямого и непрямого контакта. Оба механизма заражения реализуются лишь при тесном и длительном контакте с больными лепрой, что ведет к массивному инфицированию.

Входными воротами инфекции служат слизистая оболочка верхних дыхательных путей и поврежденные кожные покровы. Не вызывая видимых изменений в месте входных ворот инфекции, возбудитель распространяется по макроорганизму лимфогематогенным путем, поражая клетки кожи и периферической нервной системы (леммоциты). *M. leprae* продуцируют фибронектинсвязывающий белок, который способствует их проникновению в эпителиальные клетки и леммоциты. Все последующие тканевые поражения при лепре, являются результатом иммунных реакций организма, а развитие заболевания целиком и полностью определяется состоянием резистентности макроорганизма. *Инкубационный период* длится в среднем от 3 до 5 лет, но может колебаться от 6 месяцев до 20–30 лет. Лишь у 10–20% инфицированных развиваются малозаметные признаки инфекции и только у половины из них, т.е. у 5–10% инфицированных, в дальнейшем формируется развернутая картина болезни. При высокой резистентности (у лиц с предоминантной субпопуляцией **TH1-лимфоцитов,** активирующих клеточный иммунитет) развивается полярная *туберкулоидная форма заболевания* **(ТТ-тип лепры),** а при низкой резистентности (у лиц с предоминантной субпопуляцией TH2-лимфоцитов, активирующих В-лимфоциты и

подавляющих TH1-субпопуляцию) развивается полярная **лепроматозная форма заболевания (LL-тип лепры).**

Для научных и практических целей применяется **классификация Ридли–Джоплинга,** в основе которой лежит деление больных лепрой в зависимости от их иммунологической реактивности, отражающейся в клинических проявлениях, а также данных гистологических, бактериоскопических и иммунобиологических исследований. Лепрозный процесс рассматривается как непрерывный иммунологический спектр между **IT-** и **IX-типами лепры,** называемыми полярными, с выделением 3 основных промежуточных (пограничных) форм.

TT-тип лепры имеет доброкачественное течение и характеризуется появлением на коже гипопитментированных пятен или эритематозных бляшек с измененной тактильной, температурной и болевой чувствительностью. Гранулема характеризуется четкими фокусами эпителиоидных клеток, окруженных лимфоидным бордюром и достигает непосредственно эпидермиса. *M. leprae* выявляются с трудом и только при гистологическом исследовании биоптатов, а в соскобах кожи и слизистой носа, как правило, отсутствуют. Резистентность макроорганизма высокая, о чем свидетельствует положительная лепроминовая проба. С эпидемиологической точки зрения данная форма заболевания не опасна.

LL-тип лепры характеризуется злокачественным течением, выраженной и длительной бактериемией, большим разнообразием кожных поражений – от эритематозных пятен до появления инфильтратов в виде «апельсиновой корки» на липе (львиная морда – *fades leonika),* в области которых появляются бугорки и узлы **(лепромы)** размером от 1–2 мм до 2–3 см. Во всех случаях, в процесс рано вовлекаются слизистые оболочки верхних дыхательных путей (симптомы ринита) и внутренние органы (печень, селезенка и костный мозг). У 30% больных развиваются трофические язвы стоп. При бактериоскопическом исследовании во всех высыпаниях обнаруживается большое количество *M. leprae.* Гранулема состоит из макрофагов с вакуолизированной цитоплазмой и содержащих *M. leprae* в виде «шаров» *(globi).* Эпителиоидные и гигантские клетки не обнаруживаются. Лепроминовая проба отрицательная. **Эта форма заболевания эпидемиологически опасна.**

В клинике пограничных форм лепры (ПТ, ПП, ПЛ) в той или иной мере выражены признаки обоих полярных типов. Эти формы заболевания характеризуются нестабильным состоянием и могут переходить в **LL-форму** у нелеченых больных или в **TT-форму** заболевания в процессе лечения. Переходы от одного полярного типа заболевания к другому (от **TT** к **LL** или наоборот) чрезвычайно редки.

Иммунитет. Иммунитет при лепре является относительным. В эндемичных зонах, при часто повторяющемся массивном суперинфицировании, заболевание лепрой может быть вызвано на фоне существующего естественного и приобретенного иммунитета. Ведущую роль играют клеточные факторы иммунитета. У больных LL-формой заболевания выявляется анергия к *M. leprae,* которая обусловлена развитием расщепленной толерантности в результате предшествующего контакта с *M. leprae* или другими микобактериями, что ведет к усилению супрессорной активности клеток и уменьшению Т-хелперов. В результате наличия генетических дефектов, макрофаги не ограничивают размножение *M. leprae* и их распространение по организму. Угнетение клеточных реакций иммунитета при LL-фор-ме заболевания сочетается с высокими титрами гуморальных антител к фенольному гликолипиду и другим антигенам *M. leprae.* При TT-форме заболевания, наоборот, антитела обнаруживаются в низких титрах, а клеточные реакции иммунитета выражены.

Развитие анергии к *M. leprae* при LL-форме заболевания, не сопровождается снижением общей реактивности макроорганизма по отношению к другим микробам.

Микробиологическая диагностика лепры. Лепра способна имитировать большинство дерматозов и заболеваний периферической нервной системы, поэтому вполне оправдано

проведение дополнительных обследований на лепру во всех неясных случаях при наличии у больных кожных высыпаний, не поддающихся общепринятой терапии. Обследованию на лепру также подлежат лица с жалобами на снижение и исчезновение чувствительности в отдельных участках тела, парестезии, частые ожоги, ревматоидные боли в конечностях, нерезко выраженные контрактуры пятого, четвертого и третьего пальцев верхних конечностей, начинающуюся атрофию мышц, пастозность кистей и стоп, стойкие поражения носа, трофические язвы и т.д.

Применяют *бактериоскопическое и серологическое исследование.* Материалом для *бактериоскопического исследования* служат: соскобы – иссечения с кожи и слизистых оболочек носа, мокрота, пунктаты лимфатических узлов и т.д. Мазки готовят не только из очагов поражения кожи, но и из соскобов надбровных дуг, мочек ушей, подбородка. Мазки окрашивают *по Цилю–Нельсену. Раньше всего, M. leprae обнаруживаются в соскобах кожи (ранняя диагностика лепры).* В соскобах из слизистой носа обнаруживаются лишь в далеко зашедших случаях заболевания. Наибольшее значение бактериоскопия соскобов имеет при **LL-форме** и пограничных с ней формах заболевания, при которых *M. leprae* выявляются во всех высыпаниях в больших количествах. При **TT-форме** заболевания *M. Leprae* в соскобах выявляются очень редко, поэтому *окончательную роль в диагностике заболевания имеет гистологическое исследование биоптатов кожи и слизистых оболочек,* которое позволяет не только выявить *M. leprae,* но и определить структуру гранулем. Для гистологического исследования биопсийный материал из подозрительного на лепру высыпания направляется в НИИ по изучению лепры МЗ РФ (г. Астрахань).

В отличие от возбудителей туберкулеза, *M. leprae* не культивируются на искусственных питательных средах и непатогенны для морских свинок и кроликов.

Серологическая диагностика основана на обнаружении антител к фенольному гликолипиду в *ИФА,* что особенно важно при активном выявлении больных, в том числе, с субклиническими формами заболевания. При **LL-форме** заболевания антитела определяются в 95% случаев, а при **TT-форме** – в 50% случаев. В настоящее время, получены моноклональные антитела, которые позволяют определять лепрозные антигены в тканях, разрабатывается *ПЦР.*

Вспомогательное значение имеет изучение иммунного статуса больного, в том числе, постановка *РБТЛ с фенольным гликолипидом и лепроминовой пробы.* Для постановки лепроминовой пробы используют *лепромин А,* полученный из тканей зараженных лепрой броненосцев, который заменил классический лепромин, приготовленный из тканей человеческих лепром. Так как у больных **LL-формой заболевания** лепроминовая проба отрицательная, а у больных **TT-формой заболевания** и у большинства *здоровых лиц* она положительная, диагностического значения проба не имеет. *Данная проба свидетельствует не об инфицировании, а о состоянии иммунологической реактивности макроорганизма, его способности отвечать на лепромин А.* Внутрикожное введение 0.1 мл лепромина А вызывает развитие как *ранних,* (через 48 ч, **реакция Фернандеса** на водорасворимые фракции лепромина), так и *поздних* (через 3–4 недели, **реакция Мицуды**) реакций. Последняя реакция представляет собой гранулематозный ответ на лепрозный корпускулярный антиген и имеет большое значение в дифференциации типов лепры, а также прогнозе течения заболевания.

Препараты для лечения. Основными противолепрозными средствами являются *препараты сульфонового ряда:* дапсон, солюсульфон, диуцифон и другие, наряду с которыми применяются *рифампицин, клофазимин* (ламprен) и *фторхинолоны* (офлоксацин). Все вновь выявленные больные на территории России подлежат госпитализации в клинику НИИ по изучению лепры МЗ РФ сроком на 3–6 месяцев для углубленного обследования, в том числе, определения иммунного статуса и подбора индивидуального лечения.

Эффективность лечения оценивают по скорости регресса клинических проявлений заболевания, а также по результатам бактериоскопического наблюдения за изменением количества возбудителя в очагах поражения и его морфологии, а также по результатам гистологического исследования.

В настоящее время, прогноз при данном заболевании благоприятный. В зависимости от формы и стадии заболевания комбинированное. Лечение больных лепрой продолжается от 3 до 10 лет. При **LL-форме заболевания** амбулаторное противорецидивное лечение проводится в большинстве случаев, в течение всей жизни больного, так как эта форма заболевания хуже поддается терапии. Даже после многолетней терапии сульфонами и полного регресса кожных проявлений лепры жизнеспособные *M. leprae* продолжают выявляться в периферических нервах и поперечно-полосатых мышцах, хотя дапсон легко проникает в эти ткани (в 30% случаев, отмечается дапсонрезистентность). Большие надежды возлагаются на применение комбинированной терапии рифампицином и фторхинолонами. *Перспективно применение методов генной терапии.*

Препараты для специфической профилактики. Препараты для специфической профилактики лепры не разработаны. У населения эндемичных районов для относительного усиления иммунитета для профилактики лепры используется **вакцина BCG,** *составной частью которой является лепромин А* **(лепромин А+BCG).** Предварительно проводится проверка с помощью лепроминовой пробы. Лица с отрицательной реакцией Мицуды (за исключением, детей до одного года) должны рассматриваться как инфицированные, которые находятся в стадии инкубации и подлежащие внеочередной вакцинации BCG. Определенные надежды возлагаются на разработку *генно-инженерных вакцин* из условно-патогенных микобактерий, имеющих антигенное сходство с *M. leprae* (*M. lufu, M. duvalli, M. vaccae* и др.), а также вакцин с использованием специфических антигенов из *M. leprae.*

Возбудители микобактериозов

Микобактериозы – это сходные с туберкулезом по своим клиническим проявлениям заболевания, вызванные условно-патогенными микобактериями. Данные заболевания приобретают все большее и большее значение в патологии человека.

Наиболее высокий уровень выявления микобактериозов отмечен в экономически развитых странах, где успешно осуществляется программа борьбы с туберкулезом и поэтому лучше налажена диагностика микобактери-альных заболеваний.

Классификация и биологические свойства условно-патогенных микобактерий. Характеристика отдельных представителей.

Возбудители микобактериозов относятся к семейству *Mycobacteriaceae,* роду *Mycobacterium.* Они сходны по своим биологическим свойствам с возбудителями туберкулеза, но устойчивы к основным противотуберкулезным препаратам. Исходя из вышеизложенного, большое значение имеет идентификация условно-патогенных микобактерий.

Для практической работы используют вариант классификации, разработанной Раньоном (E. Runyon, 1965), согласно которой условнопатогенные и сапрофитные микобактерии, названные им **атипичными,** делятся на 4 группы по ограниченному числу признаков: скорости роста, пигментообразованию, морфологии колоний, некоторым культурально-биохимическим показателям.

Данная классификация условно-патогенных микобактерий и сапрофитов не является истинно научной, так как не учитывает генетического родства микобактерий, но она име-

ет важное практическое значение. Наиболее частыми этиологическими факторами легочных и внелегочных микобактериозов являются представители 3-й группы, реже – 1-й группы и еще реже – 2-й и 4-й групп.

Группа 1 – медленнорастущие фотохромогенные (*M. kansasii, M. marinum* и др.). Главный признак представителей этой группы – появление пигмента на свету. Они образуют колонии от S- до RS-форм, содержат кристаллы каротина, окрашивающие их в желтый цвет. Скорость Docra – от 7 до 20 дней при температуре 25, 37 и 40 °С; каталазапозитивны.

M. kansasii обитает в воде, почве, чаще всего поражает легкие. Важным проявлением инфекций, вызванных *M. kansasii,* считается развитие диссемини-рованного заболевания. Возможны также поражения кожи и мягких тканей, развитие теносиновиитов, остеомиелита, лимфаденитов, перикардитов и инфекций органов мочеполового тракта.

M. marinum – это психрофильный микроорганизм, обитающий в соленой, а также пресной воде и вызывающий болезни у рыб. У человека инфекция обычно связана с какой-то деятельностью в воде (плавание, работа с аквариумами и т.д.). Микроорганизмы внедряются через поврежденные кожные покровы, например, при травме рук рыболовными крючками и вызывают образование узелка («бассейновая гранулема», «гранулема купальщиков», «аквариумная гранулема»); инфекция может распространяться вдоль лимфатических сосудов. У больных с иммунодефицитами описаны изъязвления и диссеминированные кожные поражения.

Группа 2 – медленнорастущие скотохромогенные (*M. scrofulaceum, M. gordonae, M. szulgai* и др.). Данные микроорганизмы образуют в темноте желтые, а на свету оранжевые или красноватые колонии, обычно образуют S-формы колоний, растут при 37 °С. Это самая многочисленная группа условно-патогенных микобактерий. Они выделяются из загрязненных водоемов и почвы. Обладают незначительной патогенностью для человека и животных.

M. scrofulaceum являются одной из основных причин развития лимфаденитов у детей. При наличии тяжелых сопутствующих заболеваний они могут вызвать поражения легких, костей и мягких тканей.

Группа 3 – медленнорастущие нехромогенные микобактерии (*M. avium complex, M. xenopi, M. gastri, M. terrae complex* и др.). Они образуют бесцветные S- или SR- и R-формы колоний. Выделяются от больных животных, из воды и почвы.

M. avium – M. intracellular объединены в один *M. avium complex,* так как их межвидовая дифференциация возможна, но представляет определенные трудности. Данные микроорганизмы растут при 25–45 °С, каталазапозитивны; патогенны для птиц, менее патогенны для рогатого скота, свиней, овец, собак и непатогенны для морских свинок. В последнее время, они привлекают к себе особое внимание, в связи с созданием крупных птицеводческих хозяйств. Наиболее часто, данные микроорганизмы вызывают у человека поражения легких. Описаны поражения кожных покровов, мышечной ткани и костного скелета, а также диссеминированные формы заболеваний. Эти микроорганизмы входят в число возбудителей оппортунистических инфекций, осложняющих синдром приобретенного иммунодефицита.

M. xenopi вызывает поражения легких у человека и диссеминированные формы заболеваний, связанные с синдромом приобретенного иммунодефицита. В отличие от других условно-патогенных микобактерий, в том числе, и представителей данной группы (*M. avium complex, M. gastri, M. terrae complex* и др.), они чувствительны к действию большинства противотуберкулезных препаратов.

M. ulcerans – этиологический агент микобактериальной кожной язвы (син. язва Бурули), растет только при 30–33 °С. Рост колоний отмечается лишь через 7 недель. Выделение

возбудителя производят также при заражении мышей в мякоть подошвы лапки. Данное заболевание распространено в Австралии и Африке. Источником инфекции служит тропическое окружение.

Группа 4 – быстрорастущие как ското-, так и фотохромогенные микобактерий (*M. fortuitum, M. chelonei, M. phlei, M. borstelense, M. smegmatis* и др.). Рост их отмечается в виде R- или S-форм колоний в течение от 1–2 до 7 дней. Обнаруживаются в воде, почве, нечистотах и являются представителями нормальной микрофлоры тела человека. Представители этой группы редко выделяются из патологического материала от больных, однако, некоторые из них имеют клиническое значение.

M. fortuitum часто ассоциируются с посттравматическими и послеоперационными инфекциями кожи и мягких тканей. *M. chelonei* – более частая причина легочных инфекций и диссеминированных заболеваний; они выделяются из пересаженных людям от свиней створок сердечных клапанов. Широкое распространение в окружающей среде, в том числе, в больничном окружении, высокая устойчивость к лекарственным препаратам, антисептикам и дезинфицирующим средствам, делают их одними из важных агентов внутрибольничных инфекций, которые часто развиваются после кардиоторакальных операций, маммо- и артропластических вмешательств, инъекций, операций на глазном яблоке, проведении диализа и т.д. и проявляются в виде различных гнойно-септических осложнений.

M. smegmatis – представитель нормальной микрофлоры, выделяется из смегмы у мужчин. Непатогенен. Возбудителей туберкулеза необходимо дифференцировать от *M. smegmatis* при исследовании мочи.

Эпидемиология, патогенез и клиника микобактериозов. Возбудители микобактериозов широко распространены в природе, их можно обнаружить в почве, пыли, торфе, грязи, воде рек, водоемов и плавательных бассейнов. Они обнаруживаются у клещей и рыб, вызывают заболевания у птиц, диких и домашних животных, являются представителями нормальной микрофлоры слизистых оболочек верхних дыхательных путей и мочеполового тракта у человека. Источником инфекции для человека служат объекты окружающей среды, а также пораженные микобактериями птицы, холоднокровные и теплокровные животные, которые выделяют микобактерии в окружающую среду. Механизм заражения – аэрогенный или контактный, через инфицированные объекты внешней среды. Передача микроорганизмов от человека человеку не характерна. Так как это условно-патогенные микроорганизмы, то обязательным условием возникновения заболевания является резкое снижение резистентности макроорганизма, чему способствует наличие сопутствующих хронических заболеваний, в том числе, туберкулеза, прием иммунодепрессантов, профессиональные вредности и т.д. Попадая в организм со сниженной резистентность, особенно, на фоне проведения антибиотикотерапии, так как они устойчивы к действию антибиотиков, микобактерии находят благоприятные условия для своей жизнедеятельности, начинают размножаться и вызывать патологический процесс. *В пораженных участках образуются гранулемы* без участков казеозного некроза, состоящие, в основном, из эпителиоидных клеток с небольшой примесью гигантских клеток типа клеток Пирогова–Лангерганса. В тяжело протекающих случаях, фагоцитоз носит незавершенный характер, бактериемия выражена. а в органах определяются макрофаги, заполненные условно-патогенными микобактериями и напоминающие лепрозные клетки.

Клинические проявления разнообразны и напоминают таковые туберкулеза. Чаще всего. поражается дыхательная система. Вместе с тем, нередки случаи внелегочной локализации процесса с вовлечением лимфатических узлов, кожи, мочеполовых органов, костей и суставов, а также мозговых оболочек. Органные поражения могут начинаться как остро, так и скрытно, но почти всегда протекают тяжело. Наиболее тяжело протекают

генерализованные формы микобактериозов, вызываемые, как правило, *M. avium complex, M. kansasii,* иногда *M. scrofulaceum* и сопровождающиеся милиарными поражениями всех внутренних органов.

Возможно также развитие **смешанной инфекции** (микст-инфекции); в ряде случаев, они могут быть причиной развития **вторичной эндогенной инфекции.**

Микробиологическая диагностика. Основным методом диагностики микобактериозов является **бактериологический** метод, который позволяет дифференцировать условно-патогенные микобактерии между собой и от патогенных микобактерии. Материал на исследование берут, исходя из патогенеза и клинических проявлений заболевания. Для идентификации используют комплекс классических и современных методов. Первоначально решается вопрос о принадлежности выделенной чистой культуры к возбудителям туберкулеза или условно-патогенным микобактериям. Затем проводят комплекс исследований, позволяющих установить вид микобактерии, степень вирулентности, а также группу по Раньону. В большинстве случаев, предпочтение отдают их идентификации по биохимическим свойствам. В отличие от возбудителей туберкулеза, условно-патогенные микобактерии, независимо от устойчивости к препаратам группы ГИНК (гидразида изоникотиновой кислоты), *обладают высокой каталазной активностью. Каталаза у них термостабильна.* Пероксидазная активность у данных микроорганизмов не выявляется. При проведении *биопробы* необходимо учитывать, что большинство условно-патогенных микобактерий не вызывают генерализованного процесса у морских свинок и кроликов, но они патогенны для цыплят, мышей или крыс. Большое значение для лечения имеет определение антибиотикограммы выделенной чистой культуры. Для доказательства этиологической значимости выделенных чистых культур, необходимо придерживаться правил, изложенных в гл. 20 «Клиническая микробиология». Для обнаружения ДНК микобактерии используется *ПЦР.* Вспомогательное значение в диагностике имеют: *бактериоскопическое исследование, определение антител* с помощью РА, РНГА, РП, иммуноэлектрофореза, РСК, РНИФ и ИФА, а также постановка кожных аллергических проб с сенситинами (PPD-Y к *M. kansasii,* PPD-B к *M. intracellulare)* или туберкулином из *M. avium.*

Препараты для лечения и специфической профилактики. Все виды условно-патогенных микобактерий, за исключением *M. xenopi,* устойчивы к изониазиду, стрептомицину и тиосемикарбазонам. Наибольшей чувствительностью они обладают к циклосерину, этамбутолу, рифампицину. В ряде случаев эффективны: канамицин, этионамид, амикацин, цефокситин, доксициклин, макролиды. Часто лечение малоэффективно. Препараты для специфической профилактики не разработаны.

Актиномицеты (род Actynomyces)

Морфология. Ветвящиеся бактерии. В отличие от грибов, не содержат в клеточной стенке хитина или целлюлозы, а сама стенка имеет строение грамположительных бактерий. Мицелий примитивен. Имеют вид тонких прямых или слегка изогнутых палочек размером 0,2+1,0х2,5 мкм, часто образуют нити длиной до 10–50 мкм. Характерная особенность актиномицетов – способность образовывать хорошо развитый мицелий, который у одних видов длинный, редко ветвящийся, у других – короткий и сильно ветвящийся; гифы мицелия не септированы. Палочковидные формы, часто с утолщенными концами, в мазке располагаются по одиночке, парами, V- и Y-образно, либо в виде палисада. Все морфологические формы способны к истинному ветвлению, особенно на тиогликолевой полужидкой среде. По Граму окрашиваются плохо, часто образуют зер-

нистые либо четкообразные формы; конидий не образуют; некислотоустойчивы. Типовой вид – *Actinomyces bovis.*

Культуральные свойства. Облигатные и факультативные анаэробы, капнофилы. Растут медленно, посевы следует культивировать 7–14 суток. Температурный оптимум роста – 37 °С. Некоторые штаммы дают а-р-гемолиз на средах с кровью. Некоторые виды формируют нитчатые микроколонии, напоминающие мицелий, а на 7–14-е сутки образуют крошковатые S-формы колоний, иногда окрашенные в желтый или красный цвет. *Actinomyces israelii* склонен образовывать длинный ветвящийся мицелий, со временем распадающийся на полиморфные кокковидные, колбовидные и другие элементы. На простых питательных средах растет плохо, лучше растет на белковых средах, содержащих сыворотку; образует прозрачные бесцветные пастообразные, обычно гладкие колонии, плотно срастающиеся со средой. Воздушный мицелий скудный, пигментов не образует, на некоторых средах, например, на кровяном агаре, может формировать белые бугристые колонии. *A. odontolyticus* на кровяном агаре образует красные колонии с зоной (5-гемолиза.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы. Ферментируют углеводы с образованием кислоты без газа, продукты ферментации – уксусная, муравьиная, молочная и янтарная кислоты (но не пропионовая). Наличие каталазы и способность восстанавливать нитраты в нитриты вариабельны у разных видов, индол не образуют. Видовая дифференциация основана на различиях в способности ферментировать углеводы и на некоторых других биохимических тестах (табл. 17.27).

Антигенная структура. В И ФА выделяют 6 серогрупп: A, B, C, D, E и F.

Экологическая ниша. Основная среда обитания – почва. Постоянно обнаруживаются в воде, воздухе, на различных предметах, покровах растений, животных и человека. Колонизируют слизистую оболочку полости рта человека и млекопитающих.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к пенициллинам, тетрациклину, эритромицину и клиндамицину, но резистентны к антимикотикам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Источник инфекции – почва. Характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи; хотя чаще всего механизм передачи – контактный, а путь передачи – раневой. Восприимчивость к актиномицетам, как ко всем УПМ, низкая у лиц с нормальным иммунным статусом и повышенная у иммунокомпромиссных хозяев.

Патогенез. Вызывают оппортунистическую инфекцию.

Клиника. Актиномикоз – хроническая оппортунистическая инфекция человека и животных, вызываемая анаэробными и факультативно-анаэробными актиномицетами, которая характеризуется гранулематозным воспалением с полиморфными клиническими проявлениями.

Заболевание проявляется в формировании гранулемы, которая подвергается некротическому распаду с образованием гноя, выходящего через свищи на поверхность кожи и слизистых оболочек. Гной – различной консистенции, желтовато-белого цвета, иногда с примесью крови, часто содержит друзы. Одновременно отмечается фиброз гранулемы. В зависимости от локализации, различают шейно-лицевую, торакальную, абдоминальную, мочеполовую, костно-суставную, кожно-мышечную, септическую и другие формы болезни.

Иммунитет изучен недостаточно.

Микробиологическая диагностика.

Материалом для исследования служат мокрота, ликвор, гной из свищей, пунктаты невскрытых очагов размягчения, соскобы с грануляций, биопсия тканей.

Для диагностики используют *бактериоскопический, бактериологический, серологический* и *аллергологический методы.*

Обычно диагноз ставят бактериоскопически по обнаружению в нативном исследуемом материале друз актиномицетов, имеющих вид мелких желтоватых или серовато-белых зернышек с зеленоватым отливом. Под малым увеличением видны образования округлой формы с бесструктурным центром и периферией радиального строения; под большим увеличением в центре видны сплетения тонких гиф с пигментированными зернами, по периферии от этого клубка мицелия отходят радиально в виде лучей гифы с колбовидными утолщениями на концах. По Граму споры окрашиваются в темно-фиолетовый, мицелий – в фиолетовый, а друзы – в розовый цвет. По Цилю–Нельсону мицелий окрашивается в синий, а споры – в красный цвет.

Окончательный диагноз устанавливают на основании выделения возбудителя. Для подавления роста сопутствующей микрофлоры гной и мокроту перед посевом центрифугируют в растворе пенициллина и стрептомицина, затем отмывают изотоническим раствором NaCl для удаления антибиотиков. Засевают на питательные среды (сахарный агар, среда Сабуро и др.) и культивируют в аэробных и анаэробных условиях. Выделяют и идентифицируют чистую культуру по общепринятой схеме. У выделенных культур определяют способность сворачивать и пептонизировать молоко – признак, характерный для актиномицетов. Выделение анаэробных видов подтверждает диагноз актиномикоза.

Для серодиагностики ставят РСК с актинолизатом. Реакция недостаточно специфична, поскольку положительные результаты могут отмечаться при раке легкого и тяжелых нагно-ительных процессах. Применение в качестве АГ вместо актинолизата внеклеточных белков актиномицетов повышает чувствительность РСК. Этот же АГ можно использовать и для постановки РИГА.

Аллергическую пробу проводят с актино-лизатом. Диагностическое значение имеют лишь положительные и резкоположительные пробы. При висцеральном актиномикозе аллергическая проба часто отрицательная.

Лечение. Удовлетворительных результатов можно достичь применением пенициллина, тетрациклина, эритромицина, клиндамицина.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика направлена на повышение иммунного статуса.

Нокардии (род Nocardia)

Нокардии впервые были выделены Нокаром в 1888 г.; Эппингер описал поражения легких и абсцессы мозга у человека, вызванные нокардиями.

Морфология. На ранних стадиях роста образуют относительно развитый мицелий, растущий по поверхности и проникающий в глубь среды. Клетки – прямые или изогнутые с частым ветвлением. В первые часы роста, мицелий не септированный и все сплетение одноклеточное. Диаметр нитей 0,3–1,3 мкм. С возрастом в нитях образуются септы и мицелий фрагментируется на отдельные палочковидные или кокковидные элементы, которые размножаются бинарным делением или почкованием. В старых культурах можно обнаружить многоклеточные нити, образующиеся в результате неполного разделения фрагментирующегося мицелия. Образуют конидии. Отношение к окраске по Граму вариабельное; в патологическом материале представлены грамположи-тельными короткими ветвящимися нитями и дифтероидными элементами; в старых культурах можно обнаружить грамотрицательные диссоциированные элементы. Относительно кислотоустойчивы, окрашиваются по Цилю– Нельсону. По форме мицелия и времени его диссоциации делятся на 3 группы:

Таблица 17. 27.

Основные дифференциальные признаки аминомицетов

ПРИЗНАК	ВИД				
	A. viscosus	A. nfes-lundii	A. israelii	A. odon-tolyticus	A. bovis
Рост в аэробных условиях	+	+	–	+	+
Серогруппа (ИФА)	B	E	D	A	F
Колонии: гладкие	–	–	–	+	+
паукообразные	+	+	+	–	–
Каталаза	+	–	–	–	–
Уреаза	+	+	–	–	–
Крахмал	–	–	–	–	+
Арабиноза	–	–	+/-	–	?
Инозит	+	+	+	–	?
Ксилоза	–	–	+	–	+/-
Маннит	–	–	+	–	–
Маннноза	+	+/-	+	–	?

1-я группа – мицелий ограниченный, не образует конидий, диссоциирует через 12–14 ч. инкубацгии; в старых культурах обычны короткие палочки и кокковидные формы.

2-я группа – мицелий ограниченный. не образует конидий, диссоциирует через 20 ч инкубации; в старых культурах преобладают длинные фрагменты мицелия.

3-я группа – мицелий обильный, с редкими конидиями; в старых культурах преобладают длинные ветвящиеся нити.

Культуральные свойства. Хорошо растут на простых питательных средах (МПА, МПБ, среда Сабуро и др.). Температурный оптимум роста – 28–37 °С. На жидких средах образуют тонкую прозрачную пленку, напоминающую растекшуюся каплю жира; постепенно приобретает кремово-желтый цвет. Возможен придонный рост в виде комочков ваты или плотных зерен. На плотных средах через 48–72 ч. образуют мелкие гладкие влажные колонии тестоватой консистенции. Через 72 ч. поверхность колоний становится исчерченной, на 10–14 сутки принимают вид с приподнятым и извитым центром и фестончатыми краями. Продуцируют пигменты от кремового до красного цвета, которые диффундируют в питательную среду. Бактерии 1-й группы образуют мягкие, пастообразные и слизистые колонии; 2-й группы – пастообразные или маслянистые; 3-й группы – сухие кожистые колонии.

Биохимическая активность. Достаточно высокая. Основные дифференциальные признаки нокардий представлены в табл. 17.28.

Экологическая ниша. Повсеместно распространены в почве и на разлагающихся органических субстратах. Не являются представителями нормальной микрофлоры организма человека, хотя их иногда выделяют от клинически здоровых людей. Устойчивость в окружающей среде высокая.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к гентамицину и левомицетину, к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Источник инфекции – почва. Механизм передачи – контактный, путь передачи – раневой. Возможна также аэрогенная передача возбудителя воздушно-капельным или воздушно-пылевым путями, а также передача алиментарным путем с контаминированной пищей через поврежденные слизистые оболочки ЖКТ. Восприимчивость к

нокардиям, как ко всем УПМ, низкая у лиц с нормальным иммунным статусом и повышенная у иммунокомпромиссных хозяев.

Патогенез. Вызывают оппортунистическую инфекцию.

Возбудитель захватывается альвеолярными макрофагами, в цитоплазме которых он сохраняет жизнеспособность, блокируя слияние фагосомы с лизосо-мами и ингибируя синтез лизосомальных ферментов. Персистенция возбудителя ведет к развитию воспаления с формированием множественных сливных абсцессов и гранулем. Инфекции подкожной клетчатки развиваются при попадании в рану возбудителя и характеризуются развитием гнойного воспаления. У иммунодефицитных лиц возможно развитие диссе-минированных инфекций.

Клиника. Нокардиозы – оппортунистические инфекции человека, вызываемые нокардиями, которые характеризуются преимущественным поражением легких и подкожной клетчатки с развитием гнойно-гранулематоз-ного воспаления.

Относятся к редким заболеваниям. Ежегодно в мире регистрируют 1,5–2,0 тыс. случаев заболевания. более половины из которых – у лиц с иммунодефицитами. Основные формы поражений – легочные и подкожные нокардиозы. Наиболее распространены легочные поражения, вызванные *Nocardia asteroides* и подкожные поражения вызванные *Nocardia brasiliensis.*

При легочных поражениях в паренхиме легких формируются множественные сливные абсцессы и гранулемы. В воспалительный процесс часто вовлекаются органы средостения, мягкие ткани грудной клетки и др. Особую опасность заболевание представляет для лиц с иммунодефицитами, у которых часто развиваются диссеминированные инфекции, сопровождающиеся поражением ЦНС, менингеальными явлениями, парезами и параличами. При диссеминированных формах возможны поражения кожных покровов, лимфатических узлов. печени и почек.

Инфекции подкожной клетчатки характеризуются развитием неглубоких пустул в месте проникновения возбудителя. При прогрессировании болезни образуются абсцессы и гранулемы, которые напоминают кожный актиномикоз.

Таблица 17. 28.

Основные дифференциальные признаки нокардий

ВИД	Разложение				Способность к образованию		
	казеина	эску-лина	тестос-терона	ксан-тина	Кислой фосфа-тазы	b-эсте-разы	уреазы
Nocardia amarae	–	+	–	–	–	–	+
Nocardia asteroides	–	+	+	–	+	–	+
Nocardia brasiliensis	+	+	+	–	+	–	+
Nocardia brevicatena	–	+	+	–	?	?	–
Nocardia carnea	–	+	+	–	+	+	–
Nocardia farcinica	–	+	+	–	–	+	+
Nocardia nova	?	?	?	?	–	+	+
Nocardia otitdis caviarum	–	+	+	–	+	+/-	+
Nocardia pinensis	–	–	?	–	?	?	+
Nocardia seriole	–	+	?	–	–	–	+
Nocardia transvalensis	–	+	–	+/-	?	?	+
Nocardia vaccinii	–	+	–	–	+	+	+

Иммунитет изучен недостаточно.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат мокрота, гной, биоптаты тканей. Для диагностики используют *бактериоскопический* и *бактериологический методы.* Обычно диагноз ставят бактериоскопически, по обнаружению в исследуемом материале несептированных гиф. Окончательный диагноз устанавливают на основании выделения возбудителя.

Лечение. Удовлетворительных результатов можно достичь, применяя сульфаниламиды или их комбинации с гентамицином или левомицетином.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика направлена на повышение иммунного статуса.

Таблица 17. 29.

Основные дифференциальные признаки бифидобактерий

ВИД	Арабиноза	Ксилоза	Рибоза	Глюконат	Целлобиоза	Лактоза	Маннит	Мелецитоза	Салицин	Крахмал	Трегилоза
Bifidobacterium bifidum	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–
Bifidobacterium adolescentis	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+/-	+/-
Bifidobacterium infrantis	–	–	+	–	+/-	+	–	–	+/-	+/-	+/-
Bifidobacterium liberorum	–	+	+	–	+/-	+	–	+/-	+/-	+/-	+/-
Bifidobacterium lactentis	–	+	+	–	+/-	+	+	–	–	+/-	+/-
Bifidobacterium breve	–	–	+	–	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-
Bifidobacterium paryulorum	–	–	+	–	+/-	+	+	–	–	+	–
Bifidobacterium longum	+	+	+	–	–	+	–	+	–	+/-	+/-
Bifidobacterium longum subsp, animalis	+	+	+	–	–	+	–	–	+/-	+/-	+/-
Bifidobacterium pseudolongum	+	+	+	–	+/-	+/-	–	+/-	+/-	+	–
Bifidobacterium thermophilum	–	–	–	–	+/-	+/-	–	+/-	+/-	+	+/-
Bifidobacterium suis	+	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–
Bifidobacterium asteroides	+	+	+	+	+	–	–	–	+	–	–
Bifidobacterium indicum	–	–	+	+	+	–	–	–	+	–	–
Bifidobacterium coryneforme	+	+	+	+	+	–	–	–	+	–	–

БИФИДОБАКТЕРИИ, ЭУБАКТЕРИИ, ПРОПИОНИБАКТЕРИИ, ГАРДНЕРЕЛЛЫ, МОБИЛУНКУСЫ

Бифидобактерии (род Bifidobacterium)

Морфология. Род *Bifidobacterium* образован полиморфными палочками размером 0,5+1,3x1,5-5-8 мкм; также встречаются утолщенные на концах или ветвящиеся клетки, располагающиеся в мазках по одиночке, парами, в виде палисада или V-образно, что делает их похожими на дифтероиды. По Граму окрашиваются неравномерно; неподвижны.

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы, некоторые виды могут расти в капнофильных условиях. Не растут при pH ниже 4,5 и выше 8,5, оптимум pH – 6,0; температурный оптимум роста – 37-40 °С. Хорошо растут на обычных мясопептонных, сахарных средах. но нуждаются во внесении в среду витаминов; лучше растут на печеночном отваре с добавлением лактозы. При выращивании по методу Перетца образуют плотные чечевицеобразные S-формы колоний и «мохнатые» R-формы колоний.

Биохимическая активность. Большинство видов ферментирует с образованием кислот, преимущественно уксусной и молочной, глюкозу, лактозу, сахарозу и маннит. Основные дифференциальные признаки бифидобактерии представлены в табл. 17.29.

Факторы патогенности. Не проявляют патогенных свойств.

Экологическая ниша. Доминируют в толстой кишке, будучи ее основной пристеночной и просветной микрофлорой. Присутствуют в кишечнике на протяжении всей жизни человека, у детей составляют от 90 до 98% всех микробов кишечника в зависимости от возраста. В норме количество бифидобактерии у грудных детей составляет 10^{10}-10^{11} КОЕ/г фекалий, у детей старшего возраста и у взрослых– 10^{12}–10^{13} КОЕ/г. Бифидобактерии являются также представителями вагинальной микрофлоры, где обнаруживаются в количестве 10^{4} КОЕ/мл вагинального содержимого.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эубактерии (род *Eubacterium)*

Морфология. Грамположительные неспорообразующие палочки, подвижные или неподвижные. Типовой вид – *Eubacterium foedans.*

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы. Штаммы варьируют по чувствительности к кислороду, некоторые могут расти только в восстановленных средах. Температурный оптимум роста – 37 °С; оптимум pH – 7,0.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы; сахаролитические. Из углеводов или пептона образуют смеси органических кислот, часто с большим количеством масляной, уксусной или муравьиной кислот; не образуют пропионовую, молочную, янтарную, уксусную кислоты. Каталазу не образуют, гиппурат не гидролизуют.

Экологическая ниша. Встречаются в полостях человека и животных, в почве.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Пропионибактерии (род Propionibacterium)

Морфология. Грамположительные неспорообразующие неподвижные палочки. Плеоморфные, дифтероидные или булавовидные, с одним концом округленным и другим – конусообразным или заостренным, окрашивающимся менее интенсивно. Клетки мо-

гут быть кокковидными, удлиненными, раздвоенными и даже разветвленными; располагаются по одиночке, парами, в виде латинских букв V и Y, короткими цепочками или группами в виде «китайских иероглифов». Типовой вид – *Propionibacterium freudenreichii*.

Культуральные свойства. От анаэробных до аэротолерантных. Большинство штаммов наиболее быстро растет в анаэробных условиях, многие штаммы хорошо растут в бульоне с пептоном, дрожжевым экстрактом и глюкозой в глубоких пробирках при свободном доступе воздуха, когда использованы большие количества инокулюма. Твин-80 стимулирует рост. Большинство штаммов растет в глюкозном бульоне с 20% желчи или 6,5% NaCl. Колонии могут быть белого, серого, розового, красного, желтого или оранжевого цвета. Температурный оптимум роста – 30–37 °С, но могут расти в диапазоне температур 25–45 °С; оптимум pH – 7,0. Содержание ГЦ в ДНК рода – 59-66 мол.%.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы; метаболизируют углеводы, пептон, пируват или лактат. Продукты брожения включают комбинации пропионовой и уксусной кислот и часто меньшие количества изовалериановой, муравьиной, янтарной или молочной кислот и $C0_2$. Ферментируют глюкозу до кислоты. Большинство штаммов образует аммиак из белка. Гиппурат не гидролизуют; нейтральный красный не восстанавливают.

Экологическая ниша. Кожа человека, пищеварительный тракт человека и животных; встречаются в молочных продуктах.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Гарднереллы (род Gardnerella)

Под этим термином понимается комплекс патологических изменений влагалищной среды, обусловленный анаэробными неспорогенными микроорганизмами, возможно, полимикробной этиологии. Данный синдром характеризуется появлением выделений с неприятным запахом при минимальной воспалительной реакции слизистых оболочек. Отсутствие выраженной воспалительной реакции предполагает использование термина «вагиноз», а не «вагинит» или «дисбактериоз влагалища». Происходит резкое снижение количества лактобацилл, в норме обеспечивающих подавление роста многих болезнетворных микроорганизмов.

В результате, усиленно размножаются гарднереллы, бактероиды, пептококки и другие микробы. Поэтому бактериальный вагиноз иногда называют гарднереллезом, хотя это не совсем правильно: гарднереллы встречаются и у здоровых женщин. Наиболее существенным этиопатологическим компонентом данного синдрома являются гарднереллы вагиналис (ГВ), впервые выделенные Leopold в 1953 г. из мочи мужчины с неспецифическим уретритом, а затем из цервикального канала женщины – полового партнера. Первоначально ГВ обозначались, как Haemophylus vaginalis, и этим термином широко пользовались до 1961 г., когда было обнаружено, что при культивировании им не требуются факторы роста (X- фактор и У – фактор), необходимые для роста гемофилов.

Дальнейшее изучение показало их морфологическое сходство с коринебактериями, на основании чего, был предложен термин Corynebacterium vaginale. Однако, в ходе изучения таксономических признаков Corynebacterium vaginale, были получены доказательства того, что данный микроорганизм не является представителем рода Corynebacterium. В 1980 г. на основании определения структуры клеточной стенки, фер-

ментативных свойств, ДНК-гибридизации, результатов электронно-микроскопических исследований было предложено выделить изучаемые бактерии в новый самостоятельный род – гарднереллы.

Клиника

Заболевание проявляется обильными, часто пенящимися, неприятно пахнущими выделениями из влагалища, снижением кислотности влагалищной среды и изменением специальных лабораторных тестов. Часто наблюдается зуд, жжение в области наружных половых органов, неприятные ощущения при половом акте, боли в области влагалища и промежности. Возникновению бактериального вагиноза может способствовать длительный прием антибиотиков, гормональные нарушения, снижение иммунитета организма и др. факторы.

Помимо дискомфорта, заболевание может приводить к различным воспалительным осложнениям, особенно опасным, во время беременности. По поводу пути передачи заболевания, пока нет единого мнения. Некоторые исследователи считают, что бактериальный вагиноз может передаваться половым путем, другие это отрицают. Диагностика бактериального вагиноза основывается на жалобах, данных осмотра женщины и результатах лабораторных методов исследования. У большинства больных, в мазках обнаруживаются, так называемые, ключевые клетки и отсутствие лейкоцитов.

Кислотность влагалищной среды уменьшается (pH > 4,5), одним из признаков заболевания является положительный аминный тест. При бактериологическом исследовании выделений определяется значительное превышение числа анаэробов над аэробами. Характерно, что многие женщины, страдающие этим заболеванием, ранее длительно лечились по поводу кольпита. Применяемые при этом различные препараты, в том числе, антибиотики, еще больше усугубляют течение бактериального вагиноза.

Микробиология

Морфология. ГВ представляют собой мелкие, неподвижные, плеоморфные палочки и коккобактерии размером 0,5-1,5=2,5 мкм. Спор и капсул не образуют. Грамвариабельны, но чаще грамотрицательны. Данные электронной микроскопии противоречивы. Одни авторы указывают, что по морфологической структуре клеточная стенка гарднерелл соответствует грамположительным бактериям, другие – грамотрицательным. ГВ проявляют гемолитическую активность в отношении человеческой и кроличьей крови. Культуральные свойства. При росте на питательной среде ГВ образуют круглые, гладкие колонии с ровными краями размером 0,5 мм. ГВ-факультативное анаэробы, однако, описаны строго облигатные штаммы, поэтому культивирование предпочтительно проводить при повышенной концентрации CO2 или в анаэробных условиях.

Оптимальная температура роста 35-370С, pH 4,5-4,0. Наиболее часто применяются следующие среды: КДС-1 с кровью, Харьковская сухая среда для выделения гонококков, шоколадный агар, вагиналис- агар, агар с лошадиной кровью, пептон-крахмал-глюкозный агар. Ферментативные свойства. ГВ имеют ферментативный путь метаболизма. Основными продуктами ферментации являются уксусная кислота, кроме того, некоторые штаммы могут продуцировать молочную, янтарную и муравьиную кислоты. Изучение ферментативной активности гарднерелл имеет большое значение для их дифференцировки от близких родов бактерий, в первую очередь, от гемофилов и коринебактерий. ГВ гидролизуют гиппурат и крахмал.

Антигенные свойства.

Сведения очень скудные. В настоящее время известно 7 серотипов. По биохимическим показателям ГВ классифицированы на 6 биотипов. В реакции иммунофлюоресценции выявлены общие антигены у гарднерелл и кандида альбиканс.

Патогенные свойства. Вопрос о патогенности ГВ, до настоящего времени, остается открытым. Имеющиеся данные позволяют предполагать низкую вирулентность этих бактерий: неспецифические вагиниты характеризуются слабовыраженными местными воспалительными явлениями, при небольшом количестве лейкоцитов в клиническом материале. При гисто-логическом изучении вагинальных биоптатов выявлена незначительная воспалительная реакция, а пенетрация эпителия бактериями не обнаружена.

Сведения о факторах патогенности малоинформативны. Некоторые штаммы выделяют сиалидазу, близкую к аналогичному ферменту холерного вибриона и клостридий. Сиалидаза активна в отношении глобулярного гликопротеида, имеющегося на слизистых оболочках влагалища. Гарднерелла вагиналис – участник биоценоза половых путей. Многочисленные данные исследований свидетельствуют, что наличие ГВ в составе влагалищной микрофлоры, не всегда сопровождается развитием заболевания. ГВ, как и кандида, нередко обнаруживаются у практически здоровых людей. Частота обнаружения ГВ у женщин при отсутствии клинических симптомов, по данным разных авторов, составляет от 12 до 47% (по некоторым данным, 68%). ГВ выявляются у 32% здоровых девочек школьного возраста, а также у 29% взрослых девственниц.

Более того, эти микроорганизмы обнаруживаются у детей в возрасте от 2 мес. до 15 лет, не имеющих каких-либо клинических проявлений заболевания. ГВ колонизируют мочевые пути женщин, причем, более высокий уровень колонизации отмечен у здоровых беременных. Носительство ГВ у здоровых мужчин наблюдается редко. При наличии этих микроорганизмов в уретре их не удавалось выделить из препуциального мешка или аноректальной области. Считается, что простатическая жидкость здоровых мужчин является неблагоприятной средой для ГВ, так как содержит соли цинка, в высоких концентрациях, обладающие антибактериальной активностью. Изучение проб, взятых из других участков тела здоровых людей, на наличие ГВ дало отрицательные результаты.

Так, ГВ не были обнаружены при исследовании содержимого ротовой полости и прямой кишки. Механизм развития заболеваний урогенительного тракта, вызываемых анаэробными микроорганизмами, заключается в нарушении баланса организм-микроб, которое приводит к подавлению лактобацилл, а в ряде случаев, к их полному исчезновению и соответственно к активной пролиферации условно-патогенных микроорганизмов.

Кроме того, определенные виды анаэробных неспорогенных бактерий могут усиливать патогенность ГВ, вмешиваясь в фагоцитоз. Активно пролифицируя, условно-патогенная микрофлора может достичь достаточно высокой концентрации и вызвать заболевание. Ряд работ подтверждает мнение о том, что патогенность ГВ и других анаэробных неспорогенных бактерий связана именно с их количеством. Таким образом, широкое распространение ГВ в половых путях здоровых женщин разного возраста позволяет рассматривать эти микроорганизмы как комменсалы, которые только при определенных условиях способны приобретать и проявлять патогенные свойства.

Эпидемиология

БВ относится к заболеваниям, передаваемым половым путем, тем не менее, эпидемиология во многом остается неясной. С одной стороны, высокая частота обнаружения ГВ у здоровых женщин и детей позволяет рассматривать данные бактерии, как компонент нор-

мальной микрофлоры влагалища. В пользу эндогенного происхождения БВ свидетельствуют следующие факты: высокая частота обнаружения ГВ у женщин, использующих ВМС или пероральные гормональные контрацептивы; высокая частота обнаружения ГВ и развития клинических симптомов заболевания у беременных женщин, в послеродовом, послеабортном и менопаузальном периодах, что, вероятно, связано с напряжением адаптационных возможностей макроорганизма; высокая частота обнаружения ГВ при наличии заболеваний, передаваемых половым путем.

С другой стороны, в пользу полового пути передачи заболевания свидетельствуют следующие факты: одновременное выделение ГВ из половых путей женщин, страдающих БВ и от их сексуальных партнеров; высокая частота реинфекций у излеченных женщин, половые партнеры которых не лечились одновременно; достоверные случаи заболевания вагинозом здоровых женщин, после половых контактов с мужчинами, у которых обнаружены ГВ.

Клинические формы

Для описания клинических проявлений заболевания воспользуемся во многом несовершенной классификацией заболеваний урогенитального тракта, вызываемых анаэробными неспорогенными бактериями, разработанной сотрудниками Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера и включающей следующие формы: бактериальный вагиноз, гарднереллез верхних половых путей, гарднереллез беременных, гарднереллез мочевых путей женщин, гарднереллез мочевых путей мужчин, бактериальный вагиноз. Это наиболее распространенная клиническая форма БВ. Как правило, одновременно с ГВ выделяют разнообразные анаэробы (мобилункус, бактероиды, пептострептококки и др.), но при этом отсутствуют возбудители, передаваемые половым путем. Инкубационный период составляет в среднем 10 дней. Основной симптом – жалобы на выделения с неприятным запахом, которые отмечают лишь 50% больных.

Выделения чаще умеренные, реже – обильные, в ряде случаев, они могут вообще отсутствовать. У части больных не выявляют никаких объективных и субъективных симптомов. При наличии сопутствующей инфекции наблюдаются отек и гиперемия слизистой оболочки влагалища. Выделения при БВ серовато-белого цвета, гомогенные, без комков, обычно пенистые и густые, имеют специфический «рыбный» запах, который может быть постоянным, отсутствовать, появляться во время менструации и полового контакта. Принято считать, что возникновение неприятного запаха связано с образованием патологических аминов – путресцина и кадаверина, появляющихся в результате метаболизма ГВ и других анаэробных неспорогенных бактерий.

Патологические амины находятся в виде нелетучих солей, при подщелачивании переходят в летучие соединения, имеющие «рыбный» запах. На данном явлении основан тест с 10% КОН и физиологический тест-появление запаха во время менструации и полового контакта, т.е. когда среда имеет щелочную реакцию.

Гарднереллез верхних половых путей

Имеющаяся в настоящее время информация недостаточна. Инфицирование верхних отделов половой системы женщины может происходить гематогенно, лимфогенно, по протяжению (per continuitatem) и непосредственно через параметрий. Теоретически возможно развитие эндометритов, эндомиометритов, сальпингоофоритов. Описаны случаи гарднереллезной септицемии с тяжелым эндотоксическим шоком, причем, доказательством

ведущей роли ГВ является выделение чистой культуры из крови больных. В литературе имеются сведения о послеоперационных осложнениях у гинекологических больных, в связи с чем, рекомендуется всех женщин, у которых планируется операция, обследовать на БВ. Гарднереллез беременных. Заболевание встречается у 15–20% беременных.

Развитие внутриматочной инфекции в период беременности нехарактерно: активность материнских защитных механизмов возрастает, однако, имеются сведения об умеренном подавлении клеточного иммунитета. БВ может быть причиной различных нарушений течения беременности, послеродовых осложнений. Частота преждевременных родов у женщин с БВ в 2 раза выше, чем у здоровых беременных. Приблизительно у 10% преждевременно родивших женщин из амниотической жидкости выделяются ГВ и другие микроорганизмы, тогда как в норме амниотическая жидкость стерильна. Доказано, что БВ связан с гистологически подтвержденным хорионамнионитом, который также может быть причиной преждевременных родов, причем, в подобных случаях выделяют разнообразные бактерии, среди которых постоянно присутствуют ГВ.

Существует мнение, что ГВ часто бывают причиной послеродового и послеабортного сепсиса. Гарднереллез мочевых путей женщин. БВ практически всегда сопровождается инфекцией/колонизацией мочевых путей. Опубликованы данные о высокой частоте выделения ГВ из мочи практически здоровых женщин, особенно беременных. Интерпретация этих находок затруднена. Безусловно, анатомическая близость уретры и влагалища облегчает перенос гарднерелл из генитального тракта в мочевые пути, что подтверждается одновременным выделением микроорганизмов из двух очагов.

Значительное преобладание гарднерелл во влагалище позволяет предполагать, что перенос происходит из половых путей, а не наоборот. Очевидно, что критерием диагностики бактериурии должно быть количественное определение микроорганизмов. В настоящее время, принято считать верхней границей нормы 1000 КОЕ в 1 мл мочи, взятой катетером; кроме того, разработана рациональная техника взятия проб мочи, позволяющая установить локализацию патологического процесса на разных уровнях мочевой системы. Гарднереллез мочеполовых органов мужчин. У мужчин заболевание встречается значительно реже, чем у женщин. Отмечено, что ГВ у мужчин выделяются чаще в ассоциации с различными видами бактероидов.

Обычно в воспалительный процесс вовлекается передняя уретра, течение уретрита вялое, без выраженной клинической симптоматики, иногда пациенты отмечают скудное серозно-слизистое отделяемое; при микроскопическом исследовании мазков, окрашенных по Граму, обнаруживают преобладание эпителиальных клеток, «ключевые» клетки. Развитие осложнений теоретически возможно, но практически имеет место крайне редко. Опубликованы единичные сообщения о гарднереллезном простатите, цистите, эпидидимите и пиелонефрите. Общей характерной чертой гарднереллеза мужчин является скудость клинической симптоматики. Однако, некоторые авторы сообщают о манифестных формах заболевания. Возможно, в таких случаях, имеет место ассоциация ГВ с другими видами микроорганизмов и именно ассоцианты определяют особенности клинического течения. Следует отметить, что мужчины, страдающие малосимптомными или бессимптомными формами заболевания, могут служит источником заражения женщин.

Диагностика

Диагноз БВ может быть поставлен при наличии 3 из 4 перечисленных ниже признаков: «ключевые» клетки (более 20%) pH>4,5 кремообразные, гомогенные выделения положительная проба с 10% КОН. Методы лабораторной диагностики: микроскопические мето-

ды микробиологические методы, реакция иммунофлюоресценции (РИФ), ДНК-гибридизация, полимеразная цепная реакция (ПЦР). Наиболее широко в практической медицине распространены микроскопические методы исследования: исследование нативного материала, окрашивание 0,5% водным бриллиантовым зеленым, окрашивание по Граму РИФ. Материалами для исследования являются отделяемое цервикального канала, сводов и стенок влагалища, отделяемое уретры, взятое после массажа, моча.

Материал берут ложкой Фолькмана или желобоватым зондом, мочу для исследования собирают в пробирку или берут стерильным катетером, из канала шейки матки материал берут пинцетом. Самым распространенным методом лабораторной диагностики БВ является окраска мазков по Граму. Диагностическими критериями считают следующие: обнаружение «ключевых» клеток (более 20%) небольшое количество лейкоцитов (1–2 в поле зрения) уменьшение количества палочек Додерлейна или их полное отсутствие. Патогномоничным лабораторным признаком является наличие «ключевых» клеток. «Ключевые» клетки – это клетки влагалищного эпителия, сплошь или частично покрытые грамвариабельной, но чаще грамотрицательной флорой. При идентификации «ключевых» клеток наиболее результативно изучение клеточного края: на «ключевой» клетке находится большое количество прикрепленных бактерий, расположенных в основном хаотично (как на клеточных элементах, так и вне их). Характерен полиморфизм бактерий: кокки, палочки, диплобациллы разной величины с преобладанием мелких форм.

Довольно сложно дифференцировать ГВ с палочковой флорой, также часто встречающейся в урогенитальном тракте. Основными дифференциальными критериями являются мономорфность и упорядоченность расположения палочковых форм бактерий. При гарднереллезе во влагалищном отделяемом отмечается резкое снижение количества лейкоцитов, тогда как в цервикальном канале может наблюдаться лейкоцитоз. В отделяемом уретры содержание лейкоцитов в пределах нормы. При наличии смешанной инфекции лейкоцитоз обнаруживается во всех очагах.

Лактобактерии единичны или полностью отсутствуют. С целью видовой идентификации гарднерелл используется метод газожидкостной хроматографии. Метод сложен и его использование в практической медицине нецелесообразно. То же относится и к таким методам диагностики, как ДНК-гибридизация и ПЦР. Повсеместная культуральная диагностика не имеет смысла, поскольку вполне достаточно микроскопической диагностики, которая в данном случае высокоинформативна. Кроме того, культуральный метод очень трудоемок, требует немалых материальных затрат и более совершенных питательных сред. Весьма перспективен метод экспресс – диагностики гарднереллеза с помощью РИФ, отличающийся высокими чувствительностью и специфичностью, превышающими таковые культурального метода. Однако, внедрение РИФ в лабораторную практику затруднено, в связи с необходимостью использования коммерческих иммунных сывороток против гарднерелл.

Лечение гарднереллеза

Лечение БВ должно быть комплексным – этиотропным, патогенетическим и симптоматическим. При обнаружении смешанной инфекции назначают препараты, воздействующие на сопутствующие возбудители. Все штаммы ГВ чувствительны к пенициллину, ванкомицину, линкомицину, клиндамицину. Цефалоспорины и аминогликозиды менее активны. Приблизительно половина штаммов ГВ резистентна к тетрациклину.

Препараты группы метронидазола достаточно эффективны в отношении всех штаммов ГВ, особенно, in vivo. Препаратами выбора являются нитроимидазолы. Эти препараты применяются с начала 60-х годов как антимикробные агенты против бактерий и про-

стейших. При использовании в низких дозах они избирательно воздействуют на анаэробные микроорганизмы. Токсичность нитроимидазолов для аэробных микроорганизмов и клеток млекопитающих низка.

Рекомендуемые схемы лечения: тинидазол по 2 г однократно в первые 2 дня, затем по 0,5 г в течение 3-го и 4-го дней одновременно с аминокапроновой кислотой по 2 г 3 раза в день, метронидазол по 0.5 г 3 раза в день или по 0,5 г 2 раза в день в течение 7 дней, атрикан по 0,5 г 2 раза в день в течение 5 дней (данные препараты принимают после еды, запивая достаточным количеством жидкости; следует воздерживаться от приема алкоголя) клиндамицин (далацин Ц) по 300 мг 2 раза в день в течение 7 дней или по 150 мг 4 раза в день в течение 7 дней. Клиндамицин принимают с пищей, запивая водой (1 стакан). Установлена несовместимость клиндамицина с эритромицином, ампициллином, глюконатом кальция, магния сульфатом, аминофиллином и барбитуратами.

Препараты нитроимидазола и клиндамицин противопоказаны в 1 триместре беременности и в период лактации. Безопасность клиндамицина для детей в возрасте до 1 мес. не установлена. В связи с этим, разработаны и рекомендованы альтернативные схемы: клиндамицина фосфат в форме 2% вагинального крема (препарат cleocyn) вводится интравагинально с помощью стандартного аппликатора по 5 г 1 раз в сутки на ночь в течение 7 дней, метронидазол – гель 0,75% вводится интравагинально по 5 г 1 раз в сутки в течение 7 дней. Однако, в литературе имеются указания на то, что метронидазол достаточно хорошо всасывается из слизистой оболочки влагалища и попадает в общий кровоток, поэтому даже местное применение этого препарата во время беременности противопоказано. В подобных случаях предлагается использовать пимафуцин в виде интравагинальных свечей на ночь в течение 7-10 дней.

Пимафуцин обладает выраженной противогрибковой и противопротозойной активностью. Клинический опыт также позволяет рекомендовать пимафуцин с целью лечения БВ беременных. Надежно использование 2% вагинального крема клиндамицина в течение 7 дней, солкотриховака и тиберала. Последний препарат дает сегодня наилучшие результаты в лечении заболевания. Он применяется по 1 табл. 2 раза в день в течение 5 дней. На втором этапе проводится нормализация флоры влагалища с помощью эубиотиков (ацилакт, лактобактерин и др.). Это позволяет восстановить нарушенную микрофлору влагалища и обеспечить надежное излечение.

Комплексная терапия БВ включает местное лечение: массаж и инстилляции в уретру, спринцевания и влагалищные ванночки, микроклизмы с соответствующими местнодействующими средствами, выбор которых зависит от этиологии воспалительного процесса (наличие или отсутствие смешанной инфекции). Критериями эффективности лечения БВ являются динамика клинических симптомов заболевания, исчезновение субъективных ощущений, нормализация лабораторных показателей. Эффективность лечения следует оценивать через 10-12 дней после завершения терапии. Во время лечения и контрольного наблюдения целесообразно использование барьерных методов контрацепции. Половым партнерам следует рекомендовать обследование и при необходимости лечение. Кроме того, проф. Б. Глухеньким было предложено использование кирина в комплексном лечении гарднереллеза.

Кирин использовался у 33 больных с гарднереллезным вагинитом в комбинации с метронидазолом. Контрольную группу составили 43 пациента, где применялся только метронидазол. Кирин назначался однократно в дозе 4 г, метронидазол в контрольной и исследуемой группе вводился перорально по 0,5 г. два раза в сутки, в течение 7 дней. Клинико-бактериологическое излечение после первого курса терапии наступило у 23 из 33 больных исследуемой группы (кирин + метронидазол) и только у 21 из 45 пациентов конт-

рольной группы (метронидазол). Проведенное исследование продемонстрировало, что кирин может улучшить результаты комбинированной терапии гарднереллеза.

Комплексная терапия БВ включает местное лечение: массаж и инстилляции в уретру, спринцевания и влагалищные ванночки, микроклизмы с соответствующими местнодействующими средствами, выбор которых зависит от этиологии воспалительного процесса (наличие или отсутствие смешанной инфекции). Критериями эффективности лечения БВ являются динамика клинических симптомов заболевания, исчезновение субъективных ощущений, нормализация лабораторных показателей. Эффективность лечения следует оценивать через 10-12 дней после завершения терапии. Во время лечения и контрольного наблюдения целесообразно использование барьерных методов контрацепции. Половым партнерам следует рекомендовать обследование и при необходимости лечение.

Бактериальный вагиноз и вагинальный кандидоз. Бактериальный вагиноз – инфекционный невоспалительный синдром, который характеризуется дисбиозом влагалищного биотопа, когда исчезает лактофлора и начинают безудержно размножаться строго анаэробные микроорганизмы. В 1954 году был выделен микроб Hacmophylus vaginalis, который был признан единственным возбудителем неспецифического вагинита. В дальнейшем микроб был более точно идентифицирован и выделен в особую группу. Он получил название гарднереллы в честь первооткрывателя. В начале 80-х годов было доказано, что при этом заболевании ведущую роль играют строгие анаэробы. А в 1984 году оно получило название бактериального вагиноза, что подчеркивало его невоспалительный характер и отсутствие полового пути передачи.

Это доказывается тем, что среди мужчин такая нозологическая форма не регистрируется. Микроэкология влагалища определяется уровнем гликогена в эпителиальных клетках, который зависит от функции яичников, т.е. от эстрогенной насыщенности. Это определяет pH содержимого и концентрацию лактобацилл. Состояние местного иммунитета определяет абсолютное доминирование лактофлоры и низкое значение pH (< 4,5) в микроэкологии влагалища. При оценке влагалищного микроценоза мы, в первую очередь, обращали внимание на общее количество бактерий. В норме оно составляет 10^7-10^8 колоний образующих бактерий на 1 г влагалищного содержимого (КОЕ/мл). При этом, 95–98% от этого числа составляют разнообразные лактобактерии. Главная их черта – это высокая продукция перекиси водорода.

Вторая отличительная черта нормального микроценоза состоит в низкой концентрации всех остальных бактерий, которых может быть до 30-50 видов. Это все те условно патогенные микроорганизмы, которые вызывают гнойно-воспалительные заболевания в акушерстве и гинекологии. Но их очень мало. При бактериальном вагинозе общее количество бактерий возрастает до астрономических цифр (до 10^{10}-10^{12}). При этом исчезает лактофлора, а преобладает симбиоз гарднерелл и облигатных анаэробов. О причинах этих изменений мы знаем очень мало. Механизмы изменения VAG-экосистемы можно представить в виде следующей схемы: – гормональные факторы – микробный антагонизм – лечение антибиотиками – нарушение иммунокомпетентности – сексуальное поведение.

Следует отметить, что под нарушением иммунокомпетентности следует понимать, прежде всего, местные нарушения, т.к. исследования показали, что общее состояние иммунной системы у здоровых женщин и женщин с бактериальным вагинозом отличается мало. В исследованиях на подростках было доказано, что частота выявления бактериального вагиноза (BV) одинакова и у тех, которые живут половой жизнью, и у тех, которые половых контактов не имели.

У лесбиянок, среди которых очень мало заболеваний, передающихся половым путем, частота бактериального вагиноза та же, что и в общей популяции. У мужчин ни гардне-

реллы, ни облигатные анаэробы не обнаруживаются, видимо в силу того, что они не приживаются ни на коже полового члена, ни в уретре. Лечение полового партнера не гарантирует от рецидивов заболевания, которые при BV достигают 50-60% в течение года после лечения.

Проблема лечения BV стоит очень остро, т.к. количество осложнений у таких пациентов после всех оперативных вмешательств, увеличивается очень резко (в 3-6 раз). Установлена эпидемиологическая связь неопластических процессов шейки матки с BV. При BV увеличивается риск заражения венерическими заболеваниями. Это связано с резким падением окислительно-восстановительного потенциала тканей и увеличением pH вагинального секрета. В акушерской практике при BV наблюдаются преждевременные роды, излитие вод, внутриутробное инфицирование плода, послеоперационные эндометриты.

Среди женщин, которые считают себя здоровыми и не предъявляют жалоб, BV выявляется в 24% случаев, по микробиологическим данным. Только у 50% женщин состояние влагалищного микроценоза можно представить как норму. У женщин, которые имеют какие-либо жалобы, BV выявляется в 62% случаев. Данные Санкт-Петербургских исследователей говорят о том, что частота выявления BV среди таких женщин может достигать 80%.

Среди беременных BV встречается у 30% женщин. Все вышесказанное доказывает, что проблема лечения и диагностики BV стоит очень остро.

Диагностика BV: клиническая, микробиологическая, скрининг верификация диагноза 1. pH > 4,5 2. «ключевые сетки», микроскопия вагинального мазка, окрашенного по Граму 3. Положительный аминный тест. 4. Наличие гомогенных обильных выделений, которые равномерно распределяются по стенкам влагалища. Специфичность и чувствительность предложенных тестов составляет 60-80%, поэтому диагноз устанавливают по трем положительным тестам из четырех. Верификация диагноза всегда должна быть микробиологической и происходит на основании микроскопии вагинального мазка, окрашенного по Граму.

Чувствительность и специфичность этого метода достигает 100%. В настоящее время, мы считаем, что должна быть интегральная оценка влагалищного микроценоза. В первую очередь, должны быть исключены ЗППП. Что касается определения условнопатогенной флоры, то должна быть проведена и микроскопия вагинального мазка и посев вагинального отделяемого на факультативно анаэробную флору. При окраске мазка по Граму, в первую очередь, оценивается облигатно анаэробный компонент, потому что, если присутствуют в огромном количестве те микроорганизмы, которых в норме не бывает, то это характерно для BV. Поэтому сначала оценивают общее количество микроорганизмов и их отдельные морфотипы. Обязательно обращают внимание на выраженность лейкоцитарной реакции, т.к. BV может сочетаться с любой другой патологией.

Необходимо оценить состояние эпителиальных клеток, т.к. здесь можно определить состояние эстрогенной насыщенности, поверхностный, промежуточный и парабазальный слои клеток – выделить. Определяется также наличие «ключевых» клеток, которые поистине являются ключевыми в диагностике BV. Посев на факультативно-анаэробные компоненты должен включать в себя посев на условнопатогенные бактерии (факультативные анаэробы), на грибы, на лактобациллы и генитальные микоплазмы. Имея все эти результаты, мы можем провести интегральную оценку генитального микроценоза, наличие отклонений и необходимость лечения. При лечении BV целью является восстановление нормальной экосистемы.

Для этого необходимо ликвидировать все микроорганизмы, ассоциированные с BV. В основном, это – облигатные анаэробы. Необходимо также восстановить лактофлору и не

допустить роста других патогенных возбудителей. Если этого не сделать, то очень часто после первого лечения BV возникают вагиниты «пинг-понг».

На фоне уничтожения облигатных анаэробов возникает другой этиологический агент, который при этом получает селективные преимущества, размножается очень интенсивно и приводит к развитию той же клинической симптоматики. Но лечение здесь уже потребуется другое. При выборе этиотропного лечения, следует иметь ввиду, что наиболее эффективными препаратами являются метронидазол и клиндамицин.

Спорным считается применение аугментина и уназина. Их эффективность не превышает 80%, тогда как эффективность метронидазола и клиндамицина достигает 95-98%. Неэффективными считаются ампициллин, эритромицин, полижинакс, тетрациклин, гель уксусной кислоты, любые орошения. После лечения BV, необходимо провести контроль на отсутствие грибов, т.к. основное осложнение после лечения антианаэробными препаратами – это кандидозы, которые регистрируются в 15-20% случаев. При лечении кандидозов препаратом выбора является дифлюкан (150 мг per os однократно) в сочетании с вагинальным лечением далацином или флагилом.

Профилактическое применение дифлюкана предотвращает развитие осложнений. При сочетании вагиноза и кандидоза применение дифлюкана необходимо в качестве лечения. Для восстановления лактофлоры применяют лактобактерин в течение 7-10 дней вагинально. Основными осложнениями этиотропного лечения являются кандидозы и высокий титр условно патогенных микроорганизмов, в котором, как правило, присутствуют энтеробактерии, стафилококки, энтерококки и т.д. Они устойчивы к метронидазолу и клиндамицину, поэтому лечить такое состояние очень сложно. В тех случаях, где отмечается высокий титр условно патогенных микроорганизмов, число рецидивов BV в течение полугода после лечения встречается в 24% случаев.

На фоне применения эубиотиков, число рецидивов снижается почти в 2 раза. В заключении необходимо остановиться на кандидозах, количество которых в последнее время значительно выросло. Если 15 лет назад грибы во влагалищном отделяемом встречались в 3-4% случаев, то в настоящий момент, этот показатель достигает уровня 18-20%. Увеличивается число рецидивирующих и длительно текущих форм вагинального кандидоза, причем, этиологическая роль грибов Candida ne-albicans возросла до 20%. Эффективность терапии антимикотиками значительно снижается в этом случае. Основная масса противогрибковых препаратов предназначена для лечения грибов рода albicans. Гинекологи и венерологи до сих пор считают кандидозы заболеванием, передающимся половым путем. Но следует говорить о них как о заболеваниях, сопутствующих ЗППП.

Грибы рода Candida могут вести себя, как абсолютный патоген и быть моновозбудителем вагинального кандидоза, который сочетается с гонореей, хламидиозом. В то же время, грибы·могут вести себя, как условный патоген и участвовать в полимикробных ассоциациях, вызывающих вагиниты и вагинозы. В этом случае, лечение этой патологии только антимикотиками не принесет успеха.

В настоящее время выделяют 3 формы Candida-инфекции.

1. Нормоценоз. У 10-15% женщин грибы находятся в очень низком титре и не определяются при микроскопии мазка. У таких женщин нормальные показатели pH и соотношение сукцинат/лактат. При этом определяется высокий титр лактобацилл.

2. Истинный кандидоз, когда грибы выступают в роли моновозбудителя. При этом состоянии, определяются нормальные показатели pH и соотношения сукцинат/лактат, высокие титры лактобактерий, отсутствие облигатно анаэробных бактерий. При всем этом, определяется высокий титр грибов Candida.

3. Вариант вагиноза, когда примерно в 15-20% случаев определяется сочетание вагиноза и кандидоза. При этом показатели pH поднимаются до 6, резко меняется соотношение сукцинат/лактат т.к. молочной кислоты становится очень мало. Лакто-бациллы определяются в низком титре или они исчезают вовсе, в высоком титре присутствуют грибы Candida. Также в высоком титре высеиваются анаэробы.

При первом состоянии, лечения обычно не требуется. При втором состоянии, эффективным будет лечение антибиотиком, а в третьем случае, не будет эффекта без применения антимикробного препарата в сочетании с антибиотиком.

Из предрасполагающих факторов, следует отметить сахарный диабет. Кандидоз может быть первым маркером развивающегося сахарного диабета, особенно у девочек. Первый антимикотик нистатин был открыт в 1950 г. и до настоящего времени их насчитывается немного. Это объясняется тем, что первые антимикотики очень долго оставались довольно эффективными. В последнее время, появились новые синтетические антимикотики, которые обладают меньшей токсичностью. Они вмешиваются в синтез ферментов, которые строят стенку гриба. Это чревато возникновением частых мутаций, что способствует формированию устойчивости.

Поэтому проблема определения чувствительности гриба в последнее время стоит очень остро. В заключении необходимо остановиться на свойствах Дифлюкана, который является препаратом нового поколения. Он способен создавать большую концентрацию в тканях влагалища. После однократного приема Дифлюкана в дозе 150 мг per os в течение 3-4 суток поддерживается терапевтическая концентрация в тканях влагалища, т.е. одна доза является курсовой. При лечении кандидозов эффективность дифлюкана клинически достигала 90%, а микологическая – 84%. Побочных эффектов почти не отмечалось.

Лечение дифлюканом отличается высокой комплаентностью, которая во многом определяется возможностью однократного приема препарата per os, независимо от приема пищи. Эффективность лечения во многом зависит от степени обсеменения, и от рода возбудителей. При кандидозе, вызванном грибами рода C. albicans, в случае низкой и средней степени обсеменения эффективность лечения после приема одной капсулы, достигает 100%. При высокой степени обсеменения 100% элиминации гриба удавалось добиться после второй капсулы, прием которой назначался через 6 дней после первой. При кандидозе, вызванном грибами рода Candida не-albicans, эффективность лечения дифлюканом составляет 75% независимо от количества принятых доз.

Мобилункусы (род Mobiluncus)

Морфология. Тонкие, изогнутые палочки размером 0,4+0,6x1,2+4,0 мкм, с заостренными концами; располагаются по одиночке, либо парами в виде «крыла чайки». Грамвариабельны, могут окрашиваться грамотрицательно, но структура клеточной стенки характерна для тенерикутных бактерий. Подвижны, имеют латеральные или субполярно расположенные жгутики. Типовой вид *Mobiluncus curtisii.*

Биохимическая активность. *Хемоорганотрофы.* Метаболизм ферментативного типа, каталазаотрицательны, индол отрицательны.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

17. 8. Спирохеты и другие спиральные, изогнутые бактерии

Таксономия. Относятся к порядку *Spirochaetales.*

Морфология. Представляют собой подвижные, спиралевидные бактерии размерами 0,1+0,3x5-5-250 мкм. Тело спирохет состоит из многослойной *наружной клеточной оболочки,* которая покрывает *протоплазматический цилиндр.* Протоплазматический цилиндр представляет собой цитоплазму, окруженную цитоплазматической мембраной. Вокруг протоплазматического цилиндра, в толще клеточной оболочки, находится двигательный аппарат, представленный периплазматическими *жгутиками (фибриллами).* Фибриллы расположены под наружной оболочкой. т.е. между оболочкой и протоплазматическим цилиндром. Один конец каждой фибриллы закреплен вблизи полюса цитоплазматического цилиндра, другой – остается свободным. Из обоих концов клетки, выходит, одинаковое количество фибрилл. Общее число периплазматических фибрилл на клетку варьирует от 2 до более 100, в зависимости от вида. Периплазматические фибриллы являются двигательным аппаратом спирохет, обеспечивая 3 типа движения в жидкой среде: перемещение, вращение вокруг продольной оси и изгибание.

По Граму спирохеты окрашиваются отрицательно. Дифференциальным методом окраски является метод Романовского–Гимзы. Интенсивность окраски по этому методу родоспецифична.

Биохимические и культуральные свойства. *Хемоорганотрофы.* Встречаются аэробы, микроаэрофилы, факультативные и строгие анаэробы. В качестве источников углерода и энергии используют углеводы, аминокислоты, липиды в зависимости от рода. Способность размножаться на искусственных питательных средах, зависит от таксономического положения и условий обитания. Культивируемые формы требуют присутствия в питательной среде сыворотки, тканевых экстрактов. Растут медленно. Некоторые представители порядка могут в неблагоприятных условиях существования образовывать цисты и L-формы. Делятся поперечным делением; также возможно размножение через цистообразование и распад на зерна.

Распространение в природе. Среди спирохет встречаются как свободноживущие в воде, почве формы, так и ассоциированные с различными животными. В патологии человека имеют значение 3 рода: *Treponema, Borrelia, Leptospira.*

Трепонемы (род *Treponema)*

Морфология. Род Treponema включает более 10 видов и подвидов. Клетки трепонем имеют форму спиралевидных палочек размером 0,1+0,4x5^-20 мкм. Плохо окрашиваются по Граму и Романовскому–Гимзе. Выявляются при импрегнации серебром, а также с помощью фазово-контрастной и темнопольной микроскопии. Имеют более одной двигательной фибриллы на каждом полюсе клетки. В жидких средах осуществляют одновременно вращательное и поступательное движения.

Биохимические свойства. В качестве источника углерода и энергии используют различные углеводы и аминокислоты. Патогенные для человека виды являются микроаэрофилами. Они не культивируются на искусственных питательных средах. Непатогенные трепонемы – строгие анаэробы. Растут на сложных питательных средах, содержащих сыворотку, кусочки почечной или мозговой ткани кролика, в анаэробных условиях при 35 °С. Среди культивируемых трепонем встречаются как ферментирующие, так и не ферментирующие углеводы виды. Многие виды продуцируют индол.

При неблагоприятных условиях существования способны образовывать сферические формы (цисты).

Распространение в природе. Среди трепонем свободноживущие в природе формы не встречаются. Трепонемы обитают в ротовой полости, пищеварительном тракте и половых органах различных животных.

У человека в составе микрофлоры ротовой полости встречаются следующие виды трепонем: *T. denticola, T. macrodenticum, T. orale, T. vincentii.* Последний вид в ассоциации с фузобактериями участвует в развитии фузоспирохетоза – некротической ангины Венсана–Плаута.

В патологии человека имеют значение 2 вида – *T. pallidum,* разделенный на 3 подвида: *pallidum* (возбудитель сифилиса), *endemi-cum* (возбудитель эндемического сифилиса), *pertenue* (возбудитель фрамбезии) и *T. carateum* (возбудитель пинты).

Возбудитель сифилиса (T. pallidum)

Treponeta pallidum (бледная спирохета) – открыта в 1905 г. Ф. Шаудином и Э. Гофманом.

Морфология.

Treponeta pallidum (лат. Treponema – вид спирохет) -это тонкие, гибкие клетки с 12-14 завитками. Они не имеют видимой в микроскоп осевой нити или осевого гребня.

Концы трепонем заострены или закруглены. Величина трепонем 10-13 мкм в длину и о,13-0,15 мкм в ширину. Содержание Г+Ц в ДНК нуклеоида находится в пределах 32-50%.

При электронно-микроскопическом исследовании продольных и поперечных ультратонких срезов хорошо видна трехслойная наружная мембрана, под которой расположены базальные тела; к ним прикреплены нитевидные образования – фибриллы диаметром 17 нм. На каждом конце клетки имеется по три фибриллы. В цитоплазме находятся рибосомы, вакуоль нуклеоида и мезосомы.

Размножение происходит путем поперечного деления. Трепонемы подвижны (обладают вращательным поступательным, сгибательным и волнообразным движением), плохо воспринимают красители. По методу Романовского - Гимзы окрашиваются в бледно-розовый цвет; это объясняется скудностью нуклеопротеидов в их теле.

Под влиянием факторов внешней среды и лечебных препаратов, трепонемы, в ряде случаев, свертываются в клубки, образуя цисты, покрытые непроницаемой муциноподобной оболочкой; они длительное время могут находиться в организме больного в латентном состоянии; при благоприятных условиях цисты превращаются в зерна, а затем в типичные спиралевидные трепонемы.

Цистообразование – одна из защитных форм трепонем, позволяющая им противостоять действию препаратов, применяемых для лечения больных сифилисом.

Культивирование.

Бледная трепонема – весьма требовательный микроорганизм. Она не растет в обычных средах, развивается при температуре 35 °С в анаэробных условиях, в средах, содержащих почечную или мозговую ткань; крайние границы роста 34-40 °С. Хорошо развивается бледная трепонема на хорионаллантоисной ткани куриного зародыша, в кроличьей сыворотке с добавлением кусочков мозговой ткани под слоем вазелинового масла.

Получение чистых культур трепонем представляет большие трудности. Продолжительное культивирование трепонем сопровождается утратой их вирулентности. Такие культуры адаптированные к питательной среде, называются «культуральными», в отличие от «тканевых», обладающих свойствами патогенности и сохраняющихся в лабораторных

условиях на кроликах путем пассажей. Культуральные штаммы различаются между собой по ряду признаков: изменению pH среды, степени анаэробиоза, индолобразованию, продуцированию сероводорода, отношению к углеводам. Многие культуральные штаммы вызывают гемолиз эритроцитов человека, барана, лошади, кролика морской свинки.

Антигенная структура.

Серологические варианты не установлены. Трепонема сифилиса содержит в своем составе полисахаридный, липидный и протеиновый комплексы, обладающие весьма сложными антигенными свойствами.

Резистентность.

Бледная трепонема в гомогенатах пораженных тканей длительно сохраняется на холоде. От действия температуры 45-48 °С, она погибает в течение 1 часа, при 55°С – через 15 минут; чувствительная к тяжелым металлам (ртуть, висмут, мышьяк), кислотам и другим дезинфицирующим веществам, а также к высушиванию.

Эпидемиология.

Все кожные элементы сифилиса независимо от природы болезни содержат большее или меньшее количество бледных трепонем и, следовательно, при благоприятных условиях, любое высыпание может стать источником заражения. Наиболее опасными в этом отношении являются сыпи вторичного периода, особенно локализующиеся на половых органах или в полости рта.

Неповрежденные кожа и слизистые оболочки непроницаемы для бледных трепонем. Внедрение их в организм происходит обычно через небольшие и даже микроскопические малые повреждения, главным образом, на гениталиях и в полости рта, а также на других участках (очень редко). Повреждения кожи на руках опасны для медицинского персонала, особенно стоматологов, хирургов и акушеров – гинекологов.

Сифилисом, чаще всего, заражаются при половом общении. Передача данной инфекции через различные предметы возможна, но играет второстепенную роль.

Хотя, первичное заболевание, чаще всего, проявляется на гениталиях, экстрагенитальная локализация его также не является редкостью. Чем больше длится заболевание, тем меньше его контагиозность. Через два года после заражения, она столь незначительна, что даже после тесного контакта с больным, передача инфекции обычно, не происходит.

Различные биологические жидкости: слюна, пот, моча, слезы, грудное молоко, кровь – являются заразными у больных ранним сифилисом, так как в местах образования экскретов и на пути их выделения могут располагаться сифилитические очаги, откуда бледные трепонемы проникают в экскрет.

Течение

Сифилис, в большинстве случаев, несмотря на индивидуальные отклонения, последовательно проходит в своем развитии определенные периоды. Различают инкубационный, первичный, вторичный и третичный периоды сифилиса.

Инкубационный период длится от момента заражения до появления на месте внедрения трепонемы небольшой эрозии или язвы, так называемого твердого шанкра. Длительность инкубационного периода индивидуальна, в среднем 20-40 дней.

Никаких клинических симптомов, указывающих на заражение, в это время отметить не удается, хотя трепонемы уже в первые дни инкубации током крови и лимфы разносятся по всем организму.

Первичный период.

Продолжается от появления твердого шанкра до возникновения первых генерализованных высыпаний.

Средняя продолжительность первичного периода 6-7 недель с небольшим отклонениями. Обычно, через неделю, после появления твердого шанкра, увеличиваются близлежащие к месту расположения шанкра лимфатические узлы (регионарный лимфаденит). У части больных отмечается также воспаление лимфатического хода, идущего от шанкра к увеличенным лимфатическим узлам (сифилитический лимфангоит). Никаких других симптомов в первичный период, у большинства больных нет. Иногда в конце первичного периода, развиваются неспецифические гриппоподобные симптомы (общее недомогание, слабость, умеренная лихорадка, боли в костях, суставах, мышцах, головные боли, усиливающиеся к ночи, иногда малокровие).

К концу первичного периода увеличиваются все лимфатические узлы (сифилитический полиаденит). На основании результатов специфических серологических реакций (реакция Вассермана и осадочные пробы) выделяют первичный серонегативный период (приблизительно первые 3-4 недели после появления твердого шанкра, когда серологические реакции еще отрицательны) и первичный серопозитивный период (последующие 3-4 недели, когда реакция Вассермана и осадочные пробы уже положительны).

Вторичный период.

Появление на коже слизистых оболочках различных сыпей (сифилидов), которые могут самопроизвольно (без лечения) исчезнуть и рецидивировать через различные промежутки времени. У одних больных – элементы сыпи обильные и яркие, у других – выражены настолько слабо, что нередко их не замечают.

Помимо кожи и слизистых оболочек, в этом периоде поражаются надкостница, кости, внутренние органы, органы чувств, нервная система, сохраняются увеличенные лимфатические узлы. Серологические реакции (Вассермана, осадочные, иммобилизации бледных трепонем) во вторичном периоде положительны, почти у всех больных. Средняя длительность периода – 3 года. В течение вторичного сифилиса выделяют: вторичный свежий сифилис (первая вспышка сыпи), вторичный рецидивный сифилис (последующие повторные вспышки сыпи) и латентный или скрытый сифилис (промежутки между отдельными рецидивами).

Третичный (гуммозный) период.

Отмечается не у всех больных. Для него характерны в любом органе и ткани, своеобразные очаги поражения, которые, развиваясь, вызывают их разрушение, приводят к тяжелым, необратимым анатомическим и функциональным нарушениям. Третичный сифилис может тянуться даже без лечения неопределенно долго, зачастую всю жизнь. Так же как и вторичный, третичный сифилис протекает волнообразно.

Различают активный третичный сифилис с явными признаками болезни, скрытый (латентный) третичный сифилис, когда эти признаки отсутствуют.

Продолжительность скрытых периодов может исчисляется многими годами, а порой и десятилетиями. Реакция Вассермана и осадочные пробы у больных третичным сифилисом, часто отрицательны (до 3% случаев), что указывает на качественное изменение реакции организма на сифилитическую реакцию.

К поздним проявлениям относится нейросифилис: сухотка спинного мозга и прогрессивный паралич.

Некоторые ученые выделяют спинную сухотку и прогрессивный паралич в особую группу четвертичного сифилиса, однако, большинство сифилидологов рассматривают эти поражения, как своеобразные проявления третичного сифилиса.

Указанная выше последовательность смены периодов сифилиса, не столь закономерна, как представлялась раньше. Течение может широко варьировать даже без лечения, тем более, оно изменяется под влиянием приема различных лекарственных средств. В настоящее время, выделяют несколько вариантов течения данной болезни:

1) обычное течение, о котором говорилось выше;

2) злокачественное течение – встречается чрезвычайно редко и характеризуется, помимо резко выраженной сыпи (гангренозный шанкр, пустулезно – язвенная сыпь), разнообразными серьезными расстройствами общего состояния организма (анемия, кахексия, упорные мучительные головные боли) и быстрым развитием признаков третичного сифилиса;

3) стертое течение, когда вторичные рецидивы и третичные явления полностью отсутствуют, а кожные изменения ограничиваются только шанкром и свежей розеолой; в дальнейшем развиваются явления нейросифилиса; иногда несколько лет держится скрытый (асимптомный) менингит, который можно выявить только исследованием спинномозговой жидкости;

4) скрытый сифилис (длительное бессимптомное течение) – без видимых явлений. Конечно «невидимость» здесь относительна, т.к. во многих случаях, патология может быть выявлена исследованиями крови (особенно РИБП), спинномозговой жидкости, рентгенологическими неврологическими и другими методами;

5) сифилис без твердого шанкра или трансфузионный сифилис; если инфекция заносится непосредственно в кровь, то проявляется она через 2-2 × месяца, сразу сыпями вторичного периода и положительными серологическими реакциями, твердый шанкр и регионарный лимфаденит отсутствуют; в дальнейшем течение трансфузионного сифилиса не отличается от обычного.

6) Самоизлечение сифилиса теоретически допустимо. Однако, это происходит крайне редко. Кроме того, возможность длительного скрытого течения сифилитической инфекции не позволяет с абсолютной точностью говорить о полном выздоровлении подобных больных.

Клинические проявления сифилиса

Первичный период.

Для первичного периода сифилиса, главными признаками является твердый шанкр и поражения лимфатических узлов и сосудов. В конце этого периода, у отдельных больных наблюдаются общие симптомы (головная боль, слабость, недомогание, боли в костях, суставах, мышцах, усиливающиеся по ночам) t° тела (иногда 39-40°С), анемия, умеренный лейкоцитоз.

Твердый шанкр (ulcus durum).

Он может развиться на любом участке кожного покрова или слизистых оболочек, но всегда только на месте внедрения инфекции. При врожденном сифилисе никогда не бывает шанкра.

Вешение признаки твердого шанкра зависят от локализации, вторичной инфекции и т.д.

В типичных случаях, твердый шанкр представляет собой поверхностную, гладкую, резко отграниченную, безболезненную эрозию или язву с правильными округлыми или овальными очертаниями, синюшно–красного цвета, отделяющую скудную сукровичную жидкость. При ощупывании под ней обнаруживают плотно-эластический инфильтрат, что служит одним из основных признаков твердого шанкра.

Размеры шанкра обычно небольшие (с чечевицу, ноготь мизинца). Иногда он очень мал.

Дно эрозии гладкое, блестящее от выделяющейся серозной жидкости, нередко, приподнят над общим уровнем кожи, находящимся под ней инфильтратом. Края или лежат на

одном уровне с дном или покато опускаются к нему. Цвет эрозии чаще синюшно-красный. У пожилых людей, страдающих атеросклерозами и у алкоголиков на этом фоне видны отдельные темноватые точки кровоизлияний (петехиальный твердый шанкр). Нередко эрозия обычно в центре; покрыта вязкой, плотно сидящей серовато-желтой пленкой (диортероидный, твердый шанкр).

Примерно у 40% больных эрозия трансформируется в более или менее глубокую язву с плотными краями и дном, покрытым грязно-серым налетом; отделяемое здесь более обильное, иногда с примесью гноя.

Твердый шанкр существует в среднем 1-1 ? месяца, даже без лечения, постепенно заживает на поверхности. Инфильтрат обычно рассасывается медленно, но и он затем исчезает. На его месте никаких следов, как правило, не остается лишь при рассасывании кожного уплотнения на коже иногда длительно (месяцы и годы) наблюдается пигментное пятно темно-бурого, порой почти черного цвета.

После язвенного твердого шанкра остается поверхностный округлый рубец, окруженный кольцом пигментации.

В 60% случаев твердый шанкр одиночен, множественность шанкров объясняется внедрением трепонем сразу через несколько повреждений кожного покрова.

«Скрытый» шанкр

У мужчин он локализуется в уретре, обычно в ладьевидной ямке, симптомами напоминает подострую гонорею. Выделения цвета мясных помоев, паховые бубоны и уплотнение полового члена, обнаруживаемое при ощупывании, помогает установить диагноз.

У женщин твердый шанкр в 12-20% случаев, локализуется на шейке матки, не вызывая субъективных ощущений, он может быть обнаружен лишь при специальном исследовании зеркалами. При подобной локализации сопутствующий бубон обычно развивается глубоко в тазовых лимфатических узлах.

Кроме типичных твердых шанкров и их разновидностей, существуют так называемые ***атипические***, распознавание которых затруднено.

Индуративный отек (oedema indurativem).

В этих случаях, уплотнение под эрозией распространяется далеко за ее пределы, увеличивая тем самым, в несколько раз пораженный участок, который становится пружинящее – плотным, приобретает бледно розовую или синюшно-красную окраску. Поражение это довольно стойкое. Без лечения может держаться несколько месяцев. Обычная локализация – нижняя губа, крайняя плоть. Большие половые губы.

Шанкр – панариций.

Внешне и по субъективным ощущениям, напоминает обычный панариций. Чаще поражается дистальная фаланга указательного пальца: она припухает, становится бордово-красной, мягкие ткани вплоть до надкостницы плотно инфильтрированы.

Шанкр – панариций нередко имеет вид глубокой, с неровными краями и дном язвы, покрытой грязно-серым налетом. Сходство с панарицием усиливают резкие боли. Процесс затягивается на многие недели, ноготь нередко при этом отторгается.

Шанкр – амигдалит.

Его следует отличать от типичных шанкров на миндалинах. Миндалина распухает, краснеет, становится плотной. Глотание болезненно, t^0, появляются общее недомогание и головные боли, особенно в области затылка. Сопутствующий бубон также нередко болезненный. Односторонность поражения, резкая плотность миндалины, порой характерный вид сопутствующих бубонов. Длительность течения и неэффективность лечения, применяемого при обычных ангинах, – все это позволяет правильно распознать эту форму шанкра.

Смешанный шанкр.

Развивается чаще при одновременном заражении сифилисом и мягким шанкром. Вследствие разницы в длительности инкубационных периодов обеих инфекций, вначале развивается язва мягкого шанкра, которая начиная с 4-5-ой недели постепенно уплотняется, очищается, края ее выравниваются и принимают вид, свойственный твердому шанкру, а через неделю появляются и характерные сопутствующие бубоны. При смешанном шанкре, развитие признаков вторичного периода сифилиса нередко запаздывает на 3-4 месяца; то же может быть с реакцией Вассермана в крови.

Регионарный лимфаденит. (сопутствующий бубон)

Это постоянный признак первичного сифилиса. Развивается всегда в лимфатических узлах, близлежащих к месту расположения шанкра. Так, например, при локализации шанкра на половых органах бубон развивается в паховых областях; при локализации на соске – в подмышечной впадине.

Лимфатические узлы значительно увеличены, безболезненны, плотные. Подвижные, кожа над ними не изменена. Поражены, как правило, несколько желез.

Регионарный лимфаденит возникает в среднем через неделю после появления твердого шанкра. При твердом шанкре, осложненном вторичной инфекцией, сопутствующий бубон может принять островоспалительный и даже гнойный характер.

Регионарный лимфаденит.

Иногда между твердым шанкром и сопутствующим бубоном под неизменной кожей прощупывается плотных подвижный и безболезненных тяжей толщиной от струны до гусиного пера. Обычная локализация его – спинка полового члена.

Сифилитический полиаденит.

После возникновения сопутствующего бубона постепенно увеличиваются все лимфатические узлы, т.е. развивается сифилитический полиаденит. Лимфатические узлы плотные, подвижные, безболезненные. Полностью развивается полиаденит, к концу первичного периода. Это один из важнейших признаков вторичного сифилиса.

Осложнения твердого шанкра.

Баланит – воспаление головки полового члена, баланопостит – воспаление головки и внутреннего листка крайней плоти. У женщин соответственно наблюдается вульвит и вульвовагинит. Эти осложнения могут возникнуть при нарушении гигиены половых органов, при скоплении разлагающейся смегмы и мацерации эпидермиса, что создает условия для усиленного размножения стрептококков, стафилококков, (дрожжеподобных) грибов. В таких случаях, клиническая картина твердого шанкра оказывается замаскированной. Проводимое при этом противовоспалительное лечение (ванночки, примочки с физиораствором), позволяет выступить на первый план сифилитическому поражению.

Фимоз.

Сужение отверстия препуциального мешка. При сифилисе фимоз является следствием баланопостита: крайняя плоть отекает и не может быть отодвинута за головку полового члена, из препуциального мешка выделяется сливкообразный или жидкий гной. При фимозе не всегда удается прощупать скрытый под крайней плотью твердый шанкр.

Сифилис и беременность.

Сифилис – часто причина произвольного прерывания беременности, вследствие гибели плода в утробе матери; около 1/5 всех случаев, привычных абортов, происходит на почве сифилиса. Особенно характерны преждевременные роды мертвым мацерированным плодом и привычные преждевременные роды.

Чем свежее сифилис у матери, тем неблагополучнее исход беременности, тем опаснее он для потомства, хотя даже через много лет после заражения (у не вылеченных женщин) может родиться больной ребенок.

Заражение матери после зачатия не всегда одинаково сказывается на плоде: чем ближе к зачатию произошло заражение, тем меньше шансов на жизнь плода и нормальное окончание беременности может пройти для плода бесследно.

Клинические проявления врожденного сифилиса разнообразны.

Сифилис плода.

Смерть плода от сифилиса наступает чаще между 5-ом и 8-м месяцами беременности. Сифилитическая плацента отечная, хрупкая, пестрая от чередования бледно-розовых очагов с застойными явлениями, больших размеров и массы. Наиболее существенные микроскопические изменения обнаруживаются в зародышевой части. Пуповина всегда содержит трепонемы, которые редко содержатся в оболочках яйца.

Часть плодов гибнет рано (3-4 месяцы), главным образом, от отражения материнской части плаценты. Такие плоды всегда выкидываются в мацерированном состоянии и их органах трепонем не находят. Смерть наступает от нарушения питания. Типичные изменения наблюдаются лишь у плодов, старше 5 месяцев, в их внутренних органах находятся огромное количество трепонем; чаще всего, поражаются печень (в 50-60% она увеличена, содержит в изобилии трепонемы), селезенка, легкие (белая пневмония), поджелудочная и зобная железы, почки, кости. У детей, родившихся живыми, клинические проявления болезни могут быть обнаружены уже при рождении, иногда они возникают позднее. В связи с этим, различают ранний (до 2 лет) и поздний врожденный сифилис.

Прогноз.

Чем раньше установлен диагноз и проведено лечение, тем прогноз лучше. У нелеченных или плохо леченных больных женщин, большая часть беременности заканчивается абортами, мертворождениями или рождением нежизнеспособных, вскоре погибающих детей. Чем раньше происходит заражение плода, тем меньше шансов на благополучный исход беременности. Дети, не имеющие в момент рождения проявлений сифилиса, имеют больше шансов на жизнь. Своевременное лечение, хороший гигиенический режим и уход, грудное вскармливание значительно улучшают прогноз.

Диагностика

Диагностика сифилиса основывается на клинических и лабораторных данных.

Среди последних, чрезвычайно ценными являются серологические исследования, которые проводятся, не только для подтверждения диагноза сифилиса, но и для наблюдения за его динамикой, под влиянием проводимой терапии.

Серология сифилиса сегодня представляет собой отдельную область знаний. Созданы различные реакции, получившие в разных странах государственное признание.

Важно, чтобы полученные результаты были правильно истолкованы, чего можно достигнуть, лишь при знании основ серологии. В нашей стране для серологической диагностики сифилиса в соответствии с последней инструкцией 1995 г. применяются.

§ Комплекс серологических реакций (КСР), в который входят реакция связывания комплемента с трепонемным и кардиолипидным антигенами и микрореакции преципитации (МП) с кардиолипидным антигеном;

§ Специфические (трепонемные) реакции – реакция иммобилизации бледных трепонем (РИБТ) и реакция иммунофлюоресценции (РИФ).

Указанные реакции имеют различную чувствительность, специфичность и рекомендованы к применению, в зависимости от поставленных задач.

При массовых профилактических обследованиях населения на сифилис, применяется микрореакция преципитации (МП) (микрореакция на стекле или экспресс метод диагности-

ки сифилиса) с плазмой крови или инактивированной сыворотки крови обследуемых. Эта реакция ставится со специальным кардиолипиновым антигеном. Результаты реакции оцениваются качественно как 4+, 3+, 2+ и отрицательные. Преимущество экспресс метода заключается в быстроте получения ответа (через 30-40 минут), небольшом объеме необходимой для анализа крови (2-3 капли плазмы), которую можно брать у пациентов из пальца.

С помощью этого экспресс –метода обследуются также лица, подлежащие периодическим медицинским осмотрам на венерические болезни. Если экспресс – метод применяется изолированно, то он является лишь отборочным тестом.

На основании его, диагноз сифилис не устанавливают, а обследуемых направляют к дерматовенерологу для дальнейшего клинического обследования и исследования их крови с помощью УСР, РИБТ, РИФ. Экспресс –метод не применяют у беременных, доноров в связи с тем, что часто дает ложноположительные результаты. Средние медицинские работники, прошедшие специальную подготовку, производят взятие крови из пальца и постановку МП. Учитывать ее результаты обязаны врачи – лаборанты.

Реакции связывания комплемента с трепонемным и кардиолипидным антигенами применяются для подтверждения диагноза сифилиса при наличии активных проявлений болезни, для обследования лиц, бывших в пловом контакте с больным сифилисом, выявления латентного (скрытого) сифилиса, эффективности проводимой терапии, при обследовании больных психнатрических и неврологических стационаров, доноров и беременных, включая лиц, направляемых на искусственное прерывание беременности.

Кровь для исследования берут в количестве 5-7 мл из локтевой вены стерильной иглой. У грудных детей кровь берут из височной вены или из надрезов на пятке.

Взятие крови производят строго натощак. И оставляют ее в чистых сухих пробирках на 2-3 ч при комнатной температуре для свертывания. Постановку КСР и специфических реакций производят в серологических лабораториях кожно-венерологических учреждений.

Принцип РСК заключается в том, что реагины, находящиеся в сыворотке крови больных сифилисом, обладают свойством вступать в соединения с различными антигенами. Образовавшиеся комплексы сортируют введенный в реакцию комплемент. Для индикации комплекса реагины – антиген – комплемент используется гемолитическая система (смесь эритроцитов барана с гемолитической сывороткой).

При наличии комплекса эритроциты выпадают в осадок, что заметно не вооруженным глазом. Выраженность гемолиза обозначается врачом крестами: резко положительная 4+, положительная 3+, слабоположительная 2+ и 1+ отрицательная. Кроме качественной оценки этих реакций, имеется и количественная, имеющая значение в диагностике некоторых стадий сифилиса и при контроле за эффективностью терапии.

Впервые для серологической диагностики сифилиса, этот принцип был введен в 1906 г. Вассерманом, Нейссером и Бруком. В качестве антигена применялся водный экстракт печени. В последующем реакцию Вассермана начали ставить и с другими антигенами, что сделало ее более чувствительной. В настоящее время, в качестве антигенов рекомендовано применять кардиплипидный антиген (экстракт из сердца быка, обогащенный холестерином и лецитином) и тропонемный антиген (обработанная ультразвуком взвесь апатогенных культуральных трепонем).

Реакция связывания комплемента с кардиолипидным и трепонемным антигенами становится положительной через 2-4 недели, постепенно нарастает и достигает максимума (1:160 – 1:320 и выше) при вторичном свежем сифилисе.

Затем титр реагинов постепенно падает и при вторичном рецидивном сифилисе, обычно, не превышает 1:180 -1:120. Среди больных с третичным сифилисом, указанные реакции дают положительный результат только у 70%.

Следует подчеркнуть, что КСР не являются строго специфичным для сифилиса и в ряде случаев, может давать ложноположительные (неспецифические) результаты, они могут получаться в связи с техническими ошибками (полный гемолиз, нестерильное взятие крови, недостаточная квалификация лаборантов). Ложные реакции наблюдаются у больных лепрой, малярией, иногда с ситуационными заболеваниями, новообразованиями, туберкулезе, заболеваниями печени, при приеме лекарственных препаратов, а также во время беременности, при менструациях и т.д. Не рекомендуется исследовать кровь в течение первой недели после вакцинации, травм, хирургических вмешательств, при лихорадочных состояниях, в течение первых 2 –х недель после родов, у новорожденных в первые 10 дней жизни, т.к. физико-химические изменения в сыворотке крови при этих состояниях могут быть сходы с теми, которые наблюдаются у больных сифилисом.

Для дифференцирования ложноположительных результатов КСР от истинных для диагностики скрытых и поздних форм сифилиса, при подозрении на сифилитическую инфекцию, для установления ретроспективного диагноза заболевания в нашей стране рекомендуется применять специфические серологические реакции (РИБТ и РИФ).

Для проведения специфических серологических реакций, кровь в количестве 5-10 мл берут также из локтевой вены натощак. Шприц и иглу после стерилизации промывают изотоническим раствором хлорида натрия и кровь вливают в сухую пробирку для исследования на РИФ и в стерильную пробирку для исследования на РИБТ. Постановка специфических серологических реакций на сифилис производится в специализированных лабораториях кожно-венерологических учреждений.

РИФ основана на непрямом методе определения флюоресцирующих антител. Антигеном в этой реакции служит взвесь убитых культур бледных трепонем, фиксированная к предметным стеклам, на которые наносят исследуемую и антивидовую флюоресцирующую сыворотки. Результаты РИФ определяют под люминесцентным микроскопом, путем оценки свечения трепонем в препарате. При положительном результате, трепонемы имеют желтовато-зеленое свечение, степень которого, обозначают плюсами от 1+ до 4+, при отрицательных результатах, трепонемы не светятся.

РИФ, в настоящее время, ставят в нескольких модификациях (РИФ –abs, РИФ – 200).

Другая специфическая реакция на сифилис – РИБТ, предложенная в 1949 г. Р. Нельсоном и М. Мейером, основана на феномене обездвиживания бледных трепонем антигенами сыворотки крови больного в присутствии комплемента.

В качестве антигена для РИБТ используют взвесь бледных живых трепонем, полученных от зараженных сифилисом кроликов. Подсчет утративших подвижность (иммобилизированных) трепонем ведут под микроскопом. Результаты реакций оценивают в процентах от 0 до 20% – отрицательный, от 21 до 31% – сомнительный, от 31 до 50% – слабоположительный, от 51 до 100% – положительная.

РИБТ становится положительным в конце первичного периода сифилиса и остается таковой в течении всех периодов этого заболевания, а иногда и после полноценного противосифилитического лечения. При третичном сифилисе, специфических поражениях внутренних органов, нервной системы, при врожденном сифилисе, когда КСР часто отрицателен, РИБТ дает положительные результаты в 98-100% случаев. Постановка диагноза скрытого сифилиса требует обязательного подтверждения положительной РИБТ.

РИБТ может давать ложноположительные результаты, если в исследуемой сыворотке содержатся трепонемоционные вещества (антибиотики – пенициллин, тетрациклин), вызывающие неспецифическую иммобилизацию бледных трепонем.

Поэтому нельзя исследовать кровь на эту реакцию, ранее 2 недель после окончания прима антибиотиков.

Серологические исследования можно использовать и для определения поражения сифилисом нервной системы, исследуя спинномозговую жидкость больного. Ее исследуют также на наличие белка, ферментных элементов, которые свидетельствуют о патологии и помогают диагностировать ту или иную форму нейросифилиса. Спинномозговую жидкость получают при люмбальной пункции. Проведенная асептическая, она не представляет никакой опасности и может быть осуществлена врачом, даже в амбулаторных условиях.

Серологические исследования спинномозговой жидкости, показаны во всех случаях сифилиса ЦНС.

Принципы лечения

Непременным условием выздоровления больных является рано начатое, энергичное и умело проводимое лечение.

Современные принципы лечения сифилиса базируются на многочисленных теоретических положениях, данных экспериментальных исследований и клинических наблюдений.

Прежде чем, приступить к специфическому лечению, необходимо обосновать диагноз сифилиса клинически и подтвердить его лабораторно. Следует помнить, к чему приводит этот диагноз, как он влияет на дальнейшую судьбу человека. Лечение сифилиса, должно быть строго индивидуальным, вытекать из особенностей организма заболевшего, периода болезни, формы ее, условий труда и быта, перенесенных заболеваний и т.д. Больной в период лечения должен соблюдать особый режим. Соблюдение лечебно-оздоровительного режима, во многом определяют общее состояние больного и тем самым, позволяют полноценно проводить противосифилитическое лечение. Большое значение имеет и вспомогательное лечение. Независимо от стадии заболевания, необходимо прибегать к общеукрепляющей терапии (питание, витамины и т.д.) для стимуляции защитных и компенсаторных механизмом организма.

Современные специфические средства отличаются мощным действием на возбудителя заболевания. Однако, при назначении их следует учесть противопоказания к каждому из противосифилитических препаратов, а также общее состояние больного.

В настоящее время, венерологи применяют для лечения сифилиса, в основном, следующие группы лекарственных препаратов: антибиотики, преараты висмута и йода. К применению каждого из этих средств имеются свои показания и противопоказания.

I. Антибиотики.

Они по праву заняли главенствующее место благодаря прекрасным терапевтическим качествам и хорошей переносимости. Для лечения больных заразными формами сифилиса применяют препараты группы пенициллина: бензилпенициллиновая натриевая соль. Бициллин -1, Бициллин -3, Бициллин -5. Суммарная доза препаратов группы пенициллина зависит от периода болезни и определяется врачом в соответствии с принятой в нашей стране в 1988 г «Инструкцией по лечению и профилактике сифилиса».

II. Препараты висмута

В 1921 г. в терапию сифилиса Сазераком и Левадити был внедрен висмут, который быстро и прочно вошел в арсенал противосифилитических средств. Наиболее благоприятные препараты висмута являются: Бийохинал, Бисповерал и т.д.

При введении препаратов висмута в организм, он разносится током крови, откладывается и длительно удерживается во внутренних органах, вызывая раздражение их нервно- рецепторных зон. Противопоказаниями к применению висмутовых препаратов

являются: заболевания почек, альвеолярная пиорея, туберкулез, сахарный диабет, болезни сердца.

III. Препараты йода.

Общее признание в качестве специфического средства при сифилисе йодистые препараты получили в 1830 г. благодаря работам Цоллеса. Препараты йода, широко применяются сейчас при лечении больных третичным сифилисом (для ускорения рассасывания сифилитических инфильтратов) в перерывах между курсами.

Чаще йод применяют в форме раствора ***йодида калия*** 2-12% по 2-3 ст. ложки в день после еды, лучше в молоке. Реже применяют раствор Люголя, таблетки сайодин.

Другие патогенные трепонемы и вызываемые ими заболевания

T. pallidum подвид *endemicum* является возбудителем эндемического сифилиса, именуемого как беджель. Заболевание распространено на Среднем Востоке, в Африке и Юго-Восточной Азии. Болезнь характеризуется появлением сыпи на коже и слизистых оболочках с последующими поражениями, напоминающими гуммы при сифилисе. Путь передачи – контактно-бытовой.

T. pallidum подвид *pertenue* – возбудитель фрамбезии. Болезнь встречается в тропических районах обоих полушарий земного шара. Передается контактно-половым путем и через предметы обихода. Носит характер семейных вспышек. Характеризуется появлением в месте входных ворот болезненной язвочки с последующими кожными высыпаниями, переходящими в дистрофические процессы на коже и в костях.

T. carateum – возбудитель пинты. Заболевание встречается у лиц с темным цветом кожи в тропических районах западного полушария. Передается контактным путем и через насекомых (мошек). На месте входных ворот образуется папула, затем происходит генерализация процесса, сопровождающаяся появлением различного цвета пятен на коже, гиперкератоза подошв и ладоней, выпадением волос.

Диагностика. Проводится теми же методами, что и при сифилисе.

Лечение. Антибиотиками пенициллинового ряда.

Боррелии (род Borrelia)

Спирохеты рода *Borrelia* вызывают как антропонозные (возвратный тиф), так и зоонозные (болезни Лайма) инфекционные болезни с трансмиссивным механизмом передачи возбудителей (клещи, вши). Род *Borrelia* включает более 20 видов, большинство из которых, непатогенно для человека.

Боррелии представляют собой тонкие спирохеты, размером 0,3+0,6х2+20 мкм, с 3–10 крупными завитками. Двигательный аппарат представлен 15–20 фибриллами. Они хорошо воспринимают анилиновые красители, по Романовскому- Гимзе окрашиваются в сине-фиолетовый цвет. Боррелии обладают уникальным, не имеющим аналогов среди других бактерий генетическим аппаратом, который состоит из небольших размеров линейной хромосомы и набора циркулярных и линейных плазмид. Боррелии могут культивироваться на сложных питательных средах, содержащих сыворотку, асцит, тканевые экстракты, при температуре 28–35 °С в атмосфере с 5–10% CO_2, а также в куриных эмбрионах при заражении в желточный мешок.

Чувствительны к высыханию и нагреванию. При действии температуры 45–48 °С гибнут в течение 30 мин. Устойчивы к низким температурам и замораживанию.

Возбудители болезни Лайма (B. burgdorferi, B. garini, B. afzelii)

Возбудителем болезни Лайма в Северной Америке является вид *B. burgdorferi,* который впервые был открыт в 1975 г. при обследовании детей, больных артритами, в городке Лайма (Lyme) в США, а в 1982 г. выделен из иксодового клеща У. Бургдорфером.

На Евро-Азиатском континенте возбудителями этого заболевания являются *B. garini* и *B. afzelii.* Эти виды различаются между собой по антигенной структуре.

Морфология и культуральные свойства. Возбудители болезни Лайма представляют типичные по морфологическим и тинкториальным свойствам боррелии, которые хорошо культивируются на питательных средах, при выделении из клещей. Выделить возбудитель из материала от больного (крови, ликвора) удается редко.

Антигенная структура. Возбудители болезни Лайма обладают сложной антигенной структурой. Они имеют *белковые антигены фибриллярного аппарата (p41) и цитоплазматического цилиндра (p93),* антитела к которым появляются на ранних этапах инфекции, но не обладают защитными свойствами. Протективную активность имеют антигены, представленные липидмодифицированными *интегральными белками наружной мембраны,* обозначаемые как **osp** *(outer surface protein* – англ.) *A, B, C, D, E, F,* детерминация синтеза которых осуществляется группой плазмид. *OspA-антиген* обладает антигенной вариабельностью, подразделяясь на 7 сероваров, и является видоспецифическим.

Антигенный состав подвержен вариациям в процессе жизненного цикла боррелии. При их культивировании на питательных средах и нахождении в организме человека на поздних стадиях заболевания, у боррелии преобладает антиген **ospA,** тогда как при пребывании в клеще и в организме человека на ранних этапах заболевания у них, преобладает *антиген ospC.*

Факторы патогенности. Липидмодифицированные белки наружной мембраны обеспечивают способность боррелии прикрепляться и проникать в клетки хозяина. В результате взаимодействия боррелии с макрофагами, происходит выделение ИЛ-1, который индуцирует воспалительный процесс. Osp A-протеин принимает участие в развитии иммунопатологических реакций, приводящих к развитию артритов. В этом процессе участвует также белок теплового шока, который начинает синтезироваться бактериями при температуре 37 °С и который по своей структуре и молекулярной массе идентичен таковому человека.

Распространение в природе и эпидемиология. Резервуаром возбудителей в природе являются мелкие млекопитающие, главным образом, лесные белолапчатые мыши. Заболевание передается человеку через укусы клещей рода Ixodes и распространено в ареале обитания этих клещей на территориях Северной Америки, Австралии, Евразии, в том числе, в России, преимущественно в летний период. Естественная восприимчивость людей высокая. От человека человеку заболевание не передается.

Патогенез и клиника заболевания.

Болезнь Лайма (син. хроническая мигрирующая эритема, клещевой иксодовый боррелиоз) является хронической инфекцией, с поражением кожи, сердечной и нервной систем, суставов. Впервые заболевание было описано в 1909 г. Афзелиусом (Afzelius).

Инкубационный период длится от 3 до 32 дней с момента укуса клещами. На месте укуса образуется красная папула, появление которой совпадает с началом заболевания.

Патогенез связан с распространением возбудителя из места укуса через окружающую кожу с последующей диссеминацией с током крови к различным органам, особенно сердцу, ЦНС, суставам. Заболевание сопровождается развитием аутоиммунных и иммунопатологических процессов. Клиника подразделяется на 3 стадии:

1. Мигрирующая эритема, которая сопровождается развитием гриппоподобного симптомокомплекса, лимфаденита и появлением в месте укуса клеща кольцевидной эритемы, которая быстро увеличивается в размерах.

2. Развитие доброкачественных поражений сердца и ЦНС в виде миокардита и асептического менингита, которые наступают на 4–5-й неделе заболевания и протекают в течение одного или нескольких месяцев.

3. Развитие артритов крупных суставов через 6 недель и более, от начала заболевания.

Заболевание протекает доброкачественно. Прогноз благоприятный.

Иммунитет. Гуморальный, видоспецифический к антигенам клеточной стенки боррелий.

Микробиологическая диагностика.

Используются бактериоскопический, серологический методы и ПЦР в зависимости от стадии заболевания. Материалом для исследования служат биоптаты кожи, синовиальная жидкость суставов, ликвор, сыворотка крови. На 1-й стадии заболевания проводится бактериологическое исследование биоптатов кожи из эритемы.

Начиная со 2-й стадии заболевания осуществляется серологическое исследование определением IgM или нарастания титра IgG ИФА или РИФ.

ПЦР используется для определения наличия боррелий в ликворе, суставной жидкости.

Лечение. Этиотропная антибиотикотерапия – антибиотиками тетрациклинового ряда.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к использованию защитной одежды и борьбе с клещами.

Возбудители возвратных тифов (B. recurrentis, B. duttoni, B. persica)

Возвратные тифы – группа острых инфекционных заболеваний, вызываемых боррелиями, характеризующихся острым началом, приступообразной лихорадкой, общей интоксикацией. Различают эпидемический и эндемический возвратные тифы.

Возбудителем эпидемического возвратного тифа является *B. recurrentis,* впервые описанная в 1868 г. О. Обермейером.

Эпидемический возвратный тиф является антропонозной инфекцией. Единственным источником возбудителя служит лихорадящий больной, в периферической крови которого, находятся боррелий. Специфическими переносчиками боррелий являются платяная, головная и, в меньшей степени, лобковые вши, которые становятся наиболее заразными с 6-го по 28-й день после инфицирующего кровососания. Человек заражается возвратным тифом при втирании гемолимфы раздавленных вшей в кожу при расчесывания места укуса. Заболевание встречается во время социальных бедствий, войн.

Эндемический возвратный тиф (син. клещевой возвратный тиф, аргасовый клещевой боррелиоз) – зоонозное природно-очаговое заболевание, спорадически встречающееся в отдельных субтропических, тропических географических зонах. Возбудителями эндемического возвратного тифа являются более 20 видов боррелий, среди которых наиболее часто вызывают заболевание африканская *B. duttoni* и азиатская *B. persica.* Резервуаром в природе являются грызуны, а также аргасовые клещи, у которых микроб передается трансовариально. Человек заражается через укусы клещей рода *Ornithodoros.*

Возбудителей эпидемического и эндемического возвратных тифов дифференцируют в биологической пробе.

Патогенез и клиника заболевания. Инкубационный период в среднем 7–8 суток. Патогенез и клинические проявления обоих типов возвратных тифов схожи. Попав во внутреннюю среду организма, боррелий внедряются в клетки лимфоидно-макрофа-

гальной системы, где размножаются и поступают в большом количестве в кровь, вызывая лихорадку (повышение температуры тела до 39–40 °С), головную боль, озноб. Каждая такая атака заканчивается подъемом титра антител. Взаимодействуя с ними, боррелий образуют агрегаты, которые нагружаются тромбоцитами, вызывая закупорку капилляров, следствием чего, является нарушение кровообращения в органах. Большая часть боррелий погибает под влиянием антител. Однако, в течение инфекции антигены этих боррелий подвергаются вариации. Это связано с наличием большого набора (несколько десятков) белковых антигенов, синтез которых кодируется разными генами, часть которых периодически находится в неактивной, «молчащей» форме. В результате перегруппировок, в хромосоме происходит активация «молчащего» гена и появление нового антигенного варианта. А так как антитела вырабатываются против одного антигена, то новые антигенные варианты боррелий неожиданно появляются и вызывают рецидив заболевания. Это может повторяться от 3 до 20 раз. Прогноз эндемического возвратного тифа благоприятный. Летальность при эпидемическом возвратном тифе – не более 1%.

Иммунитет. Иммунитет к эпидемическому возвратному тифу гуморальный, непродолжительный. В эндемических очагах коренное население к возбудителю эндемического возвратного тифа, циркулирующему в очаге, располагает иммунитетом.

Микробиологическая диагностика. Используют бактериоскопический метод – обнаружение возбудителя в толстой капле крови, взятой на высоте лихорадочной реакции, окрашенной по Романовскому–Гимзе. Также используют дополнительные бактериоскопические исследования: микроскопия в темном поле «висячей капли» крови и негативный метод Бурри, состоящий в просмотре исследуемой капли крови, смешанной с тушью, серебрение боррелий в мазках крови или мазках-отпечатках из органов. Биопробу ставят для дифференциации *B. recurrentis* от возбудителей эндемического возвратного тифа: морские свинки легко заражаются возбудителями клещевого возвратного тифа, а белые мыши и крысы – *B. recurrentis*. В качестве вспомогательного используют серологический метод с постановкой РСК.

Лечение. Применяют антибиотики тетрациклинового ряда, левомицетин, ампициллин.

Профилактика. Специфическая профилактика не проводится. Неспецифическая профилактика сводится к борьбе с завшивленностью населения, в эндемических очагах – с клещами и грызунами.

Лептоспиры (род Leptospira)

Лептоспиры являются возбудителями зоонозной бактериальной инфекции, характеризующейся волнообразной лихорадкой, интоксикацией, поражением капилляров печени, почек, ЦНС.

Возбудитель *L. interrhogans* относится к семейству *Leptospiraceae*, род *Leptospira* и включает более 200 сероваров.

Морфология. Лептоспиры представляют собой тонкие спирохеты размером 0,074-0,15х6+24 мкм, с изогнутыми концами. Двигательный аппарат представлен идущими от каждого полюса клетки по одной фибрилле. Число завитков 20–40. Слабо окрашиваются анилиновыми красителями, поэтому трудно различимы на препаратах, окрашенных по Граму и Романовскому–Гимзе. Легко различимы при микроскопии в темном поле и фазово-контрасте.

Культуральные и биохимические свойства. Аэробы. Источником углерода и энергии служат липиды (жирные кислоты и жирные спирты с 15 или более атомами углерода).

Каталаза-и оксидазаположительны. Культивируются на питательных средах, содержащих сыворотку или сывороточный альбумин, при температуре 28–30 °С. Особенность роста на жидкой питательной среде – отсутствие помутнения. Делятся поперечным делением. Растут медленно.

Антигенная структура. Имеют сложную антигенную структуру. Содержат общеродовой антиген белковой природы, выявляемый в РСК, а также вариантоспецифический поверхностный антиген липополисахаридной природы, выявляемый в реакции агглютинации. Таксономическим критерием для лептоспир служит антигенный состав. *Основным таксоном является серовар*. Серовары объединены в серогруппы (насчитывается более 25 серогрупп).

Распространение в природе. Лептоспиры широко распространены в природе. Среди них встречаются свободноживущие в почве и водоемах виды. Патогенным для человека и животных является вид *L. interrhogans,* вызывающий *лептоспироз.*

Резистентность. *L. interrhogans* чувствительна к высыханию, нагреванию, низким значениям pH, дезинфицирующим веществам. При нагревании до 56 °С погибает в течение 25–30 мин. Кипячение убивает микроб мгновенно. В водоемах сохраняется до 30 дней, во влажных и щелочных почвах – до 280 дней, на пищевых продуктах – 1–2 суток.

Эпидемиология. Лептоспироз относится к природно-очаговым зоонозам, с преимущественно фекально-оральным механизмом передачи возбудителя. Основным резервуаром и источником инфекции служат домовые и полевые грызуны, дополнительными – домашние животные (крупный рогатый скот, свиньи, собаки). У диких животных инфекция имеет хроническое течение без клинических проявлений, при этом, возбудитель выделяется с мочой, загрязняя водоемы и почву. Каждый из сероваров циркулирует в популяции определенного вида животного и является самостоятельным возбудителем заболевания. Восприимчивость людей к лептоспирозу высокая, но больной человек, хотя и выделяет лептоспиры в окружающую среду, не имеет практического значения в распространении заболевания. Основные пути передачи: водный, алиментарный, контактный. Заболевание чаще регистрируется в летне-осенний период.

Факторы патогенности. Некоторые серовары *L. interrhogans* характеризуются гемолитической и липазной активностью, продуцируют плазмокоагулазу, фибринолизин, цитотоксины.

Патогенез и клиника заболевания. Лептоспироз – острая инфекционная болезнь, которая вызывается различными сероварами *L. interrhogans.*

Инкубационный период составляет 7–10 дней. Входные ворота – слизистые оболочки пищеварительного тракта, поврежденная кожа. Проникнув в организм, микроб с кровью разносится к органам ретикулоэндотелиальной системы (печень, почки), где размножается и вторично поступает в кровь, что совпадает с началом болезни.

Возбудитель поражает капилляры печени, почек, ЦНС, что приводит к развитию геморрагии в этих органах. Болезнь протекает остро, с явлениями волнообразной лихорадки, интоксикации, с желтухой, развитием почечной недостаточности, асептического менингита. Летальность колеблется от 3 до 25–40%.

Иммунитет. Перенесенная болезнь оставляет стойкий, преимущественно гуморальный, сывороспецифический иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат кровь, спинномозговая жидкость, моча, сыворотка крови в зависимости от стадии заболевания. Для диагностики используют бактериоскопический (обнаружение лептоспир в темнопольном микроскопе), бактериологический и серологические методы (РА, РСК), а также применяют ПЦР, биопробу на кроликах-сосунках.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика проводится вакцинацией по эпидемическим показаниям, убитой нагреванием, корпускулярной вакциной, содержащей 4 основных серогруппы возбудителя. Для лечения используют антибиотики (пенициллин, тетрациклин) в сочетании с лептоспирозным гетерологичным иммуноглобулином, получаемым из крови иммунизированных волов. Неспецифическая профилактика сводится к борьбе с грызунами, вакцинации сельскохозяйственных животных, проведению зооветеринарных мероприятий, соблюдению личной гигиены.

Кампилобактерии (род Campylobacter)

Относится к возбудителям зоонозных бактериальных инфекций с фекально-оральным механизмом передачи и преимущественным поражением пищеварительного тракта.

Таксономия. Род *Campylobacter* (от греч. *campylos* – кривой, изогнутый). Известно более 10 видов возбудителя, из них наибольшее значение в патологии человека имеют *C. jejuni, C. fetus, C. coli.*

Морфология, антигенные и культуральные свойства. Кампилобактеры – грамотрицательные извитые бактерии длиной 0,5–5 мкм и толщиной 0,2–0,5 мкм, имеющие характерную форму запятой или S-образную. В мазках из патологического материала часто располагаются попарно в виде «летящей чайки». При старении культуры переходят в кокковидную форму. Подвижные, имеют один концевой жгутик. Капсулы и споры не образуют.

Микроаэро- и капнофилы. Растут на сложных питательных средах с добавлением крови, гемина, гидролизата белков, аминокислот, ростовых факторов и солей. Для подавления роста посторонней флоры в питательную среду добавляют антибиотики. Метаболизм дыхательного типа. Источником питания служат органические кислоты, в том числе, аминокислоты. Сахара не сбраживают. Биохимические и ферментативные свойства выражены слабо. Проявляют оксидазную и каталазную активность, восстанавливают нитраты, образуют H_2S. Кампилобактерии различаются по температуре культивирования: 37, 42 и, реже, 25 °С. Оптимальный для роста pH – 7,0

Имеют О- и Н-антигены, по которым подразделяются на 60 сероваров. Обладают плазмидами, с которыми связана антибиотикоустойчивость.

Факторы патогенности. Эндотоксин, связанный с ЛПС, а также продукция некоторыми штаммами холероподобного энтеротоксина и цитотоксина.

Резистентность. Невысокая. Чувствительны к факторам внешней среды, физическим и химическим факторам, в том числе, к нагреванию и дезинфектантам. Устойчивы к целому ряду антибиотиков, но чувствительны к эритромицину и ципрофлоксацину.

Эпидемиология. Зооантропоноз. Важнейший источник инфекции – сельскохозяйственные животные и домашние птицы, редко человек. Кампилобактериоз распространен повсеместно и составляет 5–14% всех диарейных заболеваний. Естественная восприимчивость людей высокая. Механизм передачи – фекально-оральный, пути передачи – пищевой, водный, контактно-бытовой или половой. Случаи заболевания регистрируются в течение всего года, чаще в летне-осенние месяцы.

Патогенез, клиника, диагностика. У человека кампилобактерии вызывают 4 группы заболеваний: диареи (энтероколиты), генерализованные (сепсис); локальные внекишечные (менингиты, энцефалиты, эндокардиты) инфекции; ГВЗ новорожденных; заболевания ротовой полости. Гастроэнтерит возникает в результате действия энтеро- и цитотоксина, выделяемых некоторыми штаммами бактерий, размножающихся в ЖКТ. Инкуба-

ционный период составляет, как правило, 2–3 дня. Болезнь начинается остро, с диспептических расстройств (диарея, рвота), интоксикации, повышения температуры; длится до 10 суток.

Микробиологическая диагностика. Основана на выделении чистой культуры возбудителя из испражнений, рвотных масс, промывных вод из желудка посевом на кровяной или эритритный агар с железо-сульфитно-пируватными добавками. Для видовой дифференцировки культивируют при различных температурных режимах.

В мазках из фекалий определяют типичные по форме микробы в виде «летящей ласточки».

Для серологической диагностики используют РИФ, РА, РПГА, РСК. Экспресс-диагностика – постановка РИФ со специфическими люминесцентными сыворотками.

Лечение. Антибиотиками (эритромицин или ципрофлоксацин).

Специфическая профилактика. Не разработана. Проводятся противо-эпидемические мероприятия как при сальмонеллезах.

Хеликобактерии (род Helicobacter)

Относится к УПМ, способным вызвать хроническое поражение слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки: стойкое воспаление с образованием язв и опухолей (редко). Возбудитель впервые был обнаружен Г. Биззозеро (1893) в слизистой желудка человека и животных. Внешне сходен с бактериями рода *Campilobacter,* поэтому первоначально был назван *CLO* (от англ. *Campilobacter-like organisms* – кампилобактериоподобные микроорганизмы).

Таксономия. Род *Helicobacter* (от греч. *helios* – солнце). В настоящее время описано 8 видов хеликобактерий. Наибольшее значение в патологии человека имеет и лучше других видов изучен *H. pylori.*

Морфологические, культуральные и биохимические свойства. Хеликобактерии – мелкие неспорообразующие грамотрицательные бактерии изогнутой, S-образной или слегка спиральной формы. В мазках из патологического материала располагаются попарно, образуя форму «летящей ласточки». При неблагоприятных условиях *H. pylori* способен изменять свою морфологию и превращаться в кокковидную форму. Микроб подвижный – на одном из полюсов имеет от 1 до 6 жгутиков.

Микроаэрофил. Оптимальная температура роста 37 °С. Требователен к питательным средам, не способен утилизировать высокомолекулярные соединения. Растет на сложных питательных средах с добавлением лошадиной или эмбриональной телячьей сыворотки, растворимого крахмала, активированного угля, низкомолекулярного гидролизата белков и антибиотиков для подавления роста посторонней флоры.

Бактерии продуцируют высокоактивный фермент уреазу (важнейший родовой признак), алкогольдегидрогеназу, липазы (в том числе, фосфолипазу А), оксидазу, каталазу и другие ферменты. Сахара не сбраживают.

Содержит множество неконъюгативных плазмид, профагов и различных мигрирующих генетических элементов. Отличается высокой рекомбинативной и мутационной изменчивостью.

Факторы патогенности и антигены. Хеликобактерии обладают широким набором факторов патогенности, которые обеспечивают выживание возбудителя в кислой среде и колонизацию слизистой желудка. Это – ферменты агрессии (уреаза, фосфолипаза А, протеазы), многочисленные адгезины, которые осуществляют прикрепление микроорганизма к тканям, а также эндотоксин. Важнейшим фактором патогенности считают секретиру-

емый цитотоксин белковой природы, ответственный за вакуолизацию и повреждение клеток эпителия желудка.

Хеликобактерии обладают широким набором видовых антигенов. Штаммоспецифичных и протективных антигенов не имеют.

Резистентность. Невысокая. Чувствительны к факторам внешней среды, физическим и химическим факторам (нагреванию и дезинфектантам). Устойчивы к целому ряду антибиотиков.

Эпидемиология. Антропоноз или зооантропоноз. Источником инфекции может быть инфицированный человек или домашние животные, например, кошки или обезьяны. Механизм передачи – фекально-оральный, наиболее вероятные факторы передачи – вода и пища. Возможно заражение контактно-бытовым путем, а также через контаминированные медицинские инструменты (при эзофагогастродуоденоскопии и других видах инструментального исследования желудка и двенадцатиперстной кишки).

В настоящее время установлено, что *H. pylori* является этиологическим фактором более, чем половины всех гастритов; микроб обнаруживают более, чем у 95% больных, страдающих язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, у 70–80% лиц с язвенной болезнью желудка и в 60–70% случаев, при раке желудка.

Патогенез и клиника. Хеликобактерии вызывают интенсивную воспалительную реакцию в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки с нарушением целостности эпителиального слоя и образованием микроабсцессов. Интенсивность патоморфологических проявлений и тяжесть клинического течения хронического гастрита коррелируют с массивностью обсеменения тканей возбудителем.

Клинические проявления хеликобактериоза разнообразны. Можно выделить несколько типичных форм заболевания: хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, аденокарцинома и лимфома желудка. Однажды приобретенная хеликобактерная инфекция персистирует в течение жизни, но лишь только в ряде случаев, заболевание приобретает манифестную форму.

Иммунитет. У инфицированных хеликобактериями пациентов в сыворотке крови появляются специфические антитела классов M, G и A. После лечения, через несколько недель, титры специфических антител снижаются.

Микробиологическая диагностика. Проводят микроскопию и бактериологические исследования (выделение чистой культуры и ее идентификация) биопсий, взятых при эндоскопии желудка и двенадцатиперстной кишки, а также определяют специфические антитела в сыворотке крови. Быструю индикацию проводят по наличию в слизистой желудка или двенадцатиперстной кишки высокоактивной уреазы (необходимо дифференцировать с протеем!).

Лечение. Антибиотиками (метронидазол, кларитромицин и др.) и солями висмута по определенной схеме.

Специфическая профилактика. Не разработана.

Спириллы (род Spirillum)

Широкая группа извитых бактерий, составляющих анаэробную сапрофитную или условно-патогенную нормофлору тела человека.

Таксономия. Род *Spirillum*. Типичный представитель – *Spirillum minor*. Вызывает крысиную лихорадку «Содоку».

Морфологические, культуральные и биохимические свойства. Очень мелкие, грамнегативные, извитые бактерии. На питательных средах не культивируются. Биологические свойства изучены плохо.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Природный резервуар – организм крыс. Передается человеку при укусе грызуна. Болезнь характеризуется локальным воспалением, сыпью, лимфаденитом, волнообраз-ной лихорадкой (по типу возвратного тифа).

Диагностика. Проводят микроскопическим изучением пораженных лимфоузлов или биологическим методом – путем заражения морских свинок или мышей.

Лечение. Антибиотиками.

Специфическая профилактика. Не разработана.

17. 9. Риккетсии (семейство *Rickettsiaceae)*

Семейство *Rickettsiaceae* объединяет группу грамотрицательных бактерий, облигатных внутриклеточных паразитов, поражающих человека, теплокровных животных, птиц и членистоногих.

Экология и эпидемиология заболеваний человека и животных обусловлены широким кругом переносчиков (клещи, вши человека и белок, блохи крыс и кошек и др.). Болезни, вызываемые риккетсиями, называют риккетсиозами. Основоположниками учения о риккетсиях и риккетсиозах являются американский врач Г. Т. Риккетс, чешский врач-микробиолог С. Провачек и бразильский исследователь Роха Лима. С. Провачек погиб от сыпного тифа, а Г.Т. Риккетс — от пятнистой лихорадки скалистых гор при изучении возбудителей этих болезней. В честь этих ученых Роха Лима предложил назвать возбудителей всего семейства риккетсиями, возбудителя пятнистой лихорадки Скалистых гор – *Rickettsia rickettsa,* а возбудителя сыпного тифа – *Rickettsia prowazekii.*

Таксономия риккетсии. Основывается на сравнении фенотипических, в том числе, антигенных характеристик, клинико-эпидемиологических особенностях болезней, а также молекулярно-генетических данных, присущих отдельным представителям риккетсии. До недавнего времени, семейство риккетсии включало роды *Rickettsia, Orientia, Ehrlichia* и *Coxiella.* По современной классификации (Е. П. Лукин, А. А. Воробьев, А. С. Быков, 2001), семейство *Rickettsiaceae* относится к классу *Alphaproteobacteria* (альфа-1 протеобактерии) и включает три рода: *Rickettsia Orientia, и Ehrlichia.* Род *Coxiella* исключен из семейства *Rickettsiaceae* и отнесен к гамма-протеобакте-риям (близкое родство к легионеллам).

К альфа-2 протеобактериям отнесено семейство *Bartonellaceae* – возбудители бартонеллеза, являющиеся также внутриклеточными паразитами. Ниже приведена классификация семейства риккетсий, патогенных для человека.

Риккетсий и близкородственные к ним бактерии, патогенные для человека

К настоящему времени, известно 10 патогенных для человека риккетсий, 3 вида эрлихий, 5 видов бартонелл и 1 вид коксиелл (всего 19 видов). Заболевания, вызываемые группой родственных бактерий, соответственно называют «риккетсиозами», «эрлихиозами», «бартонеллезами», «коксиеллезами».

Сохранилось клинико-эпидемиологическое деление риккетсий по связи с переносчиком (табл. 17.30). Выделена группа болезней, передающихся вшами и блохами (сыпной и крысиный тиф), клещами (группа клещевых лихорадок, эрлихиозы, ориенции).

Морфологические и тинкториальные свойства. Риккетсии представляют собой мелкие, короткие палочки размером 0.2-н0.5х0.8-ь2 мкм, могут иметь кокковидную или нитевидную (до 40 мкм) форму. Размножаются бинарным делением. Грамотрицательные. Для риккетсий характерны мощный слизистый и микрокапсулярный слой. У всех морфологических форм риккетсий выражены трехслойная клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, внутриплазматические включения и вакуоли. Поверхностный слой клеточной стенки имеет дискретную глобулярную структуру, представленную протеинами с молекулярной массой от 17 до 190 кДа. У орнеции цуцугамуши отсутствуют некоторые составные компоненты пептидогликана и ЛПС (мурамовая кислота, глюкозамин и окисленные жирные кислоты).

Риккетсии неподвижны, имеют фимбрии и пили. Последним приписывают функции конъюгационного канала, участвующего в передаче генетической информации.

Риккетсий не окрашиваются обычными бактериальными красителями, но окрашиваются по Романовскому–Гимзе и по Здродовскому. При окраске по Романовскому–Гимзе корпускулы риккетсий имеют голубовато-пурпурный цвет и расположены в протоплазме клеток. При окраске по Здродовскому ярко-красные корпускулы расположены на голубом фоне, а при окраске по Гименесу – на зеленом фоне. Все риккетсии могут быть выявлены методом серебрения.

Культуральные и биохимические свойства. Риккетсии не растут на искусственных бактериальных средах. Для их культивирования используют развивающиеся куриные эмбрионы, культуры клеток, членистоногих переносчиков или чувствительных животных.

Риккетсии группы сыпного тифа, так же, как и коксиеллы, хорошо растут в 7-суточных РКЭ при 36,5 °С, а возбудители клещевых риккетсиозов и ориенции – в 4–5-суточных РКЭ и 32–34 °С при заражении РКЭ в желточный мешок.

Для культивирования риккетсий в культурах клеток используют культуры фибробластов белых мышей, почек сирийских хомячков, макрофагов крови собак (ДН 82), почек зеленых мартышек, а также клеток эндотелия пупочной вены человека и животных.

Культивирование возбудителей риккетсиозов в организме членистоногих (платяные вши человека, блохи крыс, иксодовые клещи) сохранило значение для исследовательских целей.

К риккетсиям чувствительны многие виды лабораторных животных: белые мыши, крысы, морские свинки, кролики, собаки, некоторые виды обезьян. Поэтому их широко используют в риккетсиологии для исследовательских и практических целей (например, накопление риккетсий Провачека в легких белых мышей при интраназальном инфицировании; культивирование риккетсий во вшах при заражении последних в процессе питания на инфицированных кроликах или на искусственных мембранах, под которыми находится суспензия риккетсий).

В процессе культивирования риккетсий свои энергетические потребности удовлетворяют, в основном, за счет глютамата, что обеспечивает синтез АТФ, играющего ключевую роль в цикле Кребса. Дополнительно в энергетическом балансе используются глютамин, смесь альфа-кетоглютаровой и аспарагиновой и других органических кислот.

Риккетсии Провачека и Риккетса обладают собственной фосфолипазой А2, играющей ключевую роль в процессе инфицирования клеток. Предполагается, что риккетсии получают из инфицированной клетки достаточный баланс метаболических посредников и определенное количество энергии. В отличие от хламидий, т.е. также облигатных внутриклеточных паразитов, они независимы от энергетического обмена клетки-мишени или от ее макромолекулярного синтеза, подобно вирусам.

Риккетсии после проникновения в клетку размножаются в ее протоплазме или ядре, накапливаясь в течение нескольких суток до 10^8–10^9 инфицирующих доз, в результате чего, клетка гибнет, а высвободившиеся микробы поражают здоровые клетки.

Устойчивость риккетсий. Риккетсии относительно малоустойчивы к воздействию внешних факторов (температура, влажность, ультрафиолетовое и другие виды излучений), а также к дезинфектантам. Однако, могут длительно сохраняться в высушенном состоянии, а также переживать в организме переносчиков (клещи, вши). *R. prowazekii* могут сохраняться в фекалиях вшей до 10 лет.

Антигенность риккетсии. Антигенность риккетсии обусловлена гликопротеинами и ЛПС, входящими в состав клеточной стенки. При этом спектр антигенных детерминант между отдельными представителями риккетсии настолько близок, что их нельзя идентифицировать с помощью поликлональных антител. Например, группа риккетсий пятнистых лихорадок, объединяет 22 серотипа, обладающих общими антигенными свойствами. ЛПС некоторых риккетсий (например, Провачека) имеют общие антигены с протеем. Поэтому для дифференциации риккетсий используют моноклональные антитела.

Факторы патогенности. Патогенез и клиника. Факторами патогенности у риккетсий служат фимбрии и пили, ЛПС клеточной стенки, некоторые поверхностные белки, фосфолипаза А2; экзотоксин риккетсии не образуют.

С помощью пилей или крупных протеинов внешней оболочки риккетсии прикрепляются к клетке-мишени (эндотелию, эритроциту, макрофагу и др.), затем с помощью собственной фосфолипазы действуют на липиды внешней мембраны клетки и разрыхляют ее.

Освобождающаяся при этом арахидоновая кислота, конвертирует в физиологически активные соединения (простагландины и лейкотриены), которые изменяют проницаемость и тонус сосудов. Риккетсии же через дефекты в клеточной стенке уже через несколько минут проникают внутрь клетки, где формируется пузырек-фагосома, с находящимися в нем риккетсиями. В результате нескольких циклов деления (один цикл – 8–14 ч) в течение 72–96 ч, после заражения возникает популяция возбудителя численностью до 1000 бактерий в одной пораженной клетке. Переполненная риккетсиями вакуоль «лопается» подобно грибу-дождевику, риккетсии выходят за пределы клетки, попадают в лимфу, кровь и распространяются по всему организму, поражая новые клетки-мишени.

Возможен также выход риккетсии из клетки путем «почкования», при котором риккетсии «одеваются» в клеточную оболочку «хозяина».

Процесс поражения клеток риккетсиями и степень генерализации процесса определяются видовой принадлежностью риккетсии и рядом других условий, в том числе, величиной инфицирующей дозы. Так, установлено, что инфицирование наиболее вероятно, если на одну клетку-мишень приходится не менее 10 риккетсиозных клеток.

Процесс и механизм поражения отдельных видов клеток-мишеней разнообразен. Описанный выше процесс характерен для поражения риккетсиями эндотелия сосудов. В эритроцитах же, напротив, риккетсии не размножаются, так как они, попав в эритроцит, не успевают закончить цикл размножения из-за лизиса эритроцита.

Коксиеллы 1-й фазы, вследствие наличия у них липополисахаридной капсулы, устойчивы к действию ферментов в фаголизосомах клетки-мишени и могут годами персистировать в организме больных Ку-лихорадкой. Для риккетсии, так же как и для коксиелл, характерна персистенция, т.е. длительное переживание в организме, не вызывая патологического процесса, что обусловлено переходом бактерий в L-форму или антигенной мимикрией или же экранизацией, вследствие покрытия поверхности риккетсии иммуноглобулином. Все это может приводить к рецидивам болезни, например, рецидиву сыпного тифа (болезни Брилля–Цинссера).

Поскольку при риккетсиозах поражаются высокоспециализированные клетки (эритроциты, макрофаги, эндотелий), выполняющие физиологические, биохимические, опорные функции, связанные с обменом, регулированием тонуса и проницаемости сосудов, системой циркуляции и антикоагуляции крови, репарацией сосудов, особенно микрокапилляров, происходит дезорганизация и нарушение морфологической целостности выполняемых ими функций, особенно в системе свертывания крови. Морфологически это выражается в образовании периваскулитов, кровоизлияний, тромбоза капилляров, т.е. возникает панваскулит. Одновременно, нарастает количество физиологически активных веществ (эйкозаноидов) типа простагландинов, лейкотриена, фактора Хагемана и др., что ведет к нарушению регуляции системы коагуляции – антикоагуляции крови, изменению проницаемости и тонуса сосудов, появлению застойных явлений и нарушению кровообращения в различных органах.

Эпидемиология. Резервуаром и переносчиком риккетсиозов являются клещи, вши и блохи. Многие виды риккетсий постоянно обитают в клещах различных видов, сохраняя их многие годы путем трансовариальной передачи из поколения в поколение. В значительных количествах риккетсий выделяются с фекалиями переносчиков в окружающую среду. Таким образом, формируются очаги риккетсий и риккетсиозов.

Платяные вши, передающие возбудителей сыпного тифа, выступают лишь как трансмиссанты риккетсий, но не их хранители. В этом случае, резервуаром, хранителем риккетсий является человек.

Таблица 17. 30.

Распространение риккетсий

Представители	Болезни людей	Резервуар	Переносчик
Группа сыпного тифа			
Rickettsia prowazekil	Эпидемический сыпной тиф (вшивый)	Человек	Платяные вши
Rickettsia typhi	Эндемический (блошиный) сыпной тиф	Крысы, мыши	Блохи
Rickettsia felis	Калифорнийский крысиный тиф (син, тиф кошачьих блох)	Опоссумы	Блохи
Группа пятнистых лихорадок (клещевых риккетсиозов)			
Rickettsia rickettsii	Пятнистая лихорадка Скалистых гор	Грызуны	Клещи
Rickettsia conorii	Марсельская (средиземноморская, в том числе, астраханская лихорадка)	Клещи, крызуны, собаки	Клещи
Rickettsia australis	Квинслендская клещевая лихорадка	Клещи, грызуны	Клещи
Rickettsia akari	Осповидный риккетсиоз	Грызуны	Клещи
Rickettsia sibirica	Североазиаский клещевой риккетсиоз	Суслики, хомяки, мыши, клещи	Клещи
Rickettsia-japonica	Японская (восточная) лихорадка	Клещи	Клещи
Rickettsia honei	Лихорадка острова Флиндерс	Грызуны, клещи	Клещи
Группа Orientia			
Orientia tsutsugamushi	Лихорадка цуцугамуши	Мышевидные грызуны	Краснотелковые клещи
Группа Ehrlicha (возбудитель тропической панцитопении собак)			
Ehrlichia chaffcensis	Моноцитарный эрлихиоз	Олени, собаки, грызуны	Клещи
Ehrlichia sennetsu	Эрлихиоз (инфекционный мононуклеоз)	Возможно, моллюски рыб	Неизвестно
Ehrlichia equilike (E. phagocytophila)	Гранулоцитарный (нейтрофильный) - эрлихиоз	Клещи, грызуны, лошади	Клеши

Заражение человека, а также теплокровных прокормителей клещей происходит при присасывании инфицированных клещей, в результате чего, происходит «впрыскивание» возбудителя в кровь и лимфу вместе со слюной или содержимым коксальных желез, препятствующим свертыв-

ванию крови. Заражение риккетсиями сыпного тифа при укусе инфицированной платяной вошью происходит исключительно путем втирания фекалий вшей, содержащих огромное количество возбудителя, через расчесы на коже.

Крысиный сыпной тиф передается тропиковыми блохами – тем же механизмом, что и передача возбудителя сыпного тифа вшами.

Заражение человека риккетсиозами возможно также путем вдыхания аэрозолей, содержащих возбудителей (например, высохшие фекалии клещей, вшей).

Заболеваемость риккетсиозами, как правило, привязана к природным очагам и носит разрозненный спорадический характер. Доля риккетсиозов в общей инфекционной патологии в различных странах, в том числе, и России, не превышает нескольких десятых процента от общего числа регистрируемых инфекционных заболеваний. Некогда распространенный во многих странах и вызывавший обширные эпидемии, сыпной тиф во второй половине XX столетия утратил свое значение, в том числе, как инфекция военного времени; он сохранился лишь в Эфиопии и Руанде, а также в Перу.

Заболеваемость наиболее значимыми риккетсиозами находится на уровне 1000–2000 человек в год.

Среди населения России встречаются: клещевой тиф Азии, марсельская (астраханская) лихорадка, болезнь Брилля–Цинссера.

Несмотря на относительно невысокую заболеваемость риккетсиозами, органы здравоохранения осуществляют постоянный эпидемиологический надзор за этой группой болезней, совершенствуют их диагностику, профилактику и лечение. К этому побуждают также высокая летальность при риккетсиозах, особенно при запоздалом диагнозе и лечении, а также наличии атипичных «хронических» форм при некоторых риккетсиозах.

Клиника риккетсиозов. Развивается в соответствии с описанным выше патогенезом. При этом клинические проявления инфекционно-токсического синдрома у больных риккетсиозами не отражают видовой принадлежности риккетсий, т.е. не имеют патогномоничных симптомов и признаков. Субъективно болезнь сопровождается развитием лихорадки с появлением озноба, недомогания, болей в мышцах и суставах. Объективно развивается гипертермия, гипотония, сыпь (как следствие нарушения проницаемости стенок кровеносных сосудов и нарушения гомеостаза); развиваются десквамативно-пролиферативные воспалительные процессы, геморрагические проявления не только в коже, но и во внутренних органах, прежде всего, головном мозге, сердце, почках, печени, легких, что ведет к недостаточному кровоснабжению и нарушению функции этих органов.

При тяжелых формах риккетсиозов развиваются осложнения с явлениями диссеминированного внутрисосудистого свертывания (сыпной тиф, марсельская лихорадка и др.). Вследствие нарастающей функциональной недостаточности жизненно важных органов (сердце, почки, головной мозг) и активации микрофлоры наступает гибель больных. При хронических формах коксиеллеза патология усугубляется образованием иммунных комплексов, вызывая аллергические процессы и усугубляя воспалительные процессы.

При клещевых риккетсиозах на участках кожи, соответствующих месту присасывания инфицированного клеща, в первые 3–5 дней формируется «первичный аффект» в виде папулы с последующим некрозом в центре, фокусный васкулит и инфильтративно-воспалительная реакция с клеточной инфильтрацией.

Микробиологическая диагностика. Основана на клинико-эпидемиологических данных и лабораторных исследованиях. Лабораторное подтверждение диагноза играет иногда решающую роль (атипичные, стертые и другие формы болезни). Оно включает способы выявления (выделения) возбудителя, а также обнаружение специфических антител и антигенов. Обнаружение возбудителя микробиологическими методами проводится до лечения антибиотиками путем введения исследуемого материала (кровь, биопсии из высыпаний на коже и др.) чувствительным к риккетсиям лабораторным животным (белые мыши, крысы, морские свинки, хомяки) или куриным эмбрионам и культурам клеток.

Возможно, также иммуногистологическое исследование биоптатов. Разработана также ПЦР. Однако, основным методом специфической диагностики риккетсиозов, является серологический: определение специфических антител в крови. С этой целью применяют РСК, РА, РИГА, РИФ, ИФА.

Лабораторное подтверждение риккетсиозов возможно лишь на второй неделе болезни. К этому времени у 20-40% больных выявляются специфические антитела в низких титрах: в РСК – 1: МЫ :40: в РИФ – 1:20*1:80; в ИФА- 1:500+1:1000. Максимальных величин титры антител достигают на 15–30-е сутки (при отсутствии лечения антибиотиками).

При этом обязательно должны исследоваться «парные» сыворотки, взятые в начале болезни и через 7–14 дней и позже от начала болезни.

Лечение. При всех риккетсиозах эффективны антибиотики тетрациклинового ряда. Препараты пролонгированного действия (доксициклин, миноциклин) оказывают терапевтический эффект уже после однократного или двукратного введения. При отсутствии тетрациклинов возможно применение хлорамфеникола.

Профилактическое назначение антибиотиков при риккетсиозах весьма эффективно.

Профилактика. Неспецифические меры профилактики риккетсиозов сводятся к уничтожению переносчиков (вшей, блох, клещей) наиболее эффективным способом (дезинсекция) или к устранению условий для контакта с ними (периодические осмотры на педикулез, на носительство клещей, ношение клещезащитной одежды и др.).

Специфические меры профилактики возможны путем проведения вакцинаций. Разработаны живые и инактивированные вакцины против сыпного тифа, инактивированная вакцина против пятнистой лихорадки Скалистых гор. Однако, вакцинопрофилактика не является основным способом профилактики риккетсиозов, так как заболеваемость ими в отсутствие переносчика обычно не носит массового характера; заболевания неконтагиозны, имеются эффективные средства борьбы с переносчиком, риккетсиозы хорошо лечатся антибиотиками, возможна также химиопрофилактика риккетсиозов.

Это не исключает необходимости иметь в арсенале медицинской службы эффективные вакцины и способы вакцинации против таких риккетсиозов, как сыпной тиф и др. Тем более, такие вакцины нужны для профилактической вакцинации отдельных групп населения («групп риска»), к которым, прежде всего, относятся сотрудники бактериологических и эпидемиологических лабораторий, работники, обслуживающие пассажирские поезда, вокзалы и другие объекты массового скопления людей.

Риккетсии группы сыпного тифа

Возбудителем эпидемического сыпною тифа и болезни Брилля– Цинссера является *R. prowazekii.*

Эпидемический сыпной тиф (син. вшивый, голодный, тюремный, военный и т.д.) – острый антропоноз с трансмиссивным механизмом распространения платяными вшами. В отсутствие переносчика неконтагиозен. Клинически характеризуется лихорадкой, тяжелым течением, в связи с поражением кровеносных капилляров с нарушением кровоснабжения жизненно важных органов (мозг, сердце, почки), появлением розеолезной и петехнальной сыпи.

Природный резервуар отсутствует. В России резервуар практически ликвидирован (регистрируются единичные случаи).

Таксономия и общая характеристика возбудителя. Возбудитель – *R. prowazekii,* открытый С. Провачеком в 1915 г., является типичным представителем возбудителей группы сыпного тифа, относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae* подгруппы альфа-1 протеобактерий; паразитирует только в цитоплазме чувствительных клеток. Хорошо культивируется в организме платяных вшей, желточных мешках РКЭ, легких белых мышей и в культурах перевиваемых линий клеток; обладает гемолитическими свойствами, способен формировать негативные колонии («бляшки») в культуре клеток; вызывает токсикоз в организме чувствительных биомоделей (белые мыши, морские свинки и др.) и человека; при окраске по Здродовскому окрашивается в красный цвет. Устойчив к действию факторов внешней среды: длительно сохраняется в высохших фекалиях инфицированных вшей, в других препаратах нестабилен, легко инактивируется под влиянием положительных температур и дезинфектантов (растворы щелочи, хлорамина, первомура и др.); имеет общие антигены с риккетсиями Музера и протеем ОХ19.

Эпидемиология и механизм заражения. Заражение реализуется либо втиранием фекалий инфицированных вшей через расчесы кожи, либо путем вдыхания пылевидного аэрозоля из высохших инфицированных риккетсиями фекалий. Заражающая человека доза очень мала и составляет 1/50–1/100 ID_{50} для морских свинок.

Сыпной тиф известен с древних времен. Обширные эпидемии сыпного тифа сопровождали голод, войны, экономические и другие потрясения. В России в период 1918–1920 гг. сыпным тифом переболело около 20 млн. человек. В настоящее время, в нашей стране регистрируются единичные случаи сыпного тифа.

Эндемические районы сохранились на высокогорных плато Эфиопии, Бурунди и, возможно, Перу.

Клиника, диагноз, лечение. Инкубационный период варьирует, составляя в среднем 10–14 дней. Начало заболевания острое, клинические проявления обусловлены генерализованным поражением системы эндотелиальных клеток кровеносных сосудов в микроциркуляторной их части, что приводит к нарушению каскада тромбо-антитромбоцитобразования, содержания кининов и других эйкозаноидов, повышению продукции некоторых цитокинов и нарушениям в системе комплемента. Морфологическую основу болезни составляет генерализованный десквамативно-пролиферативный панваскулит с формированием розеолезной и петехиальной сыпи на кожных покровах. Болезнь протекает тяжело, с высокой температурой, симптомами поражения сердечно-сосудистой и нервной систем (падение артериального давления, бред, психоз и т.д.). Диагноз осуществляется по клинико-эпидемиологическим данным, подкрепляется лабораторным исследованием на специфические антитела (РСК, РНГА, ИФАи др.). Летальность без лечения – до 20%, при госпитальном уходе и лечении тетрациклинами – не выше 3,8%. Быстрое и эффективное этиотропное лечение осуществляется однократным (200 мг) или двукратным (100 мг в 2 приема с интервалом в 12 ч) приемом доксициклина, при его отсутствии – препаратами тетрациклинового ряда.

Профилактика. Осуществляется комплексом мер, включающих изоляцию завшивленных больных, их госпитализацию, дезинсекцию и дезинфекцию в очаге. Наиболее эффективны препараты, содержащие перметрин, а также назначение больному бутадиена. Для специфической профилактики разработана живая вакцина из штамма Е, которая применяется в комбинации с растворимым антигеном риккетсии Провачека (живая комбинированная сыпнотифозная вакцина из штамма «Е»–ЖКСВ-Е), а также инактивированная вакцина из растворимого антигена. Прививки осуществляются подкожно одно- и двух, трехкратно. Иммунитет – непродолжительный, клеточно-гуморальный.

Болезнь Бриля (син. рецидивный, повторный, спорадический сыпной тиф). Получила название по фамилии Нью-Йоркского врача Н. Брилля, впервые описавшего данную разновидность риккетсиоза Провачека в 1910 г. Впоследствии этот же риккетсиоз изучил Цинссер. Представляет собой не что иное, как рецидив (спустя 3 года – 60 лет) после ранее перенесенного эпидемического сыпного тифа. Возбудитель тот же – *R. prowazekii*. Больные данной формой неоднократно служили источником внутрисемейных и нозокомиальных вспышек эпидемической формы сыпного тифа. Встречаются среди людей на территориях, некогда затронутых эпидемиями вшивого тифа. В России в последние десять лет регистрируется ежегодно на уровне 30–60 случаев, среди лиц старших возрастных категорий (40–60 лет и старше), перенесших эпидемическую форму сыпного тифа в годы Великой Отечественной войны и первые послевоенные годы.

Клинически протекает как эпидемический тиф легкой и средней тяжести.

Патоморфология и патофизиология инфекционного процесса те же, что и при эпидемической форме. Различие заключается в эпидемиологии (нет переносчика, отсутствует сезонность проявления, источник и реализация способа заражения) и патогенезе начальной стадии болезни. Она возникает вследствие активации латентно «дремлющих» риккетсий.

Микробиологическая диагностика. Затруднена неопределенностью симптоматики на первой неделе заболевания (до появления сыпи) и ее сходством с симптомами при инфекциях, чаще брюшнотифозной. Диагноз устанавливается на основании клинико-эпидемиологических данных, с учетом анамнеза больного и подкрепляется серологическим исследованием со специфическим антигеном. При отсутствии переносчика в очаге лечение может осуществляться без изоляции больного, в зависимости от его состояния. Прогноз благоприятен, даже в отсутствии лечения антибиотиками – летальность не выше 1%.

Профилактика. Меры профилактики те же, что и при эпидемической форме. Специфическая профилактика невозможна.

Возбудитель эндемического (крысиного) сыпного тифа (R. typhi)

Крысиный (син. эндемический, блошиный, маньчжурский, корабельный, малайский, городской и др.) *сыпной тиф* – острое инфекционное заболевание риккетсиозной природы, связанное с эктопаразитами крыс, мышей и кошек, приуроченное преимущественно к территориям с тропическим и субтропическим климатом, благоприятствующим существованию в природе тропиковых блох и блох кошек.

Болезнь выделена в самостоятельную форму, отличающуюся от вшивого сыпного тифа, русскими врачами (С. С. Боткиным, С. С. Зимницким и В.А.Барыкиным) в 1906–1910 гг. под названием маньчжурский сыпной тиф; окончательная номинация болезни принадлежит Макси (1926).

Таксономия и общая характеристика возбудителя. ***R. typhi*** – типичный представитель риккетсий группы сыпного тифа с несколько сниженной по сравнению с *R. prowazekii* в отношении человека вирулентностью. Возбудитель обнаружен, выделен и идентифицирован Г. Музером и соавт. в 1926–1928 гг. Относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae;* паразитирует внутриклеточно. Морфологические, ростовые, тинкториальные характеристики идентичны таковым для возбудителя вшивого сыпного тифа, отличаясь более низкими показателями. Имеет общие антигены с *R. prowazekii* и протеем ОХ 19.

Эпидемиология. Инфекция в отсутствие блох неконтагиозна, заболеваемость носит преимущественно спорадический характер с незначительным подъемом в осенне-зимнее время. Болезнь широко распространена в странах тропического и субтропического пояса (Китай, Индия, Индонезия, Эфиопия, страны Средиземного моря, юго-запад США, Мексика и др.). В бывшем СССР очаг крысиного риккетсиоза существовал в Аджарии (г. Батуми) и в Азербайджане; в России риккетсиоз отсутствует. Стойкие очаги инфекции частично совпадают с очагами чумы, что объяснимо общностью переносчика. Инфицированность блох *R. typhi* достигает 7–18%. Механизм заражения подобен таковому при эпидемическом сыпном тифе – путем втирания инфицированных фекалий блох через расчесы кожи или вдыхания пылевидных частиц из высохших фекалий.

Патогенез, клиника, диагноз, лечение. Патогенез болезни сходен с таковым при риккетсиозе Провачека, отличается более умеренными морфологическими изменениями в пораженных органах и микроцирку-ляторном русле сосудистой системы. Первичный аффект на месте входных ворот инфекции отсутствует.

Болезнь возникает остро после инкубационного периода в 5–15 дней, сопровождается общими явлениями инфекционного токсикоза (озноб, лихорадка, головная боль, миалгия, недомогание, бессонница и др.), что затрудняет ее диагностику. Характерна сыпь розеолезно-папулезного или макуло-папулезного характера, часто (45–62%) распространяющаяся на ладони и подошвы. Лихорадочный период при среднетяжелом течении примерно 14 дней. Рецидивы и повторные заболевания не отмечены. Летальность в отсутствие лечения – не более чем у 5–10% госпитализированных.

Диагноз устанавливается на основании клинико-эпидемиологических данных, подкрепляется исследованием сыворотки крови больного в серологических реакциях (РСК, РНГА, РИФ, ИФА и др.). Дифференциация от вшивого сыпного тифа основана на различии (в 2–4 раза) титров антител при постановке реакций с корпускулярными антигенами обеих риккетсий.

Быстрый лечебный эффект достигается при терапии антибиотиками тетрациклинового ряда, в том числе и однократным приемом доксициклина.

Профилактика. Вакцинопрофилактика нерациональна. Неспецифическая профилактика достигается дезинсекционно-дератизационными мероприятиями в очагах инфекции и повышением социально-гигиенических стандартов жизни населения.

Возбудитель тифа кошачьих блох (R. felis)

Тиф кошачьих блох (син. фелипоз, заболевание, подобное крысиному тифу) – острое инфекционное заболевание риккетсиозной этиологии с неустоявшейся (к 1999 году) номинацией. Возбудитель – *R. felis*, выделен и идентифицирован как самостоятельный микроорганизм Абду Ф. Азадом и соавт. в 1990–1996 гг. в США. По некоторым молекулярно-генетическим характеристикам, близок к *R. akari* и *R. australis*, по другим характеристикам, а также фенотипическим свойствам, сходен с *R. typhi* и *R. prowazekii*. По данным Хигинса и соавт. (1996), присутствует в цитоплазме инфицированных клеток, но никогда в ядре, поэтому рассматривается как член сыпнотифозной группы, т.е. в роде *Rickettsia*. Таксономическое положение уточняется. В природе циркулирует в циклах: кошачьи блохи *Ctenocephalides* – кошки (собаки, опоссумы); эндемичен для штата Юкатан (Мексика) и, возможно, части территории США.

Клинически, заболевание у людей протекает в легкой форме, как денгеподобная или сходная с крысиным тифом лихорадка, сопровождаемая сыпью. Истинные размеры заболеваемости неизвестны: установлено, что 5,6% обследованного населения штата Юкатан имеют специфические антитела к *R. felis*.

Экология возбудителя, эпидемиология и клиника заболевания интенсивно изучаются. Эпидемиологическое значение для России неясно. Принципы диагностики, лечения и профилактики, очевидно, такие же, что и для других риккетсиозов.

Риккетсий группы клещевых риккетсиозов

Возбудитель Североазиатского риккетсиоза

Североазиатский клещевой риккетсиоз (син. клещевой сыпной тиф Азии, клещевой риккетсиоз Сибири) – природно-очаговый, облигатно трансмиссивный, наиболее распространенный в России риккетсиоз группы клещевых пятнистых лихорадок.

Впервые болезнь выявлена в России в 1934–1935 гг. на Дальнем Востоке военным врачом Е. И. Миллем и описана им в 1934 г. под названием *клещевая пятнистая лихорадка Приморья*. Возбудитель выделен из крови больного в 1936 г. О. С. Коршуновой, позднее, идентифицирован, как самостоятельный вид риккетсий.

Таксономия и общая характеристика возбудителя. *R. sibirica* (лат. *sibezica*) – типичный представитель риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок, серологически имеет общие антигены с другими риккетсиями данной группы, отнесен к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae*; паразитирует в цитоплазме и ядре чувствительных клеток. Достаточно хорошо культивируется в клещах надсемейства *Ixodoidea*, несколько хуже в перевиваемых линиях клеток и желточных мешках РКЭ. В культурах клеток формирует негативные колонии. Гемолитическая способность и способность к токсикозу в организме чувствительных биомоделей выражены слабо. При окраске по Здродовскому окрашивается в красный цвет. К действию факторов внешней среды неустойчив, быстро инактивируется при положительных температурах и под влиянием общераспространенных дезинфектантов. Фенотипические, серологические и генотипические характеристики идентичны таковым у риккетсий Риккетса и риккетсий Конори, однако, вирулентность для человека и экспериментальных животных более низка.

Эпидемиология и механизм заражения. Поддержание и распространение возбудителя в природных очагах связаны со многими видами иксодовых клещей родов *Dermacentor* и *Haemophysalis*. В отсутствие переносчика болезнь неконтагиозна. Природные очаги инфекции и, соответственно, заболеваемость устойчиво существуют на территориях Азиатской части России (Красноярский, Алтайский, Хабаровский, Приморский края; Амурская область, Тува, Хакассия) и сопредельных государств (Казахстан, Китай, Монголия). Индивидуальная инфицированность клещей на эндемичных (Республика Алтай) и неэндемичных (Омская область) территориях колеблется в диапазоне 0–86,2% (Н. В. Рудаков и соавт., 1998). Заражение человека происходит, в результате нападения и присасывания клеща на всех стадиях его развития. Заболеванию подвер-

жены люди всех возрастов, независимо от пола и профессии; четко выражена сезонность (март-сентябрь) болезни с пиком в апреле-мае.

Регистрация болезни в РФ введена с 1976 г.; за 1979–1996 гг. выявлено 26 650 случаев, при ежегодных 2300–2700 заболеваниях в 1990-е годы. Повышение заболеваемости объясняется увеличением контактов населения с природной средой.

Клиника, диагностика, лечение. Механизм заражения, патогенез и клиническая картина болезни идентичны, таковым при других клещевых риккетсиозах, отличаясь меньшей выраженностью последней. Первичную основу процесса составляют патофизиологические и морфологические нарушения в микроциркуляторном русле сосудистой системы. Инкубационный период – 3–7, редко – 10–14 дней. Заболевание протекает, как острая лихорадка с недомоганием, ознобом, головной болью, развитием генерализованной сыпи; продолжается 7–12 дней. Летальность в отсутствие лечения антибиотиками – не выше 1,0%; осложнения редки, рецидивы болезни не описаны.

Для клинической картины характерна триада признаков: первичный аффект на месте укуса клеща, сыпь, лихорадка. Диагноз устанавливается, либо по триаде признаков, либо по клинико-эпидемиологическим данным в случае отсутствия одного из ее компонентов (нет первичного аффекта, сыпь не характерна и непродолжительна, клиническая картина не выражена), подкрепляется лабораторным исследованием сывороток крови больного со специфическим групповым антигеном (РСК, РИГА, РИФ).

Лечение и профилактика. Лечение эффективно тетрациклинами. Вакцинопрофилактика не разработана. Экстренная профилактика может осуществляться по факту укуса клеща однодвукратным приемом доксициклина или других эффективных антибиотиков; Неспецифическая – противоклещевыми мероприятиями (защитная одежда, репелленты группы синтетических пиретроидов) и информацией врачей и населения на эндемичных территориях об опасности заболевания клещевыми инфекциями.

Возбудитель марсельской лихорадки (R. conori)

Марсельская лихорадка (син. прышекидная лихорадка, болезнь Карпуччи–Олмера, средиземноморская лихорадка, астраханская лихорадка и др.) – острая инфекционная болезнь, вызываемая *R. conori,* поддерживаемой и распространяемой в природе клещами-иксодидами, основными из которых являются *Rhipicephalus sanguineus. Haemophysalis leachi* и др.

Болезнь описана как самостоятельное заболевание в 1910г. Конором и Брушем в Тунисе; обнаружена в бывшем СССР (Крым) А. Я. Алымовым в 1936г.

Таксономия и общая характеристика. Этиологический возбудитель – *R. conori,* идентифицирован в 1932 г. Каминопетрос и Конто, является типичным представителем природноочаговых риккетсиозов, антигенно неотличимым от других риккетсий клещевой группы. Морфологические и тинкториальные свойства аналогичны таковым у *R. sibirica.* Имеет общие антигены с другими риккетсиями клещевой группы. По серологическим характеристикам штаммы возбудителя, циркулирующие в природе, однородны. В отсутствие переносчика заболевание неконтагиозно.

Эпидемиология, механизм заражения. Природные очаги инфекции приурочены к ареалам обитания клещей в бассейне Средиземного моря, на западе, центре и юге Африки и прибрежных районов Индии. На Американском и Австралийском континентах болезнь не обнаружена. В России активно действующий очаг (ежегодно в 1994–1998 гг. до 180–250 случаев) находится в дельте Волги в пределах Астраханской области, связан с клещами *Rh. pumilio.* В связи с этим, заболевание получило название астраханской лихорадки (И. В. Тарасевич, Н. М. Бадаева).

Естественная инфицированность клещей в очаге – на уровне 7,6%. Четко выражена сезонность заболевания (апрель-октябрь) с наибольшим – 21,0–35,5% – числом заболеваний в июле-августе соответственно; связь с профессией отсутствует, заболеваемость носит спорадический характер. Механизм заражения аналогичен таковому при других клещевых риккетсиозах – через укус клеща.

Клиника и патогенез. Патогенез инфекции, клиническое течение и патоморфология типичны для других клещевых риккетсиозов, в частности, клещевого риккетсиоза Азии.

Микробиологическая диагностика. Диагноз устанавливается по клинико-эпидемиологическим данным, важнейшими из которых является триада признаков (первичный аффект, лихорадка, сыпь), подкрепляется серологическим исследованием крови больных (РИГА, РНИФ). Выявление первичного аффекта зависит от внимательности практических врачей в очаге; отсутствие его (до 50% случаев), связано с аэрогенным механизмом инфицирования за счет аэрозоля из гемолимфы инфицированных клещей при их механическом раздавливании во время ухода за собаками. Прогноз в целом благоприятен, хотя летальность у лиц пожилого возраста может достигать 6%.

Лечение, профилактика аналогичны таковым при других клещевых риккетсиозах (см. клещевой риккетсиоз Азии). Высокоэффективна однодневная терапия доксициклином (две оральные дозы по 200 мг с интервалом в 12 ч).

Специфические меры профилактики не применяются.

Возбудитель везикулезного риккетсиоза (R. akari)

Везикулезный риккетсиоз (син. риккетсиозная оспа, оспоподобный риккетсиоз, гамазовый риккетсиоз и др.) – остролихорадочное заболевание риккетсиозной этиологии с внутригородской локализацией и благоприятным исходом. Природные очаги инфекции вне жилищ человека или мест постоянного его пребывания, не обнаружены. Инфекция неконтагиозна. Для России эпидемиологического значения не представляет.

Таксономия и общая характеристика возбудителя.

Возбудитель болезни – *R. acazi*, выделен и идентифицирован в США и в бывшем СССР независимыми группами исследователей (Р. Хюбнер и соавт., 1946; И. Р. Дробинский и др., 1948-1957; С. М. Кулагин, 1952-1953; В. М. Жданов, 1950-1954). Относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae*. Типичный представитель клещевых риккетсиозов с невысокой вирулентностью; паразитирует в цитоплазме и ядрах чувствительных клеток, гемолитические свойства и способность к токсикозу в организме чувствительных биомоделей не выражены, хорошо формирует бляшки в культуре клеток; окрашивается по Здродовскому в красный цвет, имеет общие антигены с другими риккетсиями клещевой группы. К действию факторов внешней среды неустойчив; легко инактивируется под влиянием положительных температур и обычных дезинфектантов.

Эпидемиология, механизм заражения. Болезнь периодически регистрируется на уровне единичных заболеваний в некоторых городах Атлантического побережья США, тогда как Донбасский очаг болезни в СССР, в результате интенсивных дезинсекционно-дератизационных мероприятий к 1960-м годам ликвидирован.

Клиническая характеристика. Механизм заражения, патогенез и клиника болезни типичны для клещевых риккетсиозов, отличаясь некоторыми деталями. В частности, менее выражено поражение клеток-мишеней (эндотелиальных клеток сосудистой системы), что обуславливает экссудативный характер кожных высыпаний (везикулезная сыпь) с быстрой ее инволюцией к 7–9-му дню после начала болезни. Первичный аффект исчезает значительно позже, спустя 2–3 недели после окончания лихорадки. Летальные исходы не описаны. Инкубационный период составляет 5–8 дней; в клинике преобладают общие симптомы лихорадочного состояния (повышение температуры, озноб, недомогание, головная боль, гиперемия лица и слизистых, гипотония и др.), которые у большинства больных сохраняются не более 6 дней.

Прогноз благоприятен, осложнения редки, рецидивы не описаны. Клинико-эпидемиологический диагноз (первичный аффект, лихорадка, сыпь) подкрепляется выявлением специфических антител с антигеном риккетсий клещевой группы в крови заболевших (РСК, РИГА, РНИФ).

Лечение. Быстро и эффективно осуществляется антибиотиками тетрациклинового ряда, по обычным схемам их применения.

Профилактика. Вакцинопрофилактика нерациональна. Неспецифическая профилактика осуществляется комплексом дератизационных и дезинсекционных мероприятий в очагах.

Возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых гор (R. ricketsii)

Пятнистая лихорадка Скалистых гор – зооантропоноз риккетсиозной этиологии с трансмиссивным механизмом распространения с участием иксодовых клещей. В отсутствие переносчика неконтагиозна.

Таксономия и общая характеристика возбудителя. Возбудитель болезни – *R. ricketsii,* открыт Г. Риккетсом в 1909 г., относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae;* паразитирует в цитоплазме и ядрах чувствительных клеток. Хорошо культивируется в организме клещей различных видов и в перевиваемых линиях клеток: накопление в желточных мешках РКЭ или в организме морских свинок: гемолитические свойства выражены, в культурах клеток формирует негативные колонии («бляшки»); в организме чувствительных биомоделей вызывает токсикоз; воспринимает окраску по Романовскому–Гимзе или по Гименесу; к действию факторов внешней среды неустойчив, в инфицированных клещах сохраняется несколько месяцев, легко инактивируется обычными дезинфектантами. Вирулентность природных популяций возбудителя широко варьирует; имеет общие антигенные сайты к другим риккетсиям данной группы.

Эпидемиология и механизм заражения. Заражение реализуется через укус (присасывание) лесных клещей *D. andersoni* (запад США), собачьих – *D. vaziabilis* (восток и юго-восток США) и бразильских клещей *A. Cajensis* (Бразилия, страны Панамского перешейка). Возможно внутрилабораторное заражение инфицированным риккетсиями аэрозолем.

Заболевание вне территории Америки не встречается; в природе возбудитель поддерживается за счет циркуляции в цепи диких животных, грызунов и клещей, в окружении человека – за счет собак и клещей.

Клиника, диагноз, лечение. Инкубационный период составляет в среднем 6–8 дней. Начало заболевания острое, клинические проявления обусловлены генерализованным панваскулитом с первичным нарушением функций эндотелиальных клеток кровеносной системы и последующим развитием патологических явлений, за счет дисбаланса эйкозаноидов, каскада коагуляции–антикоагуляции крови и нарушениями в системе комплемента. Для диагностики типичного заболевания характерна триада признаков: указание на укус или контакт с клещами, макуло-папулезная сыпь, захватывающая ладони и подошвы, лихорадочное состояние с высокой температурой. Первичный аффект на месте укуса клеща, как правило, не развивается. Заболевание отличается весенне-летней сезонностью, обусловленной активностью клещей в этот период времени года. Окончательный диагноз подкрепляется серологическим обнаружением специфических антител в РСК, РНИФ и др. Этиотропное лечение осуществляется антибиотиками широкого спектра действия (тетрациклины, доксициклин).

Орienции (возбудители лихорадки цуцугамуши)

Лихорадка цуцугамуши (син. краснотелковый риккетсиоз, кустарниковый тиф., речная лихорадка, тропический клещевой сыпной тиф) – острая инфекционная болезнь, вызываемая Orientia tsutsugaiiiushi. Возникает у человека вследствие присасывания личинок краснотелковых клещей.

Таксономия и общая характеристика возбудителя. Возбудитель – *R. tsutsugamushi* (с 1997 г. – *O. tsutsugamushi*), открыт Хаяши в 1905–1923 гг. Относится к роду *Orientia* семейства *Rickettsiaceae* подгруппы альфа-1 протеобактерий. Имеет шесть серологических групп.

По биологическим характеристикам, обеспечивающим циркуляцию возбудителя в природе и распределение в чувствительных клетках, идентичен риккетсиям клещевой группы. Имеет общий антиген с протеем OX_K.

Эпидемиология. Цуцугамуши – типичный природно-очаговый зооантропоноз клещевой группы, связанный с обитанием краснотелковых клещей в прибрежных районах стран западной части Тихого океана (Япония и Океания). В России болезнь встречается на крайнем юге Приморского края. Возбудитель поддерживается преимущественно в циклах циркуляции между мелкими грызунами и членистоногими, а также в результате трансовариальной и трансстадийной передачи у последних. Инфицирующая доза исключительно мала (единицы клеток).

В Японии в 1980-е годы ежегодно регистрировали до 1000 заболеваний, в Малайзии в 1970-е годы – свыше 500 000. Для России эпидемиологического значения болезнь не представляет. Выражена сезонность заболеваемости с двумя подъемами – весенне-летним (апрель-июнь) и осенним (сентябрь-ноябрь), – связанная с нападением личинок клещей различных видов. Присасывание личинок безболезненно, на месте укуса формируется первичный аффект.

Клиника, лечение. Инкубационный период–в пределах 5–21 дня, в среднем 7-10 дней. Вследствие вариабельности вирулентности природных популяций возбудителя, до $^2/_3$ инфицированных переносят инаппарантную инфекцию.

Для клиники характерны общие симптомы клещевых риккетсиозов, т.е. острое начало с появлением озноба, лихорадки, головной боли, миалгии, гипотонии, регионального лимфаденита, а затем и генерализованной лимфаденопатии. У большинства больных рано, с 4–7-го дня болезни, развивается макуло-папулезная, реже геморрагическая сыпь на коже туловища, реже – на ладонях и стопах.

Микробиологическая диагностика основана на клинико-эпидемиологических данных и подкрепляется серологическими исследованиями на антитела либо к протею OX_{19}, к специфическим антигенам клещевой группы в РСК, РНИФ, ИФА. В отсутствие лечения антибиотиками широкого спектра действия, прогноз затруднителен. Летальность в прошлом достигала 40%.

В связи с существованием антигенных вариантов ориенций, возможно повторное заболевание, так как предшествующее, обусловленное одним типом, не создает прочного иммунитета против другого. Специфические антитела в крови переболевших сохраняются более 10–20 лет.

Лечение антибиотиками тетрациклинового ряда эффективно купирует инкубационный процесс и приводит к быстрому (4–5 дней) излечению больных.

Специфическая вакцинопрофилактика не разработана; предупреждение болезни может осуществляться периодическим (раз в неделю) оральным приемом доксициклина при пребывании, например, туристов в эндемических местностях и комплексом противоклещевых мероприятий, аналогичных таковым при других клещевых риккетсиозах.

Эрлихии (возбудители эрлихиозов)

Эрлихии представлены группой облигатных внутриклеточных грамотрицательных бактерий, паразитирующих в эндотелиальных клетках и циркулирующих клетках крови, преимущественно лейкоцитах (паразиты лейкоцитов – возбудители «лейкоцитарных риккетсиозов»).

Выделены в род *Ehrlichiae* семейства *Rickettsiaceae* подгруппы альфа-1 протеобактерий. По нуклеотидному сиквенсу гена, кодирующего 16S-рп-босомальную РНК, разделены на 4 геногруппы, включающие все известные к настоящему времени эрлихии, поражающие жвачных животных (коров, овец, оленей, косуль, лошадей и др.), человека, рыб и насекомых. Патогенные для человека эрлихии входят в три геногруппы (табл. 17.31).

Родовое название «Echrlichia» было предложено Ш.Д. Мошковским в 1945 г. в честь Пауля Эрлиха для группы внутриклеточных микроорганизмов, имеющих отчетливый тропизм к гемопоэтическим клеткам.

Возбудитель болезни, обладающий вышеуказанными свойствами, был впервые обнаружен в Алжире французскими исследователями Dontaien и Lestoquard в 1935 г. при изучении тропической панцитопении собак и назван *Rickettsia canis,* а позднее номинирован Ш.Д. Мошковским как *E. canis.* С 1984г., после более точной идентификации возбудителя лихорадки эннетсу, родовое название близкородственных по генотипическим, антигенным, а впоследствии и по молекулярно-генетическим характеристикам микроорганизмов, было распространено на возбудителей моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиоза у людей и животных.

Отдельные случаи моноцитарного эрлихиоза выявлены серологически в Европе (Португалия, Испания, Бельгия), а также на территории Республики Мали (Африка).

История изучения гранулоцитарного эрлихиоза человека еще более коротка. Она начинается с момента обнаружения в 1994 г. доктором Д. Бэккеном и соавт. эрлихиального патогена внутри нейтрофилов человека, больного тяжелой лихорадкой, схожей по манифестации с клинической картиной моноцитарного эрлихиоза.

Морфология, культивирование, идентификация эрлихий. Все эрлихии, патогенные для человека, размножаются в моноцитах, макрофагах. Их жизненный цикл осуществляется внутри цитоплазматических вакуолей, так называемых «морул», т.е. в фагосомах (эндосомах), клетки, содержащих скопление эрлихиозных частиц. Единственным субстратом накопления эрлихий являются макрофагоподобные (линия собачьих макрофагов ДН 82) или эпителиоподобные (линия эндотелиальных клеток человека, клетки VERO, HeLa, ЛЭЧ и некоторые другие) перевиваемые клетки эукариотов. Накопление эрлихий в них незначительно, процесс весьма трудоемок и занимает длительное время (до 20–40 суток). Вероятно, это является одной из причин довольно редкого выделения эрлихий от больных людей. Для размножения *E. sennetsu,* кроме того, могут быть использованы белые мыши, у которых возбудитель вызывает генерализованную инфекцию с накоплением микроорганизма в макрофагах перитонеальной жидкости и в селезенке.

Морфологически все виды эрлихий представляют небольшие плеоморфные кокковидные или овоидные микроорганизмы, приобретающие темно-голубой или пурпурный оттенок при окраске по Романовскому. Обычно их обнаруживают в вакуолях – фагосомах цитоплазмы инфицированных эукариотических клеток, в виде компактных скоплений отдельных частиц паразита, внешне имеющих конфигурацию ягоды тутового дерева; последнее послужило основанием назвать такие скопления морулами. Небольшие цитоплазматические вакуоли клетки-мишени содержат обычно 1–5 эрлихий, но количество инфицированных вакуолей может достигать 400 и более на одну клетку.

При электронно-микроскопическом исследовании установлена сходная с риккетсиями ультраструктура эрлихий и идентичность способа размножения (простым бинарным делением).

Эрлихии не имеют общих специфических антигенов с риккетсиями сыпнотифозной и клещевой группы, а также *C. burnetii* и боррелиями – возбудителями болезни Лайма. Внутри же группы имеют антигенные перекресты с эрлихиями, патогенными для животных.

Эпидемиология. Механизм заражения, существование и распространение возбудителей моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиозов человека тесно связаны с иксодовыми клещами и их естественными прокормителями. Эрлихии распространены в США и других странах; возбудитель гранулоцитарного эрлихиоза обнаружен у лошадей, косуль и собак во многих странах Европы.

Заболевание у людей имеет сезонный характер, связанный с активностью переносчиков клещей; эрлихиозами болеют люди любого возраста – от младенцев до лиц преклонного возраста, но истинная заболеваемость неизвестна из-за трудностей диагностики и отсутствии обязательной регистрации заболеваний.

Механизм заражения эрлихиями, связанный с клещами, по-видимому, реализуется через слюну переносчиков. Время, необходимое для переноса инфекции животным, составляет примерно 6 ч.

Факторы патогенности у эрлихий изучены недостаточно. Очевидно, что избыточная, нерегулируемая продукция цитокинов, таких, как ФНО-а, ИФН-у, ИЛ-10 и некоторых других, под влиянием возбудителя является ключевой в развитии патологического процесса на уровне инфицированного макроорганизма. Цитокины в избыточном количестве индуцируют серьезные повреждения клеток-мишеней, что и сопровождается развитием патологического процесса, как это подтверждено в наблюдениях за больными марсельской лихорадкой. Каким образом на внутриклеточном уровне происходит индукция генов, связанных с цитокинами, неясно.

В качестве факторов патогенности рассматривается формирование «Спороподобных» корпускул, выход их из клетки-мишени путем «почкования» с последующим заражением прилегающих соседних клеток эндотелия.

Кроме того, во внешней оболочке возбудителя гранулоцитарного эрлихиоза выявлены два протеина – с молекулярной массой 44 и 153 кДа, играющие роль адгезинов, которые способствуют связыванию с лецитинсодержащими доменами клеток последнего, а также в регуляции экспрессии генов клеткой хозяина.

Патогенез и патологическая анатомия эрлихиозов. Патогенез и гистоморфологические изменения в органах и тканях больных эрлихиозами изучены недостаточно. Основные данные получены на чувствительных к эрлихиям приматах (макака-резус), а также на лошадях, собаках, мышах.

При лихорадке сеннетсу входные ворота инфекции локализуются в области рта и глотки. Отсюда возбудитель лимфогенно-гематогенным путем разносится по организму, вызывая генерализованную лимфаденопатию, поражение костного мозга и, соответственно, лейкопению с возрастанием удельного веса нейтрофилов на начальной стадии болезни. В инфекционный процесс вовлекается также эндотелий капилляров, так как у некоторых больных, хотя и редко, наблюдалась сыпь эритематозного или петехиального характера.

Патогенез моноцитарного и грануляцитарного эрлихиозов на начальной стадии обусловлен процессом внедрения возбудителя в организм через кожу и, следовательно, идентичен таковому для клещевых риккетсиозов.

Однако, при эрлихиозах первичный аффект отсутствует. После укуса инфицированного клеща возбудитель попадает в подлежащие ткани и распространяется гематогенным путем по всему организму, вызывая преимущественное поражение макрофагов селезенки, печени, лимфатических узлов, костного мозга и других внутренних органов. При этом нередко развиваются очаговые некрозы, периваскулярные лимфогистиоцитарные инфильтраты. В селезенке, печени, лимфатических узлах и костном мозге развиваются мегакариоцитоз и гемофагоцитоз, что формирует гемопоэтический ответ в форме миелоидной гипоплазии. Клинические и морфологические изменения в сосудистой системе, внутренних органах и костном мозгу проявляются нарастающей гипотензией, развитием желудочно-кишечного и легочного кровотечения, лейкопенией и тромбоцитопенией и изменением уровня печеночных трансаминаз.

Клиника, диагностика и лечение. Симптомы эрлихиозов не имеют манифестно-выраженных диагностических особенностей. Даже эрудированные врачи, осведомленные о существовании этих заболеваний, считают невозможным постановку диагноза «эрлихиоз», на основании лишь клинических симптомов и признаков. Поэтому диагностика заболевания обязательно должна подкрепляться результатами лабораторных исследований, из которых наиболее значимыми являются серологические данные, а также данные гемограммы и функционального состояния печени.

Общим в характеристике трех эрлихиозов является то, что клинически выраженные формы возникают внезапно, сопровождаются развитием лихорадочной реакции, появлением озноба, усталости, головной боли, анорексии, миалгии, тошноты, рвоты и признаков, обычных при других риккетсиозных заболеваниях и некоторых инфекциях вирусной природы.

Первичный аффект отсутствует для всех форм эрлихиозов, тогда как высыпания на коже эритематозного или петехиального характера редки при лихорадке сеннетсу и встречаются в 10–30% случаев, при гранулоцитарном и моноцитарном эрлихиозе, соответственно.

Инкубационный период составляет в среднем 8–14 дней, продолжительность лихорадочного периода не превышает 2 недель для лихорадки сеннетсу, 3 недель – для моноцитарного эрлихиоза (включая и тех, кто получил специфическое лечение) и 3–11 недель– для заболевания гранулоцитарным эрлихиозом. Для эрлихиоза сеннетсу фатальные исходы неизвестны, но при моноцитарном и гранулоцитарном эрлихиозах летальность достигает 2–3 и 5% соответственно.

Окончательный диагноз ставится на основании исследований сывороток крови больных и реконвалесцентов в РИФ со специфическим антигеном; на 10–79-й день от начала заболевания титры антител находились в диапазоне 1:644-1:1024.

Таблица 17. 31.

Клинико-эпидемиологические связи эрлихий. патогенных для человека

Видовое название, распространение	Этиологическая причастность к заболеванию человека	Вектор трансмиссии, резервуар
E. sennetsu Юго-запад Японии; Возможно Малайзия, Мьянма (Бирма)	Эрлихиоз сеннетсу (син.инфекционный ангинозный моно нуклеоз)	Моллюски рыб (вектор нуждается в уточнении)

E. chaffeensis США; по серологическим данным – возможно Испания, Бельгия. По ДНК-анализу клещей – Пермская область России	Моноцитарный эрлихиоз	Клещи A. americanum; возможно – J. persulkatus Олени, сабоки, мышевидные грызуны
Human granulocytik ehrlishium (возможно антигенно родственные E. equilike и E. phagocytophila): США, Европа (страны Скандинавии, Англия, Италия и др.)	Гранулоцитарный эрлизиоз (син. клещевая лихорадка)	Клещи J. scupulaci и J. pacificus – в США, J. ricinus – в Европе; Домашний скот, олени, косули, собаки, лесные крысы и мышевидные грызуны

Примечание. В настоящее время известно, примерно, 10 безусловно самостоятельных видов эрлихий.

Диагноз гранулоцитарного эрлихиоза так же, как и моноцитарного, основан на комплексе данных клинико-эпидемиологического обследования больного и клинического анализа крови и должен быть подтвержден выявлением специфических антител в титре 1:80 или выше. Для этого используют реакцию непрямой иммунофлюоресценции или ИФА. Применяют ПЦР.

Клинический исход эрлихиозов зависит от сроков назначения антибиотиков. Специфическое лечение (преимущественно тетрациклином, реже – хлорамфениколом), назначенное на 2–9-й дни болезни во всех случаях, обеспечило выздоровление, тогда как назначение препарата в более поздние сроки приводило к фатальному исходу.

При лихорадке сеннетсу в качестве доброкачественно заканчивающихся осложнений, упоминается асептический менингит, ригидность затылочных мышц и тяжелая головная боль.

Для моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиозов, при отсутствии лечения тетрациклином или доксициклином или при запоздалом их применении (позже 10-го дня болезни), наиболее частыми были развитие дисфункции почек или почечной недостаточности, диссеминированной внутрисосудистой коагуляции с последующим внутрилеточным, желудочно-кишечным или множественным, через видимые слизистые, кровотечением.

Профилактика. Вакцинопрофилактика эрлихиозов в отношении человека не разработана, поскольку в ней нет необходимости. Экстренная специфическая профилактика может осуществляться по факту обнаружения укуса клеща однократным приемом доксициклина. Неспецифическая профилактика заключается в проведении противоклещевых мероприятий перед выходом на местность, эндемичную по клещам, причастным к переносу эрлихий, а также информированием населения и врачей об особенностях зооантропонозов, в том числе, риккетсиозной и эрлихиозной природы.

17. 10. Коксиеллы. Возбудитель лихорадки Ку *(Coxiella burnetii)*

Лихорадка Ку (син. коксиеллез, устаревшее – певмориккетсиоз и др.) — зооантропоноз с преимущественно аэрогенным механизмом заражения, характеризующийся лихорадкой, поражением дыхательной системы (пневмонии) и гепатолиенальным синдромом.

Заболевание обособлено в качестве самостоятельного Э. Дерриком в Австралии в 1935 г. Получило название Ку – лихорадки от англ. query – неясный, неопределенный.

Таксономия и общая характеристика. Возбудитель – *Coxiella burnetii,* выделен в Австралии от больного человека Ф. Бернетом и М. Фрименом в 1937 г. и независимо от них – в США из лесных клещей D. Andersoni Дэвисом и Коксом (1938). Имеет более мелкие, чем риккетсии, размеры – порядка 0,25–1 мкм, полиморфен; чаще встречается в форме

коккобацилл. Окрашивается в красный цвет при окраске по Здродовскому, в пурпурно-красный – по Романовскому. Внутриклеточный паразит. Хорошо размножается в клещах, РКЭ, культурах клеток с накоплением до 10^{10}–10^{12} ID_{50}. По структуре клеточной стенки отличается от риккетсий наличием (I фаза) или отсутствием (II фаза) в оболочке структурного липополисахарида. Гемолитические свойства не установлены, бляшкообразование выражено; вирулентность связана с фазовым состоянием коксиелл – у II фазы она резко снижена. Размножается в фаголизосомах протоплазмы чувствительных клеток. Устойчив к факторам внешней среды, длительно сохраняется (месяцами) на контаминированных предметах, требует тщательной дезинфекции.

Общих антигенов с риккетсиями не имеет: изоляты, выделенные в отдаленных регионах земного шара по генотипическим и серологическим свойствам, различий не имеют.

По генотипическим характеристикам, номинирован в группе гамма-протеобактерий вместе с легионеллами, возбудителями болезни легионеров, что объясняет полиморфизм клинической картины болезни, устойчивость возбудителя во внешней среде и другие особенности инфекции.

Эпидемиология. Источником возбудителя является крупный и мелкий рогатый скот, лошади, верблюды. Инфекция неконтагиозна, поддерживается в природе, благодаря циркуляции возбудителя между многочисленными видами диких мелких млекопитающих, в основном, грызунов, а также птиц, с участием более 70 видов клещей. Инфекция у клещей бессимптомна, возбудитель передается потомству трансовариально и трансстадийно. Длительное (до 2 лет) сохранение жизнеспособности коксиелл в высохших фекалиях клещей обеспечивает дополнительный источник инфицирования теплокровных. Наибольшую опасность представляют сельскохозяйственные животные в сезон массового отела и окота (февраль-май), когда в окружающую среду поступает с околоплодными водами большое количество коксиелл. Заражение– аэрогенное – в результате вдыхания аэрозолей, содержащих возбудителя или пероральное – при употреблении в пищу мясных и молочных продуктов больных животных. Инфицирующая доза при аэрозольном заражении 1-10 коксиелл. Источником семейных вспышек могут быть рожающие кошки. В России стойкие высокоактивные очаги козье-овечьего типа сформировались в конце 80-х годов в индивидуальных хозяйствах ряда территорий (Поволжский, Центрально-Черноземный и Западно-Сибирский регионы). С начала официальной регистрации (1957) в России зафиксировано 11 510 заболеваний, с ежегодным уровнем 110–225 случаев, в 1992–1998 гг. Возбудитель же обнаружен на всех территориях земного шара, исключая покрытые вечными льдами (Антарктида, Арктика, Гренландия), а также Новую Зеландию.

Клиника, микробиологическая диагностика. Болезнь протекает в острой, подострой или хронической форме. Патогномичных симптомов не имеет; из-за отсутствия характерной клиники болезнь диагностируется, в основном, ретроспективно со значительным опозданием, особенно, при подострой и хронической формах.

Инкубационный период при острой форме варьирует в пределах 3–39 (чаще 12–19) дней. Заболевание носит характер лихорадки с поражением дыхательной системы (пневмонии) и гепатолиенальным синдромом. Сыпь не характерна, в виде розеопапул у 5–25% больных. Длительность болезни при наиболее частом гриппоподобном течении – до 10–20 суток. Летальность невысока, не более 1%. Постинфекционная астения у части больных сохраняется до 6 месяцев. Эндокардиты коксиеллезной этиологии развиваются спустя 3–20 лет после острой стадии болезни.

Первичными клетками-мишенями для коксиелл служат гистиоциты и макрофаги (мононуклеарные), дополнительно – клетки эндотелиальной системы кровеносных сосудов. Поражение эндотелия рассматривается, как вторичное, что обуславливает развитие периваскулитов, но не панваскулита, в отличие от риккетсиозов.

Таблица 17. 32.

Классификация хламидий, патогенных для человека

ВИД	Биовар	Серовары хламидий	Заболевания
Chlamydia trachomatis	Трахома (Trachoma) Лимфогранулема венерум (LGV)	A, B, B_a, C От D до K L_1, L_2, L_{2a}, L_3	Трахома и паратрахома Урогенительный хламидиоз и пневмония поворожденных Венерическая лимфогранулема
Chlamydia psittaci	–	8 (13) серовара	Орнитоз (пситтакоз)
Chlamydia pneumoniae	TWAR	TWAR, AR, RF, CWL	Пневмония, ОРЗ, атеросклероз, саркондоз, бронхиальная астма

Особенности коксиелл, связанные с их фазовым состоянием, затрудняют лабораторную диагностику. Последняя осуществляется с применением в серологических реакциях (РСК, РНИФ, ИФА) антигенов I и II фаз коксиелл. Обнаружение у больного IgG антител к антигену I фазы в титре 1:800 подтверждает хроническую (чаще всего, эндокардит) форму болезни.

Лечение. Препаратами тетрациклинового (тетрациклин, доксициклин, моноциклин) и хинолонового (ципрофлоксацин, офлоксацин и др.) ряда. Лечение хронических форм и осложнений требует длительного, настойчивого комбинированного применения антибиотиков.

Профилактика. Существует живая вакцина на основе штамма М-44 (П. Ф. Здродовский, В. А. Гениг) коксиелл Бернета, однако, ее применение целесообразно для вакцинации, прежде всего, сельскохозяйственных животных с целью уменьшения опасности выделения коксиелл в окружающую среду. Вакцинируются сотрудники лабораторий, работающие с коксиеллами. Неспецифическая профилактика сводится к постоянному эпидемиологическому и санитарно-ветеринарному надзору за коксиеллезом в эндемичных районах с последующей выбраковкой больных сельскохозяйственных животных.

17. 11. Хламидий (семейство *Chlamydiaceae)*

Хламидиоз респираторный – антропонозная хламидийная инфекционная болезнь с аспирационным механизмом передачи возбудителя. Характеризуется катаром дыхательных путей, пневмонией и общей интоксикацией.

Историческая справка.

Хламидия, впервые обнаруженная в 1959 году, вначале расценивалась врачами, как обычная влагалищная флора женщины и лишь в 1964 году была выявлена связь микроба со специфическим воспалением, что окончательно подтвердилось в 1977 году.

В 1907 году в Европе разразилась эпидемия трахомы – гнойного воспаления слизистой оболочки глаз, преимущественно у детей. Заболевание быстро приводило к слепоте. Причиной трахомы была одна из разновидностей хламидии, но об этом, в те годы,

было неизвестно. История изучения хламидиозов началась с конца XIX века, когда появились сообщения клиницистов о болезнях с поражением легких, своеобразным течением.

Первым представителем семейства хламидии, изолированным из организма больного в 1930 году, был возбудитель орнитоза. Вопрос о природе хламидии, долго оставался спорным. *Burnet* (1946) считал, что хламидии представляют собой «мостик» между риккетсиями и вирусами. В «Определителе вирусов человека и животных» В. М. Жданов отнес хламидии к вирусам.

В начале 1950 годов, были выявлены хламидийные инфекции у сельскохозяйственных животных и др. млекопитающих, а также у заболевших, в результате контакта с больными животными людей.

На IX Международном конгрессе микробиологов (1966) хламидии были исключены из царства *Vira.*, с 1 января 1980 года согласно решению Международной Ассоциации Микробиологических Обществ (МАМО) эти микроорганизмы получили родовое название «Chlamydia».

Характеристика возбудителя.

Хламидии (Chlamydia) – мелкие грамотрицательные кокковидные бактерии, размером 250–1500 нм (0,25–1 мкм). Они имеют все основные признаки бактерий: содержат два типа нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), рибосомы, мурамовую кислоту (компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий), размножаются бинарным делением и чувствительны к некоторым антибиотикам. В 1966 году на 9-м Международном съезде микробиологов хламидии были исключены из класса вирусов. По современной классификации хламидиии помещены в одну таксономическую группу с риккетсиями, с которыми их объединяет внутриклеточный паразитизм.

Все хламидии сгруппированы в порядок *Chlamydiaceae,* род *Chlamydia,* последний включает четыре вида:

Chlamydia trachomatis (Хламидия трахоматис) вызывающая патологию мочеполовых путей;.

Chlamydia psittaci и *Chlamydia pneumonia, поражающие органы дыхательных путей.*

Chlamydia pecorum.

Chlamydia psittaci – вызывает у человека атипичную пневмонию, энцефаломиокардит, артрит, пиелонефрит.

Chlamydia pecorum описана недавно, изолирована от животных-овец, крупного рогатого скота. Имеет сходство с *Chlamydia psittaci.* Роль в патогенезе заболеваний человека неизвестна.

Chlamydia pneumoniae вызывает у взрослых острые респираторные заболевания и мягкую форму пневмонии.

Вид *Chlamydia trachomatis* встречается только у человека, в ней выявлены 18 антигенных вариантов (серотипов).

ХЛАМИДИИ (синонимы: галытровии бедсонии, микроорганизмы группы пситтакоз – лимфогранулема – трахома, хламидозоа) – облигатные паразитические бактерии с характерным циклом развития в цитоплазматической вакуоли эукариотной клетки-хозяина, заключающимся в закономерной смене вегетативных репродуцирующихся неинфекционных клеток (ретикулярных телец) и спороподобных инфекционных клеток (элементарных телец), обеспечивающих выживание в окружающей среде.

Chlamydia psittaci объединяет возбудителей болезней животных — *орнитоза,* энзоотических абортов, пневмоний, полиартритов, гастроэнтеритов, менингоэнцефалитов, конъюнктивитов, которые могут передаваться человеку. К виду Chlamydia trachomatis отно-

сятся возбудители, вызывающие у человека *трахому,* паратрахому, паховый лимфогранулематоз, урогенитальные хламидиозы – *уретрит* и *цервицит, пельвиоперитонит, перигепатит,* урогенные артриты, а также глазные, респираторные и другие инфекции у новорожденных и младенцев.

Хламидии, по химическому составу, сходны с грамотрицательными бактериями.

Цикл развития хламидии продолжается 40–72 час. (в зависимости от штамма): элементарные тельца проникают в клетки путем фагоцитоза, внутри фагоцитарной вакуоли преобразуются в ретикулярные тельца, которые, размножаясь путем бинарного деления – перетяжкой, образуют микроколонию – внутрицитоплазматическое включение, называемое тельцем Хальберштедтера– Провачека. После нескольких циклов деления, ретикулярные тельца реорганизуются через промежуточные формы в элементарные тельца нового поколения, которые при разрыве стенки вакуоли и плазмолеммы клетки-хозяина выходят в окружающую среду.

Хламидии имеют общий родоспецифический антиген (кислый полисахарид с молекулярным весом около 10^6) и различаются своими видоспецифическими и типоспецифическими *антигенами.* У Chlamydia trachomatis определено 15 серотипов. Антигенные отличия наблюдаются у ряда штаммов Chlamydia psittaci, выделенных от млекопитающих и птиц. Элементарные тельца обладают гемагглютинирующей и токсической активностью. Хламидии чувствительны к антибиотикам широкого спектра действия, трансформируются под влиянием пенициллинов в L-подобные формы. Большинство штаммов Chlamydia, trachomatis в противоположность типичным штаммам Chlamydia psittaci чувствительны к сульфаниламидам и образуют в цитоплазматических включениях гликоген. Наиболее широким тропизмом к различным клеткам-хозяевам обладают представители Chlamydia psittaci.

В лабораторных условиях хламидии культивируют в культурах клеток (многослойных и суспензионных) и в развивающихся куриных эмбрионах, заражаемых: преимущественно в желточный мешок.

Методы индикации хламидии включают выявление морфологических структур и антигенов хламидии с помощью светового, люминесцентного и электронного микроскопов, непосредственно в клинических материалах, при диагностическом выделении в культуре клеток или в куриных эмбрионах и при биопробах на мышах и морских свинках. Препараты окрашивают по методу Ромновского-Гимзы, Маккиавелло, Хименеса или исследуют с помощью *иммунофлюоресценции* или *энзимиммунологического метода.*

Хламидии имеют широкий спектр хозяев. Главными экологическими нишами в природе являются птицы и млекопитающие, включая человека. Хламидии встречаются у членистоногих, морфологически подобные микроорганизмы описаны у рыб, моллюсков и растений. Кроме того, ряд малоизученных риккетсиеподобных микроорганизмов из порядка Rickettsiales (Ehrlichia, Cowdria, Neorickettsia, Rickettsiella) рассматривается как кандидаты на включение в порядок Chlamydiales.

Хламидии существуют в двух формах, различающихся по морфологическим и биологическим свойствам. Высокоинфекционной, спороподобной, внеклеточной формой является элементарное тельце (ЭТ), и вегетативной, репродуцирующейся, внутриклеточной - ретикулярное тельце (РТ). Элементарное тельце имеет вид сферы диаметром 0,15-0,2 мкм. Ретикулярное тельце имеет структуру типичных грамотрицательных бактерий, размером около 1 мкм. В элементарном тельце содержится больше дисульфидных связей, что позволяет им противостоять осмотическому давлению. Первый этап инфекционного процесса – адсорбция элементарного тельца на плазмалемме чувствительной клетки хозяина. Важную роль на этом этапе, играют электростатические силы. Внедрение хламидий происхо-

дит путем эндоцитоза. Инвагинация участка плазмалеммы с адсорбированным элементарным тельцем происходит в цитоплазму с образованием фагоцитарной вакуоли. Эта фаза занимает 7-10 часов. После этого, уже в клетке, в течение 6-8 часов, происходит реорганизация элементарного тельца в вегетативную форму – ретикулярное тельце, способное к росту и делению. Именно на этой фазе эффективно курсовое применение антибактериальных препаратов, поскольку элементарное тельце к ним не чувствительно.

Хламидий при температуре -60° С сохраняются до 20 мес., при -20° С – до 4-6 мес, при +40° С – до 10 дней, при 20° С – до 7 дней; быстро инактивируются под воздействием традиционных химических средств дезинфекции (3% раствор хлорамина, лизола, фенола), способны длительно сохраняться во внешней среде, при низких температурах.

Размножение хламидий ведет к формированию включений, известных под названием телец Провачека. В течение 18-24 часов развития они локализованы в цитоплазматическом пузырьке, образованном из мембраны клетки хозяина. Во включении может содержаться от 100 до 500 хламидий . Остановка процесса на этой стадии ведет к персистенции хламидийной инфекции. Далее начинается процесс созревания ретикулярных телец через переходные (промежуточные) тельца в течение 36-42 часа развития в ЭТ следующего поколения. Полный цикл репродукции хламидий равен 48-72 часам и завершается разрушением пораженной клетки, в случае возникновения для хламидий неблагоприятных метаболических условий, этот процесс может затягиваться на более длительный период. Хламидии могут высвобождаться из инфицированной клетки через узкий ободок цитоплазмы. При этом, клетка может сохранять жизнеспособность, этим можно объяснить бессимптомность течения хламидийной инфекции.

Структура клеточной стенки хламидий соответствует общему принципу построения грамотрицательных бактерий. Она состоит из внутренней цитоплазматической и наружной мембран (обе являются двойньми, обеспечивая прочность клеточной стенки). Антигенные свойства хламидий определяются внутренней мембраной, которая представлена липополисахаридами. В нее интегрированы так называемые белки наружной мембраны (Outer membrane proteins-OMP). На основной белок наружной мембраны-Major Outer Membrane Protein (MOMP) приходится 60% общего количества белка. Оставшаяся антигеннная структура представлена белками наружной мембраны второго типа ~ OMP-2.

Все хламидии имеют общий групповой, родоспецифичный антиген (липополисахаридный комплекс, реактивной половиной которого является 2-кето-3-дезоксиоктановая кислота), используемый при диагностике заболевания иммунофлюоресцентными методами со специфическими антителами.

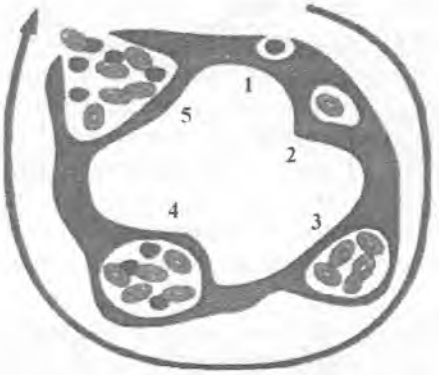


Рис. 17.1. Цикл развития хламидий.

Белки MOMP и OMP-2 содержат видоспецифические и серотипоспецифические эпитопы. Однако, в них имеются также области с высоким сходством среди видов (родоспецифические эпитопы), что обуславливает возможность появления перекрестных реакций. Основной белок клеточной мембраны и богатые цистеинами другие белки связаны дисульфидными связями. Обнаружено пять генов дисульфид- связанных изомераз, возможно играющих роль в реструктуризации цистеинбогатых белков при дифференциации элементарных телец в ретикулярные. У *CM. trachomatis* выявлено 9 генов, кодирующих поверхностные мембранные белки, у *Chlamydia pneumonia* -18.

Патогенез.

Патогенез пневмохламидиоза изучен недостаточно. Воротами инфекции являются дыхательные пути. Преимущественное поражение бронхов и легких свидетельствует об изменениях в области ворот инфекции, как это наблюдается и при орнитозе. Однако, в отличие от орнитоза, в процесс вовлекаются слизистые оболочки верхних отделов респираторного тракта, глотки, придаточных пазух носа. Далее хламидии проникают в кровь, обуславливают симптомы общей интоксикации и поражение сосудов. Можно допустить размножение хламидии в эндотелии сосудов, они могут повреждать и эндокард. Как и при других хламидиозах, наблюдается длительное персистирование хламидии в организме. Это обуславливает хроническое поражение органов дыхания в виде бронхиальной астмы, хронического астматического бронхита, сосудистых нарушений, могут длительно сохраняться и антитела. В патогенезе имеет значение наслоение вторичной бактериальной инфекции. Напряженность и длительность иммунитета остаются неизученными.

На основании результатов серологических исследований, можно утверждать, что инфекция *Chlamydia pneumoniae* распространена весьма широко. Передача их осуществляется от человека к человеку. Первичная инфекция возникает у молодых взрослых, менее серьезные эпизоды реинфекции встречаются в более старшем возрасте. Каждый из трех известных в настоящее время видов хламидий, способен вызывать воспаление легких: *Chlamydia trachomatis* – отдельные случаи пневмонии у новорожденных; *Chlamydophila psittaci* – поражение легких при пситтакозе (орнитозе); *Chlamydophila pneumoniae* – весьма распространенный возбудитель пневмонии и острого бронхита у взрослых и детей. Собственно *Chlamydia pneumoniae,* как уже говорилось выше, и рассматривается, как один из актуальных возбудителей атипичной пневмонии. Этиологический вклад *Chlamydia pneumoniae* в развитие внебольничной пневмонии, преимущественно у лиц молодого возраста, составляет 3-10%. Резервуар и источники возбудителя: больной человек.

Период заразительности источника. Возбудитель выделяется во внешнюю среду с отделяемым из носоглотки в течение всего периода клинических проявлений заболевания. Возможно носительсгво, длящееся около 8 мес. Механизм передачи возбудителя аспирационный; путь передачи – воздушно-капельный; фактор передачи – воздух, контаминированный возбудителем. Естественная восприимчивость людей высокая. У детей и престарелых, чаще наблюдается тяжелое течение заболевание, у молодых людейпреобладают легкие формы. Болезнь распространена повсеместно. Отмечаются спорадические случаи и эпидемические вспышки. Подъемы заболеваемости наблюдаются в осенне-зимний и ранний весенний периоды. Антитела к возбудителю инфекции редко обнаруживаются у детей до 5 лет, доля их возрастает среди подростков, достигает около 50% у лиц в возрасте 20-30 лет и еще более повышается среди лиц пожилого возраста.

Клиника.

Клиническая картина респираторного хламидиоза, ввиду его недостаточной изученности, представляется менее определенной, нежели, например, микоплазменной инфекции. Установлено весьма распространенное бессимптомное или малосимптомное течение

Chlamydia pneumoniae-инфекции. Так, при обследовании военнослужащих-новобранцев было подтверждено, что только у 10% из числа лиц с серологически верифицированной активной хламидийной инфекцией, обнаруживались клинико-рентгенологические признаки пневмонии. Наверное, именно этот факт и объясняет значительную частоту бессимптомных серопозитивных лиц (25-86%), причем, с возрастом частота циркуляции антихламидийных антител в популяции возрастает. Бессимптомное назофарингеальное носительство *Chlamydia pneumoniae* определяется примерно у 5-7% обследуемых здоровых детей, что предполагает возможность передачи инфекции от человека к человеку с респираторными секретами. Клиническая картина хламидийной пневмонии часто оказывается схожей с таковой при микоплазменной пневмонии. Лихорадка и малопродуктивный приступообразный кашель встречаются в 50-80% случаев. Выраженная гиперемия зева и боли при глотании, часто сопровождаемые осиплостью голоса, наблюдаются более, чем у трети больных, нередко являясь дебютными и/или наиболее демонстративными признаками заболевания. Основные клинические признаки – лихорадка, насморк, кашель, который иногда длится более 2 нед. У пожилых людей бронхиты и синуситы могут приобретать хронический характер. Ведущая форма заболевания – мелкоочаговая и (или) интерстициальная пневмония.

Клинические особенности и диагностика респираторного хламидиоза, вызванного chlamydiae pneumonia, у детей

Было обследовано 30 детей г.Ташкента в возрасте от 6 до 15 лет с ОРЗ. Лабораторные исследования проводили с помощью реакции иммунофлюоресценции, используя в качестве диагностикума тест-систему, разработанную в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН. Результаты исследований показали, что частота респираторного хламидиоза в данной возрастной группе составила 23,3%. Обращено внимание на особенности клинического течения респираторного хламидиоза: из анамнеза, дети с 6 лет стали часто болеть респираторными заболеваниями, в 86% случаев, заболевание начиналось с одновременного появления сухого надсадного кашля и субфебрильной температуры. Клиническими проявлениями данной инфекции явились пневмония в 57,1% и бронхит – 42,85%. Для пневмоний были характерны полисегментарные поражения и наличие обструктивного синдрома.

Хламидийная пневмония характеризуется, как правило, нетяжелым, но нередко затяжным течением.

Лечение.

Основные принципы лечения хламидиозов, как это следует из основных закономерностей взаимодействия хламидий и иммунной системы при лечении таких больных, необходимо проведение иммуномодулирующей терапии, такой, которая бы стимулировала цитотоксические Т-лимфоциты на реакцию против инфицированных хламидиями клеток.

Антибиотики в лечении хламидиоза. Так как хламидии – паразиты, живущие внутри клеток, то для их лечения требуется применение антибиотиков способных проникать и накапливаться в пораженных клетках. Эритромицин или тетрациклин в дозе 500 мг 4 раза в сутки в течение 10-14 дней.

Профилактика.

Многочисленные данные о биологии хламидии приводят к выводу о необходимости возможно более ранней диагностики различных видов хламидиоза, проведения такого обследования, если не в скрининговом порядке, то при ряде довольно широких показаний, например, при раннем развитии атеросклероза, при астме, при неврологических наруше-

ниях окклюзии фаллопиевых труб, хроническом простатите, лимфаденитах и т.д. Следующим принципиальным моментом является мониторинговое обследование выявленных больных в течение длительного времени после окончания курса антибиотиков, с целью своевременного выявления и предупреждения рецидивов.

Лабораторная диагностика.

Первоначально для выделения культуры *C. pneumoniae* использовались 6-7-дневные куриные эмбрионы (возбудитель наиболее интенсивно размножается в эктодермальных клетках оболочки желточного мешка). Впрочем, затем выяснилось, что этот метод демонстрирует низкую чувствительность. В конечном счете, выбор был сделан в пользу перевиваемой линии клеток человека, до того использовавшейся для выделения респираторного синцитиального вируса.

Определенное распространение в клинической практике получил метод иммунофлюоресценции, с целью прямого обнаружения *C.pneumoniae.* Однако, наибольшей популярностью (ввиду широкой доступности) пользуется сегодня метод серологической диагностики. Первым методом серодиагностики была реакция связывания комплемента (РСК) с использованием липополисахаридного антигена. Вероятный диагноз пситтакоза как раз и основывался на результатах этого теста. Однако, при проведении РСК невозможно дифференцировать *C .trachomatis, C. psittaci* и *C. pneumoniae.* Более того, при острой *C. pneumoniae*-инфекции РСК оказывается положительной, только в 30% случаев. В настоящее время, «золотым стандартом» серологической диагностики этой инфекции является *тест микроиммунофлюоресценции* (МИФ). МИФ продемонстрировала высокую чувствительность и специфичность в сравнении с референс-методом диагностики (выделение культуры возбудителя). Этот метод позволяет идентифицировать специфические иммуноглобулины G, A и M.

Обычно, вначале проводят определение IgG, предваряя этим тестом определение IgM. Таким образом, исключается ложноположительное определение IgM в случаях наличия ревматоидного фактора, особенно, у пожилых пациентов. Свидетельствами активной хламидийной инфекции являются четырехкратное нарастание титров IgG или IgA в парных сыворотках крови, взятых с 2-4-недельным интервалом в остром периоде заболевания и в периоде реконвалесценции или однократно определяемый высокий титр антихламидийных антител (например, IgG>=T :512).

В настоящее время, активно обсуждается перспектива клинического применения ПЦР в диагностике хламидийной инфекции. Однако, относительная сложность в проведении и высокая цена сдерживают масштабное распространение этой диагностической технологии. Впрочем, ПЦР позволяет осуществить быструю диагностику, что может, в части случаев, оказаться полезным в плане выбора соответствующей антимикробной химиотерапии.

При рентгенографии органов грудной клетки, чаще визуализируется мелкоочаговая (размером 2-3 см), нередко многофокусная инфильтрация. Лобарная инфильтрация, образование полостей в легких и плевральный выпотнетипичны для хламидийной пневмонии. Количество лейкоцитов и лейкоцитарная формула в периферической крови обычно нормальные.

Возбудители пневмонии, бронхита (C. pneumoniae)

Возбудитель респираторного хламидиоза – *Chlamydia pneumoniae*

C. pneumoniae является возбудителем респираторного хламидиоза, вызывая преимущественно острые и хронические бронхиты и пневмонии.

В последнее время, накапливаются данные о возможном участии этого вида хламидии в развитии атеросклероза и бронхиальной астмы.

Впервые атипичный штамм хламидии был изолирован от ребенка с трахомой на Тайване в 1965 г. Значительно позднее, в 1983 г., такой же штамм выделили в США от больного фарингитом. И только в 1989 г. Дж. Грейстон предложил называть хламидии, выделяемые от больных с заболеваниями респираторного тракта, *Chlamydia pneumoniae*.

C. pneumoniae обладает некоторыми отличиями от других хламидий: низкой степенью гомологии ДНК (имеют слабое генетическое родство с другими хламидиями); формой элементарных телец (элементарные тельца *C. pneumoniae* грушевидной или копьевидной формы, за счет расширения периплазматического пространства), а также видовым антигеном. *C. pneumoniae* плохо культивируются. При заражении культур клеток мокротой больных, откуда пытаются выделить возбудителя, клетки нередко погибают. *C. pneumoniae* может размножаться только в клетках линий HeLa и Hep-2.

Вид *C. pneumoniae* имеет три биовара: *TWAR (TW-Шmn, AR-Acute* ifespiratory), вызывающий заболевания у человека, а также *Koala,* патогенный для коал, и *Equine* – конский. Биовар *TWAR* разделен на 4 серовара: *TWAR, AR, RF, CWL.* Серовар TWAR выделяется от человека чаще других.

Эпидемиология. Респираторный хламидиоз – антропонозная инфекция: источником ее являются больные люди. Заражение происходит воздушно-капельным путем. Восприимчивость к инфекции высокая, особенно у молодых людей старше 20 лет. Распространение инфекции идет медленно, по-видимому, потому, что больные люди выделяют слишком мало хламидий, чтобы заразить окружающих. Однако, у бессимптомных носителей хламидии способны накапливаться в верхних отделах респираторного тракта.

Заболевание широко распространено, особенно в Северной Европе, где до 10% пневмоний вызываются *C. pneumoniae.*

Патогенез и клиника. Хламидии попадают в легкие человека через верхние дыхательные пути. Обладая выраженным тропизмом к эпителию дыхательных путей, эти бактерии вызывают воспаление верхних отделов респираторного тракта и легких (фарингит, бронхит, синусит, пневмония).

Благодаря тому, что их элементарные тельца имеют копьевидную форму, они заостренным концом прикрепляются к эпителиальным клеткам респираторного тракта. Внедряясь в легочную ткань и размножаясь, хламидий вызывают гибель клеток и тяжелое воспаление легких. Токсины хламидий и продукты распада клеток организма вызывают патологические изменения в различных органах и системах.

Хламидий вызывают так называемые «атипичные пневмонии», которые клинически неотличимы от других подобных инфекций легких, вызванных микоплазмами, легионеллами или «респираторными» вирусами. Начало заболевания вялое, с незначительным подъемом температуры тела. Нередко, одной из первых жалоб, является синусит. Однако, возможны и бессимптомные и субклинические формы респираторного хламидиоза.

C. pneumoniae удалось обнаружить в атероматозных бляшках коронарных артерий и аорты, поэтому ученые обсуждают возможность участия *C. pneumoniae* в развитии атеросклероза. Возможно, этот вид хламидий также играет роль в возникновении саркоидоза, бронхиальной астмы, менингоэнцефалита, артритов и других заболеваний.

Иммунитет. Перенесенное заболевание не оставляет прочного иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Заключается в постановке РСК для обнаружения специфических антител (серологический метод). При первичном заражении учитывают обнаружение IgM, при реинфекции надежным признаком остается выявление нарастания

титра иммуноглобулинов класса G. Применяют также РИФ для обнаружения хламидийного антигена и ПЦР.

Учитывая трудности выделения возбудителя, культуральный (биологический) метод диагностики применяют крайне редко.

Лечение. Проводят с помощью антибиотиков (обычно тетрациклины и макролиды).

Профилактика. Только неспецифическая, как при других антропонозных хламидиозах. Специфическая профилактика пока не разработана.

Возбудители орнитоза (C. psittaci)

Возбудитель орнитоза – *Chlamydia psittaci*

C. psittaci является возбудителем орнитоза (пситтакоза) – острого (реже хронического) инфекционного заболевания, которое характеризуется преимущественным поражением легких, иногда – нервной системы и паренхиматозных органов (печени, селезенки) и явлениями интоксикации.

Заболевание было описано в 1876 г. Ф. Юргенсеном и получило название «пситтакоз», так как источником вспышки тяжелой пневмонии были попугаи (греч. *psittakos* – попугай). В 1930 г. возбудитель был выделен С. Бедсоном от больных людей. Позднее болезнь получила название «орнитоз», так как резервуаром возбудителя могут быть многие виды птиц (греч. *ornis* – птица).

Эпидемиология. Орнитоз – зооантропонозное заболевание. Источником инфекции являются более 170 видов диких и домашних птиц – голуби, попугаи, канарейки, утки, воробьи и др. Наиболее вирулентные штаммы хламидий выделены от попугаев и из организма погибших от орнитоза людей. *C. psittaci* поражает также животных, особенно часто – крупный и мелкий рогатый скот. Поэтому животные, также могут быть источником заболевания человека. Дополнительным источником инфекции для человека могут быть эктопаразиты птиц, а также крысы. От человека человеку заболевание передается крайне редко.

Таким образом, большое количество резервуаров возбудителя орнитоза объясняет широкую распространенность этого заболевания.

Механизм заражения – аэрогенный, пути передачи инфекции человеку – воздушно-капельный и воздушно-пылевой. Редко возможен фекально-оральный механизм заражения (путь – алиментарный): при употреблении в пищу мяса птицы, недостаточно хорошо обработанного термически. Иногда микробы заносятся грязными руками на слизистую оболочку глаз, носа, т.е. имеет место контактный путь передачи инфекции.

Восприимчивость людей к орнитозу высокая. Однако, чаще наблюдаются спорадические случаи. Заболевание носит профессиональный характер: вспышки орнитоза отмечаются на птицефабриках, животноводческих фермах, мясокомбинатах.

Патогенез. Возбудители обычно попадают в организм через слизистые оболочки верхних дыхательных путей. Обладая эпителиотропностью, они проникают в эпителий бронхов, бронхиол и альвеол, где размножаются, разрушая клетки. Развивается воспаление. Токсины микробов и продукты распада клеток вызывают интоксикацию. Хламидий попадают в кровь (бактериемия), разносятся по организму, поражая паренхиматозные органы (печень, селезенку), центральную нервную и сердечно-сосудистую системы, суставы. При орнитозе имеет место аллергизация организма.

Клиника. Инкубационный период составляет от 6 до 10 дней. Заболевание всегда начинается остро – повышение температуры тела до 38–40 °С, признаки интоксикации. Орнитоз чаще протекает как тяжелая пневмония с геморрагическими проявлениями, напоминая вирусную или микоплазменную. В патологический процесс вовлекаются печень,

почки, надпочечники, суставы. При осложненном течении орнитоза возможно развитие менингита и менингоэнцефалита, миокардита, эндокардита и перикардита.

Описана также новая форма хламидийной инфекции (при заражении от животных) – генерализованный хламидиоз зоонозной природы.

Орнитоз продолжается около месяца, хотя нередки и хронические формы.

Прогноз при своевременной диагностике и адекватном лечении, как правило, благоприятный. Однако, возможны летальные исходы (в 2–3% случаев).

Иммунитет. При орнитозе клеточно-гуморальный, нестерильный. Постинфекционный иммунитет непродолжительный и непрочный: реинфекция возможна уже через 0,5–2 года. Нередко также наблюдается длительное пер-систирование хламидий в организме и, следовательно, частые рецидивы болезни.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служит кровь (в первые дни заболевания), мокрота больного (на протяжении всего острого периода), сыворотка крови для серологического исследования.

Применяют биологический метод – культивирование хламидий в желточном мешке куриного эмбриона, на белых мышах или в культуре клеток. Однако, этот метод используется редко из-за высокой опасности заражения персонала.

Серологический метод диагностики орнитоза пока остается самым информативным. Применяют РСК, РПГА, ИФА, используя парные сыворотки крови больного.

Диагностически значимым является обнаружение IgM в высоких титрах, а также не менее, чем четырехкратное нарастание титра антител во второй сыворотке, взятой с интервалом 7–10 дней после первой.

Поскольку при орнитозе возможно формирование ГЗТ, применяют также внутрикожную аллергическую пробу с орнитозным аллергеном (орнитином).

Лечение. С помощью антибиотиков (тетрациклинов и макролидов).

Профилактика. Только неспецифическая: регулирование численности голубей, санитарно-ветеринарные мероприятия в птицеводстве, просветительская работа, соблюдение мер личной гигиены.

Специфическая профилактика. Не разработана.

17. 12. Микоплазмы

Микоплазмозы – антропонозные инфекционные болезни, характеризующиеся поражением органов дыхания, мочеполовых органов, центральной нервной системы и внутриутробным поражением плода.

Историческая справка.

Первые микоплазмы, способные вызывать заболевания у животных, обнаружены Нокаром, Ру и Боррелем в 1893–1898 гг. Сегодня эта разновидность микоплазм называется Mycoplasma mycoides.

Первые микоплазмы, вызывающие заболевания человека, выделены в 1937 году Диенесом и Эдзаллом, а в 1944 году М. Итоном. В то время возбудитель изучить не удавалось и длительное время его называли агентом Итона.

Некоторое время его считали вирусом и лишь в 1962 году он был определен как Mycoplasma pneumoniae.

В 30–40-е гг. XX в. клиницисты стали выделять среди различных форм пневмоний группу болезней, которые отличались от бактериальной пневмонии поражением бронхиального дерева, интерстициальной легочной паренхимы и, в ряде случаев, необычной серологической реакцией организма – наличием холодовых агглютининов к эритроцитам

0-группы человека, при этом, патогенные бактерии не выделялись. Этиология первичных атипичных пневмоний была установлена Итоном (M. D. Eaton) с соавт. в 1944 г.: из мокроты больных, такими пневмониями был выделен фильтрующийся агент, который вызывал пневмонии у хлопковых крыс и сирийских хомяков, нейтрализовался сыворотками людей, переболевших атипичными пневмониями. Этот агент стали называть агентом Итона. Американская комиссия по респираторным заболеваниям сообщила (1944 г.) о возможности воспроизведения первичной атипичной пневмонии у добровольцев, при экспериментальном заражении агентом Итона. Известные к тому времени сведения о биологических свойствах агента Итона (мелкие размеры порядка 180–250 нм, отсутствие способности к росту на искусственной питательной среде, способность к репродукции в куриных эмбрионах и тканевых культурах), позволили рассматривать его, как микроорганизм вирусной природы. В 1962 г. Чанок (R. M. Chanock) с соавт. впервые выявили способность агента Итона к росту на искусственной питательной среде и, т.о., доказали, что возбудитель является не вирусом, а представителем семейства *Mycoplasmataceae*. Эти же авторы предложили современное наименование агента Итона – Mycoplasma pneumoniae.

Инфекция, вызываемая Mycoplasma pneumoniae, имеет широкое распространение во всех странах мира. Удельный вес ее в структуре заболеваемости острыми респираторными инфекциями и пневмониями 5 –10% и более.

Характеристика возбудителя

MYCOPLASMATACEAE- семейство порядка Mycoplasmatales класса Mollicutes, состоящее из стеролзависимых прокариотов, лишенных клеточной стенки, имеющих снаружи клетки трехслойную цитоплазматическую мембрану. К семейству относятся два рода – Mycoplasma и Ureaplasma. Mycoplasma pneumoniae – возбудитель острых респираторных заболеваний и пневмоний человека – растет на искусственной питательной среде с дрожжевым экстрактом; продуцирует растворимый гемолизин, действующий на эритроциты морской свинки и барана; способен к адсорбции на поверхности колоний эритроцитов морской свинки; устойчив к действию красителя метиленового синего; ферментирует глюкозу и другие сахара; обладает специфическими антигенами; размножается в респираторном эпителии куриного эмбриона и культурах клеток человека, обезьян, морской свинки; вызывает экспериментальную инфекцию у хомяков, хлопковых крыс и морских свинок; чувствителен к действию тетрациклиновых препаратов, эритромицина.

В жидких питательных средах рост Mycoplasma pneumoniae можно обнаружить в виде едва заметной опалесценции. В полужидком агаре (0,3%) отмечается общее легкое помутнение зоны посева, иногда образуются отдельные мелкие колонии, видимые при 5–10-кратном увеличении. На поверхности твердого агара (1,3% агар) Mycoplasma pneumoniae образует очень мелкие колонии размером 0,5–1 *мм*, напоминающие яичницу-глазунью. Клетки Mycoplasma pneumoniae могут иметь нитевидные и коккобациллярные формы, размеры их находятся в пределах от 105 –120 *нм* – у мельчайших зернистых структур, до 690–750 *нм* – у крупных сферических образований. Mycoplasma pneumoniae чувствительна к воздействию физических факторов: вибрации, переменному замораживанию и оттаиванию, ультрафиолетовому облучению, резкому изменению pH среды и температуры. Длительное сохранение жизнеспособности культур Mycoplasma pneumoniae наблюдается при t – 40–70 °C и в лиофилизированном виде при t= 4 °C. Микоплазмы растут в виде типичных врастающих в среду колоний, известных под названием fried-egg (яичница, глазунья); они отличаются полиморфизмом, состоят из ветвистых, цепочечных, шаровидных особей разной оптической плотности и мельчайших репродуцирующихся особей

размером 100–450 *нм*. Размножение происходит почкованием, сегментацией ветвистых и цепочечных форм, делением. Цитоплазматическая мембрана микоплазм и уреаплазм, входящих в это семейство, отличается биологической активностью; она выполняет важнейшие физиологические функции, рецепцию токсинов, генерацию энергии, регуляцию внутриклеточного метаболизма, ответственна за транслокацию субстратов в клетку, видовую и типовую антигенную специфичность, адсорбцию на мембране эритроцитов, сперматозоидов, эпителиальных клеток и др.

Для видовой дифференциации представителей микоплазм используют определение гликолитической, аргининдезаминазной, уреазной и нуклеазной активности, которая неодинакова у разных видов. Отмечены также видовые различия по гомологии нуклеиновых кислот, содержанию гуанина и цитозина, электрофоретической подвижности белков и липидов, способности гемадсорбции, гемагглютинации и гемолиза эритроцитов разного происхождения. Антигенные различия зависят от химической природы отдельных антигенных компонентов и от локализации их в цито-плазматической мембране. Так, у Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma neurolyticum и некоторых типов уреаплазм серологически активные антигенные компоненты представлены фосфолипидами и глицеролипидами, располагающимися на поверхностном слое цитоплазматической мембраны; у Mycoplasma hominis активные антигенные фракции связаны с фосфатидилглицерином, расположенным в глубине мембранного матрикса, а у Acholeplasma laidlawii (представитель семейства Acholeplasmataceae) – с гдиколипидами и гликопротеидами, локализованными на внутренней и наружной поверхностях мембран.

Микоплазмы, в отличие от ахолеплазм, чувствительны к дигитонину, амфотерицину В, полианетол-сульфонату натрия.

Патогенность микоплазм может быть обусловлена токсигенными функциями, адсорбционной способностью и характером взаимоотношений с клетками хозяина, а также ферментативной активностью.

Известны микоплазмы, образующие экзотоксины и эндотоксины. Так, Mycoplasma neurolyticum продуцирует экзотоксин, являющийся белком с молекулярным весом 200 000, быстро прикрепляющийся к астроцитам мозга; Mycoplasma gallisepucum также продуцирует экзотоксин нейрогенного действия, Mycoplasma mycoides subsp, mycoides et subsp, capri продуцируют эндотоксические субстанции, известные под названием галактана и глюкана.

Взаимодействие микоплазм и клеток хозяина обусловлено их адсорбцией на поверхности клеток и внедрением мембранных и других компонентов микоплазм в клетку. В результате, может развиться острая, хроническая или латентная микоплазменная инфекция клеток, которая в случае острой инфекции проявляется в деструкции клеток, а в случае хронической или латентной инфекции – в изменении барьерных и регуляторных функций мембраны клеток хозяина, т.е. превращение последних в иммунологически чужеродные. В этом случае, микоплазмы инициируют иммунопатологические расстройства. Латентная микоплазменная инфекция клеток может влиять на хромосомный аппарат клеток, вызывая различные патологические изменения.

Многочисленные ферментные системы микоплазм (нуклеазы, аргинин-дезаминазы, кислые фосфатазы, уреазы, лактатдегидрогеназы, нейраминидаза и др.) рассматриваются как факторы патогенности. Так, повреждения клеток могут явиться результатом расщепления аргинина аргининдезаминазами микоплазм нуклеозидфосфорилаза микоплазм; вызывая разрушение клеточного тимидина, подавляет нормальное деление клеток; нейраминидаза (Acholeplasma pneumoniae, Mycoplasma gallisepticum) обусловливает адсорбцию микоплазм на поверхности эритроцитов или клеток эпителия респираторного тракта,

вызывая их повреждение; особенности энергетического обмена (Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma pulmonis и др.) ведут к образованию перекиси водорода, вызывающей гемолиз эритроцитов барана и морских свинок, а также повреждение трахеального и бронхиального эпителия.

Микоплазмы в зависимости от локализации вызываемых ими патологических процессов можно дифференцировать на: микоплазмы– возбудители респираторных заболеваний; микоплазмы, связанные с заболеваниями выделительной системы, репродуктивных органов и молочных желез; микоплазмы – возможные возбудители артритов; микоплазмы – возможные возбудители сложных воспалительных синдромов; микоплазмы, обусловливающие иммунопатологические расстройства и играющие определенную роль в патогенезе вирусных лейкозов. Заболевания, вызываемые микоплазмами или ассоциирующиеся с ними, часто называют микоплазмозами (контагиозную плевропневмонию крупного и мелкого рогатого скота, пневмонии рогатого скота, пневмонии овец, бронхопневмонии и бронхоэктазии крыс и мышей, острые и хронические респираторные заболевания кур и индеек, первичные атипичные пневмонии и острые респираторные заболевания человека, фарингиты и ОРЗ человека).

К заболеваниям репродуктивных органов, ассоциирующихся с мико-плазмами, относят: вульвовагиниты, маститы, поражения семенников (Mycoplasma bovigenitalium), эндометриты, сальпингоофориты (Mycoplasma agalactiae subsp. bovis), экспериментальные маститы (Ureaplasma) у крупного рогатого скота; маститы овец и коз (Mycoplasma agalactiae subsp. Agalactiae); хронические воспалительные процессы урогенитальной сферы человека, патологию беременности и плода, инфертильность мужчин, пиелонефриты (Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum) человека.

Заболевания суставов, связанные с микоплазменной инфекцией, протекают по типу острых гнойных воспалительных процессов и хронических негнойных, имеющих определенные черты сходства с ревматоидным артритом человека. Так, Mycoplasma agalactiae subsp. bovis и Mycoplasma mycoides subsp. mycoides (вакцинный штамм) вызывают поражения ворсинок и капсулы синовиальной ткани у крупного рогатого скота. У коз и овец описаны гнойные и негнойные повреждения суставов и периартикулярной ткани, вызванные Mycoplasma arginini и Mycoplasma agalactiae subsp. agalactiae. У свиней Mycoplasma hyosynoviae и особенно Mycoplasma hyorhinis индуцируют поражения, сходные с ревматоидным артритом у человека. Mycoplasma arthritidis вызывает острые и хронические гнойные артриты мышей и крыс. У человека при ревматоидном артрите из синовиальной жидкости и ткани выделены Mycoplasma fermentans и Mycoplasma arthritidis, роль которых в патогенезе этого заболевания и других иммунопатологических расстройств является предметом активного изучения.

Патогенез.

Источником возбудителя инфекции является человек, путь передачи воздушно-капельный. Характерны периодические подъемы заболеваемости в весенний и осенне-зимний периоды, локальные вспышки в организованных коллективах, быстрое распространение болезни и длительная циркуляция возбудителя среди вновь сформированных коллективов, наличие субклинических и инаппарантных форм инфекции, длительное сохранение возбудителя в дыхательных путях даже при антибиотикотерапии, нередкое сочетание с респираторновирусными инфекциями. Mycoplasma pneumoniae проникает в организм через дыхательные пути. Возбудитель и вызываемые им патологические изменения локализуются в основном в бронхолегочном аппарате. Микоплазмы вначале прикрепляются с помощью специальных концевых структур к мембране клеток мерцательного эпителия трахеи и бронхов, затем они разрушают тер-

минальные перемычки между клетками эпителия и дезорганизуют тканевую архитектонику. Конечным этапом распространения микоплазм являются альвеолоциты, в цитоплазме которых выявляются микроколонии. В пораженных альвеолоцитах происходят характерные морфологические изменения, заканчивающиеся отторжением и гибелью клеток. Механизм патогенного действия Mycoplasma pneumoniae на респираторный эпителий, вероятно, связан с интенсивной продукцией пероксидаз, а также с потреблением микоплазмами необходимых для метаболизма клеток жизненно важных веществ.

Макроскопические изменения дыхательных путей обычно незначительны, удается отметить лишь умеренную очаговую гиперемию слизистой оболочки трахеи и крупных бронхов; нередко наблюдаются явления геморрагического диатеза. Микроскопические изменения их характеризуются увеличением размера клеток альвеолярного эпителия, в цитоплазме которых обнаруживается возбудитель и виде отдельных или многочисленных мелких ШИК-положительных телец, окруженных зоной просветления. Аналогичные, хотя и слабовыраженные изменения происходят в части клеток бронхиального эпителия. При более тяжелых заражениях, развивается бронхопневмония, в отдельных случаях, наблюдаются явления интерстициальной пневмонии с утолщением межальвеолярных перегородок и возникновением ограниченных, преимущественно, периваскулярных инфильтратов, состоящих из лимфоцитов, гистиоцитов, плазматических клеток и единичных лейкоцитов. Важное значение приобретает возможная гематогенная диссеминация возбудителя, сопровождающаяся поражениями различных органов.

Клиника.

Инкубационный период, от 1 до 4 недель. Болезнь обычно протекает, либо в виде острого респираторного заболевания, либо в форме пневмонии.

Острое респираторное заболевание протекает чаще всего легко, реже в форме средней тяжести. Начало болезни преимущественно постепенное. Больные жалуются на сухость и першение в горле, заложенность в носу. Задняя стенка глотки гиперемирована. Возможен насморк. Кашель не постоянный, порой приступообразный, продолжается 1–2 недели. Повышенная температура (до 38°) может держаться от нескольких дней до недели, сопровождаться ознобом, чувством ломоты в суставах, головной болью, общим недомоганием; субфебрильная температура, в ряде случаев, держится 2–3 недели. Рентгенологические изменения в легких отсутствуют, физикальные изменения обычно также не выявляются, в отдельных случаях, возможны жесткое дыхание и сухие хрипы. При тяжелых формах преобладает картина *трахеита* или *бронхита*.

Пневмония также характеризуется преимущественно постепенным началом с симптомами, свойственными острым респираторным заболеваниям. Вслед за продромальным периодом, длящимся 3–4 дня, редко дольше, температура повышается до 39–40° и остается на этом уровне до 5 дней, в ряде случаев, субфебрильная температура держится длительное время. Постоянным, наиболее ранним симптомом болезни является кашель, продолжающийся 1–2 недели и дольше, вначале сухой, а затем, обычно в конце 2-й недели болезни, с мокротой. Больные часто жалуются на боли в грудной клетке, возникающие на стороне пораженного легкого к 5–7-му дню болезни. Физикальные изменения в легких наблюдаются не всегда и выражены слабо, в виде сухих или влажных хрипов, ослабленного или жесткого дыхания, возможны поражения плевры.

Рентгенологическая картина пневмонии весьма вариабельна. В начале болезни выявляется бронхиальная, перибронхиальная инфильтрация и расширение сосудов, затем развитие *пневмонии* идет по интерстициальному, очаговому или смешанному типу. Характерен медленный процесс обратного развития воспалительных изменений, который обычно продолжается 3–4 недели, а в отдельных случаях дольше.

Лечение.

Для лечения используют препараты тетрациклиновой группы и эритромицин (пенициллин неэффективен). Так как в большинстве клинических ситуаций, на момент начала лечения возбудитель неизвестен, то при подозрении на **атипичные пневмонии** эмпирически назначают **макролиды, тетрациклин, фторхинолоны.**

Эффективен эритромицин в дозе 1 г, каждые 6 часов. Азитромицин имеет преимущества перед эритромицином и кларитромицином. Может применяться доксициклин в суточной дозе 100 мг, в том числе, и как второй антибиотик при атипичных пневмониях. Возможно назначение фторхинолонов (спарфлоксацин 400 мг в первые сутки, затем по 200 мг в сутки, ципрофлоксацин). Кортикостероиды и противовоспалительные препараты назначаются при гемолизе, поражении центральной нервной системы. Возможно проведение плазмафереза при этих осложнениях, но убедительных доказательств его эффективности пока не получено. Осложнений, в большинстве случаев, не наблюдается. Летальные исходы исключительно редки.

Профилактика.

Профилактические мероприятия те же, что и при других острых респираторных заболеваниях. Больных микоплазмозом необходимо изолировать до исчезновения клинических проявлений болезни (при пневмониях – 2–3 недели, при ОРЗ – 5–7 дней). Разрабатываются методы специфической профилактики.

Иммунитет обусловлен антителами секрета слизистой оболочки верхних дыхательных путей, сывороточными антителами и факторами клеточного иммунитета. Продолжительность приобретенного иммунитета зависит от интенсивности перенесенного инфекционного процесса. Бессимптомные формы инфекции характеризуются незначительными сдвигами в системе гуморального иммунитета и могут приводить к специфической сенсибилизации организма в форме гиперчувствительности замедленного типа. После перенесенной пневмонии происходит более выраженная индукция гуморальных антител с одновременной перестройкой клеточного иммунитета. В этих случаях, длительность иммунитета обычно достигает 5–10 лет.

Рецидивы болезни могут быть связаны с ослаблением локального иммунитета в легких, вследствие чего, при реинфицировании людей, сенсибилизированных предыдущей инфекцией, наблюдаются нарастающие иммунопатологические реакции, ведущие к возникновению пневмонии.

Лабораторная диагностика.

Только на основании жалоб и осмотра больного, точный диагноз поставить трудно. Поэтому врачи пользуются лабораторными методами, для подтверждения диагноза.

Клиническая диагностика довольно сложна из-за полиморфизма проявлений микоплазмоза. Микоплазмозные пневмонии отличаются отсутствием выраженного сезонного подъема заболеваемости, относительно легким течением, умеренной интоксикацией. Однако, в отдельных случаях, их трудно отличить от пневмоний другой этиологии. Сложна диагностика и более редких форм микоплазмоза, поэтому большое значение имеют лабораторные методы. Выделение микоплазм довольно сложно, так как они растут только на специальных средах, содержащих много компонентов или на культуре тканей. В настоящее время, хорошо отработана лишь методика обнаружения Т-микоплазм. При использовании элективной уреазной среды уже через 24–28 ч. по изменению цвета среды (с желтого на красный) можно обнаружить наличие Т-микоплазм. *Для диагностики* чаще используют серологические реакции (РСК, непрямой гемагглютинации, определение холодных агглютининов). Исследуют парные сыворотки, так как наличие противомикоплазменных антител (в невысоких титрах) отмечается у 60-80% здоровых лиц. Первую сыворотку

берут до 6-го дня болезни, вторую – спустя 10–14 дней. Диагностическим, считается нарастание титра антител в 4 раза и больше. РТГА является более чувствительной. Холодовые агглютинины выявляются лишь у половины больных и имеют значительно меньшее диагностическое значение. РСК и РИГА служат для выявления антител, при обследовании беременных или больных уретритами она не используется. Следовательно, положительная РСК с микоплазменным антигеном у беременной не указывает на инфицированность генитальными микоплазмами и не может служить обоснованием для лечения беременных женщин.

Опорные диагностические критерии респираторного микоплазмоза:

- установление групповой заболеваемости микоплазменной инфекции;
- отсутствие сезонности (регистрируется круглый год);
- инкубационный период 7-14 дней;
- начало болезни острое с высокой лихорадкой, выраженной интоксикацией;
- катаральный синдром характеризуется преимущественным развитием ринофарингита (диффузная гиперемия мягкого неба, дужек, задней стенки глотки) и трахеобронхита (интенсивный мучительный кашель, сначала сухой, в дальнейшем, продуктивный);
- увеличение шейных лимфатических узлов;
- иногда отмечается небольшое увеличение небных миндалин;
- воспалительная лейкоцитарная реакция и увеличение СОЭ чаще отсутствуют;
- течение болезни может затягиваться до 14 дней.

17. 13. Общая характеристика бактериальных зоонозных инфекций

Зоонозы (антропозоонозы) – группа инфекционных паразитарных болезней человека, при которых источником и резервуаром инфекции являются инфицированные животные (больные или носители).

Выделяют 2 группы зоонозов:

передаваемые от домашних и синантропных животных (сибирская язва, бруцеллез, туберкулез, сальмонеллезы, лептоспирозы, сап, мелиоидоз, орнитоз, ящур, аспергиллез, трихофития, микроспория, балантидиаз, токсо-плазмоз, трипаносомоз, лейшманиоз и др.);

передаваемые от диких животных – природно-очаговые зоонозы (чума, туляремия, листериоз, клещевые спирохетозы, риккетсиозы, геморрагические лихорадки, вирусные энцефалиты и др.).

Возбудителями зоонозных инфекций могут быть все представители мира микробов: бактерии, грибы, простейшие и вирусы. Группа зоонозных инфекций объединена на основе общности эпидемиологии. В данном разделе рассматриваются только важнейшие бактериальные зоонозы, другие зоонозы будут рассмотрены в других главах учебника.

Так как, зоонозы объединены вместе на основе сходства эпидемиологии, то для всех зоонозных инфекций характерны общие черты эпидемиологии, патогенеза, иммунитета, клиники, подходов к микробиологической диагностике, лечению и профилактике.

Общие черты зоонозных инфекций

Источником инфекции являются животные – больные или носители. Человек, как источник инфекции, за редким исключением (например, при чуме), особой роли не играет, случаи заражения человека-человеком, крайне редки или вообще не наблюдаются, так как при ряде инфекций, например, при бруцеллезе, *человек является биологическим тупиком.*

Таблица 17. 33

Лабораторная диагностика микоплазменных инфекций

Метод	Цель исследования	Применяемый тест
Бактериологический	Выделение возбудителя	Посев исследуемого материала на элективные питательные среды, выделение и идентификация чистой культуры возбудителя.
Серологический	Обнаружение АГ возбудителя Выявление АТ к возбудителю	РАГА, РИФ, ИФА РПГА, ИФА, РИА и др.
Молекулярно-генетический	Выявление ДНК возбудителя	ПЦР, ДНК-зонды

Большинство зоонозов, является *природно-очаговыми* заболеваниями. Природные очаги сформировались в глубокой древности, в ходе эволюции паразитизма. Они представляют собой обширные географические ландшафты, к границам которых, приурочен ареал распространения в природе вида или видов животных, являющихся резервуаром данной инфекции в природе. Если в эпидемическом процессе имеется переносчик, то и его ареал также приурочен к границам данного природного очага. Эпидемический процесс (эпизоотия) в популяции животных протекает автономно, без участия человека по законам саморегуляции. Увеличение численности популяции животных за счет естественного прироста ведет к активизации механизмов передачи и подъему эпизоотии, что ведет к гибели части популяции, а другая часть, переболев, приобретает иммунитет. В связи с этим, иммунная прослойка в популяции увеличивается, и эпизоотия идет на убыль, переходит в фазу резервации. С появлением новых поколений неиммунных животных в популяции, вновь увеличивается численность неиммунной прослойки, и эпизоотия, переходя в фазу распространения, вспыхивает с новой силой. После чего, все повторяется сначала. Таким образом, эпизоотия протекает бесконечно с циклическими колебаниями. Человек вовлекается в эпидпроцесс при зоонозах вторично, в результате освоения территории природного очага, поэтому с филогенетических позиций, человек является очень молодым, по сравнению с животными, участником эпидпроцесса. Если природные очаги сформировались десятки и сотни тысяч лет тому назад, то человек участвует в эпидпроцессе при зоонозных инфекциях сотни, максимум тысячи лет.

Поскольку с эволюционных позиций человек недавно стал участником эпидпроцесса при зоонозах, то, в отличие от животных, за столь короткий интервал времени его организм не успел выработать адаптационных механизмов к возбудителям зоонозов; микробы также не успели как следует адаптироваться к организму человека. У возбудителей зоонозов в связи с этим, *отсутствует органный тропизм, т.е.* избирательность поражения органов и тканей организма человека, они *способны поражать практически любой орган и любую ткань* следовательно, и передаваться с помощью различных механизмов и путей. Таким образом, *эпидемиология зоонозов характеризуется множеством механизмов, путей и факторов передачи.*

Возбудители зоонозов *являются политропными микробами,* они способны поражать большое количество различных видов животных. Так, например, возбудитель чумы

– около 250, туляремии – около 50 видов. Это придает высокую стабильность природным очагам, делая их практически неуничтожаемыми.

Зоонозами обычно заражаются и болеют лица, связанные по роду своей работы с животными: скотники, чабаны, пастухи, доярки, конюхи, ветеринарные врачи, охотники, скорняки, забойщики на мясокомбинатах и т.д., поэтому этим инфекциям присущ *профессиональный характер*.

Так как организм человека плохо адаптирован к возбудителям зоонозных инфекций, то клинически зоонозы *протекают очень тяжело, с высокой летальностью*. Клиническая картина зависит не столько от вида возбудителя, сколько определяется пораженным органом.

Микробиологическая диагностика проводится в лабораториях особо опасных инфекций, так как возбудители зоонозов по степени опасности относятся к 1-й и 2-й группам микробов. При лабораторной диагностике используются все пять методов микробиологической диагностики. Однако, учитывая биологическую опасность, все работы, связанные с их чистыми культурами, могут проводиться только в режимных лабораториях. В базовых лабораториях допускается проведение микробиологической диагностики зоонозных инфекций, но с использованием методов, не связанных с выделением чистой культуры. Поскольку от правильности и быстроты установления этиологического диагноза зависит своевременность, адекватность и, следовательно, эффективность лечебных и противоэпидемических мероприятий, в диагностике зоонозов широко используются *методы экспресс-диагностики* (РИФ, ИФА, ПЦР, фагодиагностика и др.). Возбудители зоонозов вызывают сенсибилизацию организма, поэтому для их диагностики применяются кожно-аллергические пробы с соответствующими диагностическими аллергенами (пестин при чуме, тулярин при туляремии, бруцеллин при бруцеллезе и антраксин при сибирской язве).

Лечение большинства бактериальных зоонозов, в настоящее время, при своевременно поставленном диагнозе весьма эффективно, так как возбудители бактериальных зоонозов чувствительны к антибиотикам.

Специфическая профилактика проводится по эпидемическим показаниям иммунизацией *живыми* и другими *вакцинами. Специфическая профилактика направлена на санитарную охрану территории,* чтобы не допустить завоз этих возбудителей в страну или распространение их за пределы природных очагов, а также проведение санитарно-ветеринарных мероприятий.

Учитывая высокую биологическую опасность возбудителей зоонозов, особенно чумы, сибирской язвы, туляремии и др., они рассматриваются, как *потенциальные агенты для использования в качестве бактериологического оружия.*

18. 1 История развития вирусологии в Узбекистане

Вторая половина XX столетия – начало угрозы всемирного распространения вирусных заболеваний вообще и вирусных гепатитов, в частности, встревожили человечество и, прежде всего, ученых-медиков.

На примере эпидемиологической обстановки по заболеваемости вирусным гепатитом к началу 50-х годов в США, в последующем глобальный охват болезни в странах Европы, Азии поставили перед учеными мира задачу заняться исследованиями в части изучения закономерности распространения вирусных гепатитов, разработкой методов лабораторной диагностики, а также специфической профилактики вирусных гепатитов.

К 60-м годам, благодаря возможности использования этиологической расшифровки природы вирусных гепатитов в мире стали известны территории, на примере США и Европы, где превалировало распространение вирусного гепатита типа «В», тогда как в странах Азии эпидемиологическая обстановка резко отличалась уровнем заболеваемости вирусным гепатитом типа «А».

Движение эпидемического процесса, охватившее Центральноазиатские Республики, диктовало необходимость создания специализированных научных центров, которые могли бы заняться целенаправленными исследованиями этиологической расшифровки разновидностей вирусных гепатитов и т.д.

Принимая во внимание эпидемиологическую обстановку по заболеваемости вирусным гепатитом на территории Узбекистана, правительство Республики Узбекистан, пожалуй единственным из всех бывших союзных республик, в 1978 году приняло решение об организации филиала Института Вирусологии им. Д.И. Ивановского Академии Медицинских наук в г.Ташкенте.

В конце 1978 года Решением Государственного Комитета Науки и Техники было поддержано обращение правительства Республики Узбекистан и был создан филиал Института Вирусологии им. Д.И. Ивановского. Были определены конкретные научные направления филиала Института.

Предусматривалось, на первом этапе, изучение эпидемического процесса этиологической диагностики гепатита, на втором этапе, начало исследований в области арбовирусов и арбовирусных инфекций на территории Узбекистана.

Для объективности и достоверности полученных результатов, было необходимо создание специализированных лабораторий, подготовка научных кадров, создание материально-технической базы, которые могли бы обеспечить выполнение поставленных задач.

По существу, Узбекский филиал института вирусологии им. Д.И. Ивановского, начал свою трудовую деятельность с марта 1979 года и первым директором института был назначен д.м.н., профессор Хожаев Шабат Ходжаевич.

Институт вирусологии начал свою работу с «нуля», размещаясь на арендованной двухкомнатной площади, практически не имея кадров и оснащения. По личной инициативе профессора Ш.Х. Ходжаева и при поддержке правительства Узбекистана, с 1982 года начато проектирование, а затем строительство нового корпуса института.

В 1995 году к 5 летнему празднования независимости Республики вступил в эксплуатацию новый, выстроенный по типовому проекту институт вирусологии.

Благодаря созданию материально-технической базы, организованы лаборатории диагностики вирусных гепатитов, арбовирусных инфекций, электронной морфологии; эпидемиологии, клинический отдел.

Исследования по вирусным гепатитам, начались по существу «на целине», ибо в то время, на крайне низком уровне находилась этиологическая (вирусологическая) расшифровка вирусных гепатитов, мало изученными были вопросы краевой эпидемиологии, клиники, дифференциальной диагностики, исходов заболевания, профилактики вирусных гепатитов и многие вопросы теории этой инфекции.

Во главе организации филиала Института Вирусологии в г. Ташкенте был выдающийся ученый вирусолог, эпидемиолог и организатор медицинской науки Академик В.М. Жданов – директор всемирно известного Института Вирусологии им. Д.И. Ивановского.

Благодаря его поддержке, вирусологи, эпидемиологи, клиницисты прошли на начальном этапе филиала Института Вирусологии подготовку, приобрели высокую квалификацию по избранным направлениям.

Благодаря освоению и внедрению Институтом Вирусологии специфических методов диагностики, стало возможным к 1983–1984 годам расшифровывать на территории Республики Узбекистан этиологию вирусных гепатитов А, В и Дельта, а к 1987–1988 годам типа Е и С.

В 1988 году Узбекский филиал института Вирусологии был преобразован в самостоятельный Институт Вирусологии при Министерстве Здравоохранения Республики Узбекистан.

Угроза распространения вирусного гепатита В на территории Республики диктовала необходимость осуществления и внедрения в широкую практику вакцинацию против гепатита В.

По инициативе Узбекского Института Вирусологии, первым среди государств бывшего Союза, в 1988 году была начата вакцинация против гепатита В и доказана высокая ее эффективность, как единственное средство специфической профилактики против гепатита В.

Создание в структуре Института Вирусологии лаборатории арбовирусов и арбовирусных инфекций, позволили расширить начатые ранее исследования в плане изучения циркуляции распространения арбовирусных инфекций в разрезе отдельных регионов Республики Узбекистан.

Были установлены экогеографические особенности арбовирусов, закономерности эпидемических процессов при арбовирусных инфекциях.

С 2004 года Директором института назначается доктор медицинских наук, профессор Мусабаев Эркин Исакович.

Будучи директором НИИ Вирусологии Мусабаев Эркин Исакович создал Национальный центр гриппа при Институте Вирусологии, стационарное отделение для ВИЧ/СПИД больных, на базе клиники Института Вирусологии.

По инициативе и под руководством профессора Э.И. Мусабаева в институте, который является головным институтом по направлению «Вирусология», разработаны учебные программы и планы по специальности «инфекционные болезни» в соответствии с квалификационной характеристикой и ГОСТом.

В последние годы сфера деятельности института значительно расширилась. В настоящее время, сотрудники института активно занимаются проблемами диагностики, лечения, эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов, трансмиссивных и кишечных вирусных инфекций, СПИДа, гриппа и острых респираторных вирусных инфекций, гер-

песа и другие. Проводится апробация и внедрение новых лечебных и профилактических препаратов.

Институт является научным центром и базой для подготовки специалистов высшей квалификации в системе аспирантуры и клинической ординатуры.

Подготовка специалистов проводится по трем специальностям: вирусология, эпидемиология, инфекционные болезни.

Прошли подготовку и усовершенствование многие вирусологи, эпидемиологи, инфекционисты, педиатры и другие специальности. Ежегодно проводятся научно-практические семинары с работниками практического здравоохранения.

Широкая связь Института с практикой, неизменный интерес к проблемам диагностики, лечения, эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов, трансмиссивных и кишечных вирусных инфекций, и др., тесные контакты с общей лечебной сетью и учреждениями различного профиля создали прочную основу его деятельности.

Проводится апробация и внедрение новых лечебных и профилактических препаратов.

Институт принимает активное участие в международных научных программах. Институт сотрудничает со многими фармацевтическими компаниями мира, а также со многими лабораториями иностранных институтов.

Целью Института является осуществление научно-методической и координационной деятельности в области вирусологии и оказание населению высококвалифицированной специализированной медицинской помощи по диагностике, лечению и профилактике вирусных инфекционных заболеваний.

Основные задачи Института:

а) проведение научных исследований, направленных на разработку и внедрение в медицинскую практику собственных прогрессивных методов и технологий, диагностики, лечения и профилактики в области вирусологии, а именно: Осуществление научно-исследовательских работ по вопросам эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики вирусных гепатитов, ВИЧ/СПИД, гриппа и птичьего гриппа, арбовирусных и других вирусных инфекций в Республике;

б) координация вирусологической службы в Республике;

в) оказание высококвалифицированной специализированной медицинской помощи в области вирусологии с использованием современных методов диагностики населению;

г) разработка мер предупреждения проникновения и распространения вирусных карантинных и особоопасных инфекционных заболеваний в территорию Республики.

Разрабатывает современные лабораторные методы диагностики вирусных инфекций – разрабатывает тест-системы и внедряет их в практику;

Проводит научно-исследовательские работы по изучению качества диагностикумов, вирусологических и бактериологических препаратов;

Оказывает методическую и практическую помощь учреждениям здравоохранения в изучении эффективности проводимых иммунопрофилактических мероприятий против вирусных инфекций;

Устанавливает научно-практические связи со специалистами вирусологической службы Республики и зарубежных государств, представляет собственные научные и технологические достижения в медицинском мире за рубежом;

Формирует и развивает собственную школу высококвалифицированных специалистов;

Осуществляет подготовку, переподготовку и повышение квалификации медицинских кадров, в том числе, через клиническую ординатуру, аспирантуру и докторантуру;

Обеспечивает постоянное обновление имеющегося медицинской техники и аппаратуры института, а также оснащение его современным медицинским оборудованием, позво-

ляющим оказывать специализированную высококвалифицированную медицинскую помощь в области вирусологии на уровне передовых достижений;

Устанавливает совместно с Центрами СПИД в Республике эпидемиологический мониторинг над заболеванием ВИЧ/СПИД, изучает клинические формы болезни, оказывает медицинскую помощь и изучает эффективность антиретровирусных препаратов, устанавливает диспансерное наблюдение и совершенствует меры предупреждения распространения инфекции;

Устанавливает эпидемиологический мониторинг над арбовирусными заболеваниями, изучает их природные очаги и лабораторную диагностику, совершенствует меры по предупреждению эпидемического распространения их среди населения.

18. 2. РНК-содержащие вирусы

Пикорнавирусы (семейство Picornaviridae)

Picornaviridae (исп. *pico* – малый, rna – рибонуклеиновая кислота) – семейство безоболочечных вирусов, содержащих одно-нитевую плюс РНК. Семейство насчитывает более 230 представителей и состоит из 8 родов: Enterovirus (111 серотипов), Rhinovirus (105 серотипов), Aphtovirus (7 серотипов), Hepatovirus (2 серотипа – 1 человека, 1 – обезьяны), Cardiovirus (2 серотипа); Parecovirus, Erbovirus, Kobuvirus – названия новых родов. Роды состоят из видов, виды – из серотипов.

Структура. Пикорнавирусы относятся к мелким просто организованным вирусам. Диаметр вируса – около 30 нм. Вирион состоит из икосаэдрического капсида, окружающего инфекционную однонитевую плюс РНК с протеином VPg (рис. 18. 1).

Капсид состоит из 12 пятиугольников (пентамеров), каждый из которых, в свою очередь, состоит из 5 белковых субъединиц – прото-меров. Протомеры образованы 4 вирусными полипептидами: VP1. VP2, VP3, VP4.

Репродукция. Вирус взаимодействует с рецепторами на поверхности клетки (рис. 18. 2). Геном вируса может поступить в клетку путем эндоцитоза (1) с последующим выходом нуклеиновой кислоты (2) из вакуоли или путем инъекции РНК через цитоплазматическую мембрану (1) клетки. На конце РНК имеется вирусный протеин *(3)* – VPg. Геном используется, как иРНК, для синтеза белка *(4,* 5). Один большой полипротеин *(4)* транслируется с вирусного генома. Затем полипротеин расщепляется на индивидуальные вирусные протеины, включая РНК-зависимую полимеразу. Полимераза синтезирует минус-нить



Рис. 18.1. Схема строения пикорнавирда

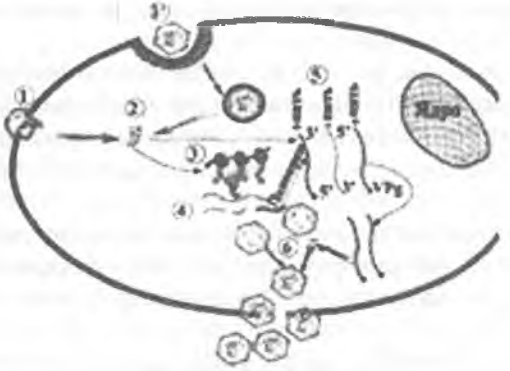


Рис. 18.2. Схема репродукции пикорнавирусов. Геном вируса может поступать в клетку эндоцитоза или инъекцией *(1)* в цитоплазму геномом плюс-РНК *(2)*. На конце геномной плюс-РНК имеется вирусный VPg-протеин *(3)*. Геном используется как иРНК для синтеза полипротеина *(4)*. Полипротеин расщепляется на индивидуальные вирусные протеины, включая РНК-зависимую полимеразу. Полимераза синтезирует *(5)* с геномной плюс-нить РНК минус-нить РНК (матрицу). В дальнейшем, на основе репликативного гена из плюс/минус-нити реплицируется геном вируса с присоединением V Pg-протеина. Вирусы после сборки нуклеокапсида *(6)* выходят при лизисе клетки.

матрицу с поверхности плюс-нити и реплицирует геном. VPg ковалентно присоединяется к 5'-концу вирусного генома. Структурные белки собираются в капсид (6), в него включается геном, образуя вирион. Вирионы освобождаются из клетки, посредством ее лизиса. Репродукция происходит в цитоплазме клеток и сопровождается цитопатическим действием. В культуре клеток под агаровым покрытием вирусы образуют бляшки.

Энтеровирусы

Энтеровирусы (от греч. *enteron* – кишка) – группа вирусов, обитающая преимущественно в кишечнике человека и вызывающая разнообразные по клиническим проявлениям болезни человека.

Энтеровирусы – РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*. Род включает вирусы полиомиелита, Коксаки А и В (по названию населенного пункта в США, где они были впервые выделены), ECHO (аббревиатура от англ. *Enteric cytopathogenic human orphan viruses* – кишечные цитопатогенные человеческие вирусы сироты), энтеровирусы типов 68, 69, 70, 71 и др. В настоящее время, имеются другие варианты классификации рода *Enterovirus:* например, энтеровирусы человека представлены видами полиовируса А, В, С и D. состоящими из серотипов.

Морфология и химический состав. Энтеровирусы – мелкие и наиболее простоорганизованные вирусы, имеют сферическую форму, диаметр 20–30 нм, состоят из одноцепочечной плюс-нитевой РНК и капсида с кубическим типом симметрии. Вирусы не имеют суперкапсидной оболочки. В их составе нет углеводов и липидов, поэтому они нечувствительны к эфиру и другим растворителям жира.

Культивирование. Большинство энтеровирусов (за исключением вирусов Коксаки А) хорошо репродуцируется в первичных и перевиваемых культурах клеток из тканей человека и сопровождается цитопатическим эффектом. В культурах клеток под агаровым покрытием энтеровирусы образуют бляшки.

Антигенная структура. Энтеровирусы имеют общие для всего рода группоспецифический и типоспецифические антигены.

Резистентность. Энтеровирусы устойчивы к факторам окружающей среды в широком диапазоне pH – от 2,5 до 11, поэтому они длительно (месяцами) сохраняются в воде, почве, некоторых пищевых продуктах и на предметах обихода.

Многие дезинфектанты (спирт, фенол, поверхностно-активные вещества) малоэффективны в отношении энтеровирусов, однако, последние погибают при действии УФ-лучей, высушивания, окислителей, формалина, температуре –50 °С в течение 30 мин, а при кипячении – в течение нескольких секунд.

Восприимчивость животных. Энтеровирусы различаются по патогенности для лабораторных животных. Вирусы Коксаки по патогенности для новорожденных мышей разделены на группы А и В. Вирусы ECHO непатогенны для всех видов лабораторных животных.

Эпидемиология и патогенез. Заболевания, вызываемые энтеровирусами, распространены повсеместно, отличаются массовым характером с преимущественным поражением детей.

Источником инфекции являются больные и носители. Из организма больного, возбудители выделяются с носоглоточной слизью и фекалиями, из организма вирусоносителя – с фекалиями.

Энтеровирусы передаются через воду, почву, пищевые продукты, предметы обихода, загрязненные руки, через мух.

Водные и пищевые эпидемические вспышки энтеровирусных инфекций регистрируются в течение всего года, но наиболее часто – в летние месяцы. В первые 1–2 недели болезни энтеровирусы выделяются из носоглотки, обуславливая воздушно-капельный путь передачи.

Возбудители инфекции проникают в организм человека через слизистые оболочки носоглотки и тонкой кишки, размножаются в их эпителиальных клетках и регионарных лимфатических узлах, затем попадают в кровь. Последующее распространение вирусов определяется их свойствами и состоянием больного.

Клиника. Энтеровирусы вызывают заболевания, характеризующиеся многообразием клинических проявлений, так как могут поражать различные органы и ткани: ЦНС (полиомиелит, полиомиелитоподобные заболевания (ми-алгия, миокардит), органы дыхания (острые респираторные заболевания), пищеварительный тракт (гастроэнтерит, диарея), кожные и слизистые покровы (конъюнктивит, лихорадочные заболевания с сыпью и без нее) и др.

Иммунитет. После перенесенной энтеровирусной инфекции формируется стойкий, но типоспецифический иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Методы диагностики – вирусологический и серологический с парными сыворотками больного. Вирусы выделяют из носоглоточной слизи в первые дни болезни, из кала, цереброспинальной жидкости. У погибших больных вирусы выделяют из пораженных органов. При серодиагностике характерно нарастание титров антител к энтеровирусам в 4 раза и более с 4–5-го до 14-го дня болезни.

Лечение. Патогенетическое. Применяют препараты интерферона в первые дни заболевания и другие противовирусные препараты.

Профилактика. Для профилактики энтеровирусных инфекций (за исключением полиомиелита) специфические средства не применяют. Большое значение имеет неспецифическая профилактика: своевременное выявление и изоляция больных, санитарный надзор за работой пищевых предприятий, водоснабжением, удалением нечистот и отбросов. Детям, общавшимся с больными, рекомендуют интерфероновые препараты.

Вирусы полиомиелита

Полиомиелит (poliomyelitis: греч. Polios – серый, myelos – мозг + -itis; синоним: болезнь Гейне – Медина, детский спинномозговой паралич, детский спинальный паралич, эпидемический детский паралич, острый эпидемический полиомиелит) – инфекционная болезнь, характеризующаяся поражением преимущественно серого вещества спинного мозга, с развитием вялых парезов и параличей.

Полиомиелит был известен еще в Древнем Египте (IV в. до н.э.). В 1840 г. немецкий ортопед Гейне (J. von Heine) выделил полиомиелит, как самостоятельную болезнь, а шведский педиатр Медин (O. Medin, 1890) отметил его эпидемическое распространение и предположил инфекционную природу. В конце XIX – начале XX в. эпидемии полиомиелита стали часто возникать в странах Европы и Северной Америки. В 40-х – начале 50-х гг. заболеваемость резко возросла во многих европейских странах, США, Канаде, Австралии. Введение в практику инактивированной (1953), а затем живой вакцины обусловило резкое снижение заболеваемости в Европе, Северной Америке и ряде стран других регионов. Наличие эффективных специфических вакцин позволило Всемирной Ассамблее Здравоохранения (ВАЗ) в 1988 г. поставить задачу глобальной ликвидации полиомиелита к 2000 г. В СССР заметный рост заболеваемости отмечен в послевоенные годы. После введения в практику вакцинации против полимиелита заболеваемость снизилась, а в ряде республик и областей, не регистрируется в течение многих лет. Наибольшее число заболеваний в 80-е гг. наблюдалось в районах Средней Азии и Закавказья.

Этиология. Возбудитель – полиовирус или вирус полиомиелита, объединяющий три антигенных типа (I, II, III). Основная часть заболеваний спорадических и эпидемических, связана с типом I. Полиовирус размножается только в живых клетках; в организме человека – в лимфоидных клетках слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. Разрушая эти клетки при размножении, вирус переходит в слизистое отделяемое ротоглотки и ротовой полости, в фекалии. Полиовирус инактивируется в течение 30 мин при t° 50° и при пастеризации. Кипячение и автоклавирование почти немедленно инактивируют его. При комнатной температуре вирус сохраняется в течение нескольких дней, при 4–6 °С – в течение нескольких недель или месяцев, в замороженном виде при t° –20 °С и ниже – в течение многих лет. Быстро инактивируют вирус высушивание, действие ультрафиолетового излучения, свободного остаточного хлора (0,3–0,5 мг/л), формальдегида (в концентрации 0,3% и выше).

Эпидемиология. Источником возбудителя инфекции является только человек (больной или вирусоноситель). Вирус попадает в окружающую среду с отделяемым ротоглотки и фекалиями. Выделение вируса начинается на 2–4-й день после инфицирования и продолжается из ротоглотки несколько дней, с фекалиями – 4–7 недель.

Основным механизмом передачи вируса является фекально-оральный, что обусловлено длительностью выделения вируса с фекалиями и высокой его концентрацией в них (до 106 частиц вируса в 1 г). Возможен также воздушно-капельный путь передачи возбудителя. Инфицирование человека вирусом полимиелита лишь в одном из 100–1000 случаев, ведет к развитию типичного заболевания, поэтому основную роль в распространении играют здоровые вирусоносители.

Массивное выделение вируса полимиелита с фекалиями в окружающую среду создает возможность его распространения через воду, пищевые продукты, руки, а также мухами. В городских сточных водах вирус может обнаруживаться в течение всего года. Обычные методы обработки не всегда освобождают их от вируса. Известны случаи выделения полиовируса из водопроводной воды.

К факторам, способствующим распространению вируса, относятся скученность населения, перенаселенность жилищ, отсутствие водопровода и канализации, нарушение санитарно-гигиенических правил, особенно в детских учреждениях.

Инфицируются вирусом и распространяют его преимущественно дети первых лет жизни. После второй мировой войны во многих странах Европы и Северной Америки была отмечена тенденция к «повзрослению» полимиелита. Им стали заболевать дети школьного возраста, подростки, иногда взрослые.

В странах умеренного климата случаи полимиелита регистрируются, в основном, в летне-осенние месяцы, в тропических странах заболевание выявляется более равномерно в течение года.

Патогенез и патологическая анатомия. После проникновения полиовируса через рот и первичного размножения в ротоглотке и кишечнике происходит его широкая диссеминация через кровь и лимфатическую систему с образованием очагов размножения во многих органах и тканях (лимфатические узлы, селезенка, печень и др.). Проникновение вируса через гематоэнцефалический барьер ведет к поражению нервных клеток. Однако, в большинстве случаев, инфекционный процесс прерывается на стадии размножения вируса в кишечнике или на стадии вирусемии, что обусловливает инаппарантную инфекцию или абортивную форму течения болезни. Вирус поражает крупные мотонейроны передних рогов спинного мозга и ядер двигательных черепных нервов ствола мозга. Очаги поражения располагаются беспорядочно на разных уровнях. На вскрытии отмечается западение серого вещества спинного мозга. Микроскопические изменения в нервных клетках варьируют от легкого хроматолиза до полной деструкции и нейронофагии; характерна вторичная воспалительная реакция с образованием периваскулярных инфильтратов, в которую вовлекаются и оболочки головного и спинного мозга.

Иммунитет. При рождении в крови ребенка содержатся материнские антитела к вирусу, исчезающие в течение 4–6 месяцев. Пассивный кратковременный (3–5 недель) иммунитет может возникать и в результате введения иммунного гамма-глобулина человека. Активный иммунитет вырабатывается при встрече организма с вирусом, когда в крови появляются типоспецифические вируснейтрализующие, комплементсвязывающие и преципитирующие антитела. Антитела начинают вырабатываться через несколько дней после инфицирования, нередко до появления клинических признаков болезни. В течение 2–3 недель их титр повышается. В дальнейшем комплементсвязывающие и преципитирующие антитела исчезают, а вируснейтрализующие сохраняются в течение многих лет, вероятно пожизненно. В формировании иммунитета к вирусу играют роль также секреторные антитела, выявляемые в назофарингеальном секрете.

Клиническая картина. Различают полимиелита, протекающий без поражения ц.н.с. – инаппарантная инфекция (вирусоносительство) и абортивная форма (малая болезнь), а также с поражением ц.н.с., при котором выделяют непаралитическую или менингеальную, форму и паралитические формы. Паралитические формы включают спинальную (с локализацией процесса в шейном, грудном или поясничном отделах спинного мозга), которая может быть распространенной или ограниченной: понтинную; бульбарную, смешанную (понтоспинальнук), оульбоспинальную, бульбопонтоспинальную).

Инкубационный период 7–14 дней (может варьировать от 2 до 35 дней). Продромальный период обычно отсутствует.

Инаппарантная инфекция (вирусоносительство) характеризуется выделением вируса с испражнениями, появлением в крови антител против возбудителя, при полном отсутствии клинических симптомов болезни.

Абортивная форма (малая болезнь) проявляется повышением температуры тела в течение 3–5 дней, недомоганием, небольшой головной болью, иногда умеренными катаральными явлениями со стороны верхних дыхательных путей или незначительной дисфункцией кишечника; отмечается гиперемия слизистых оболочек зева. Заканчивается выздоровлением в течение 5–7 дней.

Менингеальная форма. Протекает как серозный менингит. Отмечаются лихорадка, часто двухволновая, головные боли, рвота, боли в ногах и спине как проявление корешкового синдрома. Менингеальные симптомы (ригидность мышц затылка, симптомы Кернига, Брудзинского и др.) выражены умеренно или слабо, могут отсутствовать. Цереброспинальная жидкость прозрачная, с двух- или трехзначным лимфоцитарным плеоцитозом, содержание белка в норме или нерезко повышено. Выздоровление наступает в течение 3–4 недель.

Паралитические формы. Течение паралитических форм делится на несколько периодов: препаралитический, паралитический, восстановительный и резидуальный. Препаралитический период продолжается от первых часов болезни до появления параличей и длится 1–3 дня, реже 5–6 дней. Болезнь начинается остро. Наблюдаются высокая лихорадка, головные боли, повторная рвота, боли в спине, шее, конечностях. Характерны гиперестезия кожи, корешковые симптомы Нери, Ласега и др., подергивания в отдельных мышечных группах. У половины больных отмечаются катаральные явления со стороны верхних дыхательных путей и дисфункции кишечника. В паралитическом периоде быстро нарастают параличи разной локализации, продолжаются от нескольких часов до 1–3 дней. Лихорадка имеет тенденцию к снижению, к концу паралитического периода исчезает. Иногда параличи появляются внезапно без препаралитического периода («утренний паралич»).

Спинальная форма встречается чаще других, появляются вялые парезы и параличи мышц туловища и конечностей с гипотонией, гипо- и (или) арефлексией. Характерна их асимметричность, мозаичность расположения. Парезы и параличи бывают распространенными (при этом они могут захватывать многие группы мышц конечностей и туловища, в т.ч. дыхательные мышцы и диафрагму) или ограниченными (когда поражается одна конечность или одна мышечная группа).

При понтинной форме развивается изолированный парез лицевого нерва. Выявляется полная или частичная утрата мимических движений на пораженной стороне лица, лагофтальм, угол рта свисает. Нарушений чувствительности и слезотечения не бывает

Бульбарная форма протекает наиболее тяжело и сопровождается расстройствами глотания, фонации, усиленной саливацией, центральными нарушениями дыхания.

Смешанная форма характеризуется сочетанием симптомов, свойственных спинальной, понтинной и бульбарной формам.

Изменения цереброспинальной жидкости при паралитических формах такие же, как при менингеальной форме. На 2–3-й неделе болезни начинается восстановление функции пораженных мышц, что соответствует началу восстановительного периода. Особенно активно восстановительный процесс идет в течение первых трех месяцев болезни, затем замедляется, но продолжается до года. При тяжелом поражении мышц полного восстановления их функции не происходит. Развиваются атрофия мышц, суставные контрактуры, вывихи, паралитический сколиоз, отмечаются отставание конечности в росте, остеопороз. Стойкие парезы и параличи рассматриваются как остаточные явления (резидуальный период).

Диагноз устанавливают на основании клинической картины болезни, результатов лабораторных исследований (вирусологических и серологических и данных электроми-

ографии. В каждом случае подозрения на полимиелита в ранние сроки болезни исследуют фекалии и кровь для выделения вируса. Кровь для иммунологического исследования берут дважды: при поступлении больного в стационар и через 2–4 недели. Обнаружение вируса и нарастания титра антител к нему в сыворотке крови подтверждает диагноз полимиелит. При электромиографическом исследовании выявляется урежение ритма осцилляций или биоэлектрическое молчание.

Дифференциальный диагноз проводят с полирадикулоневритом, невритом лицевого нерва, миелитом. Эти заболевания имеют следующие отличия: для полирадикулоневрита характерны симметричные, преимущественно дистальные парезы, расстройства чувствительности, часто длительное или волнообразное нарастание парезов, отсутствие лихорадки и плеоцитоза в цереброспинальной жидкости: при неврите лицевого нерва парез мимических мышц сопровождается слезотечением из глаза, нарушением вкуса на половине языка, болями в тригеминальных точках, при миелите наблюдаются симметричные, чаще спастические парезы, тазовые расстройства, нарушения чувствительности, пирамидные знаки.

Лечение. Каждый больной с подозрением на полимиелита должен быть госпитализирован. В течение препаралитического и паралитического периодов болезни, необходим строгий постельный режим. Специфического лечения нет. Введение гамма-глобулина с лечебной целью неэффективно. Применяют обезболивающие и дегидратирующие средства (диакарб), тепловые процедуры. У больных с бульбарными нарушениями и дыхательными расстройствами, необходимо следить за проходимостью верхних дыхательных путей. В случае необходимости, применяют искусственную вентиляцию легких.

В восстановительном периоде большое значение имеют массаж, лечебная физкультура, профилактика контрактур. Применяют антихолинэстеразные средства (прозерин, галантамин, нивалин, стефаглабрина сульфат), витамины В12, В6 анаболические стероиды (метандростенолон, ретаболил). Показана физиотерапия (УВЧ, диатермия, парафинолечение). В позднем восстановительном периоде (не ранее 6 месяцев от начала болезни) можно начинать санаторно-курортное лечение (грязи, морские купания).

Ортопедо-хирургическое лечение последствий полиомиелита. Ортопедическое лечение паралитических форм направлено на предупреждение и лечение контрактур и деформаций, на ускорение восстановления функции опоры и движения. Оно включает мероприятия, препятствующие вторичному сморщиванию фасциальных образований, связок и мышц, их укорочению, а также меры, способствующие устранению ложных параличей, нестабильности или неконгруэнтности суставов, обусловленных подвывихами или вывихами суставов.

В паралитическом периоде важно бороться с рефлекторно-болевыми мышечными спазмами неравномерно вовлеченных в процесс мышц, резким снижением их силы, вынужденным неправильным расположением конечностей в постели. С этой целью используют гипсовые повязки, лонгеты, шины. кроватки, туторы, аппараты и ортопедическую обувь, позволяющие предотвратить развитие контрактур, деформаций и максимально уменьшить объем оперативною вмешательства. Для улучшения трофики ц.н.с. и функции мышц уже в этом периоде назначают лечебную гимнастику, массаж, физиотерапию.

В восстановительном и резидуальном периодах ортопедическое лечение может быть консервативным и оперативным. Оно направлено на компенсацию утраченных двигательных функций или создание предпосылок для их восстановления в резидуальном периоде. Арсенал проводимых мероприятий весьма широк: устранение контрактур с помощью редрессаций и фиксаций конечности этапными гипсовыми повязками: теномиотомии и сухожильно-мышечная пластика; удлинение сухожилий и рассечение части сухожильно-кап-

сульно-связочного аппарата; тенодезы или создание искусственных связок и сухожилий; артроризы и артродезы суставов; резекция и остеотомия костей. Как правило, целью оперативного вмешательства является освобождение больного от ортопедическою аппарата, создание равновесия мышечных сил и стабилизации сустава или более удобное использование ортопедических изделий при ходьбе, самообслуживании и занятии профессиональным трудом.

Деформации и контрактуры, возникающие после перенесенного полиомиелита, по их частоте можно распределить следующим образом: деформации и контрактуры стоп, укорочение конечностей, паралитический сколиоз и вялые параличи плечевого пояса. Нередко наблюдаются их комбинации.

Паралитическая косолапость, пяточновальгусная деформация и вальгусная деформация стопы обусловлены параличом, в первую очередь, передней, задней или обеих большеберцовых мышц и значительно реже малоберцовых мышц. Удлинение пяточного (ахиллова) сухожилия сочетается с сухожильно-мышечными пересадками за счет перонеальных мышц на внутренний край стопы или на пяточный бугор при одновременном укорочении пяточного сухожилия (пяточно-вальгусная деформация стопы). Наиболее благоприятные результаты миотенопластических операций на стопе получены у детей в возрасте до 5 лет. У части больных прибегают к тенодезу за счет укорочения растянутых мышц или артроризу, чтобы ограничить объем патологических движений в голеностопном суставе, при так называемой свисающей или пяточной стопе. Для этого, иногда используют искусственные связки из синтетических материалов. Проводят также стабилизирующие оперативные вмешательства, например, подтаранный артродез и в крайнем случае, артродез голеностопного сустава (в случае тотального поражения всех мышц голени).

При укорочении нижней конечности более, чем на 4 см у больных с последствиями производят ее удлинение за счет остеотомий или закрытого разрыва метафизарной зоны с последующей дистракцией с помощью аппарата Илизарова (см. Дистракционно-компрессионные аппараты). Одновременно осуществляют коррекцию положения голеностопного сустава. При паралитическом сколиозе выполняют операцию с целью его коррекции и фиксации после предварительной коррекции поясничного и грудного отделов позвоночника, например, дистракторами Казьмина или инструментарием Харрингтона. Для прочного удержания позвоночника применяют спондилодез. При вялых параличах верхней конечности для улучшения функции руки производят артродез или тенодез лучезапястного или плечевого сустава, в некоторых случаях, пересадку мышц в области локтевого сустава и кисти, (см. также Детские параличи, Параличи).

Прогноз для жизни при отсутствии параличей всегда благоприятный. Наиболее серьезный прогноз имеют бульбарная форма и распространенная спинальная форма с дыхательными расстройствами. Степень восстановления парезов зависит от тяжести поражения. Глубокие параличи обычно дают остаточные явления.

Профилактика. Основой профилактики является иммунизация инактивированной или живой вакциной. В СССР с 1959 г. применяют только живую вакцину, изготавливаемую из аттенуированных штаммов Сейбина, которую вводят через рот. Вакцинируют детей первого года жизни по достижении 3-месячного возраста трижды, с интервалом в 1 1/2 месяца. В течение второго и третьего года жизни проводят ревакцинации – 2 прививки в год с интервалом в 1 1/2 месяца. Дополнительные ревакцинации осуществляют в возрасте 7–8 и 15–16 лет (по одной прививке). Вакцина безопасна и ареактогенна. Противопоказаниями к прививкам являются острые заболевания, сопровождающиеся значительным повышением температуры тела (38,5° и выше) или системными расстройствами, состояния иммунодефицита или иммунодепрессии, вызываемые злокачественными новообразова-

ниями, кортикостероидами, антиметаболитами, ионизирующим излучением. Легкие заболевания верхних дыхательных путей, диареи и др. с повышением температуры тела не более 38,5 °С, противопоказаниями не являются.

Больные полимиелитом или с подозрением подлежат ранней (немедленной) госпитализации с последующей изоляцией. В помещении, где находится больной, проводят ежедневную уборку, загрязненное им белье обеззараживают, посуду кипятят, предметы ухода, игрушки моют с мылом, уничтожают мух.

Заключительная дезинфекция предусматривает обеззараживание выделений больного, посуды, белья, верхней одежды и постельных принадлежностей и обработку помещений раствором хлорамина.

Лицам, имевшим тесный контакт с больными, проводят по указанию санитарно-эпидемиологической службы одноразовую иммунизацию живой полиомиелитной вакциной, без учета срока и полноты ранее проведенных прививок против полиомиелита.

Вирусы Коксаки А и В

Вирусы Коксаки – РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*. Вирусы названы по населенному пункту в США, где они были впервые выделены. По патогенности для новорожденных мышей вирусы разделены на группы А и В (29 серотипов): вирусы Коксаки А вызывают диффузный миозит и очаговый некроз поперечнополосатых мышц; вирусы Коксаки В – поражение ЦНС, развитие параличей, некроз скелетной мускулатуры и – иногда – миокарда и др.

Вирусы Коксаки А вызывают у человека серпантину (герпетиформные высыпания на задней стенке глотки, дисфагия, лихорадка), пузырчатку в полости рта и конечностей, полиомиелитоподобные заболевания, диарею у детей: возможна сыпь.

Вирусы Коксаки В вызывают полиомиелитоподобные заболевания, энцефалит, миокардит, плевропневмонию (болезненные приступы в области труди, лихорадка, иногда плеврит).

Микробиологическая диагностика. Вирусологический метод: вирус выделяют из фекалий, отделяемого носоглотки, заражают культуры клеток HeLa или почек обезьян (Коксаки В, отдельные серотипы Коксаки А) или мышей-сосунков. Учитывают характер патологических изменений у зараженных мышей. Вирусы идентифицируют в РТГА, РСК, РН, ИФА.

Вирусы группы ECHO

Вирусы группы ECHO – РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae Enterovirus;* насчитывают более 30 типов. Вирусы ECHO (от англ. *Enteric cytopathogenic human orphans viruses* - кишечные цитопатогенные человеческие вирусы-сироты) непатогенны для всех видов лабораторных животных. Вызывают ОРВИ, асептический менингит, полиомиелитоподобные заболевания; возможна сыпь.

Микробиологическая диагностика. 1) Вирусологический метод: вирус выделяют из цереброспинальной жидкости, фекалий, отделяемого носоглотки; заражают культуры клеток почек обезьян. Вирусы идентифицируют в РТГА, РСК, РН, ИФА. 2) Серодиагностика: в сыворотке крови выявляют нарастание титра антител, используя РТГА, РСК, РН, ИФА.

Риновирусы

Риновирусы – РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Rhinovirus*. Последний представлен 2 видами, состоящими из 100 серотипов, наиболее часто вызывающих острые инфекции верхних дыхательных путей (ОРВИ). Рецептором риновирусов является межклеточная адгезивная молекула I (ICAM-I), которая экспрессируется на эпителиальных клетках, фибробластах и эндотелиальных клетках. Риновирусы могут передаваться двумя механизмами: аэрозольным и контактно-бытовым. Проникают в организм через нос, полость рта, конъюнктиву. Процесс начинается в верхних дыхательных путях.

Микробиологическая диагностика.

1) Вирусологический метод: вирусы выделяют на культуре клеток, обнаруживают в РИФ.

2) Серологический метод: антитела выявляют в парных сыворотках крови пациента с помощью реакции нейтрализации.

Вирусы ящура

Вирусы ящура – РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Aphtovirus*, состоящего из одного вида, представленного 7 серотипами. Вызывают ящур– зоонозную инфекционную болезнь, характеризующуюся лихорадочным состоянием, язвенными (афтозными) поражениями слизистой оболочки рта, кожи кистей и стоп у человека. Вирусы ящура по морфологии и химическому составу сходны с другими пикорнавирусами. Обладают высокой вирулентностью и дерматотропностью.

Вирус может длительно (несколько недель) выживать в объектах окружающей среды, в пищевых продуктах; чувствителен к дезинфектантам. Естественным резервуаром вируса служат больные животные, особенно, крупный рогатый скот. От больных животных вирус выделяется с молоком, со слюной и мочой. Человек заражается при уходе за больными животными, а также при употреблении сырого молока и молочных продуктов.

Восприимчивость человека к ящуру невысокая.

Микробиологическая диагностика. 1) Вирус выявляют в содержимом афт, слюне и крови путем заражения морских свинок, мышей-сосунков или культур клеток. 2) Для серодиагностики исследуют парные сыворотки крови в РСК, РН, РПГА, ИФА.

Профилактика. Профилактика ящура у человека – неспецифическая.

Вирус гепатита А

Вирусные гепатиты наносят огромный ущерб здоровью населения и экономике всех стран мира. Они подразделяются на энтеральные – гепатиты А и Е и парентеральные – гепатиты В, С, D, F, G и др. Вирусы парентеральных гепатитов описаны в гл. 18. 6.

Вирус гепатита А вызывает острую инфекционную болезнь, характеризующуюся лихорадкой, преимущественным поражением печени, интоксикацией, иногда желтухой и отличающуюся склонностью к эпидемическому распространению. Антропоноз.

Заболевание (под другими названиями) известно с глубокой древности и описано еще Гиппократом в IV–V вв. до н. э. Вирус гепатита А – открыт в 1973 г. С. Фейнстоном.

Таксономия, морфология и антигенная структура. Вирус гепатита А относится к семейству *Picornaviridae* роду *Hepatovirus*. Типовой вид – вирус гепатита А – имеет один серотип. Это РНК-содержащий вирус, просто организованный, имеет диаметр 27–28 нм и один вирусоспецифический антиген.

Культивирование. Вирус выращивают в культурах клеток. Цикл репродукции более длительный, чем у энтеровирусов, цитопатический эффект не выражен.

Резистентность. Вирус гепатита А отличается большей, чем у энтеровирусов, устойчивостью к нагреванию; он сохраняется при 60 °С в течение 12 ч, инактивируется при кипячении в течение 5 мин. Относительно устойчив во внешней среде (воде, выделениях больных).

Восприимчивость животных. Экспериментальную инфекцию возможно воспроизвести на обезьянах мармозетах и шимпанзе.

Эпидемиология. Источником инфекции являются больные, как с выраженными, так и с бессимптомными формами инфекции. Механизм заражения – фекально-оральный. Вирусы выделяются с фекалиями начиная со второй половины инкубационного периода и в начале клинических проявлений: в это время больные наиболее опасны для окружающих. С появлением желтухи интенсивность выделения вирусов снижается. Вирусы гепатита А передаются через воду, пищевые продукты, предметы обихода, грязные руки; в детских коллективах – через игрушки, горшки. Вирусы способны вызывать водные и пищевые эпидемические вспышки.

Гепатит А распространен повсеместно, но особенно в местах с дефицитом воды, плохими системами канализации и водоснабжения и низким уровнем гигиены населения.

Болеют преимущественно дети в возрасте от 4 до 15 лет. Подъем заболеваемости наблюдается в летние и осенние месяцы.

Патогенез. Вирус гепатита А обладает гепатотропизмом. После заражения репликация вирусов происходит в кишечнике, а оттуда через портальную вену они проникают в печень и реплицируются в цитоплазме гепатоцитов. Повреждение гепатоцитов возникает не за счет прямого цитотоксического действия, а в результате иммунопатологических механизмов.

Клиника. Инкубационный период составляет от 15 до 50 дней, чаще около месяца. Начало острое, с повышением температуры и явлениями со стороны ЖКТ (тошнота, рвота и др.). Возможно появление желтухи на 5–7-й день. Клиническое течение заболевания, как правило, легкое, без особых осложнений; у детей до 5 лет – обычно бессимптомное. Продолжительность заболевания 2–3 недели. Хронические формы не развиваются.

Иммунитет. После инфекции формируется стойкий пожизненный иммунитет, связанный с IgG. В начале заболевания в крови появляются IgM, которые сохраняются в организме в течение 4–6 месяцев и имеют диагностическое значение. У детей первого года жизни обнаруживаются антитела, полученные от матери через плаценту. Помимо гуморального, развивается и местный иммунитет в кишечнике.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат сыворотка и испражнения. Диагностика основана, главным образом, на определении в крови IgM с помощью ИФА, РИА и иммунной электронной микроскопии. Этими же методами можно обнаружить вирусный антиген в фекалиях. Вирусологическое исследование не проводят из-за отсутствия методов, доступных для практических лабораторий.

Лечение. Симптоматическое.

Профилактика. Неспецифическая профилактика должна быть направлена на повышение санитарной культуры населения, улучшение водоснабжения и условий приготовления пищи.

Для специфической пассивной профилактики используют иммуноглобулин по эпидпоказаниям. Иммунитет сохраняется около 3 месяцев. Для специфической активной профилактики разработана и применяется инактивированная культуральная концентрированная вакцина. Разработана также рекомбинантная генно-инженерная вакцина.

Реовирусы (Семейство Reoviridae)

Реовирусы (семейство *Reoviridae*) – семейство безоболочечных вирусов, содержащих двунитевую фрагментированную **РНК;** включает *респираторные и кишечные вирусы,* а также некоторые арбовирусы. Название семейства произошло от первых букв англ. слов: respiratory enteric, orphan viruses. Семейство содержит 4 рода: *Orthoreovirus, Orbivirus, Coltivirus, Rotavirus.*

Род *Orthoreovirus* представлен вирусами трех серотипов. Они широко распространены, выделяясь от людей, млекопитающих в норме или при желудочно-кишечных и респираторных инфекциях. Род *Orbivirus* получил свое название из-за кольцевидной формы капсомеров вирионов (лат. *orbis* – кольцо). Род Orbivirus включает возбудителей арбовирусной инфекции: вирус Кемерово (переносится клещами, вызывает кемеровскую лихорадку) и вирус синего языка овец (переносится мокрецами). Род *Coltivirus* включает вирус колорадской клещевой лихорадки, вызывающий арбовирусную инфекцию (переносится клещами). Род *Rotavirus* содержит вирусы, вызывающие распространенные диареи (табл. 18.3).

Структура реовирусов. Вирионы реовирусов имеют сферическую форму (диаметр 70–85 нм), двухслойный капсид икосаэдрического типа; оболочки нет (рис. 18. 3). Геном представлен двунитевой фрагментированной (10–12 сегментов) линейной РНК. Вирион содержит фермент транскриптазу (РНК-зависимую РНК-полиме-разу). Внутренний капсид и геномная РНК составляют сердцевину вириона. ***Внутренний капсид*** реовирусов содержит систему транскрипции; белки лямбда-1, лямбда-3, мю-2. От сердцевины отходят шипы, представленные белком лямбда-2. У ротавирусов внутренний капсид включает белки VP-1, VP-2, VP-3, VP-6.

Наружный капсид реовирусов состоит из белков сигма-1, сигма-3, мю-1с, а также белков лямбда-2, отходящих от сердцевины и выступающих в виде шипов. Белок сигма-1 является гемагглютинином и прикрепительным белком. Белок мю- 1с определяет способность реовирусов заражать клетки кишечника и впоследствии поражать ЦНС.

У ротавирусов наружный капсид включает белки VP-4 (шипы, выступающие на поверхности вириона, являющиеся гемагглютинином и прикрепительным белком) и VP-7 – основной компонент наружного капсида, являющийся типоспецифическим антигеном. Ротавирусы и ортореовирусы активизируются протеолизом (инфекционные субвирусные частицы) с увеличением их инвазионной способности.

Репродукция. Вирионы реовирусов могут адсорбироваться (с помощью белка сигма-1) на клетке и проникать рецептор-опосредованным эндоцитозом в цитоплазму, где под

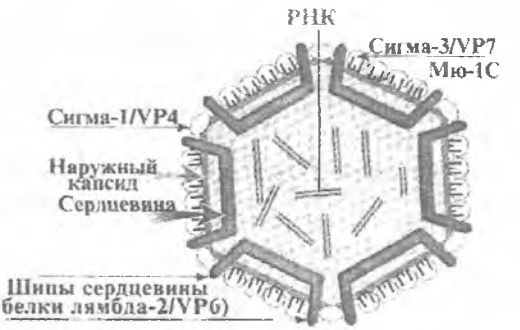


Рис. 18.3. Схема строения реовирусов.

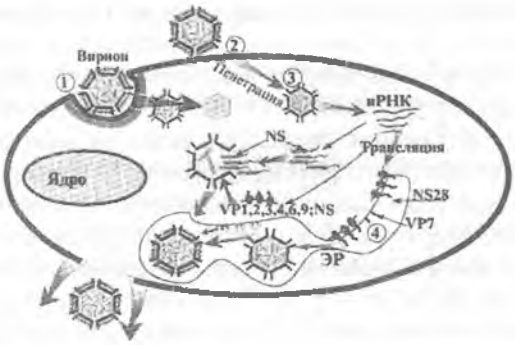


Рис. 18.4 . Схема репродукции ротавирусов.

влиянием ферментов лизосом происходит частичная депротеинизация – разрушение наружного капсида с образованием субвирусных частиц.

Таблица 18. 1.

Характеристика семейства Reoviridae

Род	Представители	Свойства вирусов
Ortboreovirus	Ортореовирусы людей, обезьян и др.	Вирусы сферические (7- нм), оболочки нет. Капсид икосаэдрический, двухслойный. РНК двунитевая линейная, из 10-12 сегментов. Репродукция и сборка – в цитоплазме
Orbivirus	Вирусы Кемерово, синего языка овец	
Coltivirus	Вирус колорадской клещевой лихорадки	
Rotavirus	Ротавирусы человека, обезьян	

Возможно проникновение вирусов в клетку другим механизмом, например, инфекционных субвирусных частиц, не содержащих белка сигма-1. Инфекционные субвирусные частицы ротавирусов проникают через клеточную мембрану (механизм проникновения неизвестен) и освобождают сердцевину в цитоплазме, а ферменты сердцевины инициируют продукцию иРНК. С каждого фрагмента геномной РНК считывается индивидуальная иРНК. Транскрипция генома проходит в две фазы (ранняя и поздняя). Минус-нить РНК используется как матрица. Сборка вирионов происходит в цитоплазме. Вирусы выходят при лизисе клетки.

Микробиологическая диагностика. Диагностика арбовирусных инфекций, вызываемых отдельными представителями реовирусов, проводится с помощью вирусологического и серологического методов: заражают культуру клеток или мышей-сосунков (интрацеребрально); с помощью РСК, РПГА, РН выявляют антитела в парных сыворотках крови больного.

Диагностику ротавирусной инфекции см. ниже.

Ротавирусы (род Rotavirus)

Ротавирус человека относится к группе сходных между собой вирусов животных, которая, кроме него, включает вирус диареи телят Небраски (NCDV), вирус эпизоотической диареи молодых мышей (EDJM), вирус обезьян (SA-11), вирус, происходящий из ки-

шечного содержимого овец и крупного рогатого скота (О), а также – возбудители диареи поросят, жеребят, щенят и других животных. Название ротавирус происходит от латинского rota – колесо, которая частица вируса напоминает в электронно-микроскопических препаратах. Ротавирусная инфекция имеет повсеместное распространение и регистрируется в течение всего года. Однако, свыше 70% больных выявляется в холодное время года. Источником инфекции при острых кишечных инфекциях ротавирусной этиологии являются инфицированные взрослые и дети – больные манифестной формой инфекции или бессимптомно выделяющие ротавирусы с фекалиями. Заражение человека от животных не доказано, хотя возможность его не исключается. Основной механизм передачи ротавирусов – фекально-оральный, реализуемый водным, пищевым и контактно-бытовым путями передачи. К ротавирусам восприимчивы люди всех возрастных групп. При этом наибольшая восприимчивость отмечается у детей в возрасте от 6 мес. до 2-х лет. Инкубационный период короткий и длится от 15 часов до 5 суток, но чаще всего – 1-3 дня. Это совершенно другой вирус, не имеющий никакого отношения к аденовирусам. Первый содержит РНК, а второй – ДНК.

Ротавирусная инфекция

Ротавирус является наиболее распространенным возбудителем гастроэнтерита у маленьких детей. 80% детей до достижения 5-летнего возраста болеют ротавирусной инфекцией. Инфекция вызывает сильный понос с высокой вероятностью дегидратации у детей до 3 лет. Современные методы коррекции водно-электролитных нарушений позволили резко снизить смертность, связанную с этой инфекцией, но заболеваемость остается весьма высокой.

Если ребенок однажды переболел ротавирусной инфекцией, это не гарантирует, что он не заболеет вновь. Вероятность повторного заражения на первом году жизни составляет – 30%. К двум годам почти 70% детей заболевают дважды, 40% – трижды, и 20% детей – заболевают 4 раза. Тем не менее, те кто уже перенес болезнь, последующие заражения переносит легче.

Чаще всего, ротавирусная инфекция встречается в осенне-зимний период. Инфекция передается фекально-оральным путем, хотя также возможен воздушно-капельный путь передачи. Лечение симптоматическое.

31 августа 1998 года в США была одобрена вакцина против ротавирусной инфекции (Rotashield). Полученные результаты клинических исследований показали, что вакцина снижает риск заражения в 2 раза, вероятность тяжелых случаев, на 80%, вероятность дегидратации на 100%. Вакцинированные заболевшие переносили болезнь в более легкой форме и выздоровление наступало быстрее. Длительность вызываемого иммунитета составляет около 2-х лет.

Форма вакцины – оральная, для достижения иммунитета необходимо 3 дозы. Дается в 2, 4 и 6 месяцев (одновременно с другими вакцинами).

Наиболее распространенные побочные эффекты: температура, снижение аппетита, проявляются обычно в течение 5 дней с момента вакцинации.

Американская академия педиатрии рекомендовала данную вакцину для применения у детей. Первую дозу вакцины рекомендуется получить до 6-месячного возраста, полностью вакцинация должна быть закончена к одному году.

Клинические аспекты ротавирусной инфекции

Внешний вид вирусных частиц напоминает колесо с широкой ступицей, короткими спицами и четко очерченным ободком, поэтому их стали называть ротавирусами (лат. rota – колесо).

Ротавирусная инфекция представляет собой острое инфекционное заболевание, вызываемое патогенными для человека ротавирусами.

Ротавирусы представляют собой род семейства Reoviridae, который объединяет большое количество сходных по морфологии и антигенной структуре вирусов, вызывающих гастроэнтерит у человека, млекопитающих и птиц. Систематическое изучение ротавирусов человека началось с 1973 года, когда они были обнаружены при электронной микроскопии ультратонких срезов биоптатов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, полученных от больных острым гастроэнтеритом детей Австралии (Р. Бишоп и соавторы). В том же году Т. Флеветт обнаружил сходный вирус в копрофильтратах больных гастроэнтеритом методом электронной микроскопии при негативном контрастировании препаратов.

Вирусные частицы имеют диаметр от 65 до 75 нм. При проникновении контрастирующего вещества в вирион выявляется электронно-плотный центр диаметром 38–40 нм, который представляет собой так называемую сердцевину, окруженную электронно-прозрачным слоем. Внешний вид вирусных частиц напоминает колесо с широкой ступицей, короткими спицами и четко очерченным ободом, поэтому их стали называть ротавирусами (лат. rota – колесо).

Ротавирусы имеют две белковые оболочки – наружный и внутренний капсиды. Сердцевина содержит внутренние белки и генетический материал, представленный двунитчатой фрагментированной РНК. Геном ротавирусов человека и животных состоит из 11 фрагментов, которые могут быть разделены при электрофорезе в полиакриламидном геле (ПААГ) или агарозе. В составе ротавирусов обнаружено четыре антигена; основной из них – это групповой антиген, обусловленный белком внутреннего капсида. С учетом группоспецифических антигенов все ротавирусы делятся на пять групп: A, B, C, D, E. Ротавирусы одной группы имеют общий групповой антиген, который выявляется иммунологическими реакциями: иммуноферментный анализ, иммунофлюоресценция, иммунная электронная микроскопия и др. Большинство ротавирусов человека и животных относятся к группе А.



Рис 18.5 Слизистая оболочка толстой кишки при ротавирусном гастроэнтерите. Минимально выраженный катаральный колит. х 100.

Источником инфекции при ротавирусном гастроэнтерите является инфицированный человек – больной манифестной формой заболевания или бессимптомно выделяющий ротавирусы с фекалиями. Вирусы в фекалиях заболевших появляются одновременно с развитием клинических симптомов, наибольшая концентрация их в кале (до 109–1011 вирусных частиц в 1 г) регистрируется в первые 3–5 дней болезни. В эти дни больные представляют наибольшую эпидемиологическую опасность для лиц, контактирующих с ними. Наиболее частым источником заболевания для детей первого года жизни являются инфицированные ротавирусом матери; для взрослых и детей более старшего возраста – дети, в основном из детских коллективов. Возможность заражения человека от животных не доказана.

Основной механизм передачи ротавирусов – фекально-оральный, осуществляемый с участием различных путей и множественных факторов передачи. Зарегистрированы водные и пищевые вспышки ротавирусной инфекции. При спорадической заболеваемости распространение ротавирусов осуществляется преимущественно контактно-бытовым путем, при этом, оказываются задействованы разнообразные инфицированные вирусами предметы, окружающие источник инфекции. Особенностью эпидемического процесса при ротавирусной инфекции является зимне-весенняя сезонность, хотя спорадические заболевания регистрируются в течение всего года.

Патогенез ротавирусной инфекции характеризуется проникновением вируса в эпителиоциты слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, преимущественно, тонкой кишки, что приводит к их повреждению и отторжению от ворсинок. Вследствие этого, на ворсинках тонкой кишки появляются функционально и структурно незрелые энтроциты с низкой способностью синтезировать пищеварительные ферменты. При ротавирусном гастроэнтерите это проявляется снижением уровня дисахаридаз, развивается вторичная дисахаридазная недостаточность, при которой в просвете тонкой кишки накапливаются нерасщепленные дисахариды, что создает повышенное осмотическое давление и приводит к выводу в просвет кишечника воды и электролитов из тканей организма. Это является основной причиной диареи и дегидратации и определяет основные клинические проявления болезни.

Ротавирусный гастроэнтерит, как инфекционное заболевание, имеет циклическое течение. Инкубационный период продолжается, чаще всего, от 12–24 часов до двух суток. Клиническая картина ротавирусного гастроэнтерита характеризуется в основном острым началом, однако, в ряде случаев, может иметь место продромальный период длительности от 12 до 48–72 часов. В этот период больные отмечают недомогание, общую слабость, повышенную утомляемость, снижение аппетита, головную боль, познабливание, урчание и неприятные ощущения в животе, умеренно выраженные катаральные явления: заложенность носа, першение в горле, легкий кашель.

В клинической картине ротавирусного гастроэнтерита в период развернутых клинических проявлений ведущими являются синдромы гастроэнтерита и интоксикации. Выраженность диареи и обусловленной ею той или иной степени дегидратации организма, а также токсикоза, продолжительность этих симптомов в значительной мере определяет тяжесть течения заболевания.

Синдром гастроэнтерита характеризуется развитием диареи, снижением аппетита, появлением урчания и болей в животе, тошноты и рвоты. Наиболее типичен для ротавирусного гастроэнтерита обильный водянистый пенистый стул желтого или желто-зеленого цвета. У больных с легким течением заболевания стул может быть кашицеобразным. Как правило, патологические примеси в стуле отсутствуют. Боль локализуется преимуществен-

но в верхней половине живота или является диффузной, она может быть разной интенсивности. Почти всегда она сопровождается громким урчанием в животе.

Синдром интоксикации появляется в самом начале заболевания. Слабость, зачастую резкая, является наиболее частым проявлением этого синдрома; реже отмечается головная боль. При более тяжелом течении имеют место головокружение, обморочное состояние, коллапс. Обращает на себя внимание следующая особенность ротавирусного гастроэнтерита: два ведущих в клинической картине болезни синдрома развиваются в процессе заболевания не всегда однонаправленно; у некоторых больных на фоне сравнительно слабо выраженных диспепсических явлений могут наблюдаться резко выраженные симптомы общей интоксикации, особенно слабость.

Повышение температуры тела не всегда может отмечаться при ротавирусном гастроэнтерите, особенно у взрослых. У некоторых больных может быть озноб без повышения температуры. В то же время, нередко в разгар заболевания, выраженность лихорадочной реакции варьируется от субфебрильных цифр и выше и может достигать 38 – 39 °С как у детей, так и у взрослых.

Важным в диагностическом плане для ротавирусного гастроэнтерита, считается сочетание двух ведущих клинических синдромов с симптомами поражения верхних дыхательных путей. Катаральный синдром встречается приблизительно у 50% больных и проявляется в виде гиперемии и зернистости слизистых оболочек мягкого неба, небных дужек, язычка, задней стенки глотки, а также насморка, заложенности носа, кашля, болей в горле. В ряде случаев, катаральные симптомы наблюдаются уже в продромальном периоде, до проявления симптомов гастроэнтерита.

В разгар болезни отмечается изменение функционального состояния сердечно-сосудистой системы, чаще у пациентов с более тяжелым течением и при наличии сопутствующих заболеваний органов кровообращения. У большинства пациентов отмечается тенденция к артериальной гипертензии, тахикардия, определяется глухость сердечных тонов при аускультации. У больных с тяжелым течением заболевания, как правило, возникают обмороки и коллапсы из-за выраженных расстройств гемоциркуляции, в генезе которых наряду с токсическими воздействиями существенное значение имеет гиповолемия. Потери жидкости и электролитов вследствие рвоты и диареи могут быть значительными и приводят к развитию дегидратации. Клинические проявления дегидратации зависят от ее степени. При легком и среднетяжелом течении ротавирусного гастроэнтерита отмечается жажда, сухость во рту, слабость, бледность (дегидратация I – II степени), при тяжелом течении наряду с этими симптомами наблюдаются также осиплость голоса, судороги мышц конечностей, акроцианоз, снижение тургора кожи, уменьшение диуреза (дегидратация III степени).

В связи с развитием при ротавирусном гастроэнтерите возможных осложнений, главным образом, циркуляторных расстройств, острой сердечно-сосудистой недостаточности, нарушений гомеостаза, выделяют группы больных повышенного риска, в которые включают новорожденных, детей младшего возраста, лиц пожилого возраста, а также больных с тяжелыми сопутствующими заболеваниями. Описанные в литературе и наблюдавшиеся нами случаи ротавирусного заболевания с летальным исходом относятся именно к этим группам.

Выделяются две основные клинические формы ротавирусного заболевания – гастроэнтерическая и энтерическая. Симптомы только острого гастрита (гастритический вариант) встречаются в 3 – 10% случаев. Функциональные и морфологические нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта, возникающие при ротавирусном гастроэнтерите

в случае наличия у пациентов фоновой гастроэнтерологической патологии, нередко способствуют развитию таких осложнений основного заболевания, как обострение сопутствующих болезней: хронического гастрита, энтероколита, панкреатита, часто в сочетании с выраженными явлениями дисбактериоза кишечника, требующими коррекции при лечении.

Методы диагностики ротавирусной инфекции

Методы обнаружения вирионов и вирусных антигенов	Методы обнаружения вирусной РНК	Методы обнаружения специфических антител
Электронная микроскопия	Электрофорез ротавирусной РНК в полиакриламидном геле	Твердофазная реакция коагглютинации для определения специфичных к ротавирусу IgM
Диффузная преципитация	Метод точечной гибридизации	Реакция пассивной гемагглютинации
Латекс-агглютинация	Полимеразная цепная реакция	Реакция связывания комплемента
Иммуноферментный анализ Твердообразная реакция коагглютинации Выделение ротавирусов в культуре клеток Реакция пассивной гемагглютинации Иммунофлюоресценция Иммуноэлектрофорез Радиоиммунный анализ		Реакция нейтрализации

При ротавирусном гастроэнтерите гемограмма изменяется следующим образом: в остром периоде заболевания с высокой частотой выявляются лейкоцитоз с нейтрофилезом и повышенная СОЭ. В периоде реконвалесценции картина крови обычно нормализуется полностью. Изменения урограммы у большинства больных имеют кратковременный характер и проявляются, чаще всего, небольшой протеин-, лейкоцит- и эритроцитурией; в редких случаях, в моче появляются гиалиновые цилиндры в незначительном количестве. При тяжелом течении заболевания нарушения функции почек могут быть более выраженными, с повышением уровня мочевины крови, олигоурией или анурией, снижением клубочковой фильтрации. На фоне проводимой терапии указанные изменения быстро исчезают и при повторных обследованиях не отмечаются.

Лечение: обильное питье солевых растворов, парентеральная регидратационная и дезинтоксикационная терапия – трисоль 1000 мл внутривенное капельное введение, внутрь ферментные препараты: абомин, панкреатин, тансол, карболен. Течение заболевания без осложнений. На третий день болезни – субфебрильная температура, оставалась слабость; боли в животе прекратились. Стул кашицеобразный до пятого дня от начала заболевания. Полное выздоровление наступило на седьмой день болезни.

Результаты бактериологических и серологических исследований на бактерии – возбудители острых кишечных инфекций отрицательные. Диагноз ротавирусного гастроэнтерита подтвержден обнаружением ротавирусов в фекалиях на второй день болезни методом прямой электронной микроскопии и выявлением ротавирусного антигена реакцией латекс-агглютинации с использованием набора «Роталекс».

Дифференциальный диагноз у больных ротавирусным гастроэнтеритом проводят с другими острыми кишечными инфекциями, как вирусной так и бактериальной этиологии, прежде всего, в тех случаях, когда в клинической картине на первый план выступает синдром гастроэнтерита: с вирусными диареями различной этиологии (аденовирусы, коронавирусы, астровирусы, калицивирусы, вирус Норфолк, энтеровирусы Коксаки и ECHO); с гастроинтестинальной формой сальмонеллеза, с гастроэнтеритическим и гастроэнтероколитическим вариантами острой дизентерии, с пищевыми токсикоинфекциями, вызванными условно-патогенными бактериями; с холерой.

Постановка диагноза ротавирусного гастроэнтерита по клинической картине, особенно, при спорадической заболеваемости, представляет определенные сложности, ввиду отсутствия симптомов, строго патогномоничных для этой патологии, в связи с чем, диагноз «ротавирусный гастроэнтерит» нуждается в лабораторном подтверждении. В настоящее время диагностические приемы при ротавирусной инфекции направлены на обнаружение цельных вирионов, вирусного антигена, вирусспецифической РНК в копрофильтратах, а также специфической сероконверсии (таблица). Выбор того или иного метода, зависит от конкретного случая, при этом, следует исходить из поставленных задач. На практике лабораторное подтверждение, чаще всего, основывается на обнаружении вирусного антигена в копрофильтратах с помощью реакции латекс-агглютинации (РЛА), реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) и иммуноферментного анализа (ИФА). При проведении текущей лабораторной диагностики как в стационарах, так и в амбулаторных условиях, предпочтение отдается методам РПГА и РЛА, которые доступны для практических лабораторий, просты в постановке, высокочувствительны и позволяют быстро получить результат (РЛА, по существу, является экспресс-методом, так как результат может быть получен через 10–15 мин). Высокой чувствительностью этих методов обусловлена возможностью их применения для диагностики ротавирусного гастроэнтерита не только в ранние сроки болезни, но и позже. В случаях получения сомнительных результатов, для уточнения данных, целесообразно использовать более чувствительный твердофазный ИФА, который может также применяться как для текущей, так и для ретроспективной диагностики в разные сроки заболевания.

Обнаружение специфических антител и нарастание их титра в сыворотке крови больных и переболевших ротавирусным гастроэнтеритом при помощи серологических реакций, с целью текущей диагностики на практике, в настоящее время, широкого распространения не получило и используется в основном, для ретроспективного анализа различных эпидемиологических ситуаций.

Методы обнаружения вирусспецифической РНК, которые можно назвать высокочувствительными и специфичными, имеют, однако, ряд недостатков, ограничивающих их практическое применение (необходимость наличия специальной аппаратуры, реактивов, квалифицированного персонала и др.) Наиболее простой метод в этой группе – электрофорез ротавирусной РНК в полиакриламидном геле. Этот метод, позволяющий идентифицировать штаммы вирусов, вызвавшие заболевание, и дать характеристику штаммов, циркулирующих на данной территории, в основном применяется при эпидемиологических исследованиях.

Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго

Таксономическое положение и биологические свойства вируса. Вирус относится к роду *Nairovirus,* антигенной группе геморрагической лихорадки Крым-Конго. Название рода происходит от наименования столицы Кении – Найроби, что в переводе означает «Студеная вода». Данный вирус обладает биологическими свойствами, характерными для вирусов семейства *Bunyaviridae.* Это вазотропный арбовирус. Большинство штаммов вируса не обладает гемагглютинирующей активностью.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Заболевания впервые были выявлены в Крыму в 1944 г. военными врачами среди солдат и переселенцев, занятых уборкой сена. В 1945 г. М. П. Чумаков и его ученики из крови больных в острой стадии болезни и от переносчиков инфекции – иксодовых клещей, выделили вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго. В 1956 г. в Африке при сходном заболевании был выделен вирус Конго, который по биологическим свойствам оказался идентичен вирусу крымской геморрагической лихорадки, поэтому возбудителя болезни называют вирусом геморрагической лихорадки Крым-Конго. Болезнь, вызванная вирусом в Конго, протекает без геморрагического компонента, относительно редко наблюдается у людей, но вирус часто обнаруживают у животных.

Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго относится к арбовирусным природноочаговым заболеваниям. В России это заболевание встречается на территории Краснодарского и Ставропольского краев, Астраханской, Волгоградской и Ростовской областей, республик Дагестан, Калмыкия и Карачаево-Черкесии. Основным резервуаром вируса в природе и источником инфекции являются многие виды пастбищных клещей, передающих вирус своему потомству трансовариально и по ходу метаморфоза. Основное значение имеют гиаломовые клещи, способные сохранять вирус до 250 суток и после кормления практически в 100% случаев инфицировать теплокровных животных. Животные, на которых паразитируют эти клещи (ежи, зайцы, коровы, овцы и козы), служат временным резервуаром вируса и в период вирусемии заражают свежие партии клещей. Отличительной особенностью вируса является преобладание заболеваемости животных в виде бессимптомной инфекции, особенно, у домашних животных. Человек чаще всего заражается в природных очагах трансмиссивно через укусы клещей и является «тупиком» в эпидемиологической цепи в природных очагах. Возможно заражение через микроповреждения кожи и слизистые оболочки, при контакте с кровью больного или инфицированными предметами. Чаще заболевают медицинские работники (внутрибольничное заражение в 3% случаев), так как **кровь больных в острую фазу заболевания содержит вирус в высоких концентрациях, в связи с чем, возможно заражение при проведении медицинских манипуляций** (внутривенных вливаний, остановке носового и других кровотечений, проведении искусственного дыхания и т.д.). Большинство заболеваний, переданных контактным путем, протекает тяжело. Это обусловлено наличием эффекта «пинг-понга», т.е. усилением вирулентности вируса после пассажа через живой организм человека. Возможен также аэрогенный механизм заражения при авариях в вирусологических лабораториях.

Проникая в организм человека, вирус в течение инкубационного периода (от 1 до 14 дней) размножается в макрофагах, а затем поступает в кровь. Он обладает вазотропностью, что ведет к развитию генерализованного капилляротоксикоза. Вирус поражает также область гипоталамуса и кору надпочечников, избирательно – слизистую оболочку желудка. Убедительных объяснений такой избирательности не существует. В течение заболевания выделяют несколько периодов: **начальный** или **предгеморрагический** период,

период **разгара** или геморрагических проявлений и **период реконвалесценции.** В типичном случае, заболевание характеризуется острым началом: лихорадкой, выраженной интоксикацией, тяжелыми геморрагическими проявлениями, которые более выражены, чем при омской геморрагической лихорадке. Летальность может достигать 40%. Смерть наступает от инфекционно-токсического шока, массивных кровотечений, печеночно-почечной недостаточности. Так как у части больных (7-9%) геморрагические проявления могут отсутствовать, выделяют две клинические формы болезни: с геморрагическими проявлениями и без геморрагических проявлений. Последняя форма протекает, как правило, гораздо легче, чем первая. Период реконвалесценции длительный. Трудоспособность восстанавливается не ранее, чем через 1–2 месяца. Различные нарушения в организме после выписки больного из стационара могут сохраняться в течение 1-2 лет и более. Иммунитет напряженный. Комплементсвязывающие и преципитирующие антитела у переболевших сохраняются свыше 5 лет. В то же время, для геморрагической лихорадки Крым-Конго характерен низкий уровень коллективного иммунитета к данному вирусу. Это обусловлено низкой степенью вовлечения населения в эпидемиологический процесс, низким уровнем циркуляции вируса в природе и сравнительно редким нападением его переносчиков на человека.

Микробиологическая диагностика. Диагностика геморрагической лихорадки Крым-Конго основана на выделении вируса из крови больных и внутренних органов погибших путем заражения новорожденных белых мышей и культур клеток с идентификацией в РИФ, а также на обнаружении антител в парных сыворотках с помощью РНИФ, РСК, РДПА, РИГА, РИА и ИФА, постановки ПЦР. Экспресс-диагностика вируса в крови, аутопсийном материале и переносчиках осуществляется с помощью РИГА или РИФ с флюоресцирующей моноклональной мышиной сывороткой к вирусу.

Лечение и профилактика. Для лечения геморрагической лихорадки Крым-Конго применяют реаферон, рибавирин. В первые 3 дня вводят гетерогенный специфический лошадиный иммуноглобулин, а также иммунную сыворотку, плазму или специфический иммуноглобулин, полученные из сыворотки крови реконвалесцентов или привитых лиц. Специфический иммуноглобулин используется для экстренной профилактики у лиц, соприкасающихся с кровью больного. Для создания активного иммунитета у сотрудников лабораторий, в целях профилактики, используют формолвакцину из мозга зараженных сосунков белых мышей или белых крыс. Для тех, кто выезжает в Южные регионы России (командировка, отпуск и т.д.), рекомендуют вакцинацию против вируса геморрагической лихорадки Крым-Конго вакциной, производимой в Болгарии. В стационарах должна быть обеспечена профилактика внутрибольничного распространения вируса, прежде всего, парентерально, поскольку вирус находится в высоких концентрациях в крови человека. Поэтому госпитализация больных проводится обязательно в отдельные боксы. Обслуживание больных должно проводиться специально обученным персоналом.

Тогавирусы (семейство Togaviridae)

Название семейства *Togaviridae* происходит от лат. *toga* – плащ, накидка, что отражает сложное строение вириона, наличие у вирусов внешней липидсодержащей оболочки (суперкапсида), окружающей РНП наподобие плаща. Семейство состоит из 4 родов, 2 из которых – род *Alphavirus* и род *Rubivirus* – играют роль в патологии у человека. Альфавирусы относятся к экологической группе арбовирусов (от англ. *arthropod-borne viruses* – вирусы, рожденные или передаваемые членистоногими), вызывающих инфекции, передающиеся членистоногими. Типовым представителем рода является вирус Синдбис (SIN). Род *Rubivirus* включает вирус краснухи, который передается воздушно-капельным путем и не относится к арбовирусам. Предлагают выделить данный род в отдельное семейство.

Вирусы рода Alphavirus

Морфология, химический состав и особенности репродукции. Альфавирусы – это сложноустроенные, гетерогенные по размерам, липидсодержащие вирусы. Геном их состоит из линейной однонитчатой плюс-РНК, обладающей инфекционной активностью, окруженной капсидом (С-белок) с кубическим типом симметрии и состоящим из 32 капсомеров. Нуклеокапсид окружен наружной двухслойной липопротеидной оболочкой, на поверхности которой располагаются гликопротеины Е1, Е2 и Е3, пронизывающие липидный слой и контактирующие с нуклеокапсидом. Диаметр вирионов – от 65 до 70 нм.

Размножение вирусов происходит в результате проникновения их в клетку путем рецепторного эндоцитоза (см. рис. 3. 8). Многие альфавирусы проникают в клетку, взаимодействуя с рецептором для Fc-фрагмента Jg. При слиянии вирусной оболочки со стенкой эндосомы вирусная РНК выходит в цитоплазму. Особенностью альфавирусов является образование двух видов информационной РНК – 49S-мРНК, идентичной вирионной, и 26S-МРНК. Синтез структурных белков (С, Е1, Е2, Е3) кодирует 26S-МРНК, трансляция которой начинается на свободных полисомах. Все процессы синтеза вирусоспе-цифических компонентов происходят на рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматической сети. Здесь же происходит и сборка нуклеокапсидов. Сборка и почкование вирионов путем экзоцитоза происходят на плазматической мембране зараженных клеток, в результате воссоединения нуклеокапсида, липидного бислоя и пронизывающих его гликопротеинов. Лигандрецепторное взаимодействие белка С с Е2 является сигналом для сборки вириона. Процесс почкования у альфавирусов происходит очень быстро и протекает быстрее, чем у вирусов семейств *Flaviviridae, Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae* и *Rhabdoviridae.* Инфекционный цикл занимает 6–8 ч.

В отличие от других вирусов, арбовирусы характеризуются способностью размножаться в двух температурных режимах: 36–40 и 22–25 °С, что позволяет им репродуцироваться не только в организме позвоночных, но и в организме переносчиков – кровососущих членистоногих насекомых.

Устойчивость к действию физических и химических факторов. Наличие липидсодержащей оболочки обуславливает чувствительность данных вирусов к эфиру и детергентам. Они легко разрушаются при 56 °С, устойчивы к pH 6,0–9,0, сохраняют инфекционную активность при замораживании. Вирусы высокочувствительны к ультрафиолетовому облучению, действию формалина и хлорсодержащих дезинфектантов.

Антигенная структура. Альфавирусы не имеют М-белка. Они содержат один капсидный С-белок и два или три гликопротеина супер-капсида: Е1, Е2 и Е3. Последний есть не у всех альфавирусов, он входит в состав супер-капсида вирусов леса Семлики. Е1 и Е2 обладают разной функциональной активностью. Гликопротеин Е1 обладает гемагглютинирующей активностью, агглютинируя эритроциты гусей и цыплят. Он придает способность зараженным клеткам, также как и вирионам, связывать и лизировать эритроциты. Антитела против Е1 блокируют гемагглютинацию, но не нейтрализуют вирусы. Тем не менее, благодаря такому связыванию с антителами, не нейтрализованные вирусы заражают клетки, взаимодействуя с их рецепторами к Fc-фрагментам иммуноглобулинов. Основной протективный антиген Е2 индуцирует синтез антител, нейтрализующих инфекционные свойства вируса.

Поверхностные гликопротеины и белки нуклеокапсида серологически не родственны. Белок С нуклеокапсида обеспечивает родовую специфичность альфавирусов. Гликопротеин Е2 является видоспецифическим антигеном и участвует в РН. Е1 ответственен за под-групповую специфичность и выявляется в РТГА. По данным РТГА альфавирусы образуют 4 антигенных комплекса: венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей, комплекс вирусов леса Семлики и негруппированные вирусы.

Особенности культивирования вирусов. Восприимчивость лабораторных животных. Альфавирусы культивируют в культурах клеток фибробластов куриного эмбриона, ВНК-21, СПЭВ и др., где они вызывают развитие выраженного ЦПД. В культурах клеток под агаровым покрытием альфавирусы образуют бляшки. В культурах клеток из переносчиков альфавирусы ЦПД не вызывают. К альфавирусам восприимчивы новорожденные белые мыши (1–3-дневного возраста) при интраце-ребральном, подкожном и внутрибрюшинном заражении, у которых они через

2–5 или 8–12 дней вызывают развитие параличей конечностей с последующим летальным исходом. Вирусы венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей патогенны также для взрослых крыс, морских свинок, кроликов и обезьян. Возможно заражение куриных эмбрионов в желточный мешок. Гибель куриных эмбрионов наступает через 2–3 дня.

Универсальной моделью для выделения арбовирусов является заражение новорожденных белых мышей, у которых они вызывают развитие энцефалита, заканчивающегося летально.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболеваний. Альфавирусы широко распространены в природе, но чаще встречаются в южных широтах. Они вызывают природноочаговые зоонозные инфекции. Почти все альфавирусы экологически связаны с комарами, являющимися не только переносчиками, но также их источником и резервуаром в природе. У переносчиков передача вирусов происходит трансфазово и трансовариально. Личинки комаров легко заражаются многими арбовирусами алиментарным путем. У комаров возможна венерическая передача вируса. В природных очагах резервуаром вирусов являются также позвоночные: птицы, грызуны, приматы и другие прокормители комаров. **Основной механизм заражения трансмиссивный.** Природные очаги поддерживаются за счет циркуляции вирусов между членистоногими и позвоночными. Человек, попадая в природный очаг заболевания, заражается при укусах инфицированными членистоногими. При высокой плотности населения и большой численности комаров человек становится источником-накопителем альфави-русов, и они могут передаваться трансмиссивно от человека человеку. Эпидемии заболевания обрываются тогда, когда создается большая «иммунная прослойка» населения, в результате перенесенного заболевания и вакцинации.

В лабораторных условиях заражение людей может произойти в результате вдыхания аэрозолей при создании высоких концентраций вирусных частиц, поэтому работа с альфавирусами может проводиться лишь в специальных режимных лабораториях. Это возбудители особо опасных инфекций.

Патогенез альфавирусных инфекций состоит из стадий, характерных для всех арбовирусных заболеваний. Вирусы размножаются в тканях и органах членистоногих, в том числе, в слюнных железах. При последующем укусе человека или животного при кровососании они проникают в кровь, в результате резорбтивной вирусемии и заносятся во внутренние органы, где размножаются в эндотелии капилляров и клетках РЭС, откуда снова поступают в кровь. Эта вторичная вирусемия сопровождается появлением лихорадки. Вазотропные вирусы поражают эндотелий капилляров внутренних органов, а нейротропные вирусы проникают в ЦНС, где вызывают гибель клеток.

В большинстве случаев, заболевания протекают скрытно, бессимптомно и выявляются с помощью серологических методов исследования. У человека альфавирусы могут вызвать заболевания, сопровождающиеся лихорадкой, высыпаниями на коже, развитием энцефалита и артрита.

Основными представителями альфавирусов, патогенными для человека, являются вирусы Синдбис, Чикунгунья, О Ньонг-Ньонг, леса Семлики, венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей. Вирусы Чикунгунья, О Ньонг-Ньонг и энцефаломиелитов лошадей вызывают эпидемии заболеваний, проявляющиеся энцефалитом или системной лихорадкой.

В результате перенесенных заболеваний появляется стойкий иммунитет.

Комплементсвязывающие антитела сохраняются лишь на протяжении 1–2 лет, и их высокие титры свидетельствуют о недавно перенесенной инфекции. Вируснейтрализующие антитела и антигемагглютинины сохраняются в течение многих лет.

Микробиологическая диагностика заболеваний. Выделение вирусов из крови и цереброспинальной жидкости проводят путем заражения новорожденных белых мышей интрацеребрально, а также заражения культур клеток, где они вызывают развитие ЦПД, а также образование бляшек под агаровым покрытием. Универсальной моделью является заражение новорожденных белых мышей. Идентификацию вирусов проводят в РН на мышах или культурах клеток, в РТГА с эритроцитами гусей, РСК, РИФ и ИФА. Для постановки РИФ и ИФА широко используются моноклональные антитела, полученные почти ко всем арбовирусам.

Серодиагностика основана на обнаружении антител в парных сыворотках с помощью РН, РСК, РТГА, РРГ, РИГА, РНИФ, ИФА и РИА.

Экспресс-диагностика альфавирусных инфекций основана на обнаружении антигенов в исследуемом материале с помощью РИГА, РИФ, ИФА и РИА, а также на использовании молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот и/или ПЦР, позволяющих обнаружить участки генома, специфичного для каждого вируса.

Специфическое лечение и профилактика. Из противовирусных препаратов применяют рибавирин, интерферон и реаферон. В ряде случаев, для специфического лечения применяют сыворотки реконвалесцентов и гетерогенные иммуноглобулины. Для создания активного искусственного иммунитета в целях профилактики применяют в основном убитые формолвакцины. Вакцинация необходима для персонала, работающего с вирусами. Начиная с 1960-х годов работы по иммунопрофилактике вирусов венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей и других экзотических вирусов в России велись под руководством академика РАМН Анатолия Андреевича Воробьева, которому за создание вакцин и разработку методов массовой вакцинации в 1980 г. была присуждена Государственная премия.

Вирус лихорадки Синдбис

Вирус лихорадки Синдбис является типовым вирусом рода Alphavirus и входит в состав антигенного комплекса вирусов западного энцефаломиелита лошадей. Впервые он выделен в 1952 г. из комаров Culex pipiens, Culex inivittatus в деревне Синдбис в окрестностях Каира (Египет). Вирус обладает всеми биологическими свойствами, характерными для альфавирусов. В клетках позвоночных и беспозвоночных воспроизведена бессимптомная инфекция. Ее механизмом является переход в состояние ДНК-провируса и интеграция в геном клетки хозяина. В геноме хронически инфицированных вирусом Синдбис клеток обнаружено 10–20 копий вирусных ДНК. Переносчиком вируса являются комары. Природными хозяевами его среди позвоночных животных являются птицы, у которых заболевание протекает бессимптомно. Вирус вызывает спорадические заболевания и небольшие вспышки, встречающиеся в Африке, Южной Америке, Индии, Австралии.

Близкий в антигенном отношении к вирусу лихорадки Синдбис является **вирус карельской лихорадки** (финское название – лихорадка Погоста, в Швеции – болезнь Окельбо), обнаруженный у больных на территории Карелии в 1981 г. Данный вирус также относится к вирусам комплекса западного энцефаломиелита лошадей. Переносчиком его являются комары рода Aedes.

Заболевания проявляются лихорадкой, головной болью, артралгиями, сыпью на коже и длятся 5–8 дней. Исход их благоприятный, но возможен переход в хроническое течение с развитием артрозов и потерей трудоспособности. Лабораторная диагностика основана на выделении вирусов из крови и серологических методах исследования. Специфическое лечение и профилактика не разработана.

Вирус лихорадки леса Семлики

Название вируса лихорадки леса Семлики происходит от местности округа Бвамба в Уганде, леса Семлики, где в 1942 г. был выделен вирус из комаров A. abnormalis. В последующем он был выделен от комаров в Кении и Камеруне (Африка), а также **в Приморском крае России** и в Казахстане. Следует отметить несколько повышенную термоустойчивость вируса. При 60 °С полная инактивация наступает не менее чем через 30–60 мин. В присутствии солей двух- и трехвалентных катионов термоустойчивость повышается. По строению и биологическим свойствам вирус близок к вирусу Синдбис. Внешняя оболочка его содержит три антигена: Е1, Е2 и Е3. Данный вирус является типовым представителем антигенного комплекса леса Семлики, в состав которого входят вирусы Чикунгунья, О Ньонг-Ньонг, Росс-Ривер (р. Росс) и вирус Майяро. Резервуаром и источником вируса в природе являются комары и птицы. Механизм заражения трансмиссивный. Заболевания у людей носят спорадический характер и проявляются лихорадкой, денгеподобным синдромом, в ряде случаев – развитием энцефалита и асептического менингита. Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса из крови и обнаружении антител в парных сыворотках. Препараты для специфического лечения и профилактики не разработаны.

Вирус лихорадок Чикунгунья и О Ньонг-Ньонг

Вирусы относятся к антигенному комплексу Семлики. Переносчиками их являются комары родов Aedes и Anopheles (Aedes aegypti, Aedes africanus и Anopheles funestus). Резервуаром и источником возбудителя для вируса Чикунгунья являются птицы, летучие мыши, обезьяны, которые поддерживают циркуляцию вирусов в природе **(джунглевый тип лихорадки) и человек (городской тип лихорадки).** Для вирусов О Ньонг-Ньонг резервуаром и источником возбудителя являются человек и приматы. Заболевания распространены в странах с тропическим и субтропическим климатом. Вирус лихорадки Чикунгунья распространен в Африке (Танзания, Зимбабве, ЮАР, Мозамбик, Уганда), Юго-Восточной Азии (Индия, Таиланд, Филиппины, Индонезия). Азиатские штаммы вируса, мало чем отличаются от африканских штаммов вируса. Вирус лихорадки О Ньонг-Ньонг вызывает эпидемии в Юго-Западной, Центральной и Юго-Восточной Африке.

Городские эпидемии лихорадок происходят по цепочке человек-комар-человек. Лихорадка Чикунгунья («та, которая сгибает») часто накладывается на окончание эпидемии лихорадки денге. Уровень вирусемии у больных высок. Очевидно, комары могут переносить вирус и чисто механически при прерывистости кровососания, что обуславливает одновременное заражение лиц, проживающих в одном помещении.

Вирусы вызывают денгеподобные заболевания, характеризующиеся нередко двухволновой лихорадкой, интоксикацией, миалгиями, *сильными болями в суставах,* лимфаденопатией, зудящей макуло-папулезной сыпью, иногда – менингеальными и геморрагическими явлениями. В том случае, если не развивается геморрагический или шоковый синдром, возникающий в результате повторного инфицирования вирусами, больные выздоравливают. Лабораторная диагностика основана на вирусологическом и серологическом методах исследования. Препараты для специфического лечения и профилактики не разработаны. Живая вакцина из вируса лихорадки Чикунгунья, прошедшего несколько интрацеребральных пассажей через мышей, вызывает непродолжительный иммунитет и практического значения не имеет. Потребность в вакцинах фактически отсутствует, так как эпидемии нерегулярны, а исход заболеваний благоприятный.

Арбовирусные инфекции, сопровождающиеся лихорадкой, поражением суставов и сыпью (денгеподобный синдром), вызываются также вирусом Росс-Ривер в Австралии, на о. Фиджи, Самоа, островах Кука и Новой Гвинеи и вирусом Майяро в Южной и Центральной Америке, входящими в состав вирусов антигенного комплекса Семлики.

Вирусы энцефаломиелитов лошадей

Вирус венесуэльского энцефаломиелита лошадей впервые выделен в 1938 г. из мозга лошади, павшей во время эпизоотии в Венесуэле. Имеет несколько вариантов (6 подтипов) от 1А до IF. Для людей наиболее опасен подтип 1АВ. Вирус вызывает заболевания в северной части Южной Америки, Центральной Америке, Флориде и Мексике. Эпидемические штаммы появляются только во время крупных эпизоотии и эпидемий. Резервуаром и источником вируса в природе являются птицы, грызуны, сумчатые, обезьяны либо домашние животные, лошади, мулы, ослы, коровы и овцы, а также **человек, у которого,** как и у больных лошадей, ***выраженна вирусемия.*** В ряде случаев, вирус был выделен из смывов ротоглотки, что указывает на возможность передачи вируса от человека человеку. Механизм заражения трансмиссивный, переносчики – комары родов Aedes, Culex, Mansonia, Psorophora, Haemogogus, Anopheles, Sabethes. У больных лошадей вирус выделяется с молоком, мочой, носовым секретом, может проникать в ротовую полость человека с загрязненных рук. Известны случаи внутрилабораторного аспирационного заражения воздушно-пылевым путем, в результате вдыхания вирусных аэрозолей.

Инкубационный период – от 2 до 6 дней. У человека заболевание протекает, чаще всего, как ОРВИ с лихорадкой и головной болью, мышечными болями. Энцефалитическая форма возникает редко (3–5%) и, главным образом, у детей. Летальность среди взрослых составляет 6-9%, среди детей до 5 лет – 35%.

Иммунитет после перенесенного заболевания стойкий, напряженный.

Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса из крови больных и цереброспинальной жидкости, а также на обнаружении антител в парных сыворотках.

Для **специфического лечения и экстренной профилактики** применяют иммуноглобулин против вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей жидкий, полученный из сыворотки крови лошадей. Из противовирусных препаратов используют интерферон, реаферон. Для создания активного иммунитета в целях профилактики применяют вакцину вируса культуральную очищенную концентрированную инактивированную сорбированную жидкую. Она приготовлена из аттенуированного культурального штамма вируса СМ-27 венесуэльского энцефаломиелита лошадей, имеющего все шесть иммуногенно активных эпитопов Е2, инактивированного формалином и прогреванием. Вакцина предназначена для профилактики заболевания у лиц 16 лет и старше в группах повышенного риска, а именно: населения эндемичных районов, лиц, выезжающих в эндемичные районы, сотрудников вирусологических лабораторий. Так как убитая вакцина не всегда создает иммунитет к заражению через дыхательные пути, для вакцинопрофилактики у сотрудников вирусологических лабораторий предпочтительно применять живую таблетированную вакцину для перорального применения, разработанную А. А. Воробьевым и соавт. из штамма 230. Ведутся работы по получению синтетических полипептидов, имитирующих иммуногенные эпитопы Е2.

Вирус восточного энцефаломиелита лошадей впервые выделен в 1933 г. из мозга погибших во время эпизоотии в восточных штатах США (Нью-Джерси) лошадей. Вирус достаточно термолабилен, при температуре 55 °С разрушается за 30 мин, неустойчив при 37 °С, но хорошо сохраняется в замороженном и лиофилизированном состоянии.

Основным резервуаром и источником вируса в природе являются дикие птицы, обитающие на болоте (воробьиные и водно-околоводного комплекса); показана чувствительность к нему летучих мышей. Переносчиком вируса среди птиц являются комары различных видов, чаще всего, Culiseta melanura, которые редко нападают на лошадей и человека. Природные очаги возбудителя восточного энцефаломиелита лошадей обычно расположены в болотистой местности. Из них вирус распространяется на фазанов, уток на птицефермах и лошадей, а в последующем, и на людей. Эпидемически значимыми переносчиками считаются комары Aedas sollicitans и других видов, активно нападающие на человека. Лошади и человек представляют собой «конечные точки» в жизненном цикле вируса, так как инфекционный процесс у них является случайным. Эпизоотии среди лошадей и заболевания у людей встречаются в Северной и Южной Америке, на Кубе, на о. Тринидад. **У человека заболевание обычно протекает очень тяжело;** соотношение клинических и бессимптомных форм 1:25. Характерны симптомы энцефалита: спутанность сознания, головная боль, лихорадка, параличи. Острые явления длятся 7–10 дней. Заболевание сопровождается высокой летальностью (70–75%). После перенесенного заболевания в 35% случаев, наблюдаются неблагоприятные последствия в виде психоэмоциональных расстройств и слабоумия. Иммунитет стойкий, напряженный.

Микробиологическая диагностика. Основана на выделении вируса из крови и цереброспинальной жидкости, а также на обнаружении антител в парных сыворотках.

Специфическое лечение и профилактика не разработаны. Для создания активного иммунитета применяют дивакцины восточного и западного энцефаломиелита лошадей, культуральные, инактивированные, жидкие и сухие. Вирусы получают на многослойных культурах куриных фибробластов и инактивируют формалином. Препарат предназначен для профилактики у взрослых лиц, работающих с данными вирусами или выезжающих в эндемичные районы. Иногда компоненты дивакцины используют раздельно или комбинируют с убитой вакциной против вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей.

Вирус западного энцефаломиелита лошадей впервые выделен в 1930 г., из мозга погибшей во время эпизоотии лошади и вскоре – из мозга погибшего от энцефалита ребенка. По биологическим свойствам, это – типичный аль-фавирус. В экологическом отношении сходен с возбудителем венесуэльского энцефаломиелита лошадей. Основным естественным резервуаром вируса являются дикие птицы (воробьи и водоплавающие птицы водно-околоводного комплекса), у которых возникает вирусемия без клинических симптомов. У птиц, часто возникает хроническая инфекция, сопровождающаяся периодической вирусемией. Возможно участие в качестве хозяев

вируса мышевидных грызунов, а также длительное сохранение и репродукция вирусов в организме холоднокровных – змей и лягушек, у которых развивается хроническая или латентная инфекция. От птиц и, возможно, холоднокровных хозяев вирус переносится комарами (в основном орнитофильным видом Culex tarsalis) к человеку и чувствительным к вирусу животным, лошадям и мулам, которые являются случайными хозяевами вируса и представляют собой «тупик» в эпидемическом цикле вируса западного энцефаломиелита лошадей. Резервуары вируса установлены в США, Канаде, Мексике, Гайане, Бразилии и Аргентине. Соотношение клинически выраженных и бессимптомных форм заболевания 1:58. Заболевание возникает в виде крупных вспышек и проявляется лихорадкой, головными болями, болью в мышцах и поражением ЦНС (энцефалит). Летальность достигает 8–15%. После перенесенного заболевания могут отмечаться стойкие психоэмоциональные и неврологические расстройства. Иммунитет стойкий, напряженный.

Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса из крови и цереброспинальной жидкости, а также обнаружении антител в парных сыворотках и цереброспинальной жидкости. **Специфическое лечение и профилактика** не разработаны. Для профилактики применяют дивакцины восточного и западного энцефаломиелита лошадей культуральные инактиви-рованные жидкие и сухие.

Вирус краснухи

Краснуха – острая вирусная болезнь, характеризующаяся мелкопятнистой экзантемой, генерализованной лимфаденопатией, умеренно выраженной лихорадкой и поражением плода у беременных.

Этиология. Вирус краснухи относится к тогавирусам (семейство Togaviridae, род Rubivirus). Вирионы представляют собой сферические частицы диаметром 60–70 нм, на поверхности расположены редкие ворсинки длиной 8 нм, содержат РНК. В отличие от других тогавирусов вирус краснухи содержит нейраминидазу. Вирус патогенен для некоторых видов обезьян. Способен размножаться на многих клеточных культурах, но цитопатическое действие оказывает лишь на немногих, в частности, на культуре ВНК-21 (хомячковые). Вирус краснухи агглютинирует эритроциты голубей, гусей, обладает гемолитическими свойствами. Во внешней среде вирус нестоек, быстро погибает при высушивании, при изменениях pH (ниже 6,8 и выше 8,0), под влиянием ультрафиолетовых лучей, эфира, формалина и других дезинфицирующих веществ.

Эпидемиология. Источником инфекции является только человек. Это или больные клинически выраженной формой краснухи или лица, у которых краснуха протекает атипично, без сыпи, а также дети с врожденной краснухой, в организме которых вирус может сохраняться в течение многих месяцев (до 1,5 лет и более). До введения в практику активной иммунизации краснуха встречалась в виде эпидемических вспышек с интервалом 6–9 лет. Введение прививок проявилось в резком снижении заболеваемости. Так, в США в 1964 г. зарегистрировано более 1,8 млн больных краснухой, причем, в результате врожденной краснухи родилось свыше 20 000 детей с аномалиями развития. В 1984 г. краснухой заболело всего 745 человек. В межэпидемическое время наблюдаются спорадические случаи. Максимальное число заболеваний регистрируется в апреле–июне. Во время эпидемической вспышки заболевают не только дети, но и взрослые, особенно в организованных коллективах (военнослужащие и др.). Особую опасность краснуха представляет для беременных вследствие внутриутробной инфекции плода. Вирус краснухи выделяется во внешнюю среду за неделю до появления сыпи и в течение недели после высыпания. Заражение происходит воздушно-капельным путем (у беременных – трансплацентарно).

Патогенез. Вирус краснухи при естественной инфекции проникает в организм через слизистые оболочки дыхательных путей, хотя в эксперименте на добровольцах удавалось вызвать заболевание и при интрадермальном введении вируса. В дальнейшем, наступает вирусемия. Гематогенно вирус разносится по всему организму, обладает дерматотропными свойствами, вызывает изменения лимфатических узлов, которые увеличиваются уже в конце инкубационного периода. В это время вирус можно выделить из носоглотки. С появлением сыпи вирус в крови и в носоглотке не обнаруживается, но в некоторых случаях, выделение его продолжается 1-2 нед. после

высыпания. Антитела в сыворотке появляются через 1-2 дня после высыпания. В дальнейшем, титр их нарастает. После перенесенного заболевания антитела сохраняются в течение всей жизни. Титр комплементсвязывающих антител постепенно снижается. Иммунитет стойкий пожизненный.

Вирус краснухи обладает тропизмом к эмбриональной ткани, значительно нарушает развитие плода. Частота поражений плода зависит от сроков беременности. Заболевание краснухой на 3-4-й неделе беременности обусловливает врожденные уродства в 60% случаев, на 9-12-й неделе – в 15% и на 13-16-й неделе – в 7% случаев. При заболевании беременных краснухой во время вирусемии вирус попадает в плаценту, там размножается и инфицирует плод. Инфекция вызывает нарушения митотической активности, хромосомные изменения, что приводит к отставанию в физическом и умственном развитии. При врожденной краснухе, несмотря на наличие в сыворотке крови антител к вирусу краснухи, возбудитель длительное время (до 31 мес) сохраняется в организме ребенка. Ребенок в течение всего этого времени может быть источником инфекции для других детей.

Симптомы и течение. Инкубационный период длится от 11 до 24 дней (чаще 16-20). Общее состояние больных краснухой страдает мало, поэтому часто первым симптомом, обращающим на себя внимание, является экзантема. Больные отмечают небольшую слабость, недомогание, умеренную головную боль, иногда боли в мышцах и суставах. Температура тела чаще остается субфебрильной, хотя иногда достигает 38-39 °С и держится 1–3 дня. При объективном обследовании отмечаются слабо выраженные симптомы катара верхних дыхательных путей, небольшая гиперемия зева, инъекция сосудов конъюнктивы. С первых дней болезни появляется генерализованная лимфаденопатия. Особенно, выражены увеличение и болезненность заднешейных и затылочных лимфатических узлов. Иногда все эти симптомы выражены слабо, и болезнь обращает на себя внимание лишь при появлении сыпи. Заболевание может протекать в разных формах. Общепринятой классификации клинических форм краснухи нет. По нашему мнению, необходимо выделить следующие клинические формы краснухи.

А. Приобретенная краснуха: 1. Типичная форма: легкая, средней тяжести, тяжелая. 2. Атипичная форма (без сыпи). 3. Инаппарантная форма (субклиническая).

Б. Врожденная краснуха: 1. Поражение нервной системы. 2. Врожденные пороки сердца. 3. Форма с поражением слуха. 4. Форма с поражением глаз. 5. Смешанные формы. 6. Резидуальные явления врожденной краснухи.

Типичные формы могут быть неосложненными и осложненными (артрит, энцефалит, тромбоцитопеническая пурпура, акушерская патология).

Неосложненные формы типичной приобретенной краснухи протекают легко или в форме средней тяжести, симптомы общей интоксикации выражены слабо. Температура тела может оставаться нормальной на всем протяжении болезни (у 22%) или повышаться до субфебрильной (48%), у остальных больных температура колеблется в пределах 38–39 °С. Лихорадка чаще всего длится от 2 до 4 дней и лишь у отдельных больных (10%) дольше 5 дней.

Очень частым проявлением краснухи является воспаление верхних дыхательных путей в виде ринита (у 70%) и фарингита (у 90%). Больные жалуются на умеренно выраженный сухой кашель, неприятные ощущения в горле (саднение, першение, сухость). На мягком небе иногда можно увидеть мелкие красные элементы (пятна Форхгеймера). У большинства больных (около 70%), наблюдается конъюнктивит, но менее выраженный, чем у больных корью.

Характерным проявлением краснухи является экзантема. Часто сыпь появляется уже в первый день болезни (40%), но может появиться на второй (35%), третий (15%) и даже на четвертый день (у 10% больных). В некоторых случаях, именно сыпь обращала на себя внимание, так как легкое недомогание перед высыпанием не считалось каким-либо заболеванием. Чаще, сыпь вначале замечают на лице, а затем в течение суток она появляется на туловище и на конечностях. В отличие от кори, отсутствует этапность высыпания. Сыпь более обильна на разгибательных поверхностях конечностей, на спине, пояснице, ягодицах. На лице сыпь менее выражена, чем на туловище (при кори наоборот). В отличие от скарлатины, элементы сыпи расположены на фоне нормальной (неиперемированной) кожи. Основным элементом сыпи является маленькое пятно (диаметром 5–7 мм), не возвышающееся над уровнем кожи, исчезающее при надавливании на кожу или при растягивании ее. Типичной является мелкопятнистая сыпь (у 95%), хотя у отдель-

ных больных, она может быть и крупнопятнистой (диаметр пятен 10 мм и более). Наряду с пятнами, могут встречаться плоские розеолы диаметром 2–4 мм, реже наблюдаются папулы. Элементы сыпи, как правило, раздельны, однако, некоторые из них могут сливаться, образуя более крупные пятна с фестончатыми краями, но никогда не образуется обширных эритематозных поверхностей (как это бывает при кори или инфекционной эритеме), очень редко выявляются единичные петехии (у 5%).

При слабо выраженной сыпи, обнаружить ее иногда помогает прием провокации сыпи, для чего создается венозный застой на руке, путем легкого перетягивания ее с помощью манжетки от тонометра, жгута или просто руками, при этом, пульс должен прощупываться. Через 1–2 мин сыпь, если она есть, будет более заметной. Иногда, в области элементов сыпи отмечается легкий зуд, но, как правило, никаких субъективных ощущений в области элементов сыпи не бывает. Элементы сыпи держатся чаще 2–3 дня.

У части больных, в первые дни болезни выявляется небольшая гипотензия, иногда отмечается увеличение печени (у 10%), несколько чаще бывает увеличенной селезенка (у 30% больных). Для периферической крови характерна лейкопения и увеличение числа плазматических клеток.

Атипичная краснуха протекает легко, без экзантемы, она характеризуется легким катаральным воспалением верхних дыхательных путей и умеренно выраженной лимфаденопатией. Если больной отмечает контакт с краснухой, то в таких случаях, можно подумать о данном заболевании. Это особенно важно при диагностике краснухи у беременных.

Еще более сложной задачей является распознавание инаппарантной краснухи. Частота этих форм остается неясной. При заражении 7 добровольцев лишь у 2 возникла клинически выраженная краснуха. По данным других наблюдений было установлено, что инаппарантное течение краснухи наблюдается в 5–6 раз чаще, чем клинически выраженное. Единственным способом выявления бессимптомных форм является обнаружение нарастания титра противокраснушных антител.

Врожденная краснуха. Течение болезни при внутриутробном заражении значительно отличается от обычной краснухи. К синдрому врожденной краснухи принято относить пороки развития сердца – незарастание артериального протока, дефекты межжелудочковой перегородки, стеноз легочного ствола; поражение глаз – помутнение роговицы, катаракты, хориоретинит, микрофтальмия; характерна также микроцефалия, умственная отсталость, глухота. В последующие годы проявлениями этого синдрома дополнительно стали считать тромбоцитопеническую пурпуру, увеличение печени и селезенки, задержку внутриутробного развития, интерстициальную пневмонию, миокардит или некроз миокарда и поражение костей в области метафиза. Перечень этих проявлений стали именовать расширенным синдромом врожденной краснухи. У некоторых детей выявлялись признаки гуморального и клеточного иммунодефицита, в дальнейшем у лиц с врожденной краснухой развивался сахарный диабет или прогрессирующий подострый панэнцефалит. Следует отметить, что врожденная краснуха может развиться и после бессимптомной (инаппарантной) краснухи у матери.

Осложнения. При приобретенной краснухе наиболее частым осложнением являются артриты. У взрослых больных они наблюдаются чаще, чем у детей (30% у мужчин, 5–6% у женщин). Припухлость и болезненность суставов появляются через 1–2 дня после исчезновения сыпи и держатся 5–10 дней. Более редкое осложнение – тромбоцитопеническая пурпура. Она характеризуется петехиальной или более крупной геморрагической сыпью на коже, кровотечением из десен, гематурией.

Наиболее тяжелое осложнение – краснушный энцефалит, один случай которого, наблюдается на 5000–7000 заболеваний краснухой. Признаки энцефалита появляются вскоре после исчезновения сыпи или на фоне экзантемы. Больные отмечают усиление головной боли, ухудшение общего самочувствия, в дальнейшем развиваются судороги, коматозное состояние, гемипарезы. Иногда возможны и менингеальные симптомы. Летальность при энцефалитах довольно велика.

Диагноз и дифференциальный диагноз. Распознавание типичных случаев во время эпидемической вспышки в коллективе не представляет трудностей. Диагноз спорадических случаев, особенно при атипичном течении, довольно сложен. Заболевание приходится дифференцировать от других заболеваний, протекающих с мелкопятнистой экзантемой (аденовирусные и энтеровирусные заболевания, корь, инфекционный мононуклеоз, розовый лишай, лекарственная эк-

зантема, инфекционная эритема и др.). В диагностике помогает характерная картина периферической крови (лейкопения, относительный лимфоцитоз, увеличение числа плазматических клеток). Диагноз краснухи можно подтвердить или посредством выделения и идентификации вируса или по нарастанию титров специфических антител. Для этой цели используют различные реакции: РСК, иммуноферментный анализ, реакция иммунофлюоресценции, а также выявление специфических антител. Серологические реакции ставят с парными сыворотками с интервалом 10–14 дней. Диагностическим является нарастание титра антител в 4 раза и более. Выделение и идентификация вируса довольно сложны и в практической работе почти не используются.

Лечение. При неосложненной краснухе терапия симптоматическая. При краснушных артритах назначают хлорохин (делагил) по 0,25 г 2–3 раза в сутки в течение 5–7 дней, антигистаминные препараты, нестероидные противовоспалительные средства. При геморрагическом синдроме – преднизолон (20-25 мг в течение 7-10 дней), при более выраженных геморрагических проявлениях используют гепарин по 20–30 тыс ЕД в сутки. Назначают комплекс витаминов. При развитии краснушного энцефалита применяют комплекс мероприятий, как и при других энцефалитах .

Прогноз при краснухе благоприятный, за исключением краснушного энцефалита, при котором летальность достигает 50%. При врожденной краснухе, некоторые дефекты развития (например, глухота) могут развиться позднее (спустя год).

Профилактика и мероприятия в очаге. Для специфической профилактики в ряде стран разработана и успешно апробирована живая ослабленная вакцина. Основной целью иммунизации является предупреждение врожденной краснухи, в связи с этим, основным контингентом были девушки в возрасте 14–15 лет (в некоторых странах 10-14 и даже 9–11 лет). Прививка сопровождается умеренно выраженными вакцинальными реакциями и у 95% иммунизированных приводит к выработке противокраснушных антител. Напряженность и длительность иммунитета нуждается в дополнительном изучении. Прививка взрослых женщин не практикуется, так как нельзя вакцинировать беременных женщин, кроме того, беременность нежелательна в течение 3 мес после прививок. Нельзя исключить риск вакцинального поражения плода, хотя достоверных случаев поствакцинальной врожденной краснухи не описано.

Флавивирусы (семейство Flaviviridae)

Название семейства *Flaviviridae* происходит от лат. *flavus* – желтый, по названию заболевания желтая лихорадка, которое вызывает вирус данного семейства. Патогенные для человека вирусы входят в состав двух родов: рода Flaviviras, в состав которого включены возбудители арбовирусных инфекций (от англ. *arthropodborne viruses* – вирусы, рожденные или передаваемые членистоногими) и рода Hepacivirus, в состав которого, входят вирус гепатита С (HCV), являющийся в 40–65% случаев, возбудителем всех посттрансфузи-онных гепатитов и вирус гепатита G (HGV). Предлагается выделить данный род в отдельное семейство.

Типовым представителем семейства Flaviviridae является вирус желтой лихорадки, штамм *Asibi,* относящийся к роду Flavivirus.

Вирусы рода Flavivirus

Морфология вирусов, химический состав, особенности репродукции. Это сложные РНК-геномные вирусы, сферической формы. Они меньше, чем альфавирусы, их диаметр 40– 60 нм. Геном вирусов состоит из линейной однонитчатой плюс-нитевой РНК, окруженной капсидом с кубическим типом симметрии. В состав нуклеокапсида входит один белок – V2. Нуклеокапсид (РНП) окружен суперкапсидом, на поверхности которого содержится гликопротеин V3. На внутренней стороне суперкапсида расположен структурный белок VI.

При репродукции вирусы проникают в клетку путем рецепторного эндоцитоза, взаимодействуя с поверхностными фосфо- и гликолипидами. В последующем, происходит слияние вирусной оболочки со стенкой вакуоли. В зараженной клетке обнаружена только геномная РНК с коэффициентом седиментации 45S. Вирусный репликативный комплекс связан не с мембранами эндоплазматической сети, как у альфавирусов, а с кариолеммой (ядерной мембраной). Репродукция флавивирусов идет значительно медленнее (более 12 часов), чем у альфавирусов. Созревание происходит путем почкования не через плазматическую мембрану, а через мембраны эндоплазматической сети. В полости вакуолей вирусные частицы часто образуют кристаллоподобные образования, формируемые вирусными белками. Флавивирусы более патогенны, чем альфавирусы.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Вирусы чувствительны к действию эфира, детергентов и формалина. Устойчивость флавивирусов к действию физических и химических факторов такая же, как и у альфавирусов.

Антигенная структура. Гликопротеин V3 участвует во всех серологических реакциях, содержит видо-, комплексо- и родоспецифические антигенные детерминанты. Характерной особенностью флавивирусов является их способность образовывать в инфицированных клетках растворимый антиген, обладающий активностью в РСК и в реакции иммунодиффузии. Антитела к нему обладают нейтрализующей активностью. Гемагглютинирующие свойства флавивирусов, так же как и альфавирусов, проявляются в узком диапазоне pH. Для проявления гемагглютинирующей активности требуется определенная пространственная конфигурация молекул V3, которая у флавивирусов легко нарушается. Представители флавивирусов внутри семейства и рода по антигенному родству в РТГА сгруппированы в антигенные комплексы: комплекс вирусов клещевого энцефалита, японского энцефалита, желтой лихорадки, лихорадки денге и т.д.

Особенности культивирования вирусов. Восприимчивость лабораторных животных. Вирусы культивируют во многих первичных и перевиваемых культурах клеток человека и теплокровных животных, где они, в отличие от альфавирусов, вызывают слабо выраженное ЦПД, которое хорошо проявляется в культурах клеток СПЭВ, ВНК-21. В культурах клеток членистоногих вирусы развития ЦПД не вызывают. Универсальной моделью для выделения флавивирусов является интрацеребральное заражение новорожденных белых мышей, а также 3–4-недельных белых мышей, у которых отмечается развитие параличей. В качестве экспериментальной модели используют обезьян. Вирусы культивируют также путем заражения на хорионаллантоисную оболочку и в желточный мешок куриных эмбрионов, гибель которых отмечается через 72 ч. Для вирусов лихорадки денге высокочувствительной моделью является интраторакальное и интракапутальное заражение комаров.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления фаготипвирусных инфекций. Флавивирусы широко распространены в природе и, как и другие арбовирусы, вызывают природно-очаговые заболевания с трансмиссивным механизмом заражения. Основным резервуаром и источником флавивирусов в природе, являются кровососущие членистоногие переносчики, у которых, доказано наличие трансфазовой и трансовариальной передачи флавивирусов. Большая часть флавивирусов распространяется *комарами* (вирусы лихорадки денге, вирус желтой лихорадки, японского энцефалита, лихорадки Западного Нила), некоторые передаются *клещами* (вирусы клещевого энцефалита, омской геморрагической лихорадки, вирус болезни леса Киассанур и т.д.). Комариные флавивирусные инфекции распространены преимущественно в южных широтах, в то время как клещевые встречаются повсеместно. Важную роль в поддержании флавивирусов в природе играют прокормители кровососущих членистоногих переносчиков,

теплокровные позвоночные животные, а именно грызуны, птицы, летучие мыши, приматы и т.д., у которых инфекция обычно протекает бессимптомно, но сопровождается выраженной вирусемией, что способствует трансмиссивному механизму заражения. Человек – случайное, «тупиковое» звено в экологии флавивирусов, однако, для лихорадки денге и городского типа желтой лихорадки больной человек также является основным резервуаром и источником вируса.

Помимо основного, трансмиссивного механизма заражения и пути передачи, заражение флавивирусами может происходить контактным, аэрогенным и пищевым путями.

Патогенез заболеваний, вызываемых флавивирусами, сходен с патогенезом заболеваний, вызываемых другими арбовирусами (см. патогенез буньявирусных и альфавирусных инфекций). Флавивирусы более патогенны, чем альфавирусы и помимо бессимптомных форм заболеваний, а также системных лихорадок с сыпью или без сыпи, вызывают тяжело протекающие заболевания, сопровождающиеся поражением печени и геморрагическим синдромом (желтая лихорадка, лихорадка денге, омская геморрагическая лихорадка, болезнь леса Киассанур) или развитием энцефалитов (клещевой энцефалит, японский энцефалит).

Иммунитет после перенесенных заболеваний напряженный, повторные заболевания не наблюдаются.

Микробиологическая диагностика флавивирусных инфекций. Диагностика флавивирусных инфекций основана на выделении вирусов путем интрацеребрального заражения мышей, культур клеток, куриных эмбрионов и заражения комаров, а также обнаружения антител в парных сыворотках. Материалом для вирусологического исследования служат: кровь (сыворотка, плазма, сгусток), взятая в первые дни заболевания и в период повторного приступа лихорадки; цереброспинальная жидкость; секционный материал (мозг, печень, селезенка, лимфатические узлы); внутренние органы погибших диких животных; переносчики – клещи, комары, москиты; молоко коз, коров и овец (вирус клещевого энцефалита); озерная вода, в которой находились тушки павших животных (при омской геморрагической лихорадке). Индикация вирусов проводится на основании гибели мышей и куриных эмбрионов, в культурах клеток с помощью РГА с эритроцитами гусей, по обнаружению ЦПД и бляшкообразованию. Идентификация проводится с помощью РН, РТГА, РСК, РИГА, реакции иммунодиффузии, РИФ, ИФА и РИА. По сравнению с РСК и РТГА, реакция нейтрализации наиболее специфична при работе с арбовирусами, позволяет осуществлять их типовую дифференциацию. При проведении идентификации широко используют моноклональные антитела.

Обнаружение антител в парных сыворотках проводят с помощью РТГА, РТНГА, РСК, РРГ, РН, РНИФ, ИФА и РИА. Диагностическим признаком считается, нарастание титров антител более, чем в 4 раза. Обнаружение IgM, свидетельствует о свежем инфицировании. Наличие комплементсвязывающих антител в сыворотках крови больных и реконвалесцентов говорит, либо о свежем инфицировании, либо о недавно перенесенном заболевании, так как, при арбовирусных инфекциях комплементсвязывающие антитела значительно уменьшаются в титре через 6 месяцев после начала заболевания и перестают обнаруживаться через 2 года после перенесенного заболевания. При энцефалитах важную роль играет обнаружение антител в цереброспинальной жидкости, так как, их раннее обнаружение свидетельствует о текущей инфекции.

Экспресс-диагностика флавивирусных инфекций осуществляется на основании обнаружения антигенов с помощью РИГА, РИФ, ИФА и РИА. Из молекулярно-генетических методов диагностики применяют молекулярную гибридизацию нуклеиновых кислот и ПЦР.

Лечение и профилактика флавивирусных инфекций. Из арсенала противовирусных препаратов для лечения применяют рибавирин, интерферон, реаферон, биназу. В целях создания пассивного искусственного приобретенного иммунитета для экстренной профилактики и лечения применяют гетерогенные и гомологичные иммуноглобулины. При проведении вакцинопрофилактики для создания активного искусственного приобретенного иммунитета применяют, в основном, убитые формалином вакцины, за исключением живой вакцины против желтой лихорадки.

Вирус желтой лихорадки

Таксономическое положение, биологические свойства. Возбудитель желтой лихорадки был открыт в 1901 г. на Кубе американской военной миссией во главе с майором У. Ридом (W. Reed). Это первый патогенный вирус, обнаруженный у человека, с него началось изучение арбовирусов. Является типовым представителем семейства Flaviviridae и относится к роду *Flavivirus* (от лат. *flavus* – желтый). Это РНК-геномный вирус, серологических вариантов не имеет. Обладает вазотропизмом и поражает сосуды внутренних органов. Вирус желтой лихорадки поражает также клетки висцеральных органов и обладает нейротропностью. В экспериментальных условиях показано, что при длительных пассажах в культурах клеток и куриных эмбрионах патогенность вируса для обезьян существенно снижается. При пассировании на мышах с использованием интрацеребрального способа заражения, у вирусов снижаются пантропные и возрастают нейротропные свойства. Во внешней среде вирус малоустойчив.

Эпидемиология, патогенез, клинические проявления заболевания. Заболевание распространено в тропических и субтропических странах Центральной и Южной Америки, Африки. Существует гипотеза о первичном распространении желтой лихорадки на Африканском континенте и последующем ее заносе в Америку во времена работорговли. Желтая лихорадка по уровню заболеваемости в мире, занимает второе место после лихорадки денге.

Различают **две эпидемиологические формы желтой лихорадки – джунглевую (зоонозную) и городскую (антропонозную).** При джунглевой природноочаговой зоонозной форме вирус циркулирует, главным образом, между обезьянами и комарами, которые могут нападать на людей. Главную роль в возникновении эпидемий, играет городская форма желтой лихорадки, при которой вирус циркулирует между человеком и синантропными комарами A. aegipti. Штаммы вирусов, циркулирующие в природных очагах, обладают меньшей вирулентностью для человека. При городской форме желтой лихорадки после нескольких пассажей на людях вирулентность их возрастает. Комары при желтой лихорадке, как и другие кровососущие членистоногие насекомые при других арбовирусных инфекциях, не являются чисто механическими переносчиками вирусов. Вирусы активно размножаются в них, достигая определенных критических концентраций в слюнных железах комаров, что необходимо для инфицирования человека. Вспышки этого заболевания наблюдаются всюду, где есть переносчики вируса: от 42° с. ш. до 40° ю. ш.

Желтая лихорадка, не только относится к особо опасным инфекциям, но и является единственной карантинной арбовирусной инфекцией. Механизм заражения трансмиссивный. Вирус попадает в организм человека при укусе его комарами и последующем кровососании. Инкубационный период при данном заболевании – 3–6 дней. Вирус желтой лихорадки проникает в регионарные лимфатические узлы, где происходит его размножение в течение всего инкубационного периода, а затем попадает в кровь. Вирусемия продолжается 3–4 дня. Распространяясь гематогенно и обладая вазотропизмом, вирус

попадает в печень, почки, костный мозг, селезенку, а также головной мозг. Развивается дистрофия и некроз гепатоцитов, поражаются клубочковый и канальцевый аппараты почек. Заболевание может возникнуть также при попадании крови больного или погибшего человека на поврежденную кожу или на слизистые оболочки. Клинически заболевание проявляется лихорадкой, интоксикацией, геморрагическим синдромом, поражением печени и почек. Летальность достигает 20–50%. Иммунитет напряженный.

Микробиологическая диагностика. Диагностика основана на выделении вируса из крови не позднее 3–4-го дня болезни, а в летальных случаях – из печени путем заражения новорожденных белых мышей, комаров и культур клеток, а также определении нарастания титров антител в парных сыворотках с помощью РТГА, РСК, РН, РРГ и ИФА. Серологический метод исследования играет особенно важную роль при атипичном течении заболевания. Экспресс-диагностика основана на индикации вирусного антигена в крови больных или в печени умерших с помощью ИФА. Для ускоренной диагностики определяют IgM в сыворотках крови с помощью ИФА, что говорит о текущей инфекции.

Специфическое лечение и профилактика. Специфическое лечение желтой лихорадки не разработано. Сыворотки крови переболевших людей и естественно иммунизированных обезьян не оказывают лечебного воздействия, так как вирусы относятся к облигатным внутриклеточным паразитам. В целях профилактики всем лицам, выезжающим в неблагополучные по желтой лихорадке регионы и выезжающим из них, а также лицам, проживающим на эндемичных по желтой лихорадке территориях, применяют вакцину желтой лихорадки живую, сухую, представляющую вируссодержащую суспензию тонко измельченной ткани куриных эмбрионов, инфицированных атте-нуированным штаммом 17D вируса желтой лихорадки, очищенную от клеточного детрита. Вакцина создает напряженный иммунитет с 10-го дня после первичной вакцинации, сохраняющийся не менее десяти лет. Вакцина термолабильна, при ее применении надо использовать холодовую цепь. Имеется также второй вариант живой вакцины из французского нейротропного штамма «Дакар» (FNS). Она выпускается в виде суспензии мозга мышей и применяется на скарифицированную кожу. Данная вакцина термостабильна, но более реактогенная, может вызывать поствакцинальные энцефалиты, поэтому используется очень редко, лишь там, где невозможно создать холодовую цепь. При возникновении вспышек желтой лихорадки, немедленно приступают к массовой иммунизации населения с учетом определенных противопоказаний. Во избежание распространения желтой лихорадки, действующие Международные санитарные правила предусматривают обязательную отчетность о случаях заболевания этой инфекцией. Изучение вируса и проведение планомерных противоэпидемических мероприятий, привели к прекращению эпидемических вспышек желтой лихорадки в странах Американского континента к середине XX в. В настоящее время, периодически возникают заболевания с количеством заболевших в несколько десятков человек в Бразилии, Колумбии, Перу, Венесуэле, Нигерии, Камеруне и Гане.

Российскими учеными на основе коммерческих препаратов, разработана комплексная вакцинация против карантинных инфекций – чумы, холеры и желтой лихорадки.

Вирус клещевого энцефалита

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирус клещевого энцефалита был выделен в 1937 г. на Дальнем Востоке Л. А. Зильбером и сотрудниками экспедиции из мозга умерших, крови и ликвора больных, а также иксодовых клещей и диких позвоночных животных. Это первый патогенный вирус, обнаруженный на территории России, с

него в России началось изучение арбовирусных инфекций. Вирус клещевого энцефалита относится к семейству Flaviviridae роду Flavivirus и является типовым представителем вирусов комплекса клещевого энцефалита, в состав которого входят вирус омской геморрагической лихорадки, вирус болезни леса Киассанур, шотландского энцефаломиелита овец, вирус Лангат и другие, сходные по биологическим свойствам и в антигенном отношении вирусы. Это типичный арбовирус умеренного пояса. Вирус клещевого энцефалита рассматривается как единый, широко распространенный политипический вид, которому свойственна значительная географическая и внутрипопуляционная изменчивость по ряду антигенных и биологических признаков. Он имеет пять генотипов, имеющих некоторые антигенные различия, но только один структурный гликопротеин V-3 индуцирует образование вируснейтрализующих антител, общих для всех известных генотипов вируса. Он обладает четкой антигенной консервативностью. Несмотря на небольшую устойчивость вируса к действию физических и химических факторов, в организме переносчиков он сохраняет свою жизнеспособность в широком диапазоне температур, от –150 °С до +30 °С, что способствует его широкому распространению. Он проявляет высокую резистентность к действию кислых значений pH, что важно при алиментарном пути заражения. Вирус обладает висцеротропностью и нейротропностью. К вирусу чувствительны белые мыши, обезьяны, а также бараны.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Переносчиком и основным долговременным резервуаром вируса являются иксодовые клещи (таежный – I. persulcatus и лесной – I. ricinus). У клещей происходит трансовариальная и трансфазовая передача вируса по ходу метаморфоза переносчиков. Поддержание его длительной циркуляции только за счет клещей невозможно, из-за большой гибели членистоногих на каждом этапе метаморфоза. Поддержание циркуляции осуществляется за счет прокормителей клещей – грызунов, птиц, диких и домашних животных. Эти особенности вертикальной и горизонтальной передачи вируса обуславливают генетический, экологический и функциональный полиморфизм вирусной популяции. Для клещевого энцефалита характерна весенне-летняя сезонность. По уровню заболеваемости в России клещевой энцефалит занимает второе место после ГЛПС.

Человек заражается трансмиссивно при укусе инфицированными клещами, от которых в период кровососания вирус проникает в макроорганизм. Этим путем, заражается около 80% заболевших. Нередко, для развития заболевания, достаточно лишь наползания на кожу клещей и нимф. Проникновение вируса в организм, возможно также контактным путем через мелкие повреждения кожи. Доказан и алиментарный путь заражения, при употреблении сырого молока коз и овец (молочная лихорадка или двухволновой менингоэнцефалит). Употребление молока ведет к ощелачиванию желудочного сока, что препятствует инактивации вируса. Употребление коровьего молока, обычно, не ведет к заражению, так как у коров к периоду лактации появляются вируснейтрализующие антитела. Инкубационный период – от 8 до 23 дней. Сначала вирус размножается в месте входных ворот инфекции под кожей, откуда он попадает в кровь. Возникает первая, так называемая резорбтивная вирусемия. Вирус проникает в эндотелий кровеносных сосудов, внутренних органов и клетки РЭС, где активно размножается. При пищевом пути заражения входными воротами является слизистая оболочка глотки и тонкой кишки. Вирусемия наступает позже, интенсивность ее менее выражена. В конце инкубационного периода, в результате активного размножения вируса в эндотелии кровеносных сосудов, возникает вторичная вирусемия, длящаяся 5 дней. Вирусы гематогенно, а возможно, и периневрально проникают в головной и спинной мозг, поражая мотонейроны. Особенно, резко страдают крупные двигательные клетки в сером веществе спинного мозга и ядрах двигательных

черепно-мозговых нервов в стволе головного мозга. Больной человек, несмотря на вирусемию, является «тупиком» для вируса, так как не может быть донором для клещей. Клещевой энцефалит рассматривают как единую нозологическую форму, проявляющуюся в виде определенных клинических синдромов.

Различают три клинические формы клещевого энцефалита: лихорадочную, менингеальную и очаговую; последняя протекает наиболее тяжело и сопровождается развитием параличей шеи и верхних конечностей. Двухволновое течение заболевания возникает не только при пищевом, но и при трансмиссивном заражении вирусом. Его вызывают вирусы, обладающие большей висцеротропностью и меньшей вирулентностью. В большинстве случаев, взаимодействие вируса с макроорганизмом протекает бессимптомно, на субклиническом уровне в виде острого (до 6 месяцев) или хронического (свыше 6 месяцев) вирусоносительства. Очевидно, такой тип взаимодействия вируса с организмом человека, лежит в основе естественного проэпидемичивания коренного населения природных очагов клещевого энцефалита и создания иммунной прослойки здорового населения. После перенесенного заболевания, остается стойкий иммунитет. Вирус клещевого энцефалита относится к факультативным возбудителям медленных вирусных инфекций. У 70– 74% лиц, перенесших клещевой энцефалит с длительной вирусемией, отмечается стойкая цереброгенная астения. У 2–12% больных отмечается прогредиентное течение заболевания (от лат. *gradatio* – постепенное усиление, неуклонное прогрессирование) с переходом его в хроническую форму на фоне активного антителообразования. Выделяют первично-прогредиентное или обезглавленное течение клещевого энцефалита, с постепенным возникновением симптомов поражения ЦНС с тенденцией к их усилению у лиц, не имевших выраженного острого периода заболевания, и вторично-прогредиентное течение заболевания. При вторично-прогредиентном течении клещевого энцефалита после окончания острого периода появляются симптомы, отсутствующие в остром периоде, или же прогрессируют симптомы, сохранившиеся после окончания острого периода. Очевидно, вирус может находиться в интегрированном в геноме клетки состоянии в виде ДНК-провируса, что затрудняет воздействию на него антител и других факторов иммунитета.

Микробиологическая диагностика клещевого энцефалита. Диагностика клещевого энцефалита проводится путем выделения вируса из крови и цереброспинальной жидкости больных, а также внутренних органов и мозга, умерших путем интрацеребрального заражения новорожденных белых мышей и культур клеток. Идентификацию вируса в суспензиях мозга мышей и культуральной жидкости, проводят в РТГА, РН и РСК, а в монослое культур клеток – в РИФ. Обнаружение антител в парных сыворотках и цереброспинальной жидкости проводят с помощью РСК и РТГА, а также других серологических реакций. Экспресс-диагностика основана на обнаружении вирусного антигена в крови с помощью РИГА и ИФА, выявлении IgM антител на первой неделе заболевания в цереброспинальной жидкости и обнаружении РНК-вируса в крови и цереброспинальной жидкости у людей, в клещах и внутренних органах животных с помощью ПЦР

Специфическое лечение и профилактика. Для лечения и экстренной профилактики клещевого энцефалита у непривитых лиц, подвергшихся нападению клещей в эндемичных по клещевому энцефалиту районах, а также у привитых лиц, получивших множественные укусы, применяют **специфический гомологичный донорский иммуноглобулин против клещевого энцефалита,** полученный из плазмы доноров, проживающих в природных очагах клещевого энцефалита и содержащий в высоком титре антитела к вирусу клещевого энцефалита. Серотерапию необходимо начинать не позднее 3-4 дня заболевания. При отсутствии указанного выше препарата назначают **специфический гетерологичный лошадиный иммуноглобулин.** При лечении тяжелых форм клещевого энцефалита

применяют им-муногемосорбцию и серотерапию иммунной плазмой доноров. Помимо специфических препаратов применяют виферон, йодантипирин, ридостин, рибонуклеазу Для предупреждения развития затяжных и хронических форм заболевания, применяют иммунотерапию, в том числе **вакцинотерапию.** Наиболее действенным методом защиты от клещевого энцефалита, является активная иммунизация. Для вакцинации лиц, проживающих на эндемичных по клещевому энцефалиту территориях, а также выезжающих на эти территории в весенне-летний период, используются убитые вакцины: 1. Вакцина против клещевого энцефалита культуральная сорбированная инактивированная жидкая, применяется для вакцинации людей в возрасте 4–65 лет, но она недостаточно иммуногенна и имеет сложную схему применения; 2. Вакцина против клещевого энцефалита культуральная очищенная концентрированная инактивированная сухая (вакцина клещевого энцефалита концентрированная), предназначенная для вакцинации взрослых; 3. Австрийская вакцина клещевого энцефалита, культуральная, очищенная, концентрированная, инактивированная, «FISME immun-inject» – производства фирмы «ИММУНО», которая может применяться для иммунизации детей; 4. Вакцина против клещевого энцефалита, очищенная, концентрированная, инактивированная, «Энцепур К» – фирмы «Кайрон Беринг» (ФРГ), применяется для вакцинации взрослых. Для вакцинации детей в возрасте от 18 месяцев до 12 лет применяют вариант вакцины «Энцепур К», с уменьшенным в 2 раза содержанием инактивированного вируса; 5. Отечественная культуральная концентрированная, инактивированная, сухая вакцина для профилактики клещевого энцефалита у детей с 4-летнего возраста разрабатывается (проходит клинические испытания). Для формирования надежной защиты, необходима ревакцинация, так как при вакцинации убитыми вакцинами, формируется кратковременный иммунитет. Протективным действием обладает неструктурный белок NS1 вируса клещевого энцефалита, который определяется как растворимый комплементсвязывающий антиген. Он является перспективным компонентом для будущих противовирусных вакцин. Для исключения пищевого пути заражения в природных очагах клещевого энцефалита, необходимо потреблять только кипяченое молоко.

Вирус омской геморрагической лихорадки

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирус омской геморрагической лихорадки выделен из крови больных и от клещей в 1947 г., сотрудниками экспедиции под руководством М. П. Чумакова в Омской области. Возбудитель омской геморрагической лихорадки относится к семейству *Flaviviridae* роду *Flavivirus.* Он близок по антигенным и биологическим свойствам вирусу клещевого энцефалита, но, в отличие от последнего, не проявляет выраженных нейротропных свойств. Вирус омской геморрагической лихорадки, сравнительно хорошо размножается в нескольких видах клеточных культур, но только в культуре клеток эмбриона свиньи оказывает выраженное ЦПД с разрушением монослоя клеток. Вирус, пассированный на ондатрах и белых мышах, становится высоковирулентным и представляет большую опасность для лиц, работающих с ним.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Природные очаги омской геморрагической лихорадки зарегистрированы на территории Западной Сибири. **Основным природным хозяином и переносчиком вируса являются клещи** (норовый болотный и пастбищный клещи). Естественным резервуаром вируса в природе, являются грызуны и птицы. Особенно высокочувствительны к вирусу ондатры. Больные ондатры заражают воду в водоемах. Занос вирусов в новые водоемы может осуществляться водяными

крысами, а также другими млекопитающими и паразитирующими на них клещами. Важную роль в сохранении вируса омской геморрагической лихорадки в природе играет водяная крыса. Эти животные в ходе эволюции приобрели относительную резистентность к возбудителю. При заражении у них развивается бессимптомная инфекция с вирусемией, а также выделением возбудителя с мочой и экскрементами. Предполагается, что возбудитель омской геморрагической лихорадки – это видоизмененный штамм вируса клещевого энцефалита. Он произошел, в результате селективного отбора мутантов вируса клещевого энцефалита, адаптировавшегося к организму ондатры, вывезенной в Сибирь из Канады. Несмотря на наличие активных природных очагов, в настоящее время регистрируются лишь единичные заболевания среди людей, занимающихся браконьерным промыслом ондатры, а также у сотрудников научно-исследовательских экспедиций, изучающих природные очаги заболевания.

Заражение человека происходит при укусе инфицированными клещами или при прямом контакте с инфицированными животными (снятии шкурок), а также пищевым путем через инфицированную вирусом воду. В вирусологических лабораториях возможно заражение аспирационным путем в результате аварийных ситуаций при проведении лабораторных работ. Возможна передача данных вирусов комарами, но доза вируса, вводимая в макроорганизм при укусе комаром, мала для развития клинически выраженного заболевания. Очевидно, комары играют роль в формировании иммунной прослойки среди животных и людей. **Человек не участвует в циркуляции вируса омской геморрагической лихорадки и служит для возбудителя биологическим «тупиком».** Для заболевания характерна четко выраженная сезонность. При трансмиссивном способе заражения кривая заболеваемости совпадает с кривой сезонного движения клещей («весенне-осенняя лихорадка»). При нетрансмиссивном пути передачи вируса заболеваемость регистрируется в осенне-зимний период, когда наиболее интенсивно идет отлов ондатры («ондатровая болезнь»).

Инкубационный период – от 2 до 10 дней. Заболевание у людей характеризуется прежде всего поражением эндотелия кровеносных капилляров **(универсальный капиллятоксикоз),** нервной системы и надпочечников. Различают **типичную** (геморрагическую) и **атипичную** (без геморрагических проявлений) формы болезни. В большинстве случаев, заболевание протекает типично, начинается остро, проявляясь лихорадкой, интоксикацией, геморрагическим синдромом и выраженными изменениями нервной системы (явления менингоэнцефалита), что является его клинической особенностью. Прогноз благоприятный. Летальность не превышает 1%. После перенесенного заболевания остается напряженный и длительный иммунитет.

При внутрилабораторном заражении заболевание протекает значительно тяжелее, чем обычно, что обусловлено более высокой вирулентностью вируса, передаваемого человеку в условиях лаборатории, от восприимчивых к нему экспериментальных животных.

Микробиологическая диагностика.

Диагностика омской геморрагической лихорадки, основана на выделении вируса из крови больных, путем внутримозгового заражения белых мышей или культуры клеток эмбриона свиньи, с последующей идентификацией в серологических реакциях, а также на обнаружении антител в парных сыворотках с помощью РПГА, РСКиИФА.

Специфическое лечение и профилактика. Для лечения и профилактики вводят специфический гетерологичный иммуноглобулин, который как лечебный препарат обладает низкой эффективностью. Его применяют для создания искусственного пассивного приобретенного иммунитета в целях профилактики в лабораториях при возникновении аварийных ситуаций (подозрение на возможное заражение лабораторными штаммами вирусов) или в полевых условиях в гиперэндемичных районах при обнаружении при-

сосавшихся клещей. Выраженным защитным действием обладает гомологичный иммуноглобулин. Комплексная терапия заболевания эффективна. В целях профилактики омской геморрагической лихорадки для создания искусственного активного приобретенного иммунитета в 1948–1949 гг. М. П. Чумаковым была получена **убитая формалином вакцина** из мозга зараженных белых мышей. Она защищала, одновременно и от клещевого энцефалита. В дальнейшем, в связи с уменьшением заболеваемости до единичных спорадических случаев и относительно благоприятным течением, вакцинация была отменена. Она проводится лишь по строгим эпидемиологическим показаниям. В силу общности антигенной структуры вируса омской геморрагической лихорадки и вируса клещевого энцефалита, **вакцина против клещевого энцефалита** вызывает формирование иммунитета, как против вируса клещевого энцефалита, так и против вируса омской геморрагической лихорадки. В настоящее время, важно соблюдать гигиенические правила при промысле ондатры, а также режим работы в вирусологических лабораториях. Больной омской геморрагической лихорадкой не является источником инфекции, поэтому в строгой изоляции не нуждается. Карантин по поводу омской геморрагической лихорадки не назначают.

Вирус болезни леса Киассанур

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирус болезни леса Киассанур относится к семейству *Flaviviridae* роду *Flavivirus* и входит в состав вирусов комплекса клещевого энцефалита. Он имеет связанный с нуклеокапсидом группоспецифический антиген, а также видовой и типоспецифический антиген, входящий в состав гликопротеинов внешней липидсодержащей оболочки. Вирус обладает гемагглютинирующими свойствами. Патогенен для белых мышей. Хорошо культивируется в куриных эмбрионах при заражении в желточный мешок, а также в культурах клеток, вызывая отчетливое ЦПД и образуя бляшки под агаровым покрытием.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Вирус болезни леса Киассанур первоначально был выделен в 1957 г. от людей и двух видов лесных обезьян (черномордых лангуров и южноиндийских макак) во время эпидемии у сельского населения, проживающего в районе леса Киассанур в Индии. В последующем он был выделен от иксодовых клещей Haemophysalis spinigera.

Возбудитель болезни леса Киассанур относится к арбовирусам. Резервуаром и переносчиком этого вируса являются иксодовые клещи, преимущественно в нимфальной стадии метаморфоза. Человек – случайный хозяин, не играющий роли в передаче вируса. Важную роль в качестве резервуара играют млекопитающие, особенно дикообразы, белки и крысы, а также обезьяны. У обезьян наблюдается значительная вирусемия и заболевание с возможным летальным исходом.

Механизм заражения – трансмиссивный. Болеют лица, по характеру своей деятельности, связанные с лесом Киассанур. Таким образом, данное заболевание имеет выраженную территориальную ограниченность. За пределами эндемичных очагов Индии болезнь леса Киассанур, более нигде не встречается. Эта исключительно строгая географическая локализация очага заболевания, до настоящего времени, остается непонятной загадкой.

Отмечена **возможность аэрогенного заражения** у невакцинированного персонала вирусологических лабораторий.

Естественная восприимчивость у людей высокая. Вирус обладает висцеротропностью. **Инкубационный период** 3–8 дней. В отличие от других арбовирусов, вирус болезни леса Киассанур вызывает продолжительную вирусемию, сохраняющуюся до 10 дней и более.

Заболевание начинается остро. с лихорадки, головных и мышечных болей. В тяжелых случаях. развиваются желудочно-кишечные кровотечения, кровохарканье, что напоминает омскую геморрагическую лихорадку. Нередко, после 7--21-го дня ремиссии, наступает вторая волна лихорадки (двухволновое течение болезни), сопровождающаяся развитием симптомов менингоэнцефалита. Период выздоровления длительный – до 4--5 недель. Летальность достигает 10%. Иммунитет после перенесенного заболевания напряженный.

Микробиологическая диагностика основана на **выделении вируса** из крови больных и цереброспинальной жидкости, путем заражения новорожденных белых мышей, куриных эмбрионов и культур клеток, а также на **обнаружении антител** в парных сыворотках с помощью **РН, РСК, РТГА** и **ИФА.**

Лечение и профилактика. Специфическое лечение не разработано. Для профилактики сотрудников вирусологических лабораторий и других лиц с повышенным риском заражения вирусом болезни леса Киассанур в Индии, используют убитую вакцину из местных штаммов этого вируса, полученных на культурах клеток и инактивированных формалином. Убитая вакцина против клещевого энцефалита, обладает слабым защитным эффектом против вируса болезни леса Киассанур.

Вирус лихорадки денге

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирусную этиологию лихорадки денге и механизм его передачи комарами установили П. М. Ашберн и Ч. Ф. Крейг (P.M. Asburn и Ch. F. Craig) в 1907 г., но лишь в 1944 г. вирус лихорадки денге был выделен из крови больных на Гавайских островах и в Новой Гвинее и детально изучен А. Сэйбиным (A. Sabin). Вирус относится к семейству *Flaviviridae* роду *Flavivirus.* Названия вируса и заболевания, происходят от искаженного англ. *dandy* – франт, что обусловлено яркой, пылающей окраской лица, инъекцией сосудов склер, нарушением осанки и манерной походкой у больных из-за болей в мышцах и суставах. В 1869 г. Королевский колледж врачей в Лондоне, вместо разных названий этого заболевания (лихорадка денге, лихорадка жирафов, костоломная лихорадка и т.д.), ввел единый термин – «денге». Слово «денге» сходно с английским словом «dandy» и заимствовано из фразы на языке суахили «Ka denga pepo», которая означает: внезапное появление боли у пациента. **Заболевание вызывают 4 серотипа вируса,** которые в антигенном отношении близки друг другу, но в то же время, отличаются настолько, что после заражения одним из них, возникает только частичная перекрестная защита к другим серотипам вируса. Антигенные серотипы дифференцируются в РН, РТГА и РНИФ. Вирус лихорадки денге обладает выраженной гемагглютинирующей активностью, агглютинируя эритроциты гусей, цыплят и эритроциты человека группы крови 0. В человеческой крови вирус может сохранять инфекционность при 5 °С в течение нескольких недель. Его можно культивировать на чувствительных животных, в желточном мешке куриных эмбрионов и в культурах клеток. Наиболее чувствительны к вирусу новорожденные белые мыши, у которых при внутримозговом и внутрибрюшинном заражении развивается слабость, атаксия и другие симптомы энцефалита, ведущие к летальному исходу. Адаптированный к белым мышам вирус становится непатогенным для человека. Размножение вируса в культурах клеток сопровождается развитием ЦПД, которое чаще отмечается в культурах ВНК-21, HeLa и почек обезьян. ЦПД наиболее выражено у 2 и 3 серотипов вируса. Под агаровым покрытием цитопатогенные штаммы вируса вызывают образование бляшек. В культурах клеток комара вирус лихорадки денге вызывает развитие ЦПД по типу симпластообразования. Вирус очень термолабилен.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Лихорадка денге – это природноочаговая арбовирусная инфекция, распространенная в тропических и субтропических регионах Юго-Восточной Азии, Южной части Тихоокеанского региона, в Африке, Центральной и Южной Америке в пределах 42° с. ш. и 40° ю. ш. По данным ВОЗ, в мире ежегодно болеют геморрагической лихорадкой денге до 50 млн, госпитализируется 500 000, а умирают 25 000 человек. По уровню заболеваемости в мире лихорадка денге занимает первое место среди арбовирусных инфекций. К вирусу более восприимчивы дети, у них заболевание протекает тяжело. В настоящее время, геморрагическая форма лихорадки денге становится все более серьезной проблемой здравоохранения в большинстве стран тропической зоны регионов Юго-Восточной Азии и Западной части Тихого океана. *Эта болезнь входит в число 10 основных причин госпитализации детей и детской смертности в тропических странах Азии.*

Вирус лихорадки денге передается человеку через укусы комаров рода *Aed. es.* Основной резервуар и источник вируса при **городском типе лихорадки денге** – человек. В джунглях Малайзии при **джунглевом типе лихорадки денге** резервуаром и источником вируса являются обезьяны, у которых заболевание протекает бессимптомно. В этом цикле в Малайзии участвуют комары A. niveus, которые нападают как на обезьян, так и на человека, что обеспечивает занос вируса в городскую среду обитания человека. Обезьяны Африки и Южной Америки не настолько чувствительны к вирусу лихорадки денге, чтобы поддерживать существование эндемичных очагов, но вирус может сохраняться в природе, благодаря трансовариальной его передаче у комаров. Главную эпидемиологическую опасность представляет антропонозная форма заболевания, а из комаров наиболее эффективным переносчиком является антропофильный комар Aedes aegypti, так как он обитает в жилище человека, размножается в воде, сохраняемой в различных емкостях для умывания и используемой для питья, в том числе, в дождевой воде. Вирус лихорадки денге размножается в слюнных железах переносчика и при укусе человека и кровососании попадает в кровь, размножается в регионарных лимфатических узлах и эндотелии капилляров, затем вторично проникают в кровь.

Инкубационный период 4–6 дней. **Вирус лихорадки денге обладает вазотропизмом** и присутствует в крови во время острой фазы болезни (4–7 дней). В результате вирусемии, вирус заносится в различные органы (печень, костный мозг, соединительная ткань, мышцы), где размножается. **Заболевание сопровождается явлениями капилляротоксикоза.** Каждый из четырех серотипов вируса, может вызвать не только **классическую форму лихорадки денге,** но и **геморрагическую лихорадку денге. В** отличие от лихорадки денге, характеризующейся двухфазной лихорадкой, болями в мышцах и суставах, особенно коленных, что ведет к изменению походки больного, наличием пятнисто-папулезной сыпи, увеличением лимфатических узлов. **геморрагическая лихорадка денге характеризуется появлением выраженных геморрагий и тенденцией к развитию шокового синдрома денге,** который может привести к летальному исходу у 40–50% больных. Шоковый синдром денге часто встречается у детей, которые ранее были инфицированы вирусом лихорадки денге, и у младенцев, имеющих низкий уровень антител к вирусу, полученных пассивно от матерей. Отмечена парадоксальная особенность, характерная для геморрагической лихорадки денге. Она состоит в том, что повышенный риск развития шокового синдрома денге, тесно связан с хорошим питанием детей. Этот синдром редко наблюдается у детей, с клинически установленной недостаточностью питания. Согласно иммунопатологической гипотезе, геморрагическая лихорадка денге встречается в районах, в которых одновременно или последовательно циркулирует несколько серотипов вируса лихорадки денге. Она эндемична для тропических районов Азии, где высокая температура воздуха и прак-

тика хранения воды в открытых емкостях вблизи домов человека, способствуют массовому выплоду комаров A. aegypti, что ведет к частому одновременному или последовательному заражению разными серотипами вируса лихорадки денге. Первоначальная инфекция, протекающая бессимптомно, ведет к сенсибилизации макроорганизма, что способствует образованию при повторном заражении другим серотипом вируса иммунных комплексов, активирующих систему комплемента с образованием С3а и С5а, и проникновению вируса в клетки, содержащие на своей поверхности Fc-рецеп-торы к Ig **(моноциты и макрофаги),** где они успленно размножаются. Образование моноцитами и макрофагами биологически активных веществ, ведет к утяжелению течения заболевания. Лица, заразившиеся вирусом лихорадки денге в эндемичных очагах, впервые во время, эпидемии (приезжие иностранцы), переносят эту болезнь в классической и даже легкой форме. Заболевание часто может протекать бессимптомно. На каждый случай шокового синдрома денге, приходится 150– 200 скрытых или легких случаев заболевания. В отличие от желтой лихорадки, **иммунитет после перенесенного заболевания типоспецифический, нестойкий,** продолжительностью до 2 лет. После первой атаки вируса формируется лишь временная или частичная защита от трех остальных серотипов вируса лихорадки денге и через непродолжительное время, возможна вторичная или последующие инфекции.

Микробиологическая диагностика заболевания основана на выделении вируса и обнаружении антител в парных сыворотках крови больных. Материалом для вирусологического исследования служат сыворотка, плазма или лейкоцитарная пленка, гомогенизированные ткани внутренних органов, взятые на аутопсии, гомогенизированная масса из комаров. Для выделения вируса лихорадки денге проводят интраторакальное и интракапутальное заражение комаров, культур клеток, а также интрацеребральное заражение мышей-сосунков. Для идентификации разных серотипов вирусов применяют РНИФ с использованием моноклональных антител и антивидовой флюоресцирующей сыворотки. Применение современных методов генодиагностики для идентификации позволяет определить источник заноса вируса на новые территории. Для обнаружения антител в парных сыворотках применяют РН, РТГА, РСК, ИФА.

Специфическое лечение и профилактика. Выраженным защитным действием обладает гомологичный иммуноглобулин. Гетерогенные иммуноглобулины не разработаны. Активной иммунизации нет. Проводятся исследования с целью создания живой четырехвалентной вакцины против вируса лихорадки денге из аттенуированных штаммов. Создана вакцина против 1-го серотипа, а также рекомбинантная вакцина против 2-го серотипа вируса лихорадки денге на основе бакуловируса. Однако, предварительная вакцинация против одного какого-либо серотипа, а также вакцинация против желтой лихорадки, ведут к развитию сенсибилизации макроорганизма, в результате чего, при последующем контакте с естественным возбудителем у человека развивается геморрагическая лихорадка денге, а не классическая форма лихорадки денге. Поэтому профилактика заболевания должна проводиться, только с использованием тетравакцины.

Больных следует изолировать в условиях, исключающих доступ к ним комаров, на протяжении всего заразного периода.

Вирус японского энцефалита

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирус японского энцефалита (син. комариного энцефалита) выделен в 1933 г. М. Хияши (M. Hayashi), путем заражения обезьяны суспензией мозга людей, погибших от энцефалита. Он относится к семейству *Flaviviridaepojiy Flavivirus* и является представителем антигенного комплекса вирусов

японского энцефалита, в состав которого входят также вирусы энцефалита долины Муррея, лихорадки Западного Нила, энцефалита Росио, энцефалита Сан-Луис, энцефалита Ильеус. Вирус японского энцефалита, обладает характерными свойствами флавивирусов. Термолабилен. Имеет в своем составе нуклеокапсидный антиген, выявляемый в РСК и оболочечный гликопротеин, выявляемый в РН и РТГА с эритроцитами гусей, цыплят, голубей и петухов. Культивируется в куриных эмбрионах, культурах клеток и в организме многих лабораторных животных. При внутримозговом заражении обезьян, мышей, хомяков, белых крыс, котят, щенков, овец, коз и поросят возникает поражение ЦНС по типу энцефалита, сопровождающееся вирусемией. Новорожденные белые мыши восприимчивы к вирусу и при экстраневральном заражении. В культурах клеток вирус японского энцефалита вызывает образование ЦПД, сопровождающееся образованием гигантских многоядерных клеток (симпластов). Характерно, что на поверхности последних не адсорбируются эритроциты человека группы крови 0 и различных видов животных. Отрицательный тест гемадсорбции, очевидно, связан с тем, что вирус не почкуется с краевых клеточных мембран.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Японский энцефалит относится к природно-очаговым арбовирусным инфекциям. Заболевание распространено в странах Южной и Юго-Восточной Азии, где представляет серьезную медицинскую проблему. В России природные очаги японского энцефалита есть на территории южных районов Приморского края, но заболевание у людей не выявляется уже в течение многих лет.

Природным резервуаром и источником вируса, являются комары, у которых установлена трансовариальная передача вируса, а также птицы и дикие млекопитающие, у которых инфекция протекает в основном бессимптомно, но на фоне высокой вирусемии. Особо важную роль в качестве резервуара вируса и в развитии вспышек японского энцефалита среди людей играют свиньи, у которых развивается массивная вирусемия, достаточная для инфицирования комаров, даже при однократном кровососании. Основным переносчиком вируса являются комары рода Culex. В циркуляции вируса принимают участие также другие роды комаров.

Заражение человека происходит при укусе его зараженными комарами и попадании вирусов в кровь, в результате кровососания. Патогенетической особенностью японского энцефалита является значительное поражение сосудистой системы, с резко выраженными нарушениями микроциркуляции. Эти нарушения определяются во всех органах, но особенно в ЦНС. Вирус японского энцефалита обладает нейротропностью, преодолевает гемато энцефалический барьер, размножается в нейронах ЦНС, что ведет к гибели клеток. Особенно часто поражаются ядра гипоталамической области, подкорковые образования, двигательные ядра ствола и шейного отдела спинного мозга, где и наблюдается наибольшая концентрация вируса. Помимо нервной ткани, вирус размножается в клетках паренхиматозных органов (печень, селезенка, костный мозг), что обуславливает высокий уровень вирусемии, хотя человек эпидемиологической опасности не представляет.

Инкубационный период – от 8 до 14 дней. У человека японский энцефалит может протекать в различных клинических формах – от легких случаев заболевания с наличием признаков общетоксического синдрома, до картины тяжело протекающего энцефалита или менингоэнцефалита. Часто встречаются скрытые формы заболевания. Энцефалитическая форма характеризуется очень высокой летальностью – 90% и выше. После перенесенного заболевания остается длительный и напряженный иммунитет.

Микробиологическая диагностика основана на **выделении вируса** из крови (в первые 7 дней заболевания), цереброспинальной жидкости (в течение 15 дней) и кусочков мозга

умерших, путем заражения новорожденных белых мышей, культур клеток и куриных эмбрионов, а также на **обнаружении антител** в парных сыворотках крови больных и цереброспинальной жидкости с помощью РН, РСК, РТГА, РИГА, РНИФ, ИФА. В ряде случаев, применяют постановку кожной аллергической пробы с введением суспензии мозга зараженных мышей. Для обнаружения антигена используют **РИФ** и **ИФА**.

Специфическое лечение и профилактика. В первые дни заболевания эффективно повторное введение сыворотки крови переболевших японским энцефалитом или гетерогенного иммуноглобулина против японского энцефалита, выделенного из сыворотки крови лошадей, иммунизированных вирусом. Препарат предупреждает дальнейшее развитие заболевания, но не излечивает уже развившиеся параличи. С профилактической целью препарат назначают в случаях лабораторного заражения вирусом японского энцефалита или массовых укусов комарами в очагах заболеваемости при наличии неблагоприятной эпидситуации. Вакцинопрофилактику японского энцефалита осуществляют убитыми и живыми вакцинами. Для профилактики этого заболевания в эпидемических районах с 16-летнего возраста применяется вакцина японского энцефалита – культуральная, сорбированная, инактивированная, жидкая. Препарат приготовлен из штамма вируса японского энцефалита Пекин-1, полученного в первичной культуре клеток почек сирийских хомяков, инактивированного формалином и сорбированного на геле алюминия гидроксида. Вакцину вводят подкожно в подлопаточную область. Длительность поствакцинального иммунитета 10 лет. Живая аттенуированная вакцина разработана на основе использования дикого штамма возбудителя SA14, выращенного в культуре клеток куриного эмбриона. Детям в возрасте от одного года, до двух лет вакцину вводят подкожно. В эндемичных очагах вакцинация должна охватывать не только население, но и домашних животных, являющихся резервуаром вируса и его источником для комаров.

Вирус лихорадки Западного Нила

Таксономическое положение. Вирус лихорадки Западного Нила (син. энцефалита Западного Нила) относится к семейству *Flaviviridae* роду *Flavivirus* и является представителем антигенного комплекса вирусов японского энцефалита.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Возбудитель лихорадки Западного Нила распространен во многих странах Азии, Европы и Африки, где регистрируются спорадические случаи заболевания и эпидемические вспышки. В России заболевание встречается в Западной Сибири и южных регионах (Краснодарский край, эпидемия 1999 г.). Резервуаром и источником вируса являются дикие и домашние птицы, главным образом, водного и околоводного экологического комплекса, грызуны, летучие мыши, комары и клещи. **Механизм передачи** вируса трансмиссивный, переносчики – комары рода Culex, а также аргасовые и иксодовые клещи. Восприимчивость у людей высокая. Болеют преимущественно сельские жители, хотя во Франции эта болезнь известна под названием «утиная лихорадка», так как оно возникает у городских жителей, приезжающих на охоту в долину р. Роны. Известны случаи лабораторного заражения.

Инкубационный период 2–8 дней. Заболевание начинается остро, с высокой лихорадки в течение 3–12 дней (иногда носит двухволновой характер), головных болей, болей в суставах, скарлатиноподобной сыпи и полладенита. В большинстве случаев, заболевание протекает доброкачественно. Тяжелые случаи заболевания сопровождаются развитием **менингита**, а также **энцефалита** с парезами, параличами и летальным исходом. Иммунитет после перенесенного заболевания напряженный.

Микробиологическая диагностика основана на **выделении вируса** путем заражения новорожденных белых мышей и культур клеток, а также на *обнаружения антител* в парных сыворотках с помощью РН, РСК, РТГА, РНИФ и ИФА.

Специфическое лечение и профилактика. Не разработаны.

Биологические свойства вируса гепатита С и вируса гепатита G, которые относятся к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus* см. 18.6. «Возбудители парентеральных вирусных гепатитов». Данные вирусы не являются ар-бовирусами.

Ортомиксовирусы (вирусы гриппа)

Грипп – это тяжелая вирусная инфекция, которая поражает мужчин, женщин и детей всех возрастов и национальностей. **Заболевание гриппом сопровождает высокая смертность**, особенно у маленьких детей и пожилых людей. Эпидемии гриппа случаются каждый год, обычно, в холодное время года и поражают до 15% населения Земного шара.

Периодически повторяясь, грипп и ОРЗ уносят в течение всей нашей жизни суммарно около 1 года. Человек проводит эти месяцы в недеятельном состоянии, страдая от лихорадки, общей разбитости, головной боли, отравления организма ядовитыми вирусными белками.

Грипп и ОРЗ постепенно подрывают сердечно-сосудистую систему, сокращая на несколько лет среднюю продолжительность жизни человека. При тяжелом течении гриппа часто возникают необратимые поражения сердечно-сосудистой системы, дыхательных органов, центральной нервной системы, провоцирующие заболевания сердца и сосудов, пневмонии, трахеобронхиты, менингоэнцефалиты.

Термин «острое респираторное заболевание» (ОРЗ) или «острая респираторная вирусная инфекция» (ОРВИ) охватывает большое количество заболеваний, во многом, похожих друг на друга. Основное их сходство состоит в том, что все они вызываются вирусами, проникающими в организм, вместе с вдыхаемым воздухом, через рот и носоглотку, а также в том, что все они характеризуются одним и тем же набором симптомов. У больного несколько дней отмечается повышенная температура тела, воспаленное горло, кашель и головная боль. Самым распространенным респираторным заболеванием является острый ринит (насморк); он вызывается целым рядом родственных вирусов, известных как риновирусы. При выздоровлении, все эти симптомы исчезают и не оставляют после себя никаких следов. Однако, было бы совершенно неправильным называть все ОРЗ и ОРВИ гриппом. Грипп вызывается непосредственно вирусом гриппа (Myxovirus influenzae), относящимся к семейству ортомиксовирусов.

Грипп и ОРВИ занимают первое место по частоте и количеству случаев в мире и составляет 95% всех инфекционных заболеваний. В России ежегодно регистрируют от 27,3 до 41,2 млн. заболевших гриппов и другими ОРВИ.

По поводу происхождения слова «инфлюэнца» (устаревшее название гриппа) существует несколько версий. По одной из них, оно родилось в Италии в середине XV века, после серьезной эпидемии, которую приписывали воздействию (influence) звезд. По другим гипотезам – это слово произошло от латинского «influere» (вторгаться) или от итальянского «influenza di freddo» (последствие охлаждения). Голландское слово «griep», которое применяют в разговорном языке подобно английскому «flu», происходит от французского «gripper» и является собирательным понятием, обозначающим большое число респираторных заболеваний, вызываемых более, чем 100 вирусами, являющимися возбудителями инфекций верхних дыхательных путей.

История

Первые упоминания о гриппе были отмечены много веков назад – еще в 412 году до н.э. описание гриппоподобного заболевания было сделано Гиппократом. Также гриппоподобные вспышки были отмечены в 1173 году. Первая задокументированная пандемия гриппа, унесшая много жизней, случилась в 1580 году.

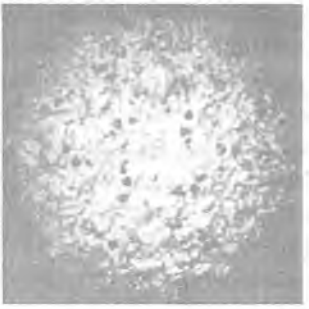
В 1889-1891 гг произошла пандемия средней тяжести, вызванная вирусом типа H3N2.

Печально известная «Испанка», вызванная вирусом H1N1 произошла в 1918-1920 гг. Это самая сильная из известных пандемий, унесшая по самым скромным подсчетам более 20 млн. жизней. От «испанки» серьезно пострадало 20-40% населения земного шара. Смерть наступала крайне быстро. Человек мог быть еще абсолютно здоров утором, к полудню он заболевал и умирал к ночи. Те же, кто не умер в первые дни, часто умирали от осложнений, вызванных гриппом, например, пневмонии. Необычной особенностью «испанки» было то, что она часто поражала молодых людей (обычно от гриппа, в первую очередь, страдают дети и пожилые лица).

Возбудитель заболевания, вирус гриппа, был открыт Richard Shope в 1931 году. Вирус гриппа А, впервые был идентифицирован английскими вирусологами Smith, Andrews и Laidlaw (National Institute for Medical Research, Лондон) в 1933 году. Тремя годами позже Francis выделил вирус гриппа В.

В 1940 году было сделано важное открытие – вирус гриппа может быть культивирован на куриных эмбрионах. Благодаря этому, появились новые возможности для изучения вируса гриппа.

В 1947 году Тейлором был впервые выделен вирус гриппа С.



В 1957-1958 гг случилась пандемия, которая получила название «азиатский грипп», вызванная вирусом H2N2. Пандемия началась в феврале 1957 года на Дальнем Востоке и быстро распространилась по всему миру. Только в США во время этой пандемии скончалось более 70000 человек.

В 1968-1969 гг произошел средний по тяжести «Гонконгский грипп», вызванный вирусом H3N2. Пандемия началась в Гонконге в начале 1968 года. Наиболее часто от вируса страдали пожилые люди старше 65 летнего возраста. Всего, число погибших от этой пандемии составило – 33800 человек.

В 1977-1978 гг произошла относительно легкая по степени тяжести пандемия, названная «русским» гриппом. Вирус гриппа (H1N1), вызвавший эту пандемию уже вызывал эпидемию в 50-х гг. Поэтому, в первую очередь, пострадали лица, родившиеся после 1950 г.

Структура и свойства

Вирус гриппа (Mixovirus influenzae) принадлежит к семейству ортомиксовирусов. Он имеет сферическую структуру и размер 80-120 нанометров.

Сердцевина вируса содержит одноцепочечную отрицательную цепь РНК, состоящую из 8 фрагментов, которые кодируют 10 вирусных белков. Фрагменты РНК имеют общую белковую оболочку, которая объединяет их, образуя нуклеопротеид.

Снаружи вирус покрыт липидной оболочкой. Именно липиды ответственны за ту тяжелую интоксикацию, которая поражает человека во время болезни. На поверхности вируса находятся выступы (гликопротеины) – гемагглютинин (названный по способности

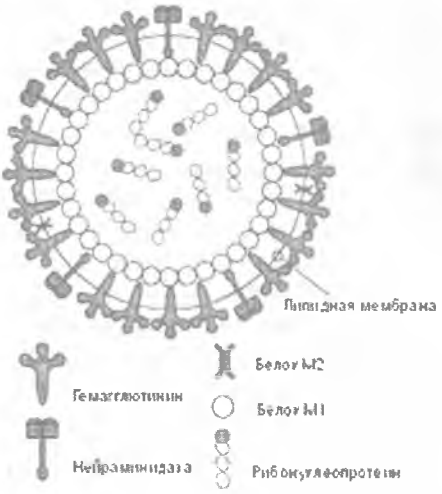


Рис 18.6. Схематическое строение вируса гриппа

агглютинировать эритроциты) и нейраминидаза (фермент). Гемагглютинин обеспечивает способность вируса присоединяться к клетке. Нейраминидаза отвечает, во-первых, за способность вирусной частицы проникать в клетку-хозяина, и, во-вторых, за способность вирусных частиц выходить из клетки после размножения.

Нуклеопротеид (также называемый S-антигеном) постоянен по своей структуре и определяет тип вируса (A, B или C). Поверхностные антигены (гемагглютинин и нейраминидаза – V-антигены), напротив, изменчивы и определяют разные штаммы одного типа вируса.

Вирус гриппа А, как правило, вызывает заболевание средней или сильной тяжести. Поражает, как человека, так и некоторых животных (лошадь, свинья, хорек, птицы). Именно вирусы гриппа А ответственны за появление пандемий и тяжелых эпидемий. Известно множество подтипов вируса типа А, которые классифицируются по поверхностным антигенам – гемагглютинину и нейраминидазе: на настоящий момент известно 16 типов гемагглютинина и 9 типов нейраминидазы. Вирус видоспецифичен: то есть как правило, вирус птиц не может поражать свинью или человека, и наоборот.

Вирус гриппа В. Как и вирус гриппа А, способен изменять свою антигенную структуру. Однако, эти процессы выражены менее четко, чем при гриппе типа А. Вирусы типа В, не вызывают пандемии и обычно являются причиной локальных вспышек и эпидемий, иногда охватывающих одну или несколько стран. Вспышки гриппа типа В могут совпадать с таковыми гриппа типа А или предшествовать ему. Вирусы гриппа В циркулируют только в человеческой популяции (чаще вызывая заболевание у детей).



Рис 18.7. Электронная микрофотография вируса гриппа А

Вирус гриппа С достаточно мало изучен. Известно, что в отличие от вирусов А и В, он содержит только 7 фрагментов нуклеиновой кислоты и один поверхностный антиген. Инфицирует только человека. Симптомы болезни обычно очень легкие, либо не проявляются вообще. Он не вызывает эпидемий и не приводит к серьезным последствиям. Является причиной



Рис 18.8. Электронная микрофотография вируса гриппа С

спорадических заболеваний, чаще у детей. Антигенная структура не подвержена таким изменениям, как у вирусов типа А. Заболевания, вызванные вирусом гриппа С, часто совпадают с эпидемией гриппа типа А. Клиническая картина такая же, как при легких и умеренно тяжелых формах гриппа А.

Специфичность вирусов в отношении хозяев является свойством вирусов гриппа, имеющем принципиальное значение. Это свойство обусловлено распознаванием молекулами гемагглютинина вируса специфических рецепторов галактозы на клетках хозяина. Связывание галактозы этими рецепторами отличается у человека и у птиц. Вот почему, невозможно заражение человека вирусом гриппа птиц. Однако вспышка птичьего гриппа в Гонконге в 1997 (когда было отмечено заражение человека от птиц) подтвердила, что в жизни бывают исключение из правил. Предполагается, что водоплавающие птицы выступают в роли резервуаров вирусов, поскольку в них обнаружены все известные серотипы гемагглютинина и нейраминидазы.

Вирус гриппа наиболее устойчив при низких температурах – он может сохранятся при температуре 4° С в течение 2-3 недель; прогревание при температуре 50-60° С вызывает инактивацию вируса в течение нескольких минут, действие дезинфицирующих растворов – мгновенно.

Международная система кодировки вирусов гриппа

За многие годы появилось множество вариантов вирусов как типа А, так и типа В. В связи с этим, возникла необходимость их систематизации с тем, чтобы можно было отличать друг от друга. Была разработана международная система кодировки, благодаря которой, каждый вариант получил свой код, например, А/Бангкок/1/79(H3N2):

1. обозначение типа вируса (А, В или С) = А;
2. географическое место выделения вируса = Бангкок
3. порядковый номер выделенного в данном году и в данной лаборатории вируса = 1
4. год выделения = (19)79
5. обозначение антигеного подтипа = H3N2

Если вирус был выделен у животного (а не у человека), то после указания типа вируса, указывается сокращенное название животного.

Антигенная изменчивость вирусов гриппа

Изменчивость вируса гриппа общеизвестна. Эта изменчивость антигенных и биологических свойств является фундаментальной особенностью вирусов гриппа типов А и В. Изменения происходят в поверхностных антигенах вируса – гемагглютинине и нейраминидазе. Вероятнее всего, это эволюционный механизм приспособляемости вируса, для обеспечения выживаемости. Новые штаммы вирусов, в отличие от своих предшественников. не связываются специфическими антителами, которые накапливаются в популяции. Существует два механизма антигенной изменчивости: относительно небольшие изменения (антигенный дрейф) и сильные изменения (антигенный шифт).

Антигенный дрейф – происходит в период между пандемиями у всех типов вирусов (А, В и С). Это незначительные изменения в структуре поверхностных антигенов (гемагглю-

тинина и нейраминидазы), вызываемые точечными мутациями в генах, которые их кодируют. Как правило, такие изменения происходят каждый год. В результате, возникают эпидемии, так как защита от предыдущих контактов с вирусом сохраняется, хоть она и недостаточна.

Антигенный шифт – через нерегулярные интервалы времени (10-40 лет), появляются вирусы с сильными отличиями от основной популяции. Эти изменения серьезно затрагивают антигенную структуру гемагглютинина, а реже и нейраминидазы. В настоящее время, механизм образования новых штаммов вирусов гриппа окончательно не ясен. Одна из существующих теорий, основана на рекомбинации генов вируса гриппа, животных (птиц, свиней) и человека, не имеющему к нему готовых факторов защиты клеточного и гуморального иммунитета. Многие типы животных – это птицы, свиньи, лошади, морские млекопитающие и др. (включая человека), могут быть инфицированы вирусом гриппа А. Некоторые типы вирусов типа А, могут инфицировать несколько типов животных. Вирус гриппа содержит 8 молекул РНК. В случае, если в одном организме (например, свиньи) встречаются два разных вируса гриппа, то они могут обмениваться фрагментами нуклеиновой кислоты друг с другом. Другая теория, стоит на позициях рецикличного появления вируса в человеческой популяции.

В результате антигенного шифта, образуются абсолютно новые штаммы вирусов, против которых, подавляющее большинство населения не имеет иммунитета. Такие непредсказуемые изменения, до сегодняшнего дня наблюдались только у вирусов типа А. В результате, развиваются пандемии во всех возрастных группах, которые тем тяжелее, чем сильнее изменился вирус.

Как происходит заражение гриппом

Вирус гриппа очень легко передается. **Самый распространенный путь передачи инфекции – воздушно-капельный.** Также возможен (хотя и более редок) и бытовой путь передачи – например, заражение через предметы обихода.

В течение суток, через дыхательные пути человека проходит около 15 000 л воздуха, микробное содержание которого фильтруется и оседает на поверхности эпителиальных клеток. Микробная контаминация воздуха приобретает опасность лишь при наличии в ней болезнетворных вирусов и бактерий, рассеиваемых больными и носителями респираторных инфекций.

При кашле, чихании, разговоре из носоглотки больного или вирусоносителя выбрасываются частицы слюны, слизи, мокроты с болезнетворной микрофлорой, в том числе, с вирусами гриппа. На короткий промежуток времени, вокруг больного образуется зараженная зона с максимальной концентрацией аэрозольных частиц. Частицы размером более 100 мкм (крупнокапельная фаза) быстро оседают. Дальность их рассеивания обычно не превышает 2-3 м.

Разброс аэрозольных частиц при чихании

Степень концентрации вируса гриппа и длительность его пребывания во взвешенном состоянии в воздухе, в первую очередь, зависят от величины аэрозольных частиц. Последнее определяется силой и частотой физиологических актов – чихания, кашля, разговора. Эти данные наглядно подтверждают необходимость конкретной санитарной пропаганды соблюдения больными гриппом и другими ОРЗ, элементарных гигиенических правил. Стоит убедить больного чихать с закрытым ртом, как количество выбрасываемых в воздух аэрозольных

частиц может быть уменьшено в 10-70 раз, а значит снижена концентрация в воздушной среде вируса гриппа. Если учесть, что 80% выбрасываемых при этом частиц, размером свыше 100 мкм, значит они быстро будут оседать и иметь эпидемиологическое значение, главным образом, для лиц, находящихся в непосредственной близости от больного.

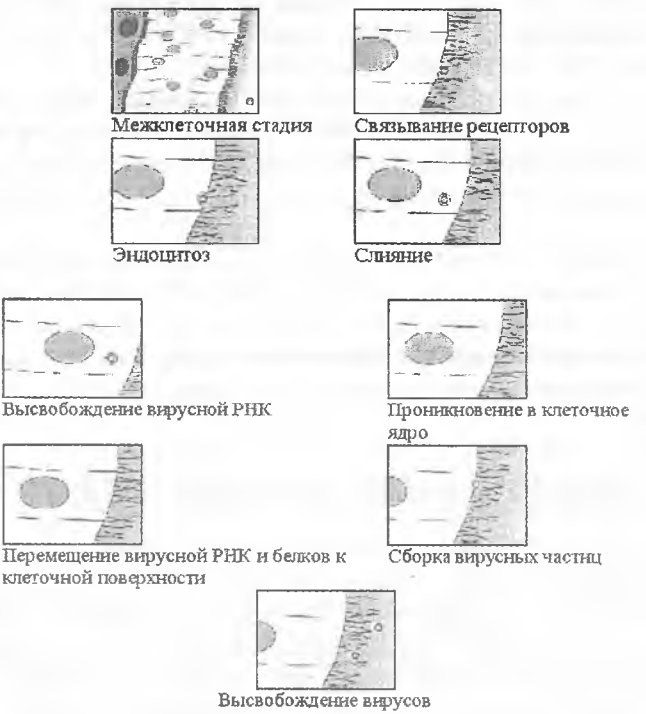
Количество и соотношение частиц бактериального аэрозоля при чихании и кашле

Физиологические акты	Количество образуемых частиц тыс.	Соотношение частиц (%)	
		более 100 мкм	менее 100 мкм
Чиханье (сильное, с открытым ртом)	100-800	50	50
Чиханье (задержанное, с закрытым ртом)	10-15	80	20
Кашель средней силы	50–10	85-90	20-15

После заражения, вирусные частицы задерживаются на эпителии дыхательных путей. Обычно, клетки слизистой оболочки носа, горла и респираторного тракта «выметают» вирусов, таким образом, предотвращая инфекцию. Однако, в некоторых случаях, частицы вируса попадают прямо в альвеолы, обходя первичные защитные механизмы организма.

В дыхательных путях вирусы прикрепляются к клетке при помощи гемагглютинина. Фермент нейраминидаза разрушают клеточную мембрану слизистой и вирус проникает внутрь клетки, путем клеточного включения (эндоцитоза). Затем вирусная РНК проникает в клеточное ядро. В результате, в клетке нарушаются процессы жизнедеятельности и

Схема взаимодействия вируса и клетки



она сама, используя собственные ресурсы, начинает производить вирусные белки. Одновременно, происходит репликация вирусной РНК и сборка вирусных частиц. Новые вирусы высвобождаются (одновременно происходит разрушение клетки, ее лизис) и поражают другие клетки.

Размножение вирусов протекает с исключительно высокой скоростью: при попадании в верхние дыхательные пути одной вирусной частицы, **уже через 8 часов, количество инфекционного потомства достигает 10^3**, а концу первых суток -10^{23}. Высочайшая скорость размножения вируса гриппа объясняет столь короткий инкубационный период – 1-2 суток. Быстроте репродукции вируса благоприятствует распространение многих сотен вирионов, подготовленных лишь одной зараженной клеткой.

В дальнейшем, вирус попадает в кровь и разносится по всему организму. Активация вирусом всей системы протеолиза и повреждение клеток эндотелия капилляров, приводит к повышенной проницаемости сосудов, кровоизлияниям и дополнительному повреждению ткани. Вирус, попадая в кровь, вызывает угнетение кроветворения и иммунной системы, развивается лейкопения и другие осложнения.

В процессе своей жизнедеятельности, вирус гриппа поражает мерцательный эпителий респираторного тракта. Физиологической функцией мерцательного эпителия, является очищение дыхательных путей от пыли, бактерий и т.д. Если мерцательный эпителий разрушается, он уже не может в полной мере выполнять свои функции и бактерии с большей легкостью проникают в легкие. Таким образом появляется опасность развития бактериальной суперинфекции (например, пневмонии и бронхита).

A. Соединительная ткань

B. Базальная мембрана

C. Поврежденный участок эпителия

D. Окружающая среда

Описанная активность вируса гриппа представляет собой **основное отличие между вирусной гриппозной инфекцией и другими ОРЗ**, которые не всегда вызывают подобного рода поражения или вообще не вызывают их. С другой стороны, симптоматика вирусной гриппозной инфекции и других ОРЗ приблизительно одинакова.

Защитные механизмы против вирусной инвазии и репликации

Защитные факторы организма	Антивирусные эффекты	Действие вируса
Слизь на поверхности эпителия дыхательного тракта	Предупреждение фиксации и перемещения вируса до достижения им эпителия	Нейраминидаза позволяет вирусу проникать сквозь мукозальную защиту
Интерферон	Очистка организма от вируса	Быстрая репликация вируса до эффективной зашиты интерферона
Т-лимфоциты, макрофаги	Деструкция вирус-инфицированных клеток	Быстрая репликация вируса до необходимой активации клеточного иммунитета
Антитела против вирусных белков	Нейтрализация вируса (предупреждение повторного заражения)	Антигенный дрейф

Симптомы

Грипп – острое, высоко контагиозное заболевание, которое отличается резким токсикозом, умеренными катаральными явлениями с наиболее интенсивным поражением трахеи и крупных бронхов.

Клиника гриппа и острых респираторных заболеваний, вызываемых различными вирусами, из-за сочетания общетоксических симптомов и поражения дыхательных путей, имеет много сходных черт.

Обычно грипп начинается остро. **Инкубационный период**, как правило, длится 1-2 дня, но может продолжаться до 5 дней.

Затем начинается **период острых клинических проявлений**. Тяжесть болезни зависит от многих факторов: общего состояния здоровья, возраста, от того, контактировал ли больной с данным типом вируса ранее. В зависимости от этого, у больного может развиться одна из 4-х форм гриппа: легкая, среднетяжелая, тяжелая и гипертоксическая. Симптомы и их сила зависят от тяжести заболевания.

В случае **легкой** (включая стертые и субклинические) формы гриппа, температура тела может оставаться нормальной или повышаться не выше 38 °С, симптомы инфекционного токсикоза слабо выражены или отсутствуют.

В случае **среднетяжелой** (манифестной) формы гриппа, температура повышается до 38,5-39,5 °С и отмечаются классические симптомы заболевания:

– Интоксикация

о Обильное потоотделение;

о Слабость;

о Светобоязнь;

о Суставные и мышечные боли;

о Головная боль;

– Катаральные симптомы

о Гиперемия мягкого неба и задней стенки глотки;

о Гиперемия конъюнктив;

– Респираторный симптомы

о поражение гортани и трахеи;

о Сухой (в ряде случаев – влажный) болезненный кашель;

о Нарушение фонации;

о Боли за грудиной;

о Ринит (насморк);

о Гиперемия, цианотичность, сухость слизистой оболочки полости носа и глотки.

– Синдром сегментарного поражения легких – динамично нарастающая (в течение нескольких часов) легочно-сердечная недостаточность с типичной сегментарной тенью в одном из легких; при благоприятном исходе, клинико-рентгенологические изменения разрешаются (практически бесследно) в течение 2-3 дней (дифференциальное отличие от пневмонии). При гипертоксической форме, возможен отек легких, обычно заканчивающийся геморрагической пневмонией.

– Абдоминальный синдром:

о боли в животе,

о диарея – отмечается в редких случаях и, как правило, служит признаком других инфекций. То, что известно под названием «желудочный грипп», вызывается совсем не вирусом гриппа.

При развитии **тяжелой формы** гриппа, температура тела поднимается до 40-40,5 °С. В дополнение к симптомам, характерным для среднетяжелой формы гриппа, появляются признаки энцефалопатии (психотические состояния, судорожные припадки, галлюцинации), сосудистые расстройства (носовые кровотечения, точечные геморрагии на мягком небе) и рвота.

При **гипертоксической форме** гриппа, возникает серьезная опасность летального исхода, особенно, для больных из группы риска. Эта форма гриппа включает в себя (помимо вышеперечисленных) следующие проявления:

– Гипертермический синдром;

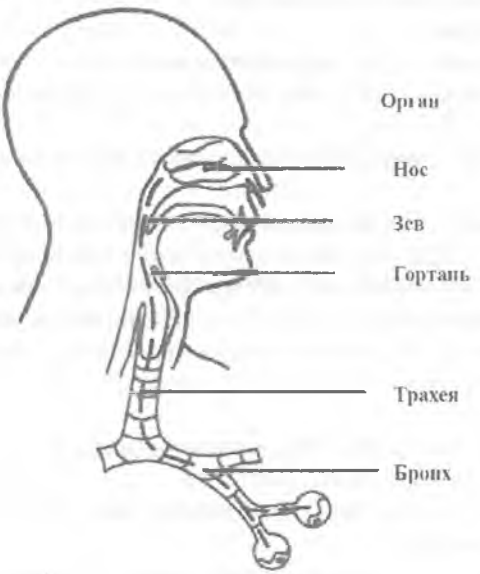
– Менингизм (единичные или сочетанные менингеальные признаки при отсутствии достоверных воспалительных изменений со стороны мягких мозговых оболочек);

– Энцефалопатия в сочетании с гемодинамическим расстройствами у детей (объединяют термином нейротоксикоз) – наиболее частая причина летального исхода при тяжелом гриппе;

– Возникновение отечного геморрагического синдрома, развитие в различной степени выраженности дыхательной недостаточности, вплоть до отека легких (геморрагическая пневмония), а также отека мозга у отдельных больных.

Если грипп протекает без осложнений, лихорадочный период продолжается 2-4 дня и болезнь заканчивается в течение 5-10 дней. Возможны повторные подъемы температуры тела, однако, они обычно обусловлены наслоением бактериальной флоры или другой вирусной респираторной инфекции. После перенесенного гриппа, в течение 2-3 недель могут сохраняться явления постинфекционной астении: утомляемость, слабость, головная боль, раздражительность, бессонница и др.

Основные симптомы гриппа и их локализация



Орган	Название воспалительного процесса	Симптомы
Нос	ринит	насморк
Зев	фарингит	боль в горле
Гортань	ларингит	хрипота
Трахея	трахеит	кашель
Бронхи	бронхит	кашель

Клиническая диагностика

Как правило, грипп диагностируется по совокупности клинических проявлений. При постановке диагноза гриппа, необходимо учитывать время года и вероятность эпидемии гриппа.

На ранних этапах инфекции и в не осложненных случаях, исследование грудной клетки не обнаруживает изменений. В легких случаях, симптомы такие же, как при простуде. От простуды грипп отличается высокой температурой и тяжелой общей симптоматикой. Также гриппу характерны некоторые специфические особенности, которые включают в себя:

– **Синдром катарального воспаления** (негнойные воспалительные изменения носоглотки и конъюнктивы глаз) – типичный диагностический признак многих респираторных вирусных инфекций:

о гиперемия, цианотичность, сухость слизистой оболочки полости носа, мягкого неба и задней стенки глотки, дыхание через нос обычно сохранено;

о отсутствие выраженного экссудативного компонента воспаления; скудное отделяемое серозного и серозно-слизистого характера;

о гиперемия конъюнктив.

– Клинические признаки поражения дыхательных путей:

о «запаздывание» катаральных симптомов от начала заболевания на несколько часов или 1-2 дня;

о сухой (в ряде случаев – влажный, с выделением необильной слизистой мокроты) кашель.

– **Синдром сегментарного поражения легких** – динамично нарастающая (в течение нескольких часов) легочно-сердечная недостаточность с типичной сегментарной тенью в одном из легких (сегментарный отек легких); при благоприятном исходе клинико-рентгенологические изменения проходят в течение 2-3 дней (дифференциальное отличие от пневмонии). При гипертоксической форме возможен отек легких, обычно заканчивающийся геморрагической пневмонией.

– Общий анализ крови:

о лейкоцитоз с нейтрофилезом в первые сутки заболевания (в не осложненных случаях, количество лейкоцитов остается неизменным);

о лейкопения с относительным лимфоцитозом в дальнейшем.

Специфическая диагностика

Лабораторные диагностические методы предназначены для целей ранней (экстренной) или ретроспективной диагностики.

– **Выделение вируса.** Вирус гриппа может быть выделен из мазков горла и носоглотки в течение 3 дней после начала заболевания. Культурирование производится на 10-11 дневных куриных эмбрионах (в амниотической или аллантоисной жидкости) в течение 48 ча-

сов (для достижения необходимого для обнаружения количества вируса). Для определения типа вируса требуется 1-2 дня. Ввиду сложности и длительности процедуры, такая диагностика имеет смысл только для определения этиологии локальной эпидемии.

– **Прямая и непрямая иммунофлуоресценция.** При данном способе диагностики, цитоплазматические вирусные включения обнаруживают на мазках эпителия слизистой оболочки носа.

– **Серологический тест** показывает наличие антигриппозных антител. Образец для диагностики острой фазы инфекции, должен быть взят в течение 5 дней после начала заболевания и образцы выздоравливающего берутся на 10-14 или 21-й день после начала инфекционного процесса.

– **Реакция связывания комплемента (CF).** Реакция связывания комплемента служит выявлению различия между S-антигенами и позволяет узнать тип вируса, вызвавшего инфекцию (А или В).

– **Реакция торможения гемагглютинации (HI)** -наиболее важный тест. Позволяет определить различие между V-антиген (поверхностными белками) и, таким образом, подтип вируса. Реакция основана на том, что вирус гриппа способен агглютинировать человеческие или куриные эритроциты, а специфические антитела ингибируют этот процесс.

– **Прямое определение антигена.** В настоящее время, были разработаны специальные тесты для быстрого определения антигена вируса гриппа А. Вирусные антигены выявляют в клетках верхних дыхательных путей после их взаимодействия со специфическими антителами.

Осложнения и последствия гриппа

Вирус гриппа, размножаясь в респираторном тракте, вызывает разрушение мерцательного эпителия, физиологической функцией которого является очищение дыхательных путей от пыли, бактерий и т.д. Если мерцательный эпителий разрушается, он уже не может в полной мере выполнять свои защитные функции и бактерии с большей легкостью проникают в легкие. Таким образом, появляется опасность развития бактериальной суперинфекции.

– Наиболее частым осложнением гриппа является **пневмония**, причем, как правило, это вторичная бактериальная инфекция (вызванная Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, или Staphylococcus aureus). Более редко встречается комбинированная инфекция (вирусная и бактериальная пневмония). Первичная вирусная пневмония – это редкое осложнение, характеризующееся высокой смертностью. Она возникает в случае, если грипп вызван вирусом высочайшей вирулентности. При этом развиваются «молниеносные» смертельные геморрагические пневмонии, продолжающиеся не более 3-4 дней. Истинная первичная гриппозная пневмония может наблюдаться, прежде всего, у больных, страдающих хроническими заболеваниями сердца и легких, сопровождающимися застойными явлениями в легких.

– Другие вторичные бактериальные инфекции, часто возникающие после гриппа – **ринит**, **синусит**, **бронхит**, **отит**.

– Осложнение в виде **синдрома Рейе** встречается практически исключительно у детей (в основном, после заболевания гриппом В), после употребления салицилатов (в том числе, ацетилсалициловой кислоты) и проявляется сильной рвотой, которая может привести к коме, в связи с отеком мозга.

– Осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы чаще встречается у лиц, пожилого возраста. Может развиться **миокардит** и **перикардит** (воспалительное заболевание мышц сердца, которое может привести к сердечной недостаточности).

– После гриппа типа В, могут развиться мышечные осложнения, выражающиеся в **миозите** и других мышечных заболеваниях. Такие осложнения чаще бывают у детей и выражаются в мышечных болях в течение нескольких дней. Также происходит повышение миоглобина в моче (миоглобинурия), что может привести к острому нарушению функции почек.

– Иногда отмечается острый поперечный **миелит**

– **Менингит** и **энцефалит**.

– **Бактериальная суперинфекция**. На ослабленный гриппом организм, часто садится бактериальная инфекция (пневмококковая, гемофильная, стафилококковая).

– После гриппа часто наблюдаются **обострения хронических заболеваний,** таких как: бронхиальная астма и хронический бронхит, сердечно-сосудистые заболевания, нарушения обмена веществ, заболевания почек и др..

Госпитализация и смертность при гриппе

Во время эпидемий, уровень госпитализаций возрастает в 2-5 раз. Особенно высокий уровень госпитализации у маленьких детей (в возрасте до 5 лет), и у пожилых людей (старше 65 лет):

– Дети в возрасте от 0-4 лет – 500 случаев госпитализации на 100000 населения в группах высокого риска осложнений от гриппа и 200 случаев на 100000 населения вне группы риска;

– Дети 5-14 лет – 200 случаев госпитализации на 100000 среди группы риска и 20 случаев на 100000 населения вне группы риска;

– Лица 15-44 лет – 40-60 случаев на 100000 населения среди группы риска и 20-30 случаев на 100000 населения вне группы риска;

– Лица 44-64 года – 80-400 случаев на 100000 населения среди группы риска и 20-40случаев на 100000 населения вне группы риска;

– Пожилые лица 65 лет и старше – 200-1000 случаев на 100000 населения, независимо от принадлежности к группе высокого риска осложнений от гриппа.

Каждую эпидемию гриппа сопровождает повышенная смертность. Показатели смертности от гриппа в мире составляют 0,01-0,2%, а средние ежегодные потери достигают в масштабах разных стран десятков тысяч человек, включающих в основном, детей первых лет жизни (до 2-х лет) и пожилых людей (старше 65 лет). Смертность среди лиц 5-19 лет составляет 0,9 на 100000 человек, среди лиц старше 65 лет – 103,5 на 100000 человек.

Наибольшие жертвы грипп собирает среди пожилых групп населения, страдающих хроническими болезнями (лица «высокого риска»). Смерть при гриппе может наступить от интоксикации, кровоизлияний в жизненно важные центры (головной мозг), от легочных осложнений (пневмония, эмпиема плевры), сердечной или сердечно-легочной недостаточности.

Наибольшее количество смертных случаев от гриппа, связано не непосредственно с этим заболеванием, а с осложнениями после гриппозной инфекции. Чаще всего, это осложнения, касающиеся заболеваний легких и сердца (в частности, острая пневмония). Всего, в общей структуре смертности, смерть от гриппа и его осложнений занимает долю 40%.

Потери от глобальных эпидемий гриппа (пандемий), значительно уступают, в настоящее время, масштабам прошлых десятилетий. Пандемия гриппа 1918–1919 годов, получившая название « испанки», унесла более 20 млн. жизней, т.е. в 2 раза больше, чем первая мировая война, а по последним данным (1998 года) эти потери оцениваются в 40-50 млн. человек.

Статистика заболевания гриппом в России

Грипп и ОРВИ занимают первое место по частоте и количеству случаев в мире, и составляет 95% всех инфекционных заболеваний. Ежегодно в мире заболевает до 500 млн. человек, 2 миллиона из которых умирают. В России ежегодно регистрируют от 27,3 до 41,2 млн. заболевших гриппов и другими ОРВИ.

В 1997 г. в РФ зарегистрировано 7,6 млн. случаев гриппа. Грипп в структуре инфекционных и паразитарных болезней составил 19,7%. Если считать, что в течение года грипп переносят в среднем 1 – 2 раза, то каждый шестой-седьмой россиянин бывает вовлечен в эпидемический процесс. Цифры эти, однако, сильно преуменьшены из-за неполной регистрации гриппа и ОРВИ.

В 2000 году в России грипп поразил 8% населения. 38 человек умерли. В Москве погибло 14 человек, из них 4 ребенка.

Более точные методы выявления гриппозных заболеваний с помощью выборочных медицинских обходов и опросов постоянных групп населения показали, что по опыту США, в среднем на одного человека приходится около 3 случаев заболеваний гриппом или ОРЗ.

Статистика годовой заболеваемости и смертности от гриппа в зарубежных странах

Страна	Кол. жителей (млн.)	Заболеваемость гриппом	Число госпитализаций	Число смерт. случаев
США	250	15 млн. - 30 млн.	175,000 - 4,000,000	12,500 - 37,500
Австрия	8	480,000 - 960,000	5,600 - 12,800	400 - 1,200
Бельгия	10	600,000 - 1,2 млн.	7,000 - 16,000	500 - 1,500
Франция	56	3,36 млн. - 6,72 млн.	39,200 - 89,600	2,800 - 8,400
Германия	77	4,62 млн. - 9,24 млн.	53,900 - 123,200	3,850 - 11,550
Италия	55	3,3 млн. - 6,6 млн.	38,500 - 88,000	2,750 - 8,250
Португалия	10	60,000 - 120,000	7,000 - 16,000	500 - 1,500
Испания	40	2,4 млн. - 4,8 млн.	28,000 - 64,000	2,000 - 6,000
Швейцария	7	420,000 - 840,000	4,900 - 11,200	350 - 1,050
Нидерланды	15	0,9 млн. - 1,8 млн.	10,500 - 24,000	750 - 2,250
Великобритания	56	3,36 млн. - 6,72 млн.	39,200 - 89,600	2,800 - 8,400

Эпидемиология

Эпидемия и пандемия. Об эпидемии говорят тогда, когда одновременно заболевают гриппом большое количество людей в одной стране. Продолжительность эпидемии гриппа обычно составляет 3-6 недель.

В случае пандемии, грипп поражает одновременно большое количество людей в разных странах. В этом случае, заболевание вызывается новыми серотипами вируса гриппа, к которым восприимчива подавляющая часть населения. Поэтому, вирус распространяется с очень высокой скоростью и вызывает заболевание в очень тяжелой форме.

Самая жестокая из известных пандемий гриппа случилась в 1918 году. Предполагается, что первые случаи произошли в Китае, но первые документально подтвержденные случаи смертельного респираторного заболевания были описаны в Соединенных Штатах, в марте 1918 и в портовых городах Франции, Испании и Италии, в апреле 1918.

Люди прозвали болезнь «испанской лихорадкой«. В течение 10 месяцев пострадало население всего мира. Повторные всплески заболевания произошли в 1918-19 и 1919-20 гг. и поразили тех, кто не заболел во время первого пика. Потери были ужасающие: по самым оптимистичным прогнозам от испанки умерло 20 млн. человек, однако, по некоторым данным эта цифра достигла 40-50 млн.

Распространение. Одной из основных загадок вируса гриппа является то, что большую часть времени вирус отсутствует в популяции. Эпидемии случаются, как правило, осенью или зимой (Северное полушарие) или весной и летом (в Южном полушарии). Длительность эпидемии составляет 1-3 месяца, после чего, вирус снова исчезает. Где он циркулирует в остальное время, где и как происходит антигенный дрейф, до сих пор, до конца не ясно. Наиболее правдоподобная гипотеза говорит о том, что вирус циркулирует в районе экватора (где заболевания гриппом регистрируются круглогодично).

Выявляется четкая зависимость уровня заболеваемости городского населения от численности населения города. Наибольшая эпидемическая заболеваемость ОРЗ отмечена в городах с численностью населения 1 млн. и больше – 29,7%, в городах с населением от 500 тыс. до 1 млн. – 24,1%, а в городах с населением меньше 500 тыс. – 22,1%. Также, закономерно уменьшается в соответствующих группах городов и эпидемическая заболеваемость гриппом : 11,3%; 10,9% и 9,7% соответственно.

Временная структура. Грипп – это заболевание, возникающее сезонно. В Северном полушарии максимум заболеваемости гриппом приходится на зимние месяцы. В Южном полушарии, наоборот, пик заболеваемости регистрируется в летний период. В тропиках не отмечается какой-либо сезонности – вспышки гриппа появляются круглогодично, чаще всего, при смене погоды.

Повышенная частота эпидемий, в холодное время года, по-видимому, объясняется тем, что возникает большая скученность людей в закрытых помещениях во время холодной и влажной погоды.

По мере развития эпидемии меняется распределение числа заболевших (с диагнозом, подтвержденным лабораторными исследованиями) по возрастным группам. Так, по мере расширения масштабов эпидемии происходит сдвиг в сторону детей дошкольного возраста и взрослых. Госпитализация лиц, достигших 65-летнего возраста и старше, приходится, как правило, на вторую половину эпидемии.

Источник заражения. Резервуаром вируса, как правило, является больной человек. Последние вспышки гриппа (например, в Гонконге) дают основания предполагать, что возможна передача вируса типа А от животного к человеку.

Гриппом болеют люди любого возраста во всем мире, но наибольшее количество заболеваний наблюдается у детей в возрасте от 1 до 14 лет (37%), что в четыре раза выше, чем у пожилых (10%).

Контагиозность. Период контагиозности. Контагиозность начинается с конца инкубационного и длится весь лихорадочный период, достигая своего максимума через 1-2 дня после начала заболевания. После 5-7-го дня болезни, концентрация вируса в выдыхаемом воздухе резко снижается и больной становится практически неопасным для окружающих.

Большую эпидемическую опасность представляют больные, которые при заболевании гриппом не остаются дома, а продолжают посещать общественные места. Продолжая вести активный образ жизни, они успевают заразить большое число людей.

Передача вируса. Передача инфекции осуществляется воздушно-капельным путем. Вирус со слизистых дыхательных путей при дыхании, чихании, кашле, разговоре выделяется в огромной концентрации и может находиться во взвешенном состоянии несколько

минут. Также существует вероятность передачи инфекции через предметы обихода, соски, игрушки, белье, посуду

Выводы: велика ли угроза пандемии? Ложная тревога?

В 1997 году в Гонконге была зарегистрирована смерть от гриппа трехлетнего ребенка. С помощью лабораторной диагностики было определено, что ребенок был инфицирован вирусом гриппа типа А. Идентификация подтипа вируса при помощи набора антисывороток против известных вирусов человеческого и свиного гриппа типа А, оказалась невозможной. Однако, применение набора антисывороток против всех известных подтипов гемагглютинина и нейраминидазы все же позволило условно классифицировать это вирус как H5N1 или H5N4. Дальнейший анализ подтвердил, что этот вирус действительно относился к подтипу H5N1. Данный вирус был схож с подтипом вируса, вызвавшего гибель 7000 кур в Гонконге в мае 1997 года.

В ноябре 1997 вспышка инфекции повторилась. На этот раз, от вируса пострадало 18 человек, 6 из которых умерли. Одновременно отмечались вспышки заболевания этим же типом вируса у цыплят. Было сделано предположение, что птицы явились источником заражения для человека, хотя случаев передачи вируса от человека к человеку отмечены не были. В целях безопасности Правительство Гонконга решило провести акцию по уничтожению всех гусей и цыплят на территории страны (более миллиона особей), после которой подобные случаи заболевания не отмечались.

Данная ситуация наглядно иллюстрирует потенциальную возможность возникновения пандемии гриппа, которая не реализовалась из-за случайной невозможности распространения инфекции путем передачи от человека к человеку.

В 1999 году в Гонконге были зарегистрированы еще 2 случая гриппа, вызванного новым штаммом вируса. Пострадали 2 ребенка, в возрасте 1 и 4 года. Тип вируса был определен как H9N1. Анализ показал, что вирусы были наиболее схожи с вирусом A/QUAIL/HONG KONG/G1/97; внутренние гены же были схожи с внутренними генами вируса, выделенного в 1997 году (H5N1).

Специалисты считают, что…

-- следующая пандемия гриппа неизбежна, однако, никто не знает, когда именно случится пандемия;

– пандемии случаются, в среднем, каждые 30-40 лет, а в настоящее время, вирус гриппа А (H3N2) циркулирует уже более 30 лет. Поэтому пандемия может начаться практически в любой момент.

– между идентификацией нового вируса и началом пандемии, может пройти от 1 до 6 месяцев;

–Пандемия может возникнуть одновременно в разных странах

–Воздействие пандемии на здоровье людей может быть очень сильным. По прогнозам, только в США:

- о До 200 млн. чел. будет инфицировано;
- о От 40 до 100 млн. чел. заболеют;
- о От 18 до 45 млн. чел. будут нуждаться в амбулаторном лечении;
- о От 300000 до 800000 человек будет госпитализировано;
- о От 88000 до 300000 человек умрет.

Если экстраполировать эти данные на Россию, то:

- о До 120 млн. человек будет инфицировано;
- о До 60 млн. человек заболеют;
- о До 30 млн. человек будут нуждаться в амбулаторном лечении;
- о До 500 тыс. человек будет госпитализировано;

о До 200 тыс. человек умрет.

Наибольшему риску заболеть, будут подвержены врачи и медсестры, так как, они будут находиться в постоянном контакте с больными гриппа.

Парамиксовирусы (семейство Paramyxoviridae)

Парамиксовирусы (семейство *Paramyxoviridae,* от лат. *para* – около, *myxa* – слизь) – семейство РНК-содержащих вирусов. Включает два подсемейства: **Paramyxovirinae,** которое содержит 4 рода – *Morbillivirus, Respirovirus* (ранее – *Paramyxovirus), Rubulavirus;* и *Pneumovirinae,* которое содержит 2 рода – *Pneumovirus, Metapneumovirus* (табл. 18.2). В семейство входят респираторно-синтициальный вирус, вирусы кори, паротита, парагриппа. Они передаются аэрогенным механизмом.

Структура. Вирион парамиксовирусов имеет диаметр 150–300 нм, окружен оболочкой с гликопротеиновыми шипами (рис. 18.9). Под оболочкой находится спиральный нуклеокапсид, состоящий из нефрагментированной линейной однонитевой минус-РНК, связанной с белками: нуклеопротеином (NP), поддерживающим геномную структуру; полимеразой-фосфопротеином (P) и большим (L) белком. Нуклеокапсид ассоциирован с матриксным (M) белком, расположенным под оболочкой вириона. Оболочка вириона содержит шипы – два гликопротеина: белок слияния (F – от англ. *fusion),* который вызывает слияние мембран вируса и клетки; прикрепительный белок (гемагглютинин-нейраминидаза {HN}, гемагглютинин {H} или {G} белок). F-белок активизируется протеолитическим расщеплением с образованием F1-, P2-гликопротеинов. **Репродукция** (рис. 3.9) парамиксовирусов инициируется связыванием HN, H или G-белка на оболочке вириона с сиаловой кислотой на поверхности клетки (7). F-белок обеспечивает слияние оболочки вируса с плазматической мембраной клетки. Вирионы проникают в клетку без образования эндосом.

Таблица 18. 2.

Характеристика парамиксовирусов человека

Род	Представители	Свойства вирусов
Respirovirus	Вирусы Сендай, парагриппа человека 1, 3 (ВПГЧ-1, -3)	Вирион содержит негативный РНК-геном в спиральном нуклеокапсиде и окружен оболочкой с кликопротеиновыми шипами – F и другими (HN – вирусов парагриппа и паротита; H – вируса кори; G – РС-вирус). Вирионы проникают в клетку слиянием оболочки и плазмалеммой клетки. Репликация и сборка вирионов – в цитоплазме; выход – почкованием
Rubulavirus	Вирус эпидемического паротита, парагриппа человека (ВПГЧ-2, -4a, -4b)	
Morbillivirus	Вирус кори	
Pneumovirus	РС-вирус	

Парамиксовирусы индуцируют слияние клеток, образуя поликарионы – синцитий. Вирус Сендай мышей (с расщепленным F-белком), часто используют для слияния клеток, при получении клеточных гибридов. Репликация генома сходна с репликацией минус-РНК-геномных вирусов (например, вируса бешенства): РНК-полимераза вносится в клетку с нуклеокапсидом вируса. Транскрипция, синтез белка и репликация генома происходят в

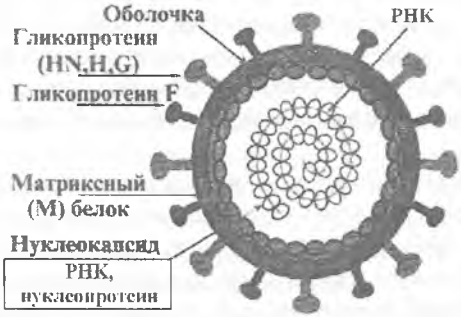


Рис. 18.9. Схема строения парамиксовируса.

цитоплазме клетки хозяина. Геном транскрибируется в отдельные иРНК *(2)* и полноценную плюс-матрицу *(3)* для геномной РНК. Новые геномы взаимодействуют с L-, N- и NP-белками, образуя нуклеокапсиды, которые связываются с М-белком и окружаются оболочкой из модифицированной плазмолеммы клетки. Вирионы выходят из клетки почкованием *(4)*.

Культивирование парамиксовирусов осуществляют в первичных и перевиваемых культурах клеток.

Резистентность. Парамиксовирусы относятся к наименее устойчивым вирусам. Они чувствительны к высокой температуре (50 °С), детергентам, дезинфицирующим веществам и другим факторам. Отмечается большая устойчивость к низким температурам.

Вирусы парагриппа

Парагрипп – острая инфекционная болезнь. характеризующаяся преимущественным поражением верхних дыхательных путей, в основном, гортани и умеренной интоксикацией.

Таксономия. Возбудители относятся к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae*. Вирусы парагриппа человека серотипы 1 и 3 относятся к роду *Respirovirus,* а серотипы 2 и 4а, 4Ь – к роду *Rubulavirus.* Вирусы парагриппа человека были открыты в 1956 г. Р. Ченоком.

Структура и антигенные свойства. По своей структуре вирусы парагриппа человека не отличаются от других представителей семейства. Они также содержат однонитевую, нефрагментированную минус-РНК, кодирующую 7 белков. Оболочка имеет гликопротеиновые шипы (HN, F). Нуклеокапсид является внутренним антигеном. Гликопротеиновые шипы являются поверхностными антигенами. По антигенам вирусных белков HN, NP, F различают 4 основных серотипа вирусов парагриппа: (ВПГЧ-1, ВПГЧ-2, ВПГЧ-3, ВПГЧ-4). Серотипы 1, 2, 3 перекрестно реагируют с антителами к вирусу паротита. У ВПГЧ-1, ВПГЧ-2, ВПГЧ-3 имеются общие антигены с вирусом эпидемического паратита. Гемагглютинин имеется у всех серотипов, но он отличается по спектру действия: ВПГЧ-1 и ВПГЧ-2 склеивают разные эритроциты (человека, кур, морской свинки и др.); ВПГЧ-3 не агглютинирует эритроциты кур; ВПГЧ-4 склеивает только эритроциты морской свинки.

Культивирование вирусов производят. в основном, на первичных культурах клеток.

Резистентность вирусов парагриппа человека такая же, как у других представителей семейства.

Эпидемиология. Источник парагриппа – больные люди. Заражение происходит через дыхательный тракт. Основной путь передачи – воздушно-капельный, но возможен также и контактно-бытовой путь. Заболевание широко распространено (чаще от больных выделяют ВПГЧ-1, ВПГЧ-2 и ВПГЧ-3) и очень контагиозно. Почти у всех взрослых обнаруживают антитела к вирусам парагриппа. Сезонность в возникновении парагриппа не отмечается.

Патогенез. Входные ворота инфекции – верхние дыхательные пути. ВПГЧ адсорбируются на клетках слизистой оболочки верхних дыхательных путей, внедряются в них и размножаются, вызывая гибель клеток. Патологический процесс быстро спускается в нижние отделы респираторного тракта, вызывая здесь воспаление. ВПГЧ-1 и ВПГЧ-2 являются самой частой причиной крупа (острого ларинготрахеобронхита у детей). ВПГЧ-3 вызывает очаговую пневмонию. Имеет место непродолжительная вирусемия. Продукты распада погибших клеток и вирусов вызывают интоксикацию организма. Вирусы вызывают вторичный иммунодефицит, способствующий развитию бактериальных осложнений.

Клиника. Инкубационный период 3–6 дней. Повышается температура, появляется слабость, насморк, боль в горле, кашель, т.е. специфические симптомы отсутствуют. При тяжелых формах у детей возможно развитие крупа и пневмонии. У взрослых заболевание обычно протекает как ларингит.

Иммунитет. Иммунитет после перенесенного заболевания непрочный и непродолжительный. И хотя он типоспецифичен, возможны реинфекции, теми же типами.

Микробиологическая диагностика. От больного берут слизь или смыв из дыхательных путей, мокроту. Применяют вирусологический метод на культуре клеток. Индикацию проводят по цитопатическому действию вирусов, РГА, но самым важным критерием является феномен гемадсорбции, наиболее выраженный у ВПГЧ-1,-2,-3 (раньше эти вирусы называли гемадсорбирующими). Идентификацию осуществляют с помощью РТГА, РСК, РН. Возможно использование серологического метода, как для выявления антигенов вируса, так и для обнаружения антител в парных сыворотках крови больного в РТГА, РСК, РН и др. (ретроспективная диагностика).

Лечение. Помимо симптоматической терапии, возможно использование арбидола, интерферона, других иммуномодуляторов.

Профилактика. Только неспецифическая.

Вирус эпидемического паротита

Эпидемический паротит («Свинка») – острая детская инфекция, характеризующаяся поражением околоушных слюнных желез, реже – других органов.

Таксономия. Вирус паротита относится к РНК-содержащим вирусам, семейства *Paramyxoviridae,* рода *Rubulavirus.* Вирусная природа болезни установлена в 1934 г. К. Джонсоном и Э. Гудпасчером.

Структура и антигенные свойства. Вирус паротита имеет сферическую форму, диаметр 150–200 нм. Строение сходно с другими парамиксовирусами (рис. 18.5). Внутри вируса расположен NP-белок, а снаружи – оболочка с шипами (HN- и F-гликопротеины). Вирус агглютинирует эритроциты кур, морских свинок и др. Проявляет нейраминидазную и симпластообразующую активность. Существует один серотип вируса.

Культивирование вирусов производят на культуре клеток и курином эмбрионе.

Резистентность. Как и другие парамиксовирусы, возбудитель паротита обладает невысокой резистентностью к факторам окружающей среды.

Эпидемиология. Эпидемический паротит – строго высококонтагиозная антропонозная инфекция; источник – больные люди. Возбудитель передается воздушно-капельным путем, иногда – через загрязненные слюной предметы. Наиболее восприимчивы дети от 5 до 15 лет, но могут болеть и взрослые. Заболевание встречается повсеместно.

Патогенез. Входные ворота инфекции – верхние дыхательные пути. Вирусы размножаются в эпителии слизистых верхних дыхательных путей и, возможно, в околоушных железах. Затем они поступают в кровь и разносятся по организму, попадая в яички, поджелудочную и щитовидную железы, мозговые оболочки и другие органы, вызывая их воспаление.

Клиника. Инкубационный период 14–21 день. Болезнь начинается с повышения температуры, головной боли, недомогания. Воспаляются одна или обе околоушные железы (glandula parotis); могут вовлекаться в патологический процесс, другие слюнные железы. Болезнь продолжается около недели. Наиболее частые осложнения – орхит (и как следствие – бесплодие), менингит, менингоэнцефалит, панкреатит. Нередко, наблюдается бессимптомное течение.

Иммунитет. После перенесенной болезни вырабатывается пожизненный.

Микробиологическая диагностика. Производится редко, так как очень характерна клиническая картина. Материал для исследования – слюна, цереброспинальная жидкость, моча, сыворотка крови. Применяют вирусологический метод, заражая культуру клеток куриных фибробластов или куриный эмбрион. Вирус идентифицируют с помощью РТГА, РИФ, РН, РСК. При серологическом методе в парных сыворотках крови больного определяют антитела с помощью ИФА, РСК, РТГА.

Лечение и профилактика. Для лечения и поздней профилактики, можно использовать специфический иммуноглобулин. Для специфической профилактики, детям старше одного года, вводят живую вакцину (в первые 6 месяцев жизни у ребенка есть плацентарный иммунитет).

Вирус кори и ПСПЭ

Корь – острая инфекционная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, катаральным воспалением слизистых оболочек верхних дыхательных путей и глаз, а также пятнисто-папулезной сыпью на коже.

Таксономия. Возбудитель относится к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae* рода *Morbillivirus.* Выделен в 1954 г. Дж. Эндерсом и Т. Пиблсом.

Структура и антигенные свойства. Морфология вируса типична для парамиксовирусов (рис. 18.9). Диаметр вириона 150–250 нм. Геном вируса – однонитевая, нефрагментированная минус РНК. Имеются следующие основные белки: NP – нуклеокапсидный; M – матриксный, а также поверхностные гликозилированные белки липопротеиновой оболочки – гемагглютинин (H) и белок слияния (F), гемолизин. Вирус кори обладает гемагглютинирующей и гемолитической активностью. Нейраминидаза отсутствует. Имеет общие антигены с вирусом чумы собак и крупного рогатого скота.

Культивирование. Вирус кори культивируют на первично-трипсинизированных культурах клеток почек обезьян и человека, перевиваемых культурах клеток HeLa, Vero. Возбудитель размножается с образованием гигантских многоядерных клеток – симпластов; появляются цитоплазматические и внутриядерные включения. Белок F вызывает слияние клеток.

Резистентность. В окружающей среде, вирус кори нестоек, при комнатной температуре инактивируется через 3–4 ч. Быстро гибнет от солнечного света, УФ-лучей. Чувствителен к детергентам, дезинфектантам.

Восприимчивость животных. Корь воспроизводится только на обезьянах, остальные животные маловосприимчивы.

Эпидемиология. Корь – антропонозная инфекция, распространена повсеместно. Восприимчивость человека к вирусу кори чрезвычайно высока. Болеют люди разного возраста, но чаще дети 4–5 лет. Источник инфекции – больной человек. Основной путь инфицирования – воздушно-капельный, реже – контактный. Наибольшая заражаемость происходит в продромальном периоде и в 1-й день появления сыпи. Через 5 дней после появления сыпи больной не заразен.

Патогенез. Возбудитель проникает через слизистые оболочки верхних дыхательных путей и глаз, откуда попадает в подслизистую оболочку, лимфатические узлы. После репродукции он поступает в кровь (вирусемия) и поражает эндотелий кровеносных капилляров, обуславливая тем самым, появление сыпи. Развиваются отек и некротические изменения тканей.

Клиника. Инкубационный период 8–15 дней. Вначале отмечаются острые респираторные проявления (ринит, фарингит, конъюнктивит, фотофобия, температура тела 38,8–39,0 °С). Затем, на 3–4-й день, на слизистых оболочках и коже появляется пятнисто-папулезная сыпь, распространяющаяся сверху вниз: сначала на лице, затем на туловище и конечностях. За сутки до появления сыпи на слизистой оболочке щек появляются мелкие пятна (диаметр около 1 мм) Филатова–Коплика, окруженные красным ореолом. Заболевание длится 7–9 дней, сыпь исчезает, не оставляя следов.

Возбудитель вызывает аллергию, подавляет активность Т-лимфоцитов и иммунные реакции, что способствует появлению осложнений, в виде пневмоний, воспаления среднего уха и др. Редко развиваются энцефалит и ПСПЭ (панскле розирующий панэнцефалит).

ПСПЭ – медленная вирусная инфекция со смертельным исходом в результате поражения нервной системы с гибелью нейронов и развитием двигательных и психических нарушений. Заболевание развивается в возрасте 2–30 лет и обусловлено персистенцией вируса в клетках нейроглии, без образования полноценных вирионов. В дефектных вирионах нарушается формирование оболочки, изменяется белок F, отсутствует белок М. В крови и ликворе больных обнаруживаются антитела в разведениях до 1:16 000, а в клетках мозга – вирусные нуклеокапсиды. Вместе с этим показано, что возбудитель ПСПЭ по своим свойствам ближе к вирусу чумы собак.

Иммунитет. После перенесенной кори развивается гуморальный, стойкий, пожизненный иммунитет. Повторные заболевания редки. Пассивный иммунитет, передаваемый плоду через плаценту в виде IgG, защищает новорожденного в течение 6 месяцев, после рождения.

Микробиологическая диагностика. Исследуют смыв с носоглотки, соскобы с элементов сыпи, кровь, мочу. Вирус кори можно обнаружить в патологическом материале и в зараженных культурах клеток с помощью РИФ, РТГА и реакции нейтрализации. Характерно наличие многоядерных клеток и антигенов возбудителя в них. Для серологической диагностики применяют РСК, РТГА и реакцию нейтрализации.

Лечение. Симптоматическое.

Специфическая профилактика. Активную специфическую профилактику кори проводят подкожным введением детям первого года жизни или живой коревой вакцины из аттенуированных штаммов (Л-16) или ассоциированной вакцины (против кори, паротита, краснухи). В очагах кори, ослабленным детям вводят нормальный иммуноглобулин человека. Препарат эффективен при введении, не позднее 7-го дня инкубационного периода.

Респираторно-синцитиальный вирус

Респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус) вызывает заболевания нижних дыхательных путей у новорожденных и детей раннего возраста. Основной путь передачи – воздушно-капельный.

Таксономия. РС-вирус относится к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae* рода *Pneumovirus*. Он был выделен от детей Р. Ченоком в 1956 г.

Структура и антигенные свойства. РС-вирус, как все парамиксовирусы (рис. 18. 5), имеет однонитевую спиральную минус-РНК. Вирионы полиморфны: кроме обычной сферической формы встречаются и нитевидные формы. На липопротеиновой оболочке расположены гликопротеиновые шипы, отвечающие за связь с рецепторами клетки (гликопротеин G) и слияние с мембранами клетки (гликопротеин F). Гликопротеин F вызывает слияние клеток, в результате чего, образуется синцитий. Свое название РС-вирус получил по характерному ЦПТД в культуре клеток – по образованию симпластов и синцития. Гемагглютинин отсутствует. По специфическому поверхностному антигену возможно отличие трех серотипов РС-вируса.

Культивирование. РС-вирус культивируют на перевиваемых культурах клеток и на первичных культурах почек обезьян. В качестве биологической модели можно использовать обезьян.

Резистентность. РС-вирус, как и многие парамиксовирусы, очень чувствителен к факторам окружающей среды.

Эпидемиология. Источником заболевания является больной. Инфицирование человека происходит через респираторный тракт. Пути передачи – контактно-бытовой (через руки, белье, другие предметы) и воздушно-капельный (при кашле, чихании). Заболевание широко распространено (составляет 3–16% в структуре всех ОРЗ) и высококонтагиозно (у $^{3}/_{4}$ детей к трем годам обнаруживаются вируснейтрализующие антитела, главным образом, секреторные IgA). Наиболее опасен РС-вирус для детей первых 6 месяцев – у них развиваются тяжелые бронхиты и пневмонии. Старшие дети и взрослые болеют нетяжело.

Патогенез. Входные ворота инфекции – верхние дыхательные пути: вирусы проникают в эпителиальные клетки и размножаются, вызывая их гибель. Патологический процесс быстро распространяется на нижние дыхательные пути. Развивается вторичный иммунодефицит, что приводит к развитию вторичных бактериальных инфекций. Кроме того, образуются иммунные комплексы, в результате чего, развиваются иммунопатологические реакции.

Клиника. Инкубационный период 3–5 дней. Сначала появляются признаки ОРЗ, а затем трахеобронхита, пневмонии.

Иммунитет. После перенесенного заболевания развивается непродолжительный иммунитет. Возможны рецидивы, но с более легким течением.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат отделяемое носоглотки, ткань легких (исследуемый материал нельзя замораживать). В вирусологическом методе используют культуры клеток. Индикацию вирусов производят по характеру ЦПД – образованию синцития, а идентификацию вирусов – с помощью РН, РСК и др. Возможно применение серологического метода, направленного на обнаружение специфического антигена с помощью РИФ, ИФА (экспресс-диагностика): реже, используя РСК, РН, выявляют антитела в сыворотке крови больного. У грудного ребенка могут быть антитела матери в титре 1:320, что затрудняет выявление нарастания титра антител. При микроскопическом (гистологическом) исследовании в эпителии слизистой оболочки бронхов обнаруживают многоядерные клетки и синцитий.

Лечение. При РС-инфекции применяют иммуномодуляторы и рибавирин.
Специфическая профилактика. Отсутствует.

Рабдовирусы (семейство Rhabdoviridae)

Рабдовирусы – семейство РНК-содержащих вирусов, включающее около 80 вирусов родов *Lyssavirus* (вирус бешенства) и *Vesiculovirus* (вирус везикулярного стоматита). Вызывают заболевания животных и растений.

Структура. Размер вирионов 130+300х60+80 нм. Вирионы имеют форму цилиндра с полукруглым и плоским концами (форма пули), отсюда и название – *Rhabdoviridae* (греч. *rhabdos* – прут, палка). Пулевидная форма характерна для вирусов, поражающих позвоночных, а бациллярная с закругленными с обеих сторон концами – для вирусов везикулярного стоматита.

Вирионы рабдовирусов состоят из двухслойной липопротеиновой оболочки и РНП (нуклеокапсида) спиральной симметрии (рис. 18.10). Оболочка изнутри выстлана М-белком (англ. *matrix),* а снаружи – от нее отходят шипы гликопротеина G (длина 5–10 нм, диаметр 3 нм). РНП состоит из геномной РНК и белков: N-белок (англ. *nucleocapsid),* укрывающий, как чехол геномную РНК; L-белок (англ. *large)* и NS-белок, являющиеся полимеразой (транскриптазой) вируса. Геном рабдовирусов представлен однонитевой нефраг-ментированной линейной минус-РНК.

Репродукция. Репродукция рабдовирусов сходна с репродукцией минус-РНК-содержащих вирусов (рис. 18.11).

Рабдовирусы связываются гликопротеинами оболочки с рецепторами клетки и проникают в нее путем эндоцитоза *(1).* Затем, после удаления оболочки, освободившийся РНП попадает в цитоплазму клетки *(2).* Здесь, с помощью РНК-зависимой РНК-полимеразы *(3),* синтезируются неполные *(4)* плюс-нити РНК (пять индивидуальных иРНК для синтеза вирусных белков) и полные *(6)* плюс-нити **РНК,** являющиеся матрицей для синтеза геномной РНК (7). В результате трансляции иРНК рибосомами (5) образующиеся вирусные белки преобразуются в аппарате Гольджи и включаются в плазмолемму клетки *(8).* Образование РНП происходит путем взаимодействия геномной (минус-нити) РНК с белками N, NS и L. После сборки вирионов происходит их почкование и выход из клетки *(9).*

Вирус бешенства

Вирус бешенства вызывает **бешенство** *(Rhabies,* синонимы: водобоязнь, гидрофобия) – вирусную инфекционную болезнь, развивающуюся после укуса или ослюнения раны инфицированным животным. Поражаются нейроны ЦНС с развитием симптомов возбуждения, параличом дыхательной и глотательной мускулатуры. Болезнь заканчивается летально. Вирусная этиология бешенства доказана П. Ремленже в 1903 г.

Таксономия. Возбудитель бешенства – РНК-содержащий вирус, относится к семейству *Rhabdoviride* роду *Lyssavirus,* включающему еще 5 других вирусов (Lagos, Mocola, Duvenhage, Kotonkan, Obodhiang), выделенных от различных животных, насекомых в Африке и сходных, с вирусом бешенства.

Морфология и антигенные свойства. Вирион имеет форму пули (рис. 18.10), размер 75–180 нм; состоит из сердцевины (РНП спирального типа и матриксного белка), окруженной липопротеиновой оболочкой с гли-копротеиновыми шипами. Гликопротеин G отвечает за адсорбцию и внедрение вируса в клетку, обладает антигенными (типоспецифический антиген) и иммуногенными свойствами. Антитела к нему нейтрализуют вирус и

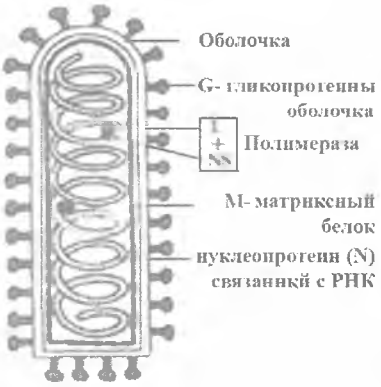


Рис. 18.10. Схема строения вируса бешенства.

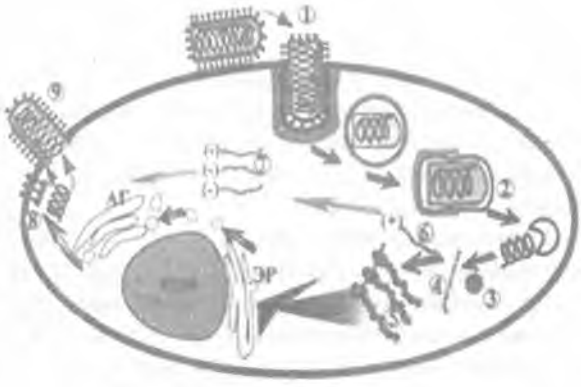


Рис. 18.11. Схема репродукции рабдовируса.

выявляются в РН. **РНП** состоит из геномной однонитевой линейной минус-РНК и белков: N-белка, укрывающего как чехол геномную РНК; L-белка и NS-белка, являющихся полимеразой (транскриптазой) вируса. РНП является группоспецифическим антигеном; выявляется в РСК, РИФ, РП.

Различают два вируса бешенства:

• дикий (уличный) вирус, циркулирующий среди животных, патогенный для человека;

• фиксированный (virus fixe), полученный Л. Пастером, в качестве антирабической вакцины, многократным пассированием дикого вируса через мозг кроликов, утративший патогенность для человека, не образующий включений, не выделяющийся со слюной. Оба вируса идентичны по антигенам.

Культивирование. Вирус культивируют путем внутримозгового заражения лабораторных животных (кроликов, белых мышей, крыс, хомячков, морских свинок, овец и др.) и в культуре клеток: почек хомячка; нейроблас-томы мыши; фибробластов человека, куриного эмбриона; Vero-клетки почки обезьяны и др. В нейронах головного мозга зараженных животных образуются цитоплазматические включения, содержащие антигены вируса. Эти включения впервые были описаны В. Бабешем (1892) и А. Негри (1903) и названы тельцами Бабеша–Негри (эозинофильные включения вируса овальной формы размером 1–15 мкм, состоящие из вирусного РНП).

Резистентность. Вирус бешенства неустойчив: быстро погибает под действием солнечных и УФ-лучей, а также при нагревании до 60 °С. Чувствителен к дезинфицирующим веществам, жирорастворителям, пропиолактону щелочам и протеолитическим ферментам; сохраняется при низких температурах (-20...-70 °С).

Эпидемиология. Заболевание распространено повсеместно, кроме некоторых островных государств, где осуществляются карантинные и профилактические мероприятия. Источниками инфекции в природных очагах (природное, дикое бешенство) являются лисы, волки, енотовидные собаки, песцы, шакалы, грызуны, насекомоядные, плотоядные и кровососущие летучие мыши, а в антропургических очагах (городское бешенство) – собаки и кошки, чаще других передающие возбудителя. Вирус бешенства накапливается в слюнных железах больного животного и выделяется со слюной. Животное заразно в последние дни инкубационного периода (за 2–10 дней до клинических проявлений болезни). Механизм передачи возбудителя – контактный при укусах, реже – при обильном ослюнении поврежденных наружных покровов. Возможен аэрогенный механизм передачи вируса, например, в

пещерах, населенных летучими мышами, которые многомесячно могут выделять вирус бешенства со слюной. Иногда заболевание развивается при употреблении мяса больных животных или при трансплантации инфицированных тканей (например, роговицы глаза).

У собаки после инкубационного периода (14–16 дней) появляются возбуждение, обильное слюнотечение, рвота, водобоязнь. Она грызет место укуса, посторонние предметы, бросается на людей, животных. Через 1–3 дня наступают паралич и смерть животного.

Патогенез и клиника. Вирус, попав со слюной больного животного в поврежденные наружные покровы, реплицируется и персистирует в месте внедрения. Затем возбудитель распространяется по аксонам периферических нервов, достигает клеток головного и спинного мозга, где размножается. В цитоплазме нейронов мозга, чаще в гиппокампе, обнаруживаются тельца Бабеша– Негри. Клетки претерпевают дистрофические, воспалительные и дегенеративные изменения. Размножившийся вирус попадает из мозга по центробежным нейронам в различные ткани, в том числе, в слюнные железы. Выделяется вирус со слюной за 8 суток до начала и в течение всей болезни. Инкубационный период у человека при бешенстве – от 10 дней до 3 месяцев, иногда до года и более, что зависит от характера и локализации повреждения. Короткий инкубационный период отмечается при множественных укусах в голову, более продолжительный – при укусах в конечности. Инкубационный период при передаче вируса летучими мышами более короткий (не более 3–4 недель). В начале заболевания появляются недомогание, страх, беспокойство, бессонница, затем развиваются рефлекторная возбудимость, спазматические сокращения мышц глотки и гортани; дыхание шумное, судорожное. Судороги усиливаются при попытке пить, при виде льющейся воды (гидрофобия), от дуновения (аэрофобия), яркого света (фотофобия), шума (акустофобия) и при других воздействиях. Развиваются галлюцинации, а в конце болезни (на 3–7-й дни болезни) – параличи мышц конечностей и дыхания. Реже болезнь развивается без возбуждения и водобоязни; развивается паралич и слюнотечение (тихое бешенство). Летальность – около 95%.

Иммунитет. Человек относительно устойчив к бешенству: при укусах бешеным волком заболевает около 50% не привитых людей, а бешеной собакой – около 30%. Постинфекционный иммунитет не изучен, так как больной обычно погибает. Введение людям, укушенным бешеным животным, инактивированной антирабической вакцины вызывает выработку антител, интерферонов и активацию клеточного иммунитета.

Микробиологическая диагностика.

Постмортальная диагностика включает обнаружение телец Бабеша–Негри в мазках-отпечатках или срезах из ткани мозга (чаще из гиппокампа, пирамидальных клеток коры большого мозга и клеток Пуркинье мозжечка), а также выделение вируса из мозга и подчелюстных слюнных желез. Тельца Бабеша–Негри выявляют методами окраски по Романовскому–Гимзе, Манну, Туревичу, Муромцеву и др. Вирусные антигены в клетках обнаруживают с помощью РИФ.

Выделяют вирус из патологического материала, путем биопробы на белых мышах: мышей-сосунков заражают интрацеребрально. Срок наблюдения до 28 дней. Обычно зараженные животные погибают через неделю. Идентификацию вирусов проводят с помощью ИФА, а также в РН на мышах, используя для нейтрализации вируса антирабический иммуноглобулин.

Прижизненная диагностика основана на исследовании: отпечатков роговицы, биоптатов кожи с помощью РИФ; выделении вируса из слюны, цереброспинальной и слезной жидкости, путем интрацеребрального инфицирования мышей-сосунков. Возможно определение антител у больных с помощью РСК, ИФА.

Лечение. Симптоматическое; эффективное лечение отсутствует. Прогноз при развитии заболевания всегда неблагоприятный.

Профилактика. Профилактические мероприятия по борьбе с бешенством направлены на выявление, изоляцию или уничтожение животных – возможных источников инфекции: бродячих собак, кошек и др. Важно соблюдение правил содержания домашних животных. Проводятся карантинные мероприятия при импорте животных. Большое значение имеет иммунизация антирабической вакциной служебных и домашних собак. Животное, покусавшее людей или животных, необходимо наблюдать в течение 10 дней. Пострадавшему промывают рану водой с мылом, обрабатывают спиртом или препаратами йода. Края раны иссекают и в первые 3 дня не зашивают. Специфическую профилактику проводят антирабической вакциной и антирабической сывороткой или иммуноглобулином.

Первую вакцину против бешенства приготовил Л. Пастер из фиксированного вируса бешенства. Последовательно пассируя уличный вирус бешенства через мозг кролика, ему удалось (на 133 пассаже – заражения от кролика к кролику) первоначальный инкубационный период с 15–20 дней снизить до 7 дней. В последующем, инкубационный период не изменялся. Полученный вирус с постоянным инкубационным периодом Л. Пастер назвал фиксированным, в отличие от уличного. Фиксированный вирус утратил вирулентность для других видов животных. Для большего снижения вирулентности фиксированного вируса, Л. Пастер высушивал инфицированный мозг над едким калием. Первая вакцинация была проведена в 1885 г. мальчику, укушенному бешеной собакой.

В настоящее время, для специфической профилактики применяют инактивированную УФ- или гамма-лучами культуральную вакцину. Разрабатывается генно-инженерная вакцина, содержащая гликопротеин G возбудителя.

Иммунизации вакциной подлежат люди, связанные с риском заражения (собаколовы, ветеринары и др.). С лечебно-профилактической целью иммунизируют людей, укушенных подозрительными на бешенство животными. При этом активный иммунитет формируется уже во время инкубационного периода.

При множественных укусах для ускоренной защиты создают пассивный иммунитет введением антирабического иммуноглобулина.

Вирус везикулярного стоматита

Везикулярный стоматит – вирусная инфекционная болезнь животных (домашний скот и др.), иногда поражающая человека в виде гриппоподобной инфекции. Характеризуется везикулярными высыпаниями на слизистой оболочке рта, гортани, языка, кожи. Вызывается вирусом везикулярного стоматита, относящегося к семейству Rhabdoviride роду Vesiculovirus. Вирус индуцирует интенсивное образование интерферона и высокочувствителен к нему. Растет на культуре клеток, вызывая ЦПД и образование бляшек. Относится к арбовирусам, переносится различными комарами. Возбудитель выделяют из везикул на культуре клеток и курином эмбрионе. Идентификация вируса везикулярного стоматита проводится с помощью РИФ, РСК, ИФА. Специфическая профилактика не разработана. Лечение симптоматическое.

Филовирусы (семейство Filoviridae)

Филовирусы были открыты уже в те времена, когда человечество имело в своем арсенале вакцины против главных инфекционных заболеваний: оспы, полиомиелита и кори. Тогда казалось, что наступающая эра антибиотиков и вакцин уже в ближайшем будущем



Рис. 18.12. Электронограмма вирионов вируса Эбола (негативное контрастирование).

не оставит на своем пути ни одного вредного для человека микроба. Однако, первые неожиданные вспышки в 1967 году болезни Марбург и в 1976 году болезни Эбола были поучительным уроком ученым и врачам. До сих пор, эти вирусы во многом являются загадкой природы: неизвестен их природный резервуар, неизвестны причины вспышек этих заболеваний, уникальны структура их вирионов и картина вызываемых ими болезней. Наконец, весьма скромны успехи в разработке вакцин и методов лечения вызываемых ими болезней, несмотря на интенсивное более, чем двадцатилетнее их изучение.

Это семейство вирусов, поражающих человека и обезьян, получило название от латинского слова «filamentous» – длинный, протяженный в связи с уникальной для вирусов человека формой их вирионов в виде длинных цилиндрических палочек. Семейство, в настоящее время, собираются разделить на два вида: Эбола-вирусы и Марбург-вирусы. Вирусы Марбург и Эбола – одни из самых патогенных и смертоносных для человека. Смертность при заболевании вирусом Марбург достигает 25–30% от числа заболевших, а при заболевании вирусом Эбола – до 80–90%. Вирус Рестон, вызывающий при заражении гибель у подавляющего числа макак, для человека, по всей видимости, неопасен. Лишь вирус бешенства, дальний родственник филовирусов, превосходит их по смертности, достигающей в этом случае, практически 100% при попадании в кровь и отказе или невозможности срочно ввести вакцину.

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ И СЛУЧАИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

На рис. 18.13 схематично изображена карта Центральной Африки с обозначением мест основных вспышек заболеваний, вызванных филовирусами. Следует отметить, что этот район Африки, вообще знаменит и другими уникальными инфекционными заболеваниями, такими, как вирусная лихорадка Ласса, желтая лихорадка и лихорадка долины Рифт. Наконец, именно здесь наиболее высока встречаемость среди населения вируса ВИЧ-1, который является основной причиной СПИДа, синдрома приобретенного иммунодефицита. На карте показана так называемая автострада Киншаса, у которой есть второе название – дорога СПИДа, потому что в крови у большинства «кормящихся» на дороге проституток обнаруживается этот вирус. Кроме того, в некоторых странах региона до 9% населения (почти каждый десятый) инфицировано этим вирусом.

Вирус Марбург. В 1967 году практически, одновременно в Марбурге и Франкфурте (Германия), а также в Югославии, заболели работники фармацевтических заводов, занятые в процедуре забора почек от экспортированных из Африки (из Уганды, район озера Виктория, см. рис. 18.13) обезьян вида Cer-copithecus aethiops (культура клеток почек, до сих пор используется в некоторых странах для производства вакцин, в основном, против полиомиелита). Болезнь проходила в виде геморрагической лихорадки, причем, заболела и часть медицинского персонала, участвовавшего в лечении заболевших. Всего заболел 31 человек, из них семеро умерли. Путем пассирования проб крови больных на культурах клеток и животных (морских свинках) был выделен возбудитель вирусной природы, который не был антигенно близок ни одному из известных вирусов. Этот вирус получил название Марбург в честь города в Германии, где он был впервые обнаружен.

Следующий случай болезни, произошел в 1975 году в Зимбабве: заболел и через 12 дней умер путешественник. От него заразились его спутница и медсестра, обе они выжили. Затем случаи заболеваний были отмечены в 1980 и 1987 годах в Кении (трое заболевших, двое умерли), причем заражение во всех этих случаях, судя по всему, произошло около горы Элгон (см. рис. 18.13), недалеко от места отлова обезьян, которые явились источником заболевания в Германии и Югославии в 1967 году. Ни в одном из случаев, происшедших в Африке, не удалось обнаружить источник заражения. Тщательные исследования местности, в которой произошло заражение, и отловленных там животных, не выявили наличия вируса. В 1999 году заболевание вирусом Марбург опять появилось в Демократической Республике Конго.

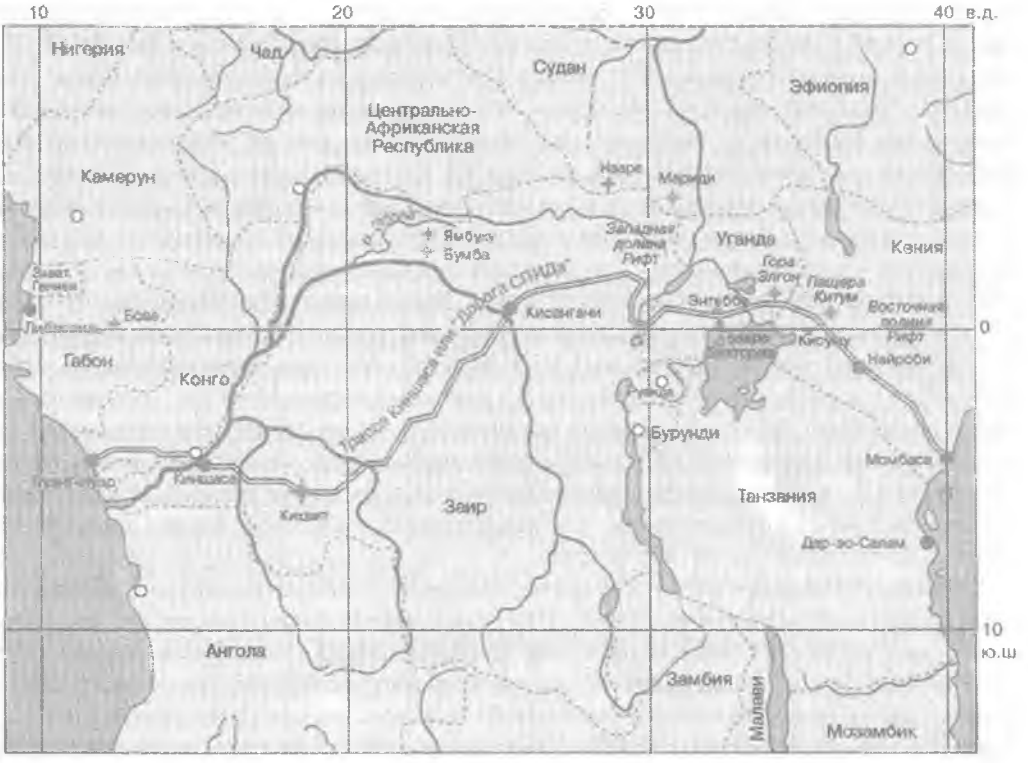


Рис. 18. 13. Карта Центральной Африки с обозначением мест основных вспышек заболеваний филовирусами. Эта область Африки богата экзотическими болезнями. Показаны также и ареалы распространения вируса лихорадки долины Рифт

Вирус Эбола. В июле 1976 года от странной скоротечной болезни умер сторож склада сырья хлопковой фабрики в небольшом поселке Нзара на юге Судана (см. рис. 18.12). Болезнь сопровождалась обильными кровотечениями. Через несколько дней после этого, умерли еще двое человек, работавших на фабрике, в том же помещении. Вероятно, от этих двух больных возбудитель распространился не только по поселку, но и в соседнем городе Мариди, где он начал распространяться среди пациентов городской больницы и членов их семей. Более того, интенсивное лечение больных путем инъекций медикаментов, переливанием крови и других процедур повлекло распространение инфекции также и среди медицинского персонала. Смертность составила 53% от числа заболевших, что вдвое выше смертности от болезни Марбург. Врачи и жители города были настолько напуганы, что многие из них убежали в джунгли, что, может быть, и остановило эпидемию. Про эту вспышку специалисты из Всемирной организации здравоохранения узнали, когда она практически уже закончилась.

В сентябре того же года, аналогичная вспышка произошла в северном Заире, в деревнях, расположенных на берегах небольшой реки Эбола (см. рис.18.13). Заболевание было очень похоже по клинической картине на наблюдавшееся в Судане, однако, смертность в этом случае, была намного выше – до 88%. Первым больным был школьный учитель, заразившийся, судя по всему, от употребления полусырого мяса больной обезьяны. Он попал в церковную больницу, где из-за отсутствия нужного оборудования (было всего несколько шприцев) практиковалось многократное применение шприцев для инъекций без стерилизации. Это и послужило причиной распространения инфекции среди больных, членов их семей и медперсонала. Распространение заболевания усугублялось специфическим ритуалом захоронения, при котором женщины, входящие в состав семьи, должны были лично привести тело в порядок голыми руками. Более того, одну из заболевших медсестер, бельгийку по национальности, решили перевезти в столицу страны Киншасу, где она умерла в одной из лучших частных больниц, несмотря на применение всех известных методов лечения. От нее заразилась медсестра, попавшая в другую больницу, в которой и начался следующий виток эпидемии. Дело дошло до того, что президент Заира направил войска для установления карантина, как в самой столице, так и в районе эпидемии, а правительства Европейских стран всерьез рассматривали вопрос о прекращении полетов в Заир. С целью выяснения природы возбудителя и ликвидации эпидемий Всемирной организацией здравоохранения были привлечены лучшие эпидемиологи и вирусологи США, Бельгии, Англии и Франции. Возбудитель вскоре был идентифицирован как вирус, родственный вирусу Марбург; назвали его по имени реки Эбола. Эпидемию удалось остановить лишь путем применения строгих карантинных мер, наведением порядка в обращении со шприцами и в соблюдении правил санитарии в больницах, а также изменив ритуал захоронения умерших, с целью сделать его безопасным для окружающих. В итоге эпидемий в Судане и Заире, заболели 550 человек, из которых умерли 430 человек.

Осенью 1976 года произошел случай лабораторного заражения вирусом Эбола в Англии, к счастью, больной выздоровел. В 1977 году был выявлен единичный, закончившийся смертью случай заболевания в Заире, в местечке, расположенном более, чем в 300 км от первых очагов заболевания. Тщательное расследование обнаружило постфактум еще два смертельных случая болезни и, кроме того, выявило по проведенному анализу крови, случай несмертельного заболевания у врача в 1972 году, считавшийся ранее вызванным вирусом желтой лихорадки. В 1979 году небольшая эпидемия случилась в Судане, практически в том же месте, где и в первый раз; из 34 заболевших 22 человека умерли. После этого болезнь Эбола не наблюдалась почти 15 лет.

Поздней осенью 1994 года в Кот-д'Ивуар заразилась вирусом Эбола женщина, ученый из Швейцарии. Ее срочно доставили на родину, и там, к счастью, вылечили. Источником заражения, судя по всему, явились трупы умерших от этой болезни шимпанзе, которые она изучала.

В 1995 году весной правительство Заира попросило Всемирную организацию здравоохранения, отправить экспертов для расследования непонятной эпидемии в городе Киквит, расположенном в 400 км к востоку от столицы страны Киншасы. Срочно выехавшие эксперты, в считанные часы, выяснили – инфекция вызвана вирусом Эбола. Предположительно, первый случай болезни, произошел в деревне с рабочим склада хлопкоперерабатывающей фабрики (аналогия со случаем в Судане 1976 года). Эпидемия началась еще зимой в окрестностях города и распространялась вначале медленно, но когда больные были перевезены в Киквит, город с 600-тысячным населением, то ввиду плохого снабжения больницы шприцами и неполного соблюдения санитарных правил инфекция начала распространяться с ужасающей быстротой. Эксперты ВОЗ были извещены и прибыли уже на этой стадии эпидемии. Были приняты жесткие карантинные меры вплоть до оцепления больницы, блокирования города войсками. Правительства многих стран, на этот период, прекратили все транспортные сообщения с Заиром. Всего за время эпидемии, заболели 316 человек, из которых умерли 245 (в это число включены и 90 умерших сотрудников медперсонала). В 1995–1996 годах произошли несколько вспышек заболевания недалеко от местечка Бове в Габоне. Первичное заражение было вызвано употреблением жителями одной из деревень, мяса больной обезьяны. Из 60 заболевших 45 умерли.

В ноябре 1996 года, случай инфекции вирусом Эбола был обнаружен в Южно-Африканской Республике у врача, вернувшегося из Габона и принимавшего участие в лечении больных. От него заразилась медсестра больницы. Врач выздоровел, медсестра умерла.

Вирус Рестон. В 1989 году ветеринары карантинного пункта города Рестон (Вирджиния, США), где проходили обследование ввезенные из-за рубежа для исследований обезьяны, обнаружили эпидемию геморрагической лихорадки среди обезьян. Срочно проведенное обследование выявило заражение вирусом, похожим на вирус Эбола. Было принято решение, об уничтожении всех обезьян сначала в одном помещении здания, а затем и в остальных, поскольку инфекция продолжала распространяться. Вирус оказался неопасным для людей (он был выявлен у четверых служителей, но никто их них не заболел), но в процессе выяснения этого, властям пришлось срочно ввести неординарные санитарные меры, поскольку, от Рестона до крупных городов Вашингтон и Балтимор, всего несколько десятков километров. Обезьяны были ввезены из Филиппин, причем, одновременно в три карантинных пункта США, остальные два расположены в Эллисе (Техас) и Пенсильвании. В двух последних пунктах случаев заболеваний, аналогичной природы не наблюдалось. Сходные вспышки среди импортированных обезьян, вызванные таким же возбудителем, случились в 1992 году в Италии, и в 1996 году в Эллисе (Техас, США). Заболеваний среди людей также не было.

СИМПТОМЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ЛЮДЕЙ
(на примере вируса Эбола)

Вирусы вызывают сильную геморрагическую лихорадку (болезнь с высокой температурой, множественными наружными и внутренними кровоизлияниями). После инкубационного периода, который составляет обычно от 4 до 10 дней, болезнь начинается внезапно и сразу с сильными головными болями, лихорадкой, высокой температурой, болями в

мышцах, слабостью, конъюнктивитом, замедленным сердцебиением. Эти первые признаки похожи на симптомы дизентерии или желтой лихорадки, что вводило врачей в заблуждение. В дальнейшем, состояние больного ухудшается, проявляясь в виде фарингита, тошноты, поноса и рвоты. Больной впадает в прострацию, лицо становится похожим на маску. Позднее начинается стадия геморрагий – кровь продолжает течь, не свертываясь, в местах уколов, выступает через кожу, появляется на слизистых оболочках. Часто это сопровождается специфической сыпью (если сыпь начинает подсыхать, это означает хорошие шансы на выздоровление). Смерть наступает от шока, обычно на 7–9-й день болезни. Выздоровление (если оно наступает) проходит медленно и сопровождается апатией, сильной потерей веса и аппетита. Человек, как правило, не помнит своих ощущений во время болезни. Клинический лабораторный анализ показывает у заболевших раннее возрастание количества нейтрофилов, уменьшение числа лимфоцитов и тромбоцитов. Все это – сопровождается ненормальной агрегацией кровяных телец. Уровни активности ферментов печени заметно выше нормы, причем, на поздней стадии болезни часто бывает желтуха.

СТРОЕНИЕ ВИРУСА И ЕГО ГЕНОМА

Вирионы этого семейства (рис. 18.14), многообразны по форме, встречаются сигмообразные, U-образные формы, однако, основной является палочковидная форма с диаметром 80 нм и длиной от 790 нм (вирус Марбург) до 970 нм (вирусы Эбола и Рестон). При рассмотрении их поперечных срезов в электронном микроскопе, обнаруживаются внутренний нуклеокапсид (комплекс нуклеиновой кислоты с белками, в основном, белком NP) диаметром 50 нм, окруженный липидной оболочкой, и внутреннее пространство с малой электронной плотностью диаметром 20 нм. Такие параметры предполагают спиральную форму нуклеокапсида с пустой сердцевиной, что подтверждается и видимой продольной периодичностью вирионов с шагом 5 нм (рис. 18.15). На поверхности вирионов, образованной липидной оболочкой, которую вирус заимствует у клетки-хозяина, можно видеть



Рис. 18.14. Фотография очищенного препарата вируса Эбола, сделанная с помощью электронного микроскопа. Видно, что вирус полиморфен, то есть часть его частиц выглядит как палочки, часть – как кольца или тороиды, часть – как сковородки, а часть – как цифра 6. Фото любезно предоставлено Л.В. Колесниковой и Е.И. Рябчиковой (ГНЦ ВБ «Вектор») 4 ч обработкой фенолом, хлорсодержащими дезинфектантами, ультрафиолетовым или гамма-облучением.

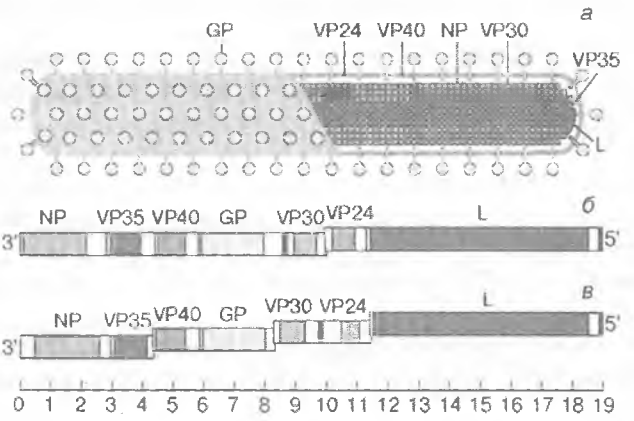


Рис. 18.15. Приведены схема строения вириона филовируса (*а*), карта генома вируса Марбург (*б*) и карта генома вируса Эбола (*в*). На схеме устройства вириона показано, что РНК находится в составе нуклеокапсида (или «ядра» вируса) и связана с белками NP и VP30, а белки VP40, VP24 и GP связаны с липидной мембраной. При этом основным поверхностным белком является белок G P, который образует шипики на поверхности вириона. Масштабная линейка для карты генома проградуирована в тысячах нуклеотидов

шипы длиной 10 нм. В состав вирионов входят все кодируемые геномом вируса белки, что является обычным для большинства вирусов с негативным РНК-геномом.

Инфекционные свойства вирусов Марбург и Эбола весьма стабильны при комнатной температуре и умеренном освещении. Их можно полностью инактивировать прогреванием при 60 °С в течение 20 минут.

Генетический материал вируса представлен одноцепочечной неинфекционной РНК негативной полярности, что означает неспособность этой цепи РНК выступать в качестве матрицы для синтеза белка. РНК имеет молекулярную массу 4,2 ? 10^6 дальтон, что соответствует длине, примерно в 19200 нуклеотидов и 1,1% массы всего вириона.

Полные нуклеотидные последовательности геномов вирусов Эбола и Марбург определены несколько лет назад российскими, германскими и американскими учеными. В плюс-цепи РНК (она комплементарна геномной РНК) выявлены семь рамок трансляции белков. Строение генома вируса Марбург приведено на рис. 3. Оно сходно со строением геномов вирусов бешенства и кори, однако, имеет некоторые особенности.

Каждый из белков филовирусов кодируется своей собственной матричной РНК. В свою очередь, эти матричные РНК считываются с минус-цепи вирионной РНК, с помощью вируспецифической РНК-полимеразы, кодируемой геном L.

Вирусные белки

Гликопротеин (GP) является единственным поверхностным белком вириона. Его тримеры образуют шипы на поверхности вириона и отвечают, по-видимому, за первичное присоединение вируса к клетке. Этот белок сильно модифицирован (в отличие от большинства аналогичных белков других вирусов) остатками олигосахаридов. Российскими исследователями недавно было выяснено, что один из участков этого белка похож по структуре и свойствам на фрагменты белков вирусов иммунодефицита человека и живот-

ных. Предполагается, что это является одной из причин необычно высокой пато-генности филовирусов.

Внутренний белок VP40 является одним из основных по содержанию в вирионе белков. Он, по всей видимости, выстилает внутреннюю поверхность липидной мембраны и связан с ней. Одновременно он является наружным белком нуклеокапсида – «вирусного ядра».

Внутренний белок VP24 также связан с липидной мембраной. Функция его неизвестна, но, по последним данным, он может играть роль при «раздевании» вируса в процессе его проникновения в клетку.

Белок нуклеопротеин (NP) имеет ярко выраженный положительный заряд и связан в вирионе непосредственно с РНК.

Внутренний белок VP30 является минорным белком вириона, функция его неизвестна.

Внутренний белок VP35, по-видимому, играет регуляторную роль при размножении вирусного генома.

Полимераза (L-белок) – самый большой по размеру белок вируса. Его функция – синтезировать матричные РНК с минус-цепи вирионной РНК, плюс-цепь вирионной РНК на матрице минус-цепи и на поздней стадии саму вирионную РНК на матрице плюс-цепи. Предполагается, что некоторые другие вирионные белки также принимают участие в этих процессах.

Диагностика

По внешним признакам, эта болезнь в начальной фазе похожа на грипп, малярию или тиф, а на более поздних стадиях – на тяжелую форму дизентерии, с которой ее и спутали вначале во время вспышки в Заире в 1995 году. Поэтому только лабораторная инструментальная диагностика может дать правильный ответ. Наиболее надежны иммунофлуоресцентный и иммуноферментный методы, основанные на выявлении вирусных белков-антигенов (в основном, белки GP и VP24) в пробе крови больного, с помощью специальным образом меченых антител: в первом случае, с помощью флуоресцентных красителей, а во втором, с помощью фермента пероксидазы. Эти методы дают возможность поставить диагноз в течение нескольких часов, с момента взятия пробы, несложны в исполнении и, кроме того, позволяют обойтись минимумом оборудования.

Профилактика

К сожалению, удовлетворительных вакцинных препаратов против этих вирусов не разработано до сих пор. Поэтому единственным способом профилактики инфекции для медперсонала является защита кожных покровов (перчатки) и органов дыхания (маски или защитные костюмы). Кроме того, все исследования этих вирусов и подобных им по опасности для человека, следует проводить в специально оборудованных помещениях и зданиях с высшим уровнем физической (P-4) и биологической (BSL-4) защиты. Такая защита включает в себя следующие основные устройства:

– система для поддержания небольшого разрежения воздуха в рабочих помещениях, по сравнению с наружной средой – это позволяет полностью исключить возможность выхода наружу зараженного в случае аварии воздуха;

– система для фильтрования всего выходящего из этих помещений воздуха, с целью очистки воздуха от всех частиц, могущих нести на себе вирусы;

– системы для обработки перегретым до 130° С паром, всех жидких и твердых отходов из рабочей зоны;

– специальные герметичные рабочие костюмы вместе с системой подачи в них кондиционированного воздуха;

– специальные рабочие шкафы для работы с вирусами;

– другие системы и устройства.

Именно так, оборудованы все исследовательские лаборатории мира, в которых ведутся работы с опасными вирусами и бактериями. Сходным образом должны быть оборудованы и лаборатории в инфекционных больницах и сами больницы. Больница в городе Киквит (Заир), где произошла последняя крупная вспышка заболевания вирусом Эбола, к сожалению, не обладала таким оборудованием, что и явилось одной из причин широкого распространения инфекции.

Нерешенные проблемы

Несмотря на двадцатилетнее изучение этих вирусов в ведущих лабораториях мира, до сих пор не удалось найти ответа на многие связанные с ними вопросы:

какие живые существа являются природными хозяевами этих вирусов?

почему возникают вспышки этих заболеваний?

каким образом и где заразились самые первые больные во время эпидемий?

почему неэффективны в случае этих вирусов вакцинные препараты, полученные по технологиям, успешно апробированным на других возбудителях?

что является причиной высокой смертности от этих вирусов?

Ответы на вопросы ученые целенаправленно ищут много лет, но ключевых результатов, до сих пор нет. Кроме того, набор довольно странных обстоятельств, сопутствовавших началу всех эпидемий в Африке, придал ореол мистики всему связанному с этими вирусами. Может быть, именно поэтому полудокументальная книга о вирусах Ричарда Престона «Горячая зона» стала бестселлером в США в 1994 году, а снятый по ее мотивам фильм «Эпидемия» – одним из лидеров видеопроката во всем мире.

Ретровирусы (семейство *Retroviridae)*

Ретровирусы – семейство *Retroviridae,* объединяющее около 150 видов однонитевых РНК-содержащих, обратнотранскрибирующихся вирусов.

Ретровирусы имеют сферическую форму, размер 80–130 нм. Вирион имеет оболочку и нуклеокапсидную сердцевину. Капсид икосаэдрический. Типичным является наличие обратной транскриптазы (РНК-зависимой ДНК-полимеразы), связанной с геномом – однонитевой плюс-РНК в виде комплекса из двух идентичных субъединиц. Вирусы содержат протеины: группового антигена (gag), полимеразный протеин (pol) и белки оболочки (env). Известно около 30 онкоантигенов.

Семейство ретровирусов включает 7 родов, приведенных в табл. 18. 3.

В патологии человека значение имеют 4 вида: ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусы Т-клеточных лейкозов (HTLV-1 и HTLV-2).

Вирус иммунодефицита человека

Еще каких-нибудь два десятка лет назад, человечество пребывало в уверенности, что инфекционные болезни больше не представляют опасности для цивилизованного мира. Однако, с появлением в начале 80-х годов синдрома приобретенного иммунного дефицита (СПИДа), эта уверенность существенно поколебалась. СПИД не является редким заболеванием, от которого могут случайно пострадать немногие люди. Ведущие специалисты определяют в настоящее время СПИД как «глобальный кризис здоровья», как первую действительно всеземную и беспрецедентную эпидемию инфекционного забо-левания, которое до сих пор по прошествии первой декады эпидемии не контролируется медициной и от него умирает каждый заразившийся человек.

СПИД, к 1991 году, был зарегистрирован во всех странах мира, кроме Албании. В самой развитой стране мира – Соединенных Штатах, уже в то время, один из каждых 100-200 человек был инфицирован, каждые 13 секунд заражается еще один житель США и к концу 1991 года СПИД в этой стране вышел на третье место по смертности, обогнав раковые заболевания. Пока что, СПИД вынуждает признать себя болезнью со смертельным исходом в 100% случаев.

Первые заболевшие СПИДом люди выявлены в 1981 году. В течении прошедшей первой декады распространение вирус-возбудителя шло преимущественно среди определенных групп населения, которые называли группами риска. Это наркоманы, проститутки, гомосексуалисты, больные врожденной гемофилией (так как, жизнь последних зависит от систематического введения препаратов из донорской крови).

Однако, к концу первой декады эпидемии в ВОЗ накопился материал, свидетельствующий о том, что СПИД вышел за пределы названных групп риска. Он вышел в основную популяцию населения.

С 1992 года началась вторая декада пандемии. Ожидают, что она будет существенно тяжелее, чем первая. В Африке, например, в ближайшие 7-10 лет 25% сельскохозяйственных ферм останутся без рабочей силы по причине вымирания от одного только СПИДа.

СПИД – разрушительная болезнь, вызываемая инфекционным агентом, относящимся к группе ретровирусов. Пугающе загадочная эпидемия только начиналась, но наука мгновенно отозвалась на нее. За два года, с 1982 по 1984 г., была выяснена общая картина болезни. Выделен возбудитель – вирус иммудефицита человека (HIV – от англ. Human Immunodeficiency Virus), разработан метод анализа крови, выявляющий наличие инфекции, установлены специфические мишени вируса в организме.

Хотя уже ясна общая картина синдрома приобретенного иммуно-дефицита и связанных с ним заболеваний, а также выявлен и иссле-дован вирус иммунодефицита человека, его происхождение остается загадкой. Есть убедительные серологические данные в пользу того, что на западном и восточном побережьях Соединенных Штатов инфекция появилась в середине 70-х годов. При этом, случаи ассоциированных со СПИДом заболеваний, известных в центральной Африке, указывают на то, что там инфекция, возможно появилась еще раньше (50-70 лет). Как бы то ни было, пока не удается удовлетворительно объяснить, откуда взялась эта инфекция. С помощью современных методов культивирования клеток, было обнаружено несколько ретровирусов человека и обезьян. Как и другие РНК-содержащие вирусы, они потенциально изменчивы; поэтому у них вполне вероятны такие перемены в спектре хозяев и вирулентности, которые могли бы объяснить появление нового патогена.

Существует несколько гипотез:

1) воздействие на ранее существующий вирус неблагоприятных факторов, экологических факторов;

2) бактериологическое оружие;

3) мутация вируса в следствии радиационного воздействия урановых залежей на предполагаемой родине инфекционного патогена – Замбии и Заире.

После первого всплеска, исследования, хотя и несколько медленнее, но устойчиво продвигались вперед. Тем не менее, в некоторых отношениях вирус перегонял науку. До сих пор, по сути, нет средств лечения или предупреждения СПИДа, а эпидемия тем временем продолжает распространяться. На многие вопросы, связанные с этой болезнью, ответа пока нет, но так же некоторые вопросы поддались успешному разрешению.

Строение и жизненный цикл вируса СПИДа

Инфекция вирусом иммунодефицита человека, вызывающим СПИД, многолика. Вначале этот вирус обычно интенсивно размножается и свободные вирионы (вирусные частицы) появляются в жидкости, заполняющей полости головного и спинного мозга, а так же в кровотоке. Первая волна репликации HIV может сопровождаться жаром, сыпью, явлениями, подобным симптомам гриппа и иногда неврологическими расстройствами. Затем на несколько недель количество вируса, циркулирующего в крови и цереброспинальной жидкости, значительно уменьшается. Тем не менее, вирус по-прежнему присутствует в организме. Его можно обнаружить, нетолько в Т-4 лимфоцитах, которые в начале считались его единственной мишенью, но и в других клетках иммунной системы, в клетках нервной системы и кишечника, а так же, по всей вероятности, в некоторых клетках спинного мозга.

Здесь имеет смысл дать краткое описание той системы организма, которую он выводит из строя, то есть системы иммунитета. Она обеспечивает в нашем теле постоянство состава белков и осуществляет борьбу с инфекцией и злокачественно перерождающимися клетками организма.

Как и всякая другая система, иммунная система имеет свои органы и клетки. Ее органы – это тимус (вилочковая железа), костный мозг, селезенка, лимфатические узлы (их иногда неправильно называют лимфатическими железами), скопление клеток в глотке, тонком кишечнике, прямой кишке. Клетками иммунной системы, являются тканевые макрофаги, моноциты и лимфоциты. Последние, в свою очередь, подразделяются на Т-лимфоциты (созревание их происходит в тимусе, откуда и их название) и В-лимфоциты (клетки, созревающие в костном мозге).

Макрофаги имеют многообразные функции, они, например, поглощают бактерии, вирусы и разрушенные клетки. В-лимфоциты вырабатывают иммуноглобулины – специфические антитела против бактериальных, вирусных и любых других антигенов – чужеродных высокомолекулярных соединениях. Макрофаги и В-лимфоциты обеспечивают гуморальный (от лат. humor – жидкость) иммунитет.

Так называемые клеточный иммунитет обеспечивают Т-лимфоциты. Их разновидность – Т-киллеры (от англ. killer – убийца) способны разрушать клетки, против которых вырабатывались антитела, либо убивать чужеродные клетки.

Сложные и многообразные реакции иммунитета, регулируются за счет еще двух разновидностей Т-лимфоцитов: Т-хелперов (помощников), обозначаемых также Т4, и Т-супрессоров (угнетателей), иначе обозначаемых как Т8. Первые стимулируют реакции клеточного иммунитета, вторые – угнетают их. В итоге, обеспечивается нейтрализация и удаление чужеродных белков антителами, разрушение проникших в организм бактерий и вирусов, а также злокачественных переродившихся клеток организма, иначе говоря, происходит гармоническое развитие иммунитета.

В общих чертах, жизненный цикл HIV, такой же, как у других вирусов этой группы. Ретровирусы получили свое название в связи с тем, что в их развитии имеется этап, на котором перенос информации происходит в направлении обратном тому, которое считается обычным, нормальным. Генетическим материалом клеток является ДНК. В ходе экспрессии генов сначала происходит транскрипция ДНК: образуется копирующая ее мРНК, которая затем служит матрицей для синтеза белков. Генетическим материалом ретровирусов служит РНК и, чтобы произошла экспрессия генов, должна появиться ДНК-копия вирусной РНК. Эта ДНК обычным путем обеспечивает синтез вирусных белков.

Жизненный цикл HIV начинается с того, что вирусная частица присоединяется снаружи к клетке и вводит внутрь нее свою сердцевину. Сердцевина вириона содержит две

идентичные цепи РНК, а так же структурные белки и ферменты, нужные на последующих стадиях жизненного цикла. Фермент – обратная транскриптаза, имеющая несколько ферментативных активностей, осуществляет этапы переноса генетической информации вируса – синтез ДНК. На первом этапе, она синтезирует одноцепочечную ДНК по РНК, затем расщепляя последнюю. Затем, синтезируется вторая цепь, используя первую, в качестве матрицы.

Генетическая информация вируса, теперь уже в форме двухцепочечной ДНК, проникает в клеточное ядро. С помощью интегразной активности того же фермента, эта ДНК встраивается в хромосомную ДНК. В таком виде, вирусная ДНК, называемая провирусом, будет воспроизводиться вместе с собственными генами при делении клетки и передаваться следующим поколениям.

Вторая часть жизненного цикла HIV – производство новых вирионов – совершается спорадически и только в некоторых зараженных клетках. Она начинается, когда т.н. длинные концевые повторы (LTR, от англ. long terminal repeat; это особые нуклеотидные последовательности на концах вирусного генома), инициируют транскрипцию вирусных генов; при этом ферменты, принадлежащие клетке-хозяину синтезируют РНК – копии провируса.

Каждая вирусная частица собирается из множества копий двух различных белковых молекул, соотношение которых составляет примерно 20:1. Структура вириона довольно проста и состоит из двух оболочек: внешней – сферической и внутренней – пулевидной. Последняя содержит в себе две цепи РНК и ферменты: обратную транскриптазу, протеиназу и интегразу. На внешней оболочке содержатся белки, молекулы которого выступают из мембраны наподобие шипов. Каждый шип образован двумя или тремя идентичными субъединицами, которые, в свою очередь, состоят из двух связанных компонентов, представляющих собой гликопротеины. Один компонент, обозначаемый gp 120 (гликопротеин с молекулярной массой 120000), выступает над поверхностью клетки, а другой – gp 41 – наподобие стержня погружен в мембрану. Эти гликопротеинные комплексы определяют способность HIV заражать новые клетки.

Хитроумно организованные генетические регуляторы определяют, начнется ли цикл репликации вируса и какова будет интенсивность размножения. Помимо трех генов, для белков сердцевины и оболочки в геноме HIV имеется по меньшей мере шесть генов. Некоторые из них, а возможно и все, регулируют производство вирусных белков: один ген обеспечивает ускорение синтеза белков в целом, другой – только определенных белков, а третий – подавление синтеза белков. Поскольку регуляторные гены сами кодируют белки, каждый из них влияет не только на структурные гены, но и на регуляторные гены, в том числе, и на самого себя.

Регуляторный ген tat (от англ. trans-activator of transcription) ответственен за вспышку репликации, которая наблюдается, к примеру, в Т-4 клетках, когда они активируются при встрече с антигеном (чужеродной молекулой, вызывающей иммунный ответ). Ген tat необычен, как по структуре, так и по своему действию. Он состоит из двух нуклеотидных последовательностей, расположенных довольно далеко друг от друга. В результате его транскрипции, образуется РНК (первичный транскрипт), которая должна подвергнуться сплайсингу (промежуточный сегмент вырезается и кодирующие последовательности соединяются), чтобы она превратилась в мРНК и по ней синтезировался белок. Влияние белка – продукта гена tat очень велико: он может повысить уровень экспрессии вирусных генов в 1000 раз, по сравнению с тем, что наблюдается у мутантов HIV, без этого гена. Стимулирующий эффект распространяется на все вирусные белки – как на структурные компоненту вирионов, так и на регуляторные белки, включая белок кодируемый самим геном tat. Благодаря такой

положительной обратной связи, как только механизм с участием гена tat активировался, очень быстро образуется огромное количество вирусных частиц.

В то время, как ген tat усиливает синтез всех вирусных белков без разбора, второй регуляторный ген, rev (от англ. regulator of virion-protein expression – регулятор экспрессии белков вириона) обладает избирательным действием, благодаря которому производятся либо регуляторные белки, либо компоненты вириона. Белок – продукт гена rev, как и в случае гена tat, кодируется разобщенными нуклеотидными последовательностями, которые соединяются в результате сплайсинга РНК. В регуляции этим белком участвуют еще две последовательности. Одна из них действует как репрессор: препятствует трансляции транскриптов, которые ее содержат. Другая последовательность взаимодействует с белком rev и снимает эффект первой последовательности.

Последовательность – репрессор, называемая CRS (от англ. cisacting repression sequence), имеется в мРНК, по которым синтезируются белки, формирующие вирионы – сердцевинные белки, ферменты репликации и белок оболочки; мРНК регуляторных белков – продуктов генов tat и самого rev – не содержат CRS. В отсутствие белка – продукта гена rev – последовательность CRS не дает накапливаться длинным мРНК, по которым синтезируются белки для вирионов. Напротив, короткие мРНК, кодирующие регуляторные белки не имеющие CRS, стабильны и транслируются.

В присутствии белка – продукта гена rev происходит «переключение». Этот белок действует на последовательность CAR (от англ. cisacting rev-responsive sequence), которая тоже содержится в длинных мРНК. При этом, нейтрализуется CRS и начинают накапливаться полноразмерные мРНК и вместо регуляторных белков синтезируются белки, из которых собираются новые вирионы. Таким образом, механизм с участием гена rev может определять переход от скрытой инфекции к активному размножению вируса.

Однако, в ходе репликации взаимодействие между механизмами rev и tat может сдерживать размножение вируса, нейтрализуя друг друга. Продукт гена tat усиливает синтез самого себя и белка гена rev, тогда как продукт гена rev, замедляет собственный синтез и синтез белка кодируемого геном tat. В результате, устанавливается своего рода гомеостаз, характеризующийся постоянными уровнями белков, кодируемых генами tat и rev, и умеренным производством вирусных частиц. Ограниченная репликация позволяет вирусу воспроизводиться годами, не убивая зараженные клетки, поэтому такой тип генетической регуляции может быть адаптивным признаком ретровирусов, хозяевами которых являются виды с долгим временем жизни. такие, как человек.

Помимо активатора (tat) и избирательного регулятора (rev) у HIV есть негативный регулятор, который замедляет транскрипцию вирусного генома. Ген негативного регуляторного фактора, обозначаемый nef (от англ. negative-regulatory factor), возможно, определяет способность HIV прекращать размножение и переходить в состояние покоя.

Последовательность, являющаяся мишенью белка – продукта гена nef, расположена в начале вирусного генома в длинном концевом повторе. Она называется негативным регуляторным элементом (NRE, от англ. negative- regulatory element). NRE подавляет транскрипцию даже сама по себе; если вирусный LTR, лишенный этой последовательности, ввести в незараженную клетку, он обеспечивает повышенный уровень транскрипции клеточных генов. Продукт гена nef усиливает эффект NRE, но каким образом он достигает этого – загадка.

Сложные механизмы регуляции размножения HIV действуют не в изоляции: они тесно связаны с метаболизмом клетки-хозяина. Начать с того, что вирус использует клеточный аппарат для транскрипции своих генов и синтеза белков. В частности, клеточные факторы явно играют роль во вспышке репликации HIV, происходящей при участии гена tat,

когда зараженная Т-клетка стимулируется антигеном. Особенности молекулярного «климата» клетки-хозяина также, вероятно, как-то влияют на скорость размножения вируса, которая различна в различных типах клетки.

Возможно, для связи клеточных и вирусных процессов имеет значение связь клеточных белков с LTR в начале вирусного генома. Последовательности в LTR определяют сайт инициации транскрипции вирусных генов – стартовую точку, в которой начинается синтез мРНК. По крайней мере, восемь белков, которые в норме участвуют в клеточной транскрипции, связываются с клеточной ДНК в сайте инициации транскрипции или рядом с ним. Они играют определенную роль в процессе транскрипции. Один из белков, который узнает инициаторные последовательности, играет специфическую роль в Т-клетках и других лимфоцитах. Этот белок активируется, когда лимфоцит стимулируется антигенами и начинает размножаться. Считается, что он способствует размножению клетки, усиливая транскрипцию. Как выяснилось, при стимуляции зараженных Т-клеток, усиливается связывание этого белка с геномом провируса. Таким образом, активация этого белка может быть одним из путей ускорения размножения HIV при стимуляции Т-клетки.

Вероятно, набор клеточных факторов, действующий на вирусный геном, варьирует в зависимости, как от условий, так и от типа клетки-хозяина. Некоторые клетки, находясь в состоянии покоя, могут просто не иметь белков, необходимых для инициализации транскрипции, так что инфекция остается скрытой. В других клетках, скорость размножения вируса может быть ограничена из-за низкой концентрации инициаторных факторов или из-за избытка белков, ингибирующих синтез мРНК. Таким образом, клетка-хозяин при помощи собственных факторов транскрипции создает молекулярное окружение, влияющее на регуляторные механизмы HIV.

После того, как в результате действия описанных выше механизмов, началось производство вирусных частиц, в игру вступает последний ген. Этот ген, названный vif (от англ. virion infectivity factor – фактор инфекционности вириона), кодирует небольшой белок, который обнаруживается в цитоплазме зараженных клеток и вокруг них в межклеточной среде, а так же в свободных вирусных частицах. Белок – продукт гена vif, каким-то образом, усиливает способность отпочковавшегося вириона заражать другие клетки. У штаммов HIV с мутациями, инактивирующими vif, вирионы имеют нормальный вид, содержат полный набор РНК и ферментов, но заражают клетки намного менее эффективно.

Этапы заражения клетки вирусом СПИДа

Первый шаг любой вирусной инфекции – связывание вирусной частицы с компонентом мембраны заражаемой клетки. Для HIV роль такого рецепторного компонента играет белок, называемый антигеном CD 4. (Антиген – это молекулярная структура, которая узнается антителом). Из этого следует, что распределение CD 4 в организме, должно соответствовать тропизму HIV, т.е. спектру клеток и тканей, поражаемых вирусом. Антиген CD 4 встречается, главным образом, на лимфоцитах, называемых Т-4 хелперами, которые являются важным элементом иммунной системы, а так же на некоторых других клетках.

Как было установлено, связывание происходит, если CD 4 взаимодействует с белком оболочки вируса gp 120, который распределен на внешней поверхности мембраны. Удалось определить специфические фрагменты молекул CD 4 и gp 120, участвующие в связывании. Эти результаты открывают возможность двойной борьбы с HIV: препятствовать взаимодействию вируса с клеточным рецептором CD 4 можно блокируя сам рецептор или экранируя вирусный белок gp 120.

Вследствие поражения клеток крови, несущих антиген CD 4, особенно Т-4 лимфоцитов, по его концентрации, можно судить о зараженности СПИДом. В клеточных культурах можно так же наблюдать еще один весьма удобный для исследования признак заражения – образование многоядерных синцитиев. Синцитий представляет собой гигантскую клетку, содержащую множество ядер внутри одной мембраны. Он формируется в результате слияния клеток, зараженных HIV, со здоровыми клетками, несущими молекулы рецептора.

Наиболее строгое доказательство такого механизма взаимодействия вируса с клеткой, стал эксперимент, проведенный в 1984 г. в Колумбийском университете США. Удалось перенести ген, кодирующий CD 4, в клетки HeLa – линию клеток раковой опухоли шейки матки. Эти клетки не содержат CD 4 и в норме не заражаются HIV, тогда как, измененные клетки HeLa, несущие CD 4, могут быть заражены HIV, после чего, они быстро сливаются в гигантские синцитии.

Этот эксперимент дал, кроме того, один неожиданный результат, который до сих пор, полностью не объяснен. Человеческий ген CD 4 был введен в мышиные Т-клетки, которые, тем самым, приобрели способность производить соответствующий белок. Частицы HIV связывались с этими измененными клетками, однако, признаков инфекции не было: не образовывался ни синцитий, ни инфекционные вирусные частицы. Это было удивительно, так как мышиные клетки вообще-то способны поддерживать размножение HIV при некоторых условиях. По всей видимости, мышиные клетки не могут быть заражены частицами HIV, даже в присутствии рецепторов HIV. К заражению мышиных клеток, оказались также неспособны некоторые родственные вирусы. Эти факты позволяют предполагать, что необходим еще какой-то компонент клеточной поверхности для того, чтобы вирус, прикрепившийся к клеточной мембране смог проникнуть внутрь клетки. Природа такого дополнительного фактора пока не ясна.

Связывание вирусного gp 120 с клеточным CD 4 – это только первый этап проникновения вируса в клетку. Последующие этапы пока менее понятны. Например, как попадает в клетку вирусный генетический материал? Простейшая и наиболее вероятная возможность состоит в том, что оболочка вириона сливается с клеточной мембраной и содержимое вирусной частицы (включая генетический материал) оказывается внутри клетки. Другой возможный путь – эндоцитоз, т.е. образование небольшого впячивания клеточной мембраны, которое затем отпочковывается внутрь, превращаясь в замкнутый мембранный пузырек. Пузырек полностью окружает вирусную частицу и переносит ее внутрь клетки. Там мембрана, образующая пузырек (теперь он называется эндосомой), закисляется. Это приводит к конформационным изменениям, слиянию ее с вирусной мембраной и освобождению содержимого вирусной частицы во внутриклеточное пространство.

Независимо от того, что на самом деле происходит – прямое слияние или эндоцитоз – вирусная мембрана должна претерпеть слияние с клеточной. Как же это осуществляется? Согласно одной из гипотез, представляющейся вполне правдоподобной, связывание gp 120 с CD 4 вызывает изменение конформации белка gp 120, вследствие чего, обнажается часть другого белка оболочки, gp 41, в норме скрытого под молекулой gp 120. Эта область gp 41 гидрофобна и потому должна внедряться в мембрану, а не оставаться снаружи, в водной среде, окру-жающей клетку. Оказавшись открытой, гидрофобная область gp 41 взаимодействует с близлежащей частью клеточной мембраны и индуцирует ее слияние с вирусной мембраной. Пока не ясно, нужен ли для связывания с gp 41 еще какой-то рецептор клеточной поверхности, помимо CD 4 или же gp 41 сам внедряется прямо в клеточную мембрану.

После того, как HIV проник в клеточную среду и его генетический материал интегрировался в клеточный геном, он может оставаться неактивным и никак себя не обнаруживать, а может и проявиться одним из трех способов.

Во-первых, вирусный геном может вызвать персистирующую инфекцию; при этом, образуется некоторое количество вирусных частиц, но клеток погибает немного. Во-вторых, инфекция может привести к образованию синцития, который вскоре гибнет. Появление синцитиев – главный результат воздействия HIV на культуру клеток. В организме зараженного человека синцитии иногда можно наблюдать на поздних стадиях инфекции *особенно, в мозге). Неясно, однако, играют ли они какую-то роль в раннем патогенезе СПИДа.

Третий вероятный результат заражения HIV – быстрая гибель клеток, без образования синцитиев. Каким образом HIV убивает клетки, пока не ясно. Возможно, какие-то из продуктов, кодируемых генами HIV, обладают прямым токсическим действием. Возможно, также разрушение клеточной мембранной системы из-за того, что внедрившийся в нее gp 120, синтезированный в результате инфекции, взаимодействует с имеющимся в мембране CD 4. Судьба зараженной клетки зависит и от иммунного ответа, поскольку иммунная система способна узнавать вирусные белки на поверхности зараженных клеток и убивать эти клетки.

Распределение зараженных HIV клеток в организме, обусловлено, главным образом, тем, как распределены клетки, несущие CD 4. Изначально этот антиген был идентифицирован по его присутствию на определенных Т-лимфоцитах. И действительно, его нормальные функции, по-видимому, в основном, связаны со сложной сетью взаимодействий между клетками иммунной системы.

Т-лимфоциты, несущие CD 4, способны взаимодействовать с клетками, представляющими антигены. Эти последние находят чужеродные антигены и экспонируют их на своей клеточной мембране, вместе со специфическими белками – гликопротеинами MHC класса II (от англ. Major Histocompatibility Complex – главный комплекс гистосовместимости). Когда Т4-хелперы узнают комбинацию антигена и гликопротеина MHC класса II, они инициируют иммунный ответ против чужеродных или зараженных клеток, несущих этот антиген. Считается, что взаимодействие между антигенами CD 4 на Т-клетках и гликопротеинами MHC класса II на клетках, представляющих антиген, важный элемент контакта этих клеток.

Как сейчас известно, Т-лимфоциты не единственные клетки со встроенным в мембрану антигеном CD 4. Не менее 40% моноцитов периферической крови (эти клетки являются предшественниками макрофагов – клеток – «мусорщиков») и некоторые клетки, представляющие антиген в лимфатических узлах, коже и других органах, а также примерно 5% всех В-клеток организма (эти клетки производят антитела), несут CD 4 и могут быть заражены HIV.

Но некоторые виды клеток, заражаются HIV в культуре, а прямо выделить в них CD 4 не удается. К ним относятся глиальные клетки головного мозга, клетки ряда злокачественных опухолей мозга, а также определенные линии клеток из раковых опухолей кишечника. Однако, хотя эти клетки и не производят CD 4 в экспериментально определимых количествах, они содержат немного информационной РНК, кодирующей белок CD 4, а значит, способны синтезировать и сам CD 4. По-видимому, для заражения HIV достаточно даже очень малого количества CD 4.

Лечение. Все испытанные противовирусные химиотерапевтические методы лечения не дают эффекта и они могут лишь облегчить течение ВИЧ-инфекции. Наиболее действенным оказалось применение ингибиторов обратной транскриптазы, действующих в активированных клетках. Такими препаратами являются производные тимидина – азидотимидин и фосфазид. Фосфазид – отечественный препарат, более эффективен и менее токсичен, чем азидотимидин. Однако, полного излечения эти препараты не дают.

Препараты, противостоящие СПИДу

Всякое терапевтическое средство против инфекции, независимо от природы патогена – будь то вирус, бактерия, грибок или простейшее – должно либо вызывать гибель патогена, либо прекращать его размножение. При этом, препарат не должен причинять существенного вреда зараженному организму. Как правило, такие лекарства выполняют свою задачу, действуя на биохимические процессы, характерные только для патогена. В случае бактерий, это достигается сравнительно просто, так как по структуре и метаболизму клетки бактерий и клетки организма млекопитающего сильно различаются. Например, пенициллин нарушает синтез клеточной стенки бактерий, а на клетки млекопитающих, у которых нет такой стенки, он не действует.

С вирусами ситуация гораздо сложнее. Вирусы представляют собой просто генетический материал, одетый в оболочку из гликопротеинов и липидов. Они не способны размножаться самостоятельно и вместо этого, заражают клетки другого организма и узурпируют их аппарат биосинтеза, который и обеспечивает воспроизведение вируса. Когда происходит активная репликация вируса, часто бывает трудно различить вирусные белки, взаимодействующие с клеткой и белки самой клетки. Тесная связь многих этапов жизненного цикла вируса с метаболизмом клетки-хозяина, затрудняет создание препаратов, которые избирательно подавляют репликацию вируса и в тоже время минимально воздействуют на клетку.

Существенно также, что практически любой препарат (в том числе, и пенициллин), обладает в той или иной степени побочным действием и токсичностью. Поэтому, всегда необходимо учитывать не только эффект воздействия на патоген, но и вред, причиняемый организму человека. Важнейшей характеристикой потенциального терапевтического препарата является его «терапевтический индекс»: отношение токсичной дозы к эффективной дозе. Однако, в случае болезней, представляющих угрозу для жизни, таких как СПИД, допустимо использовать и препараты со сравнительно низкими значениями терапевтического индекса, по меньшей мере, пока не созданы более совершенные.

Сложный жизненный цикл позволяет HIV заражать клетки иммунной системы и ускользать от их действия. Но для борьбы с инфекцией, такая сложность может быть не только бедствием, но и благом, поскольку она предоставляет много возможностей для воздействия противовирусных средств.

Первая стадия – связывание вируса с клеткой (см. выше). Существует несколько возможностей подавлять этот процесс. Можно получить антитела, которые взаимодействуют с соответствующей частью оболочки вируса и, тем самым, нейтрализуют способность gp 120 связываться с CD 4. Можно соединить такие антитела с молекулами какого-либо токсина, тогда они, связываясь с зараженными клетками, например, с макрофагами, содержащими вирус и производящими его белки, будут убивать их. Можно получить и антитела к CD 4, но этот подход потенциально опасен, потому что, такие антитела будут атаковать и здоровые клетки иммунной системы организма. Поэтому исследования направлены, главным образом, на получение антител к gp 120.

Получить эффективные антитела, нейтрализующие gp 120, по ряду причин трудно. Не все антитела против gp 120 будут блокировать ключевой участок связывания с CD 4. У больных, в организме которых в процессе нормальной реакции на инфекцию HIV образуются нейтрализующие антитела (обычно лишь в малом количестве), СПИД, тем не менее, развивается. Определенного разрешения этой проблемы пока нет. Возможно, одна из причин – высокая скорость мутирования HIV. У некоторых, возникающих в организме вариантов вируса, может быть изменен гликопротеин оболочки и он не будет нейтрализовываться имеющимися антителами. Вторая возможная причина заключается в том, что моле-

кулы сахаров, входящие в состав гликопротеина оболочки HIV, сходны с аналогичными структурами на поверхности клеток человека, поэтому на оболочке вируса недостаточно уникальных участков, которые будут распознаваться иммунной системой, как «чужие» и с которыми могли бы связываться антитела. В-третьих, в молекулах gp 120 участок связывания CD 4 расположен в углублении и потому малодоступен. Наконец, не исключено, что важные для связывания участки gp 120 открыты только в момент связывания, а большую часть времени, недоступны для иммунной системы.

Чтобы преодолеть эти трудности, применяется несколько подходов. Один – состоит в получении моноклональных антител. Для этого, нужно идентифицировать антитела, которые действительно связываются с ключевым участком вирусного белка, клонировать производящие их лимфоциты и выращивать эти клетки in vitro.

Второй подход использует антиидиотипические антитела, т.е. «антитела против идиотипа»; в данном случае, это – антитела против антител к CD 4. Идея заключается в том, что молекула моноклонального тела против CD 4, по структуре может имитировать участок связывания CD 4 в молекуле gp 120, и, поэтому антитело (антиидиотип) к этому участку должно связываться с gp 120.

Третий подход заключается в создании растворимой, т.е. не связанной с клетками формы CD 4, которая способна взаимодействовать с HIV, занимая его участки связывания и тем самым, препятствуя его связыванию с CD 4 на поверхности Т4-хелперов. В настоящее время, растворимый CD 4 был получен методами генной инженерии. Этот препарат действительно блокирует участки связывания CD 4 на оболочке HIV и подавляет заражение Т-клеток. Вероятно, вирусу трудно будет измениться таким образом, чтобы потерять сродство к CD 4, сохраняя при этом, способность заражать другие клетки.

В будущем, возможно, удастся создать «химерные» молекулы, в которых объединятся участок молекулы CD 4, взаимодействующий с HIV и константная часть молекулы иммуноглобулина человека. Такие антитела «на заказ» должны обладать рядом преимуществ. Определенные участки тяжелых цепей иммуноглобулина способны активировать другие компоненты иммунной системы, приводя к разрушению вируса. Химерная молекула действовала бы подобно полицейскому с ищейкой: часть CD 4 будет выслеживать вирус, а часть иммуноглобулина – вызывать подмогу для нападения. Кроме того, химерные молекулы могут дольше находиться в кровяном русле, чем просто растворимый CD 4, потому что определенные иммуноглобулины обладают большим временем жизни в кровотоке.

В основе рассмотренных подходов, лежит использование сложных биологических молекул, которые связываются с поверхностным глико-протеином вируса. Однако, сходным образом могут действовать и другие молекулы. Было показано, что некоторые крупные отрицательно заряженные соединения, содержащие сульфатные группы, подавляют репликацию HIV. Прототипом может послужить декстрансульфат, молекулы которого с молекулярной массой в пределах 7000–8000 дальтон подавляют репликацию HIV in vitro. Один из механизмов действия декстрансульфата, вероятно, является подавление связывания вируса. Установлено также, что это соединение in vitro мешает образованию синцитиев, чего вполне можно ожидать для агента, блокирующего связывание вируса. Однако, токсичные и эффективные дозы этого препарата пока недостаточно изучены.

Когда HIV связался с клеткой, вирусная мембрана сливается с клеточной мембраной, и содержимое вириона попадает в цитоплазму. Здесь его сердцевинные белки частично удаляются, обнажая РНК. Антитела к gp 41 могли бы предотвращать проникновение вируса в клетку. Возможны также реагенты, препятствующие процессу «раздевания» РНК.

Однако, в качестве мишени для воздействия на вирус, наибольшее внимание привлек к себе следующий этап жизненного цикла вируса – синтез вирусной ДНК обратной транс-

криптазой. Здесь видятся особые преимущества, поскольку этот этап характерен только для ретровирусов и не имеет отношения к клетке-хозяину. В поисках средств против ретровирусов с самого начала уделялось первостепенное внимание этой задаче. В частности, исследовались соединения, называемые дидезоксинуклеозидами, которые являются ингибиторами обратной транскриптазы. Это аналоги нуклеозидов, т.е. по структуре они очень близки к нуклеотидам, служащим мономерами ДНК и РНК.

Одно из таких соединений – 3"-азидо-2",3"- дидезокситимидин или азидотимидин. Он был синтезирован в 1964 г. и первоначально предназначался в качестве противоракового препарата. В 1985 г. было обнаружено, что он является мощным ингибитором размножения HIV в культуре Т-лимфоцитов в концентрациях 1–5 мкМ (0,25–1,25 мкг/мл). При этом, не наблюдалось заметной токсичности азидотимидина при концентрациях 20–50 мкМ или менее. Вскоре было показано, что азидотимидин эффективно действует у больных СПИДом при концентрации в организме 1–5 мкМ, как и предсказывалось на основании исследования в культуре Т-клеток.

Каким образом это соединение защищает клетки от HIV? Суть состоит в том, что оно близко по структуре к нуклеозиду тимидину, входящему в состав ДНК. В клетке азидотимидин подвергается ферментативному фосфорилированию: к нему присоединяется цепочка из трех фосфатных групп. Азидотимидин трифосфат и есть активная форма препарата. (Вводить в организм непосредственно азидотимидинтрифосфат нельзя, так как клетки не способны его поглощать.) Азидотимидинтрифосфат является аналогом тимидинтрифосфата – одного из мономеров ДНК. По-видимому, механизм подавления синтеза вирусной ДНК двоякий: конкурентное ингибирование и терминация синтеза цепи ДНК.

Конкурентное ингибирование состоит в том, что азидотимидин-трифосфат связывается с обратной транскриптазой в том участке, который в норме связывает обычные нуклеозидтрифосфаты. При терминации синтеза цепи ДНК обратная транскриптаза ошибочно включает азидотимидинтрифосфат в растущую цепь вирусной ДНК вместо тимидинтрифосфата, но присоединение следующего нуклеотида невозможно, потому что в молекуле азидотимидинтрифосфата нет гидроксильной группы, которая необходима для образования связи со следующим нуклеотидом. Вирус не в состоянии исправить эту ошибку и синтез ДНК прекращается.

Другие дидезоксинуклеозиды, обладающие активностью против HIV, действуют, по-видимому, таким же образом. Все эти соединения оказались эффективными против ряда ретровирусов (собственно всех, которые изучались на этот предмет), но только в форме трифосфатов. Поэтому их эффективность, как терапевтических средств определяется тем, насколько легко они проникают в клетки и фосфорилируются клеточными ферментами, называемыми киназами. Например, фосфорилирование одних дидезоксинуклеозидов происходит лучше, чем других. Так 2",3" – дидезокситимидин, который отличается от азидотимидина тем, что вместо азидогруппы (N3) имеется атом водорода, в клетках человека плохо фосфорилируется и поэтому менее эффективен против HIV, чем азидотимидин. Кроме того, процесс фосфорилирования этих соединений различается у разных видов, так что модели на животных могут быть неадекватными для предсказания эффективности конкретного дидезоксинуклеотида в организме человека.

Очень важно, может ли обратная транскриптаза вируса измениться в результате мутаций таким образом, что больше не будет ингибироваться азидотимидином. Это вопрос вовсе не праздный. Азидотимидин эффективен постольку, поскольку обратная транскриптаза HIV предпочитает азидотимидинтрифосфат тимидинтрифосфату, связывает его и включает в ДНК, в то время как ДНК-полимеразы клеток млекопитающих не обладают таким сродством к азидотимидинтрифосфату, синтез клеточной ДНК не нарушается и

клетка продолжает успешно функционировать. Не исключено, что обратная транскриптаза могла бы утратить предпочтение к азидотимидинтрифосфату.

После того, как на вирусной РНК синтезировалась цепь ДНК, начинается вторая стадия процесса обратной транскрипции – синтез второй нити ДНК, комплементарной первой. На этом этапе, также возможно действие лекарственных препаратов. Например, можно попытаться нарушить работу вирусного фермента РНКазы Н, являющегося частью обратной транскриптазы; РНКаза Н, после того, как синтезирована первая нить ДНК, расщепляет вирусную РНК, освобождая, тем самым, место для образования второй нити. Возможно, удастся блокировать и другую часть фермента – интегразу, которая, как полагают, разрезает ДНК клетки-хозяина и вставляет в разрыв ДНК вируса.

Следующее потенциально уязвимое место в цикле HIV появляется несколько позже, когда активируется клетка-хозяин. Клетка может начать синтезировать новые белки, а также делиться. Тот же процесс, который активирует клетку, может инициировать транскрипцию провируса и трансляцию с образованием вирусных белков. Существует возможность нарушить этот процесс, используя «антисмысловые олигонуклеотиды». Суть этой идеи заключается в следующем. Нужно получить олигонуклеотиды (короткие последовательности нуклеотидов), комплементарные части вирусной мРНК; мРНК – это смысловая после-довательность, поскольку она непосредственно кодирует белок, а оли-гонуклеотиды называются антисмысловыми, потому что они комплементарны мРНК. Эти нуклеотиды способны связываться с вирусной мРНК; происходят, как говорят, молекулярная гибридизация: образуется дуплекс, т.е. двухцепочечный участок молекулы, который, вероятно, препятствует движению рибосом клетки вдоль вирусных мРНК и тем самым, блокирует синтез вирусных белков. Такой механизм называется гибридизационным блоком трансляции.

В качестве лекарства олигонуклеотиды плохи тем, что многие из них могут расщепляться в клетках под действием ферментов. Правда их можно сделать устойчивыми к ферментативному расщеплению, если модифицировать определенные фосфодиэфирные связи между нуклеотидами.

В принципе возможно предотвращать образование вирусных частиц, блокируя гены или белки, которые осуществляют регуляцию репликации HIV.

Кроме того, на репликацию HIV могут влиять белки самой клетки и даже вирусы, которые случайно заразили ту же клетку. Например, было показано, что клеточный белок NF-kB, который играет роль внутриклеточного сигнала активации в некоторых лимфоцитах, способен инициировать репликацию HIV. При заражении рядом герпесвирусов в клетке образуется белок, известный под названием ICPO, который также может быть инициатором репликации HIV. Поэтому у больных, зараженных одновременно и HIV и герпесвирусом, возможно, удастся задерживать развитие СПИДа, контролируя герпесную инфекцию, например, с помощью препарата ацикловира.

В настоящее время, исследователям не стоит связывать свои надежды с каким-либо одним методом лечения или лекарственным препаратом – напротив, необходимо приложить все усилия, чтобы разработать множество различных агентов, способных атаковать HIV на различных этапах его жизненного цикла. Опыт изучения азидотимидина сослужит хорошую службу при «доведении» препаратов до стадии, когда их можно будет использовать для лечения больных. С того момента, как была обнаружена активность азидотимидина против HIV до утверждения препарата для применения в медицинской практике, прошло около двух лет. Несомненно, столь быстрый прогресс объясняется тщательными, научно обоснованными клиническими испытаниями. Трудно переоценить значение метода испытаний с контрольной группой – как для успеха будущих средств лечения СПИДа,

так и для изучения этого заболевания в целом, без чего, немыслима победа над ним.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. За рубежом и в России ведутся интенсивные работы по созданию профилактической вакцины. Некоторые образцы вакцин уже проходят клинические испытания.

В настоящее время, профилактика ВИЧ-инфекции сводится к социальным и противоэпидемическим мероприятиям, а именно: к механической защите от инфицирования с помощью презервативов, к пользованию одноразовыми шприцами, иглами, медицинскими инструментами, системами для переливания крови, к обеззараживанию материалов и медицинских препаратов из крови и т.д. Важное значение имеет своевременное обследование и выявление ВИЧ-инфицированных, в первую очередь, в организованных коллективах, борьба с проституцией, наркоманией, гомосексуализмом, безнравственностью, к правильному половому воспитанию, просветительской работе среди населения. В России действует закон, предусматривающий уголовное наказание за заведомую постановку другого лица в опасность заражения ВИЧ или умышленное заражение ВИЧ.

Вирусы Т-клеточного лейкоза. Вирусы Т-клеточного лейкоза (Human T-lymphotropic virus, HTLV) вызывают Т-клеточный лейкоз взрослых (HTLV-1) и волосато-клеточный лейкоз взрослых (HTLV-2). Эти вирусы объединяет одно свойство – они лимфотропны, в связи с чем, вызывают преимущественное поражение иммунной системы. Отсюда характер заболеваний, вызываемых вирусами Т-клеточного лейкоза, во многом сходен с ВИЧ-инфекцией. Т-клеточные лейкозы, так же как и ВИЧ-инфекция, характеризуются полиморфностью клинических проявлений, тяжестью течения (доходящей до 100% летальности), разнообразием путей инфицирования, схожестью эпидемического процесса. Однако, если ВИЧ-инфекция хорошо изучена (известны структура и биологические свойства вируса, патогенез заболеваний, разработаны методы диагностики, ведется интенсивный поиск средств лечения и специфической профилактики, тщательно изучена эпидемиология ВИЧ-инфекции), то такого нельзя сказать в отношении вирусов Т-клеточного лейкоза и заболеваний, вызываемых этими вирусами.

Болезни, вызываемые вирусами Т-клеточных лейкозов, зафиксированы в странах Северной и Южной Америки, в том числе, в США, а также в Японии, Израиле, в европейских странах (Великобритания, Голландия и др.), в странах Африки, т.е. практически на всех континентах. Зарегистрировано (по серологическим данным) распространение вирусов и среди населения России, особенно в Сибири и на Дальнем Востоке.

Новое заболевание, названное Т-клеточным лейкозом (лимфомой взрослых), было впервые описано Такаууки с соавт. в конце 70-х годов прошлого века. Более чем 20-летний период изучения заболевания показал, что число инфицированных вирусами Т-клеточного лейкоза от числа обследованных колеблется, по разным регионам и у разных исследователей, от 4 до 100%. В России систематическое направленное обследование населения на вирусы Т-клеточного лейкоза практически не проводится, что, кстати, относится и к большинству стран мира. Между тем, учитывая распространенность вирусов среди населения планеты, многообразие естественных путей передачи, тяжесть и летальный исход заболевания, отсутствие эффективных средств лечения и профилактики Т-клеточных лейкозов, эта вирусная инфекция выдвигается в число актуальных, требующих концентрации сил и средств для планомерного ее изучения, разработки (заблаговременно до перерастания этой инфекции в пандемию) мер профилактики и лечения. В противном случае, Т-клеточный лейкоз уже в ближайшее время может выйти на такой же уровень в инфекционной патологии, какой сейчас занимает ВИЧ-инфекция.

Аренавирусы (семейство Arenaviridae)

Аренавирусы – семейство РНК-содержащих безоболочечных вирусов. Свое название семейство *Arenaviridae* получило от греч. *arenosa* – песчаный (из-за рибосом в вирионе, похожих на песчинки). Семейство включает вирус лимфоцитарного хориоменингита, а также вирусы Ласса, Хунин, Мачупо, Гуанарито, вызывающие тяжелые геморрагические лихорадки (табл. 18.3).

Структура и репродукция. Вирион, имеющий сферическую или овальную форму имеет диаметр около 120 нм. Снаружи он окружен оболочкой с булавовидными гликопротеиновыми шипами GP1 и GP2. (рис. 18.11). Под оболочкой расположены 12–15 клеточных рибосом, похожих на песчинки. Капсид спиральный. Геном представлен двумя сегментами (L, S) однонитевой минус-РНК; кодируется 5 белков, в частности, L-, Z-, N-, G-белки. Вирион содержит транскриптазу (L-белок, РНК-полимераза). Репродукция – в цитоплазме; после сборки и включения в вирион рибосомоподобных частиц, происходит его почкование через плазматическую мембрану клетки.

Резистентность. Аренавирусы чувствительны к действию детергентов, УФ-, гамма-излучению и к нагреванию. Не чувствительны к замораживанию и лиофилизации.

Культивирование. Аренавирусы культивируют в курином эмбрионе, в организме грызунов и на культуре клеток, например, Vero-культуре клеток почек зеленых мартышек.

Таблица 18.3.

Характеристика семейства Arenaviridae

Род	Представители	Свойства вирусов
Arenavirus	Вирусы лимфоцитарно хориоменингита, Ласса. Вирусы комлекса Такарибе, включая вирусы Хунин, Мачупо, Гуанарито, Сабиа	Вирусы полиморфные (50-300 нм). имеют оболочку, однонитевую минус – РНК из 2 сегментов. Симметрия капсида спиральная. Содержат транскриптазу. Репродукция – в цитоплазме

Эпидемиология, патогенез и клиника. Аренавирусы относятся к **робовирусам, т.е.** распространяются с выделениями (моча, кал, слюна) грызунов, загрязняющих продукты питания, воду и воздух. Люди заражаются алиментарным путем или аэрогенным механизмом, реже контактным путем. Инкубационный период 1–2 недели. Вирусы обычно попадают через кишечный или респираторный тракты. Размножившись в регионарных лимфатических узлах, они распространяются в ретикуло-эндотелиальной системе, циркулируют в крови. В результате взаимодействия цитотоксических Т-лимфоцитов с вирусинфицированными клетками происходит разрушение ткани. При геморрагических лихорадках образуются иммунные комплексы антиген – антитело, откладывающиеся на базальных мембранах клеток. Происходят некротические изменения печени и селезенки, развиваются гломерулонефрит, миокардит и сосудистые изменения. Заболевания (в зависимости от особенностей организма и возбудителя) протекают в виде гриппоподобных проявлений или более тяжело – с развитием лихорадки, сыпи, отеков, ге-

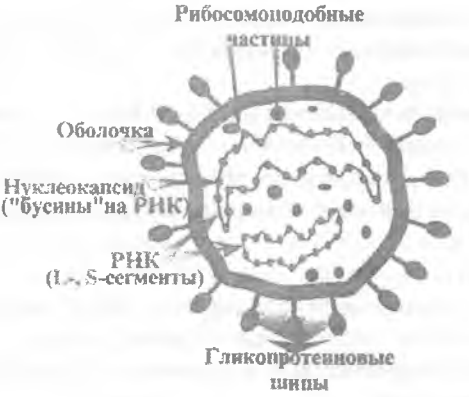


Рис. 18.16. Схема строения ареновируса.

моррагических изменений различной локализации, пневмонии, почечной недостаточности, поражений **ЦНС**.

Иммунитет. После перенесенного заболевания обычно формируется длительный иммунитет.

Вирусы лимфоцитарного хориоменингита, Ласса, Хунин, Мачупо и др.

Вирус лимфоцитарного хориоменингита вызывает лимфоцитарный хориоменингит, протекающий в виде гриппоподобного заболевания или тяжелых форм в виде серозного менингита или менингоэнцефалита с лейко-и тромбоцитопенией. Лимфоцитарный хориоменингит распространяется с выделениями домашних мышей, загрязняющих продукты питания, воду и воздух.

Вирус Ласса вызывает геморрагическую лихорадку Ласса, характеризующуюся интоксикацией, лихорадкой, геморрагическими высыпаниями, поражением ЦНС. Вирус передается от домашних многососковых крыс (Mastomys natalensis) или от человека к человеку (заболевания Либерии, США и др.). Заражение человека в природных очагах происходит респираторным, алиментарным, контактно-бытовым и парентеральным путями. Естественная восприимчивость людей высокая. Длительность постинфекционного иммунитета не установлена. Лихорадка Ласса – зооноз, имеет природно-очаговый характер. Распространена в странах Западной и Центральной Африки (в Нигерии, Сенегале, Гвинее, Заире и др.), где наблюдаются отдельные вспышки. Первая вспышка была выявлена в 1969 г. в г Ласса (Нигерия), в связи с чем, болезнь и получила свое название.

Болезнь протекает тяжело и характеризуется высокой летальностью, достигающей 50%. Инкубационный период составляет в среднем 7-8 дней. Болезнь начинается постепенно, с озноба, повышения температуры; появляются рвота, диарея, боли в животе, груди и кашель. Через неделю развивается макуло-папулезная и петехиальная сыпь на коже лица, туловища, конечностей; отмечаются кровохарканье и кишечные кровотечения.

Вирусы Хунин и Мачупо вызывают американские геморрагические лихорадки:

Вирус Хунин – возбудитель аргентинской геморрагической лихорадки; вирус Мачупо – возбудитель боливийской геморрагической лихорадки. Резервуаром этих вирусов в Южной Америке являются грызуны.

Вирус Гуанарито–новый член комплекса Такарибе, рода *Arenavirus,* выделенный в 1989 г. в Венесуэле. Вызывает венесуэльскую геморрагическую лихорадку, сопровождается токсикозом, гриппоподобными явлениями, диареей. Резервуар инфекции – дикие грызуны (хлопковые крысы и др.).

Вирус Сабиа – новый член комплекса Такарибе, рода *Arenavirus,* выделенный в 1993 г. в Бразилии. Вызывает бразильскую геморрагическую лихорадку.

Предполагают, что резервуаром инфекции являются грызуны.

Микробиологическая диагностика аренавирусных инфекций. При диагностике аренавирусных инфекций используют вирусологический и серологический методы. Вирусологический метод: вирус выделяют (из крови, отделяемого глотки, из плевральной, цереброспинальной жидкости, мочи) при заражении культуры клеток или мышей-сосунков, хомячков. Вирусы идентифицируют в РСК, РН, РИФ, ИФА; применяют ПЦР. Серологический метод: антитела в сыворотке крови выявляют в РСК, РИФ, ИФА.

Лечение и профилактика. Лечение симптоматическое. В начальном периоде возможно применение лечебных специфических иммунных сывороток или плазмы крови рекон-валесцентов. Для специфической профилактики разрабатываются живые вакцины.

Калицивирусы (семейство Caliciviridae)

Калицивирусы – семейство РНК-содержащих безоболочечных вирусов, с икосаэдрическим капсидом, имеющим чашеобразные углубления (лат. *calix* – чаша). Содержит *вирусы гастроэнтерита группы Норволк* и вирус везикулярной экзантемы свиней. В соответствии с решениями 7-го Международного Конгресса по таксономии вирусов с 1 января 2002 г. вступила в силу новая классификация, по которой вирус гепатита Е переведен из семейства *Caliciviridae* в группу гепатит Е-подобных вирусов.

Структура. Вирион безоболочечный; имеет икосаэдрический капсид с 32 чашеобразными углублениями (ямками). Форма – сферическая (диаметр 27–38 нм) с неровным профилем. На поверхности вириона различают 10 выступов, сформированных краями чашеобразных углублений. Вирионы имеют один главный полипептид и два минорных белка. Геном – линейная, однонитевая плюс-РНК. С РНК ковалентно связан небольшой полипептид (VPg).

Репродукция и сборка вирионов – в цитоплазме. Выход вирионов – при лизисе клеток.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Механизм передачи фекально-оральный. Основной путь передачи – водный и пищевой. Инкубационный период 1–2 дня. Вирусы вызывают некротические поражения эпителиоцитов тонкой кишки, боли в животе и диарею.

Микробиологическая диагностика. Применяют метод иммунной электронной микроскопии для обнаружения калицивирусов в кале.

Вирус гепатита Е

Вирус гепатита Е (НЕЛ) вызывает гепатит Е – антропонозную инфекцию с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя и преимущественным поражением печени.

НЕЛ ранее относился к семейству *Caliciviridae.* Недавно он переведен из данного семейства в группу гепатит Е-подобных вирусов. Впервые описан М. С. Балаяном и соавт. в 1983 г.

Структура. Вирион безоболочечный, сферический; диаметр 27–34 нм. Геном – однонитевая плюс-РНК, которая кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу, папаинподобную протеазу и трансмембранный белок, обеспечивающий внедрение вируса в клетку.

Эпидемиология, клиника. Источник инфекции – больные люди. Основной путь передачи – водный. Инкубационный период 2–6 недели. Заболевание сопровождается умеренным поражением печени, интоксикацией и, реже, желтухой. Прогноз благоприятный, кроме беременных, у которых заболевание может привести к летальному исходу

Иммунитет. После перенесенного заболевания стойкий.

Микробиологическая диагностика: 1) серологический метод – в сыворотке, плазме крови с помощью ИФА определяют: антитела к вирусу (анти-HEV IgM, анти-HEV IgG); 2) молекулярно-генетический метод – применяют ПЦР для определения РНК вируса (HEV RNA) в кале и в сыворотке крови больных в острой фазе инфекции.

Лечение. Симптоматическое. Беременным рекомендуется введение специфического иммуноглобулина.

Профилактика. Неспецифическая профилактика направлена на улучшение санитарно-гигиенических условий и снабжение качественной питьевой водой. Созданы неживые цельновирионные вакцины, разрабатываются рекомбинантные и живые вакцины.

18.3. ДНК-содержащие вирусы

Парвовирусы (семейство Parvoviridae)

Семейство *Parvoviridae* (лат. *parvus* – маленький) – семейство мелких безоболочечных ДНК-содержащих вирусов, состоящее их двух подсемейств: **Parvovirinae** и **Densovirinae.** Вирусы, патогенные для позвоночных входят в подсемейство *Parvovirinae,* которое включает 3 рода: *Erythrovirus, Parvovirus, Dependovirus* (табл. 18.4). Наиболее патогенный представитель – парвовирус человека B19 (возбудитель инфекционной эритемы).

Таблица 18.4.

Характеристика семейства Parvoviridae

Род	Представители	Свойства вирусов
Erythruvirus	Парвовирус человека B 19	Вирион имеет форму икосаэдра (18-26 нм в диаметре). Оболочки нет. Капсид икосаэдрический, содержит три белка и заключает *линейную однонитевую ДНК*
Parvovirus	Вирус алеутской болезни норок, вирусы грызунов	
Dependovirus	Адено-ассоциированный вирус (сателлитный вирус) людей (типы 1-5), обезьян, коров, собак	



Рис. 18.17. Схема строения парвовируса.

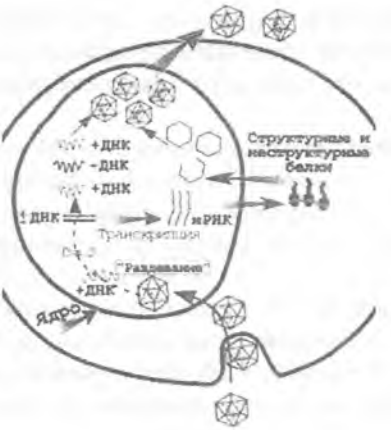


Рис 18.18. Схема репродукции парвовирусов (пояснении и тексте).

Структура парвовирусов (рис. 18.17). Парвовирусы необычайно маленькие (диаметр 18–26 нм). Вирион безоболочечный Икосаэдрический капсид заключает линейную однонитевую ДНК. Плюс- или минус-нити ДНК упакованы в отдельные вирионы. Два структурных, один неструктурный и несколько меньших белков, закодированы на плюс-нити **ДНК.**

Репродукция парвовирусов (рис. 18.18). Поглощенный парвовирус поставляет геном в ядро клетки, где однонитевая ДНК преобразуется в двунитевую ДНК клеточными факторами и ДНК-полимеразой. Двунитевая ДНК-версия вирусного генома требуется для транскрипции и репликации. Репликация происходит только в растущих клетках. Вирусные белки синтезируются в цитоплазме и затем возвращаются в ядро, где собираются вирионы. В результате, ядро и цитоплазма клетки дегенерируют. Вирусы освобождаются в результате лизиса клетки.

Резистентность. Вирусы устойчивы к действию температуры (остаются инфекционными при воздействии 60 °С в течение часа), детергентов и низким pH среды. Чувствительны к УФ-излучению.

Краткая характеристика основных представителей. Парвовирус человека B19 – возбудитель инфекционной эритемы, сопровождающейся эритематозными, пятнисто-папулезными высыпаниями. Инфицирует клетки-предшественники эритроидного ряда, поражает эритробласты и ретикулоциты, вызывает анемию и острый полиартрит. Вирус может оказывать эмбриопатическое действие. **Аденоассоциированные вирусы** не могут самостоятельно размножаться. Часто являются дефектными и репродуцируются в присутствии аденовируса-»помощника».

Микробиологическая диагностика. 1) Вирусологический метод: вирусы выделяют на быстрорастущих культурах клеток и идентифицируют их при электронной микроскопии, РИФ или с помощью молекулярных зондов. 2) Серологический метод: антитела в сыворотке больных выявляют в РСК, **РН.**

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. .

Паповавирусы (семейство Papovaviridae)

Паповавирусы (от папилломавирусы, полиомавирусы и вакуолизирующий обезьяний вирус, SV-40) – семейство *Papovaviridae* безоболочечных ДНК-содержащих вирусов; включает 2 рода: *Papillomavirus, Polyomavirus* (табл. 18.5). Недавно семейство *Papovaviridae* разделено на 2 семейства: *Polyomaviridae, Papillomaviridae*. В зависимости от клетки хозяина вирусы вызывают литические, латентные и трансформирующие инфекции. Паповавирусы человека вызывают бородавки (папилломы), несколько генотипов ассоциированы с раком у человека (например, цервикальная карцинома). JC- и BK-вирусы человека обусловливают бессимптомную инфекцию, но связаны с болезнью почек и прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией у иммуносупрессированных людей. Вирус обезьян (Simian virus, SV-40) – прототип полиомавирусов, является онкогенным вирусом.

Структура и репродукция. Представители семейств *Polyomaviridae, Papillomaviridae* – маленькие (диаметр 45–55 нм) безоболочечные вирусы с икосаэдрическим капсидом и двунитевой циркулярной ДНК. ДНК вирусов связана с гистоновым клеточным белком. Репродукция и сборка вирионов – в ядре клетки. Вирионы выходят при разрушении клетки.

Папилломавирусы человека

Папилломавирусы человека в соответствии с решениями 7-го Международного Конгресса по таксономии вирусов с 1 января 2002 г. выделены в новое семейство – *Papillomaviridae*. Папилломавирусы человека инфицируют и размножаются в сквамозном эпителии кожи, образуя доброкачественные бородавки и в слизистых оболочках, вызывая генитальные, оральные и конъюнктивальные папилломы; индуцируют пролиферацию эпителия. Папилломавирусы обладают онкогенным потенциалом (см. 18.7 «Онкогенные вирусы»). Так, папилломавирусы человека (ПВЧ-16, ПВЧ-18) вызывают цервикальные папилломы, дисплазию, рак. ПВЧ-16– самый распространенный в России высокоонкогенный тип.

Структура. Вирион папилломавируса без оболочки. Икосаэдрический капсид (диаметр 55 нм) состоит из двух структурных (капсидных) белков, формирующих 72 капсомера. Геном – двунитевая циркулярная ДНК: имеет 8 ранних– early (E1-E8) генов, в зависимости от вируса, и 2 поздних – late (L1, L2) или структурных (капсидных) генов. Различают около 120 генотипов папилломавирусов.

Репродукция. Зависит от клетки хозяина. В культуре клеток вирус не растет. Латентный вирус в форме плазмиды находится в базальном слое клеток, но репродуцируется в дифференцирующихся эпителиальных клетках кожи или слизистой оболочки. Он интенсивно размножается в поверхностных слоях (в чешуйчатых клетках).

После адсорбции, проникновения в базальную клетку, транспортировки вириона к ядру клетки и его депротеинизации происходит транскрипция ранних генов, трансляция ранних белков и начальная репликация ДНК. Затем этот процесс продолжается в вирусинфицированных супрабазальных эпителиальных клетках. По мере завершения дифференциации эпителиальной клетки, в ее ядре происходит сборка вирусных компонентов, сборка вирионов и их выход при разрушении ядра. Вирусный геном в трансформируемых клетках обычно интегрирован в геном клетки.

Эпидемиология. Вирусы передаются при микротравмах кожи и слизистых оболочек, а также половым путем. При родах вирусы передаются новорожденным.

Клиника. Более высокая заболеваемость наблюдается в возрасте от 18 до 30 лет. Папилломавирусная инфекция часто сочетается с инфекциями, передаваемыми половым путем (сифилис, гонорея, хламидиоз, генитальный герпес и др.). Папилломавирусы у женщин вызывают образование гениталь-ных бородавок в области влагалища, матки, наружного отверстия уретры. У мужчин развиваются поражения головки полового члена, крайней плоти, мошонки и ануса. Высокоонкогенными являются следующие типы папилломавирусов: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45,51,52,56,58,59,68.

Таблица. 18.5.

Характеристика семейства Papovaviridae

Род	Представители	Свойства вируса
Papillomavirus	Папилломавирусы человека, папилломавирусы кролика (Шоупа)	Вирион оболочки не имеет. Икосаэдрический капсид содержит два-три белка и заключает кольцевидную двунитевую ДНК
Polyomavirus	Полиомавирусы человека (вирусы JC и BK), Simian virus (SV-40), полиомавирус мышей, лимфотропный вирус африканских зеленых мартышек и др.	

При респираторном рецидивирующем папилломатозе развивается доброкачественное опухолевидное заболевание – распространение папиллом от полости носа до гортани и легких.

Микробиологическая диагностика. Вирусы содержатся в кератинизированных клетках папиллом, однако, не культивируются. Антитела образуются в низком титре. Для диагностики применим метод гибридизации **ДНК.**

Лечение. Этиотропная терапия не разработана. Лечение направлено на удаление экзофитных папиллом с применением хирургических и деструктивных методов (криодеструкция, лазеротерапия и др.). Возможно саморазрушение генитальных кондилом.

Полиомавирусы человека

Полиомавирусы человека в соответствии с решениями 7-го Международного Конгресса по таксономии вирусов с 1 января 2002 г. выделены в новое семейство – *Polyomaviridae*. Полиомавирусы человека широко распространены. Антитела к вирусам имеют около 75% людей. Полиомавирусы обычно не вызывают болезнь, но иногда могут поражать почки (**ВК-вирус,** выделенный из мочи человека с пересаженной почкой) или глиальные клетки (**JC-вирус,** выделенный из мозга больного прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией) у иммуносупрессированных людей. Вирус обезьян *(Simian virus,* SV-40, или ОВ-40)– прототип полиомавирусов мартышек и макак. Для человека непатогенен.

Структура и репродукция. Вирионы полиомавирусов – безоболочечные. Полиомавирусы имеют меньший размер (диаметр 45нм), чем папилломавирусы и содержат меньшее количество ДНК. Геном разделен на ранний, поздний и некодирующий регионы. Среди белков вирусов различают: ранние неструктурные белки, большой Т-антиген и малый t-антиген; поздние (капсидные) белки – VP1, VP2, VP3. Белок VP1 – главный капсидный белок. Он участвует в прикреплении вируса к клетке. При продуктивной инфекции вирус собирается в ядре и выходит при лизисе клетки. Геном полиомавирусов обычно интегрирован в геном трансформируемой клетки.

Микробиологическая диагностика. Вирусы вызывают цитопатический эффект (ЦПЭ), вакуолизируют цитоплазму (ОВ-40) культур клеток почек зеленой мартышки или плода человека, обладают бляшкообразующими свойствами .Они дифференцируются в РН. Антитела образуются в низком титре.

Аденовирусы (семейство Adenoviridae)

Семейство *Adenoviridae* включает 2 рода: *Mastadenivirus* – вирусы млекопитающих (80 видов) и *Aviadenovirus* – вирусы птиц (14 видов). Медицинское значение имеет только 1 -й род.

Впервые ДНК-геномные аденовирусы выделил в 1953 г. У. Роу и соавт. из тканей миндалин и аденоидов детей. Дальнейшие исследование показали, что из тканей лимфоглоточного кольца Пирогова–Вальдейера и из фекалий здорового человека любого возраста можно выделить аденовирусы.

Структура. Нуклеокапсид представляет собой сферические частицы диаметром 70–90 нм. Капсид состоит из 252 капсомеров, построен по икосаэдрическому типу симметрии. Внешняя оболочка отсутствует. Геном состоит из линейной двунитевой ДНК, которая, связываясь с белками, образует плотную сердцевину вируса.

Аденовирусы разделяют на 7 подгрупп на основе гомологичности их ДНК-геномов. Аденовирусный геном – это линейная двунитевая ДНК, кодирующая структурные и неструктурные полипептиды.

Репродуктивный цикл аденовирусов может привести либо к лизису клетки, либо к формированию латентной инфекции (в лимфоидных клетках). Некоторые типы аденовирусов вызывают онкогенную трансформацию (опухоли у грызунов, но не у людей).

Известно около 100 серотипов у аденовирусов млекопитающих, из которых 49 серотипов, являются патогенными для человека.

Эпидемиология. Аденовирусные инфекции достаточно распространены среди людей, $^{3}/_{4}$ которых составляют дети до 14 лет. Источником инфекции являются больные люди с острой или латентной аденовирусной инфекцией. Механизмы распространения – респираторный и контактный. «Кишечные» аденовирусы имеют фекально-оральный механизм передачи.

Во внешней среде аденовирусы более устойчивы, чем большинство других вирусов человека. Они выдерживают прогревание до 50 °С; два месяца сохраняют активность при 4 °С, сохраняются в замороженном состоянии и при лиофилизации; устойчивы при pH 5,0–9,0.

Заболеваемость имеет осенне-зимнюю сезонность. Отмечаются вспышки и спорадическая заболеваемость.

Патогенез. После инкубации (4–5 суток), в течение которой вирус размножается в чувствительных тканях, начинает появляться симптоматика.

Первичная репродукция аденовирусов происходит в эпителиальных клетках слизистой оболочки дыхательных путей и кишечника, в конъюнктиве глаза и в лимфоидной ткани (миндалины и мезентериальные узлы).

После появления первых симптомов отмечается короткая вирусемия. По типу поражений чувствительных клеток различают 3 типа инфекций:

1. Продуктивная инфекция – сопровождается гибелью клетки после выхода из нее следующей популяции вирионов (до 1 млн вирионов). Однако, инфекционностью обладают лишь 1–5% вирионов. Для некоторых хозяев бывает более низкий выход вирионов (низкопродуктивная инфекция), особенно при заражении малочувствительных клеток, либо полное отсутствие выхода вирионов из клетки (абортивная инфекция).

2. Персистирующая инфекция – бывает при замедленной скорости репродукции вируса, что позволяет клетки исправлять повреждения, наносимые вирусом, а тканям – восполнять убыль инфицированных (погибших) клеток за счет деления неинфицированных клеток. Такая форма инфекции протекает хронически, бессимптомно.

3. Трансформирующая инфекция – возникает при заражении новорожденных мышей, крыс, хомяков аденовирусами человека. У них возникают опухоли. По способности к трансформированию аденовирусы человека можно разделить на 6 групп (B–G); вирусы группы А вызывают опухоли у хомяков. Вирусы подгруппы В (серотипы 3, 7, 11, 14, 21) и подгруппы Е (серотип 4) вызывают острые циклические инфекции; вирусы подгруппы С (серотипы 1, 2, 5, 6) вызывают более легкие поражения, но имеют тенденцию к длительной персистенции в миндалинах, в брыжеечных лимфоузлах.

Клиника аденовирусных инфекций весьма разнообразна (табл. 18.6)

Чаще всего, регистрируются ОРВИ, протекающие, как гриппоподобные заболевания с осенне-зимней сезонностью. Фарингоконъюнктивиты чаще наблюдают у детей раннего возраста. Максимум заболеваний приходится на теплое время года, так как заболеваемость связана с купанием в естественных и искусственных водоемах.

Эпидемические кератоконъюнктивиты связаны с инфицированием роговицы при травмах или медицинских вмешательствах. Возможны тяжелые воспаления роговицы с потерей зрения.

Нижние отделы дыхательных путей аденовирусной этиологии у маленьких детей, нередко напоминает инфекции, вызываемые вирусом парагриппа серотипа 3 и РС-вирусом. Наиболее тяжелые поражения вызывают аденовирусы серотипов 1, 2, 5. Возможны также тяжелые инфекции (пневмонии) среди организованных коллективов, например, детских, в

среде военнослужащих, особенно, новобранцев. Наиболее тяжело протекает аденовирусная инфекция у больных с иммунодефицитами (энцефалиты).

У детей младшего возраста наблюдаются гастроэнтериты, вызванные аденовирусами серотипа 38. Иногда аденовирусы вторично инфицируют лимфатический аппарат кишечника, что вызывает инвагинацию кишечника с последующей непроходимостью последнего.

К редким аденовирусным инфекциям относятся менингоэнцефалиты и геморрагические циститы (у детей старшего возраста).

Таблица 18.6.

Основные клинические формы инфекции, вызываемые аденовирусами

Поражения	Серотипы
Инфекции нижних отделов дыхательных путей (пневмонии, бронхиты)	1, 2, 3, 5, 6, 7, 21
Фарингоконъюнктивиты	1, 2, 3, 4, 6, 7, 14
Острые респираторные инфекции	3, 4, 7
Гастроэнтериты	2, 3, 5, 40, 41
Поражения тонкого кишечника	12
Конъюнктивиты	2, 3, 5, 7, 19, 21
Эпидемические кератоконъюктивиты	8, 19, 37
Геморрагические циститы	11, 21
Менингоэнцефалиты	2, 6, 7, 12, 32
Дессеминированные поражения	5, 34, 35, 39
Цервициты и уретриты	37

Иммунитет. Перенесенное заболевание оставляет непродолжительный типоспецифический иммунитет, который носит клеточно-гуморальный характер.

Микробиологическая диагностика. Возможно выделение аденовирусов на культуре клеток человека (эпителиальных). Исследуемый материал: отделяемое носоглотки, зева, конъюнктивы, фекалии и др. в зависимости от клинической формы болезни. Для идентификации вирусов используют РИФ, ИФА, РИА, РСК, РТГА, РН.

Лечение и профилактика. Лечение симптоматическое. Применяются интерферон, дезоксирибонуклеаза, глазные мази с теброфеном, оксолином и другие противовирусные препараты.

Разработаны живые и убитые вакцины, не получившие, однако, практического применения из-за онкогенных свойств аденовирусов.

Гепаднавирусы (семейство Hepadnaviridae, вирус гепатита В)

Гепаднавирусы (семейство *Hepadnaviridae*) относятся к обратно транскрибирующимся ДНК-содержащим вирусам; включают вирус гепатита В (ВГВ).

Гепатит В – антропонозная инфекция, преимущественно с парентеральным механизмом заражения, которая может протекать в форме вирусного носительства, острой и хронической форм и характеризуется поражением печени, с возможным развитием острой печеночной недостаточности, хронического гепатита, цирроза печени и первичного рака печени (гепатоцеллюлярной карциномы).

Таксономия. ВГВ относится к семейству *Hepadnaviridae* роду *Orthohepadnavirus*. Впервые был обнаружен под электронным микроскопом в 1970 г. Дейном, получив название «частица Дейна».

Морфология ВГВ является сложноорганизо-ванным ДНК-содержащим вирусом сферической формы (диаметр 42–47 нм). Он состоит из сердцевины, построенной по кубическому типу симметрии, состоящей из 180 белковых частиц, составляющих сердцевинный HBe-антиген, диаметром 28 нм, и липидсодержащей оболочки, содержащей поверхностный HBs-антиген. Внутри сердцевины находятся ДНК, фермент ДНК-полимераза, обладающая ревертазной активностью и концевой белок HBe-антиген.

Геном представлен двунитевой ДНК кольцевой формы, с молекулярной массой 1,6х10 Да, у которой плюс-цепь укорочена на $^1/_4$ длины. Полноценная минус-цепь ковалентно связана с ДНК-полимеразой, которая достраивает плюс-цепь до полноценной структуры. Геном записан на минус-цепи и состоит из 4 генов-транскриптов: P, C, S, X, кодирующих структурные белки и полимеразу.

Культуральные свойства. ВГВ не культивируется на куриных эмбрионах, не обладает гемолитической и гемагглютинирующей активностью. ВГВ культивируется только в культуре клеток, полученной из ткани первичного рака печени, в виде персистирующей инфекции, без оказания цитопатического эффекта и с малым накоплением вирионов. К вирусу чувствительны приматы: шимпанзе, горилла, орангутанг, которые используются в качестве экспериментальной модели.

Резистентность. ВГВ отличается высокой устойчивостью к факторам окружающей среды и дезинфицирующим веществам. Температуру –20 °С выдерживает более 10 лет. При нагревании до 100 °С в течение 5 мин сохраняет инфекционную активность. Термоустойчивость вируса повышается, если он находится в крови, т.е. защищен белками крови. Вирус устойчив к длительному воздействию кислой среды (pH 2,3), УФ-излучению, действию спирта, фенола. Чувствителен к действию формалина, эфира, хлорамина.

Антигенная структура. ВГВ обладает сложной антигенной структурой. В суперкапсиде вируса находится HBs-антиген, который локализован в гидрофильном слое на поверхности вириона. В формировании HBs-анти-гена участвуют 3 полипептида в гликозилированной форме:

preS1 – большой полипептид;

preS2 – средний полипептид;

S - малый мажорный полипептид.

Белки оболочки различаются по антигенной специфичности. Существует 4 антигенных фенотипа вируса (ayr, ayw, adr, adw), которые распространены в различных географических зонах.

HBs-антиген обнаруживается в крови, не только в составе вирионов, но и в виде самостоятельных фрагментов. Впервые HBs-антиген был обнаружен и описан Б. Блумбергом, 1963 г. в крови австралийских аборигенов, поэтому получил название «австралийского антигена». Присутствие HBs-антигена в крови свидетельствует об инфицированности организма ВГВ.

Сердцевинный HBc-антиген никогда не обнаруживается в свободном состоянии в крови.

Его можно обнаружить в зараженных вирусом гепатоцитах.

HBe-антиген также является сердцевинным антигеном, производным HBc-антигена. Появление HBe-антигена в крови, связано с репликацией вируса в гепатоцитах.

HBx-антиген – трансактиватор, является еще одним антигеном ВГВ, накопление которого связывается с развитием первичного рака печени.

Эпидемиология. ВГВ повсеместно распространен среди населения земного шара. Восприимчивость людей к ВГВ высокая. Наиболее восприимчивы дети первого года жизни. Для инфицирования достаточно 0,0001 мл инфицированной крови. Основным резервуаром ВГВ и источником инфекции являются вирусоносители, общее число которых в мире значительно превышает 400 млн. Источником инфекции являются также больные острой и хронической формами гепатита В. Особенно опасны лица с HBe-антигеном в крови. Ежегодно в мире от патологий, связанных с гепатитом В, умирает около 2 млн человек.

Развитие инфекционного процесса наступает при попадании ВГВ в кровь. Заражение происходит при парентеральных манипуляциях (инъекциях, хирургических вмешательствах, трансплантации органов, искусственном оплодотворении, стоматологических и гинекологических манипуляциях, нанесении татуировок), переливании крови и при введении препаратов из крови. Часто заражение происходит также при половых контактах, через микротравмы в быту и, вероятно, трансмиссивно через клопов. ВГВ передается трансплацентарно от матери плоду и при прохождении плода через родовые пути. Риск заражения ребенка от матери – носителя ВГВ составляет, 60%, а в случае свежего заболевания матери – 90%. ВГВ у всех инфицированных лиц находится во всех биологических жидкостях: крови, слюне, моче, сперме, влагалищном секрете, синовиальной жидкости, цереброспинальной жидкости, грудном молоке. В крови ВГВ появляется за 2–3 месяца до наступления симптомов поражения печени и хранится до 5 лет после клинического выздоровления.

Патогенез и клиника заболевания. Инкубационный период 3–6 месяцев. Инфекционный процесс наступает после проникновения вируса в кровь. ВГВ из крови эндоцитозом проникает в гепатоцит, видимо, при посредничестве сывороточного альбумина, рецепторы к которому обнаружены как на pre82-антигене ВГВ, так и на гепатоцитах. После проникновения вируса в гепатоцит происходит достраивание плюс-нити ДНК ДНК-полимеразой до полноценной структуры, после чего, возможно развитие двух типов вирусной инфекции: интегративной и продуктивной.

Интегративная инфекция сопровождается интеграцией кольцевой ДНК вируса в хромосому гепатоцита с образованием провируса. При этом наблюдается синтез HBs-антигена. Клинически это проявляется вирусоно-сительством, показателем которого является обнаружение в крови HBs-антигена. У носителей ВГВ ДНК вируса может быть обнаружена встроенной, помимо ДНК гепатоцитов, в ДНК клеток поджелудочной железы. Следствием вирусоносительства может быть развитие первичного рака печени, при этом в крови начинает определяться HBx-антиген. Предполагается, что HBx-антиген связывает белок p53, который выполняет функцию супрессора опухолевого роста, регулируя процессы клеточного деления.

В процессе продуктивной инфекции происходит формирование новых вирусных частиц. Клинически это проявляется активным инфекционным процессом в виде острого или хронического гепатита, маркером которых служит появление в крови анти-HBc-IgM антител. Репликация ВГВ протекает в цитоплазме. Процесс репликации у ВГВ сложный. Считается, что на матрице минус-цепи двухцепочечной вирусной ДНК клеточной РНК-полимеразой синтезируются две РНК: мРНК и прегеномная РНК. мРНК транслируется на клеточных рибосомах, в результате чего, синтезируется ДНК-полимераза вируса, которая за счет своей ревертазной активности на матрице прегеномной **РНК** синтезирует полноценную минус-цепь вирусной ДНК, которая в дальнейшем, служит матрицей для

синтеза -/, плюс-цепи ДНК. Маркером репликации вируса является появление в крови HBe-антигена. Особенностью продуктивной вирусной инфекции при гепатите В является то, что ВГВ сам не обладает цитолитическим эффектом и не разрушает гепатоцит. Повреждение опосредуется CD8 Т-лимфоцитами, которые взаимодействуют с HBc-антигеном, накопившимся на поверхности зараженных гепатоцитов и вызывают цитолитическую реакцию.

Клиническая картина характеризуется симптомами поражения печени, в большинстве случаев, сопровождается развитием желтухи. Возможны и безжелтушные формы. В 1% случаев, возникают молниеносные формы, обычно со смертельным исходом. Острый гепатит в 5–10% случаев, переходит в хроническое течение, с развитием цирроза и пожизненного носительства ВГВ. Вероятность возникновения пожизненного носительства ВГВ особенно велика в 50–90% случаев у детей первого года жизни, заразившихся от матерей.

Иммунитет. Гуморальный иммунитет, представленный, главным образом, антителами к HBs-антигену, которые образуются, как в процессе активной вирусной инфекции, так и у носителей, защищает гепатоциты от вируса, элиминируя его из крови.

Клеточный иммунитет, в формировании которого основная роль принадлежит HBc-антигену, освобождает организм от инфицированных гепатоцитов благодаря цитолитической функции Т-киллеров (CD8 Т-лимфоцитов), а выделяемые ими цитокины вызывают угнетение репликации вируса. Переход острой формы в хроническую обеспечивается нарушением Т-клеточного иммунитета, а также дефектами образования осинтерферона и ИЛ-1. Сероконверсия, характеризующаяся исчезновением из крови HBe-антигена и появлением антител к нему, имеет положительное прогностическое значение, так как коррелирует с активацией Т-клеточного (CD 4) иммунного ответа. У лиц, с хроническим персистирующим гепатитом В отсутствует выраженный Т-клеточный (CD 4) иммунный ответ.

Микробиологическая диагностика. Используют серологический метод и ПЦР Методами ИФА и РНГА в крови определяют маркеры гепатита В: антигены (HBs и HBe) и антитела (анти-HBc-IgM, анти-HBc-IgG, анти-HBs, анти-HBe-IgM). ПЦР определяют наличие вирусной ДНК в крови и биоптатах печени. Для острого гепатита в преджелтушном и начальной стадии желтушного периода, характерно обнаружение HBs антигена, HBe антигена и анти-HBc-IgM антитела; В период реконвалесценции – анти-HBe-IgM, анти-HBc-IgG, анти-HBs антител.

Лечение. Использование интерферона, интерфероногенов: виферона, амиксина, ингибитора ДНК-полимеразы, препарата аденинрибонозида.

Профилактика. Важнейшей и наиболее эффективной мерой профилактики гепатита В является исключение попадания вируса при парентеральных манипуляциях и переливаниях крови. Это достигается: а) применением одноразовых шприцев, систем переливания крови, инструментов с последующим, после их использования, регламентированным сбором и уничтожением; б) надежной стерилизацией инструментов в централизованных пунктах; в) проверкой на гепатит В по наличию HBs-антигена в крови доноров крови, органов и тканей, используемых для трансплантации и искусственного обсеменения; г) учетом всех вирусоносителей в диспансерах и лечением больных гепатитом В в специализированных отделениях инфекционных больниц; д) обязательной работой персонала, имеющего дело с кровью, в перчатках. Группу высокого риска заражения гепатитом В составляют хирурги, гинекологи, акушеры, стоматологи, манипуляционные сестры, сотрудники отделений переливания крови, гемодиализа, сотрудники лаборато-

рий и лица, занятые в производстве иммунобиологических препаратов из донорской и плацентарной крови.

Для предотвращения передачи гепатита В половым путем, принимают все те же меры, что при ВИЧ-инфекции.

Специфическая профилактика осуществляется вакцинацией рекомбинантной генно-инженерной вакциной, содержащей HBs-антиген. Вакцинации подлежат все новорожденные в первые 24 часа жизни, далее – по календарю прививок – через 1 месяц и в 5–6 месяцев или по схеме: 4–5 месяцев, 5–6 месяцев, 12–13 месяцев жизни ребенка. Среди взрослого населения трехкратной вакцинации подвергаются лица, относящиеся к группе высокого риска заражения гепатитом В. Длительность поствакцинального иммунитета – не менее 7 лет.

Герпесвирусы (семейство Herpesviridae)

Герпесвирусы (семейство *Herpesviridae*) – крупные оболочечные ДНК-содержащие вирусы, вызывающие разнообразные инфекции.

Выделены следующие популяции вирусов герпеса (от греч. *herpes* – ползучий):

1. Вирус простого герпеса – **ВПГ** тип 1 (Herpes simplex virus тип 1 – **HSV-1)** или герпесвирус человека ГВЧ-1

2. Вирус простого герпеса – **ВПГ** тип 2 (Herpes simplex virus тип 2 – **HSV-2)** или герпесвирус человека ГВЧ-2

3. Вирус ветряной оспы – опоясывающего герпеса (Varicella-zoster virus – **VZV)** или герпесвирус человека ГВЧ-3.

4. Вирус Эпштейна–Барр – **ВЭБ** (Epstein– Barr virus, EBV), или герпесвирус человека ГВЧ-4.

5. Цитомегаловирус – **ЦМВ** или герпесвирус человека ГВЧ-5.

6. Герпесвирус человека тип 6 – **ГВЧ-6** (Human herpesvirus – HHV6) или герпес вирус человека ГВЧ-6.

7. Герпесвирус человека тип 7 – ГВЧ-7 (Human herpesvirus – HHV7).

8. Герпесвирус человека тип 8 – **ГВЧ-8** (Human herpesvirus – HHV8).

Семейство *Herpesviridae* включает 3 подсемейства, отличающихся по структуре генома, тканевому тропизму, цитопатологии и локализации латентной инфекции (табл. 18. 8):

I. Подсемейство *Alphaherpesvirinae* – вирусы герпеса **(ВПГ-1, ВПГ-2, VZV).** Для этой группы характерен быстрый рост. Вирусы размножаются в эпителиальных клетках, вызывая цитолитическое действие. В нейронах вызывают латентную, персистирующую инфекцию.

II. Подсемейство *Betaherpesvirinae* – вирусы герпеса **(ЦМВ, ГВЧ-6, ГВЧ-7).** Для этой группы характерен медленный рост (латентная инфекция) в клетках эпителия слюнных желез, в гландах, почках, лимфоцитах. Вирусы оказывают цитомегалическое действие (ЦМВ) и лимфопролиферативное действие.

III. Подсемейство *Gammaherpesvirinae.* Вирусы **(ВЭБ)** растут в лимфобластоидных клетках, оказывают лимфопролиферативное действие. Вызывают латентную инфекцию в лимфоидной ткани, лимфоцитах, эпителиальных клетках рта и глотки, слюнных желез. **ВЭБ** вызывает размножение В-лимфоцитов и персистирует в них.

Таблица 18.7.

Характеристика герпесвирусов человека (семейство Herpesviridae)

Подсемейство	Название вируса (общепринятое и официальное)		Цитопатология	Латентная инфекция	Заболевание
Alphaherpesvirinae*	Herpes simplex тип 1 (Вирус простого герпеса)	ГВЧ-1	Цитолизэпителия	В нейронах	Оральный герпес, энцефалит
	Herpes simplex тип 2 (Вирус простого герпеса)	ГВЧ-2			Генитальный герпес, менингоэнцефалит
	Varicella-zoster virus (Вирус ветряной оспы – опоясывающего герпеса)	ГВЧ-3			Ветряная оспа, опоясывающий герпес (лишай)
Betaherpesvirinae	Цитомегаловирус	ГВЧ-5	Цитомегалия	В моноцитах, лимфоцитах	Цитомегалия, рак предстательной железы?
	Herpes lymphotropic virus	ГВЧ-6		В Т-клетках	Экзантема младенцев (до 2 лет), синдром хронической усталости
	Герпесвирус человека типа 7	ГВЧ-7			
Gamaherpesvirinae	Вирус Эпштейна–Барр	ГВЧ-4	Лимфопролиферативное действие	В лимф. ткани, В-клетках	Инфекционный мононуклеоз, лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома
	Герпесвирус человека типа 8	ГВЧ-8		В лимф. ткани	Саркома Капоши?

Подсемейство включает также **В вирус** обезьян Старого Света, вызывающий летальное неврологическое поражение.

Морфология. Вирион герпесвируса (см. рис. 2. 15а и 18. 15) имеет овальную форму, диаметр 150–200 нм. В центральной части вириона находится ДНК, окруженная икосаэдрическим **капсидом,** состоящим из 162 капсомеров. Снаружи вирус окружает **оболочка с гликопротеиновыми шипами,** сформированными из внутреннего слоя ядерной мембраны клетки. Пространство между капсидом и оболочкой называется **тегумент** (содержит вирусные белки и ферменты, необходимые для инициации репликации). **Геном – двунитевая линейная ДНК.** Она состоит: у **ВПГ** и **ЦМВ** – из двух фрагментов (короткого S и длинного L), каждый из которых у ВПГ заключен между двумя наборами инвертированных повторов, позволяющих геному рекомбинировать с образованием 4 изомеров; у **VZV** – также из двух фрагментов (короткого S и длинного L), но содержит один набор инвертированных повторов, поэтому формируются две изомерные формы. **Репродукция** (рис. 18.19). После

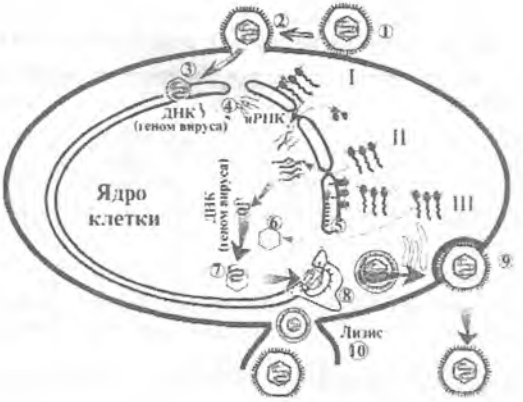


Рис. 18.19. Схема репродукции герпевирусов.

прикрепления к рецепторам клетки оболочка вириона сливается с клеточной мембраной (*1, 2*). Освободившийся нуклеокапсид *(3)* доставляет в ядро клетки ДНК вируса. Далее происходит транскрипция части вирусного генома (с помощью клеточной ДНК – зависимой РНК-по-лимеразы); образовавшиеся иРНК *(4)* проникают в цитоплазму где происходит синтез (трансляция) самых ранних **альфа-белков (I),** обладающих регулирующей активностью. Затем синтезируются ранние **/-бета-белки (II) –** ферменты, включая ДНК-зависимую ДНК-полимеразу и тимидинкиназу, участвующие в репликации геномной ДНК вируса. Поздние **гамма-белки (III)** являются структурными белками, включая капсид и гликопротеины (A, B,C, D, E, F, G, X) вируса. Гликопротеины диффузно прилегают к ядерной оболочке (5). Формирующийся капсид (6) заполняется вирусной ДНК и почкуется через модифицированные мембраны ядерной оболочки *(8)*. Перемещаясь через аппарат Гольджи, вирионы транспортируются через цитоплазму и выходят из клетки путем экзоцитоза *(9)* или лизиса клетки (*10*).

Вирусы простого герпеса

ВПГ вызывает герпетическую инфекцию или простой герпес, характеризующийся вези-кулезными высыпаниями на коже, слизистых оболочках, поражением ЦНС и внутренних органов, а также пожизненным носительством и рецидивами болезни.

Вирус простого герпеса включает два типа: **ВПГ-1** и **ВПГ-2;** распространен повсеместно, поражает большую часть населения земли и существует в организме в латентной форме до момента реактивации. **ВПГ-1** поражает преимущественно область рта, глаз, ЦНС: **ВПГ-2** – гениталии, за что и получил название генитального штамма.

Таксономия. ВПГ относится к семейству *Herpesviridae* роду *Simplexvirus.* Открыт У. Грютером в 1912 г.

Структура. Структура ВПГ (рис. 18.20) сходна с другими герпесвирусами. Геном ВПГ кодирует около 80 белков, необходимых для репродукции вируса и взаимодействия последнего с клетками организма и иммунным ответом. ВПГ кодирует 11 гликопротеинов, являющихся прикрепительными белками (gB, gC, gD, gH), белками слияния (gB), структурными белками, иммунными белками «уклонения» (gC, gE, gI) и др. Например, С3-компонент комплемента связывается с gC, а Fc-фрагмент IgG – с gE/gI-комплексом, маскируя вирус и вирусинфицированные клетки. Существуют гликопротеины, имеющие общие антигенные детерминанты (gB и gD) для ВПГ-1 иВПГ-2.

Репродукция. ВПГ может инфицировать большинство типов клеток человека и клеток других видов. Вирус вызывает литические инфекции фибробластов, эпителиальных клеток и латентные инфекции нейронов.

Культивирование. Для культивирования вируса применяют куриный эмбрион (на хорионаллантоисной оболочке образуются мелкие плотные бляшки) и культуру клеток, на которой он вызывает цитопатический эффект в виде появления гигантских многоядерных клеток с внутриядерными включениями. Вирус патогенен для многих животных. При экспериментальном заражении кроликов в роговицу глаза ВПГ вызывает кератит, при введении в мозг – энцефалит. В естественных условиях животные не болеют.

Резистентность. Вирус нестоек, погибает через несколько часов на поверхности предметов обихода, чувствителен к солнечным и УФ-лучам, жирорастворителям, детергентам. Сохраняется в течение месяца при температуре 4 °С.

Эпидемиология. Заболевания герпесом широко распространены в виде спорадических случаев и небольших вспышек в детских коллективах, больницах. У 80–90% взрослых людей обнаруживаются антитела к ВПГ. Источник инфекции – больной или вирусоноситель.

ВПГ-1 и ВПГ-2 передаются преимущественно контактным путем (с везикулярной жидкостью, при поцелуях – со слюной, половых контактах – с влагалищными секретами), через предметы обихода, реже – воздушно-капельным путем, через плаценту, при рождении ребенка. Возможна реактивация вируса при снижении иммунитета (рецидивирующий герпес). Начальное инфицирование ВПГ-2 происходит в жизни позже, чем инфицирование ВПГ-1 и коррелирует с возрастанием половой активности.

Оба типа вирусов могут вызывать оральный и генитальный герпес. ВПГ-1 чаще поражает слизистые оболочки ротовой полости и глотки, вызывает энцефалиты, а ВПГ-2 – гениталии (генитальный герпес).

Патогенез. Различают первичный и рецидивирующий простой герпес. Чаще вирус вызывает бессимптомную или латентную инфекцию.

Первичная инфекция. Везикула – типичное проявление простого герпеса с дегенерацией эпителиальных клеток. Основу везикулы составляют многоядерные клетки (иногда называемые Тцанк-клетками, выявляемые в препаратах, окрашенных по Гимзе). Пораженные ядра клеток содержат эозинофильные включения (тельца Каудри). Верхушка везикулы через некоторое время вскрывается и формируется язвочка, которая вскоре покрывается струпом с образованием корочки с последующим заживлением.

Минуя входные ворота эпителия, вирусы проходят через чувствительные нервные окончания с дальнейшим передвижением нуклеокапсидов вдоль аксона к телу нейрона в чувствительных ганглиях. Репродукция вируса в нейроне заканчивается его гибелью. Некоторые вирусы герпеса, достигая ганглионарных клеток, способны приводить к развитию латентной инфекции, при которой нейроны не гибнут, но содержат в себе вирусный геном. Большинство людей (70–90%) являются пожизненными носителями вируса, который сохраняется в ганглиях, вызывая в нейронах латентную персистирующую инфекцию.

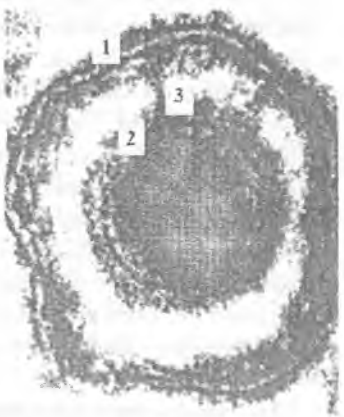


Рис. 18.20. Электронограмма ультратонкого среза ВПГ: 1-вирусная оболочка; 2-капсид. 3-сегмент (по А. Ф. Быковскому).

Латентная инфекция чувствительных нейронов является характерной особенностью нейротропных герпесви-

русов ВПГ и VZV. Наиболее изучена латентная инфекция, вызванная ВПГ-1. В латентно инфицированных нейронах около 1% клеток в пораженном ганглии несет вирусный геном. При этом, вирусная ДНК существует в виде свободных циркулярных эписом (около 20 копий в клетке). ВПГ-1 обнаруживается в тригеминальных и других ганглиях, а ВПГ-2 – в сакральных ганглиях.

Реактивация герпесвирусов и обострение (рецидив) вызываются различными факторами (переохлаждение, лихорадка, травма, стресс, сопутствующие заболевания, действие УФ и др.), снижающими иммунитет. Интервал между действием этих факторов и проявлением клинических симптомов, составляет 2–5 дней. Предполагают, что ДНК герпесвирусов проходит по аксону обратно к нервному окончанию, где и может происходить развитие инфекции с репродукцией вируса в эпителиальных клетках.

Клиника. Инкубационный период 2–12 дней. Болезнь начинается с возникновения на пораженных участках зуда, появления отека и пузырьков, заполненных жидкостью. В месте образования везикулы пациенты ощущают сильную, жгучую боль. После подсыхания пузырьков и отторжения корочек рубцы не образуются. ВПГ поражает кожу (везикулы, экзема), слизистые оболочки рта, глотки (стоматит) и кишечника, печень (гепатиты), глаза (кератит и др.) и ЦНС (энцефалит, менингоэнцефалит). Рецидивирующий герпес обусловлен реактивацией вируса, сохранившегося в ганглиях. Он характеризуется повторными высыпаниями и поражением органов и тканей.

Генитальная инфекция является результатом аутоинокуляции из других пораженных участков тела; но наиболее часто встречающийся путь заражения – половой, включая урогенитальные контакты. Поражение проявляется в образовании везикулы, которая довольно быстро изъязвляется. Чаще поражаются у мужчин головка и тело полового члена, а у женщин – половые губы и вагина, возможно также распространение процесса и на шейку матки. Считают, что ВПГ-2 может вызвать рак шейки матки.

Вирус простого герпеса, в основном ВПГ-2, проникает во время прохождения новорожденного через родовые пути матери, вызывая *неонатальный герпес (герпес новорожденных)*. Неонатальный герпес обнаруживается на 6-й день после родов, т.е. с момента заражения. Вирус диссеминирует во внутренние органы с развитием генерализованного сепсиса. Основной мерой предупреждения заболевания неонатальным герпесом является выявление генитального герпеса у матери и его лечение; кесарево сечение также снижает риск заражения ребенка.

Иммунитет. Основной иммунитет при простом герпесе – клеточный. Развивается ГЗТ. NK-клетки играют важную роль в ранней противомикробной защите. Организм пораженного реагирует на гликопротеины вируса, продуцируя цитотоксические Т-лимфоциты (CD8), а также Т-хелперы (CD 4), активирующие В-лимфоциты, с последующей продукцией специфических антител.

Гликопротеины вызывают образование вируснейтрализующих антител. Вируснейтрализующие антитела подавляют межклеточное распространение вирусов, но не препятствуют персистенции вирусов в клетках и возникновению рецидивов. Новорожденные «получают» антитела матери через плаценту, что облегчает последствия неонатального герпеса.

Микробиологическая диагностика. Для диагностики используют содержимое герпетических везикул, слюну, соскобы с роговой оболочки глаз, кровь, спинномозговую жидкость и мозг при летальном исходе. В окрашенных мазках наблюдают гигантские многоядерные клетки (синцитий), клетки с увеличенной цитоплазмой и внутриядерными включениями Каудри. Для выделения вируса исследуемым материалом заражают клетки HeLa, Hep-2, человеческие эмбриональные фибробласты. Рост в культуре клеток идет

довольно быстро и через 24 ч становится видимым ЦПЭ. Он проявляется округлением клеток с последующим прогрессирующим поражением всей культуры клеток. Заражают также куриные эмбрионы или мышей-сосунков, у которых после внутримозгового заражения развивается энцефалит. Выделенный вирус идентифицируют в РИФ и ИФА с использованием моноклональных антител.

Серодиагностику проводят с помощью РСК, РИФ, ИФА и реакции нейтрализации по нарастанию титра антител больного. ИБ также способен выявлять типоспецифические антитела.

При экспресс-диагностике в мазках-отпечатках из высыпаний, окрашенных по Романовскому–Гимзе, выявляются гигантские многоядерные клетки с внутриядерными включениями. Для идентификации вируса используют также амплификацию генов вирусной ДНК в реакции **ПЦР.**

Лечение. Для лечения применяют препараты интерферона, индукторы интерферона и противовирусные химиотерапевтические препараты (ацикловир, фамцикловир, валацикловир, идоксуридин, видарабин, теброфеновую и флореналевую мазь и др.).

Профилактика. Специфическая профилактика рецидивирующего герпеса осуществляется в период ремиссии многократным введением инактивированной культуральной герпетической вакцины.

Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса

Вирус вызывает две болезни. **Ветряная оспа** *(varicella)* встречается, главным образом, у детей, протекает с лихорадкой, интоксикацией, сыпью в виде везикул с прозрачным содержимым. **Опоясывающий герпес** *(herpes zoster)* или опоясывающий лишай, – эндогенная инфекция взрослых, перенесших в детстве ветряную оспу. Болезнь проявляется в виде везикулезной сыпи по ходу нервов.

Таксономия. Вирус получил название *Varicella-zoster virus (VZV),* или вирус герпеса человека типа 3. Открыт Б. Э. Арагао в 1911г., относится к семейству *Herpesviridae* роду *Varicellovirus.*

Структура. Строение VZV сходно со строением других герпесвирусов. Однако, он имеет самый малый геном среди герпесвирусов.

Культивирование. VZV размножается в человеческих диплоидных фибробластах с образованием внутриядерных включений. Вызывает цитопатический эффект, образует гигантские многоядерные клетки-симпласты. Вирус размножается более медленно и поражает меньшее типов клеток, чем ВПГ. Для животных непатогенен.

Резистентность. Вирус неустойчив в окружающей среде, чувствителен к жирорастворителям и дезинфицирующим средствам; при 60 °С гибнет в течение 30 мин.

Эпидемиология. Ветряная оспа – антропоноз. Восприимчивость высокая. Чаще болеют дети в возрасте от 2 мес. до 10 лет. Источник инфекции – больной ветряной оспой или вирусоноситель. Период заразительности длится с конца инкубационного периода и в течение 5 дней с момента появления сыпи; больной опоясывающим герпесом иногда бывает заразен. Вирус передается воздушно-капельным путем, через контакт с везикулами кожи; возможна трансплантационная передача. Вирус длительно персистирует в клетках человека, обуславливая латентную инфекцию.

Опоясывающим герпесом болеют в основном взрослые; болезнь развивается в результате реактивации вируса, персистирующего в организме, т.е. вируса, сохранившегося после перенесенной в детстве ветряной оспы.

Патогенез. Возбудитель проникает через слизистые оболочки верхних дыхательных путей и током крови заносится в различные органы и ткани, но, главным образом, в эпителий кожи (дерматотропное действие) и слизистых оболочек.

После первичной инфекции вирус становится латентным в заднем корешке или ганглии черепно-мозгового нерва.

Клиника. Инкубационный период при ветряной оспе составляет 11–23 дня. Болезнь характеризуется лихорадкой, появлением папуловезикулярной сыпи на коже туловища, шеи, лица и конечностей, иногда половых органов и полости рта. Сыпь похожа на высыпания при натуральной оспе (отсюда произошло название болезни).

Образовавшиеся круглые пузырьки через 1–3 дня лопаются и подсыхают. После отпадения корок рубцы не остаются (в отличие от натуральной оспы). У детей в возрасте от 2 мес. до 1 года и у взрослых ветряная оспа протекает тяжело, с развитием иммунодефицита; возможны пневмонии, гепатиты, энцефалиты, отиты, пиодермии и другие осложнения. Летальность при ветряной оспе составляет 0,01-0,05%.

Опоясывающий герпес может развиться в результате реактивации вируса, длительно сохраняющегося в нервных клетках спинного мозга. Этому способствуют различные заболевания, переохлаждение и травмы, снижающие иммунитет.

При инфицировании вирус, проникая через кожу и слизистые оболочки, поражает спинальные и церебральные ганглии, что сопровождается болевым синдромом, характерным для опоясывающего герпеса. Появляется сыпь в виде обруча вокруг туловища по ходу пораженных (чаще межреберных) нервов; возможны высыпания по ходу тройничного нерва, на ушной раковине, а также гангренозная (некротическая) форма поражения.

Иммунитет. Заболевание «оставляет» пожизненный клеточно-гуморальный иммунитет. Однако, это не мешает длительному сохранению вируса в организме и возникновению рецидивов опоясывающего герпеса.

Микробиологическая диагностика. Для исследования отбирают содержимое высыпаний, отделяемое носоглотки и кровь. Вирус можно выявить в мазках-отпечатках, окрашенных по Романовскому–Гимзе, по образованию синцития и внутриядерных включений (*тельца Липшютца*). Вирус плохо реплицируется в культурах клеток. Культивирование в человеческих диплоидных фибробластах возможно после длительного инкубационного периода. Идентифицируется вирус в РИФ, РСК, ИФА и реакции нейтрализации. При серодиагностике применяют ИФА, РСК и реакцию нейтрализации.

Лечение. Для лечения можно применять ацикловир, видарабин, а также интерфероны, интерфероногены и другие иммуномодуляторы. Элементы сыпи смазывают 1–2% водным раствором перманганата калия или 1-2% водным или спиртовым раствором бриллиантового зеленого.

Специфическая профилактика. Разработана живая ослабленная вакцина для VZV. В очагах ветряной оспы ослабленным детям можно вводить препараты иммуноглобулина.

Вирус Эпштейна – Барр

ВЭБ вызывает *лимфопролиферативные болезни*, а также *инфекционный мононуклеоз*, характеризующийся интоксикацией, поражением небных и глоточных миндалин, увеличением лимфатических узлов, печени, селезенки, изменениями в крови.

Таксономия. ВЭБ (вирус герпеса человека типа 4) относится к семейству *Herpesviridae* роду *Lymphocryptovirus*. Вирионы вируса были обнаружены при электронной микроскопии биоптата лимфомы Беркитта.

Структура. ВЭБ имеет ядерные антигены – nuclear antigens (EBNAs) 1, 2, 3A, 3B, 3C; латентные протеины (LPs); латентные мембранные протеины (LMPs) 1, 2 и две маленькие Эпштейна – Барр-кодируемые РНК (EBER) молекулы – EBER1 и EBER2. EBNAs и LPs являются ДНК-связывающими белками, считающимися основными для развития инфекции (EBNA-1), иммобилизации (EBNA-2) и других целей. LMPs – мембранные белки с онкогеноподобным действием.

Эпидемиология. Заболевание малоконтагиозно. Источником инфекции являются больной человек или вирусоноситель. Вирус передается воздушнокапельным путем, при контакте через слюну. Антитела к вирусу имеются у большинства населения.

Патогенез и клиника. ВЭБ вызывает размножение В-лимфоцитов и персистирует в них; обуславливает латентную инфекцию в лимфоидной ткани, эпителиальных клетках рта и глотки, слюнных желез. ВЭБ вызывает бессимптомную, хроническую или острую инфекцию, а также лимфопролиферативные болезни.

1. Инфекционный мононуклеоз характеризуется высокой лихорадкой, недомоганием, фарингитом, лимфаденопатией, спленомегалией.

2. Хроническая инфекция может развиваться как циклическая рекуррентная болезнь. Сопровождается низкой лихорадкой, повышенной утомляемостью, головной болью и воспалением горла.

3. Лимфопролиферативные болезни также могут индуцироваться ВЭБ. Вирус является митогеном для В-лимфоцитов. Способствует развитию опухолей. Люди с дефектом Т-клеточного иммунитета вместо инфекционного мононуклеоза могут страдать поликлональной лейкемиеподобной В-клеточной пролиферативной болезнью и лимфомой. Возможно также развитие *Х-связанной лимфопролиферативной болезни.* Реципиенты трансплантата после иммуносупрессивной терапии являются группой риска для *посттрансплантационной лимфопролиферативной болезни,* вместо развития инфекционного мононуклеоза после контакта с вирусом или реактивации латентного вируса. Подобные болезни развиваются у больных с ВИЧ-инфекцией. *Африканская лимфома Беркитта (эндемическая лимфома)* ассоциирована с малярией в Африке. Большой процент с лимфомой Ходжкина также содержат последовательности ДНК ВЭБ. Опухолевые клетки *носоглоточной карциномы,* эндемичной на Востоке, также содержат последовательности ДНК ВЭБ. В отличие от лимфомы Беркитта, в которой опухолевые клетки получены из лимфоцитов, опухолевые клетки носоглоточной карциномы имеют эпителиальное начало.

4. Волосистая оральная лейкоплакия – характерное для СПИДа поражение слизистой оболочки рта.

Иммунитет. Гуморальный, клеточный, пожизненный. Повторные заболевания не описаны.

Микробиологическая диагностика. Инфекционный мононуклеоз документируется обнаружением атипичных лимфоцитов, лимфоцитозом (моноциты составляют 60–70% белых кровяных клеток с 30% атипичных лимфоцитов). Применяют также вспомогательные реакции (агглютинация эритроцитов барана сывороткой крови больного и др.).

Недавняя ВЭБ-инфекция выявляется по различным показателям: появление IgM-антител к вирусному капсидному антигену (VCA); повышение титра EBNA и др.

Лечение и специфическая **профилактика** не разработаны.

Вирус цитомегалии

Вирус цитомегалии, или цитомегаловирус – ЦМВ (от греч. *cytos* – клетка, *mega* – большой), вызывает инфекцию человека, характеризующуюся поражением многих органов и тканей и протекающую разнообразно – от пожизненной латентной легкой до тяжелой острой генерализованной формы, с летальным исходом.

Таксономия. ЦМВ (ВГЧ-5) содержит ДНК, относится к семейству *Herpesviridae* роду *Cytomegalovirus.* Впервые выделен К. Смитом в 1956 г.

Структура и культивирование. ЦМВ имеет самый большой геном среди герпесвирусов. Реплицируется только в клетках человека (фибробластах, эпителиоцитах и макрофагах).

Вызывает латентную инфекцию в мононуклеарных лимфоцитах, клетках стромы костного мозга и других клетках.

Вирус культивируется в культуре фибробластов и в диплоидных клетках легких эмбриона человека с образованием гигантских (цитомегалических) клеток с внутриядерными включениями. Патогенен для обезьян.

Резистентность. Вирус неустойчив, термолабилен, чувствителен к дезинфектантам и жирорастворителям.

Эпидемиология. ЦМВ-инфекция широко распространена. Более 60% населения имеют антитела против цитомегаловируса. Острая инфекция проявляется у 95% лиц со СПИ-Дом. Механизмы передачи вируса – контактно-бытовой, респираторный, иногда фекально-оральный. Источник инфекции – человек, больной острой или латентной формой. Заражение происходит через кровь, слюну, мочу, сперму, грудное молоко и др. Входными воротами инфекции служат кожа, слизистые оболочки, дыхательные пути и плацента (врожденная цитомегалия). Инфицирование может быть при половых контактах, переливании крови и трансплантации органов.

Патогенез и клиника. Болезнь развивается в результате первичного инфицирования цитомегаловирусом, но чаще формируется латентная инфекция, сохраняющаяся на протяжении всей жизни. Реактивация вируса нередко происходит у беременных, у лиц после переливания крови, трансплантации органов и при других состояниях, сопровождающихся снижением иммунитета. ЦМВ вызывает разнообразные патологические проявления: латентную инфекцию в почках и слюнных железах, иммунодефицит, нарушение зрения, слуха и умственной деятельности, пневмонию. ЦМВ-инфекция может осложнять течение ряда сопутствующих заболеваний.

Наибольшую опасность представляет **врожденная ЦМВ-инфекция.** Около 1% новорожденных инфицируются через плаценту. У них развиваются гепатоспленомегалия, желтуха, кахексия, микроцефалия и другие пороки, приводящие к смерти.

Вирус потенциально может вызывать опухоли (аденокарциному предстательной железы и др.). Инкубационный период не установлен, так как инфекция чаще протекает в латентной форме.

Иммунитет. Формируется гуморальный и клеточный иммунитет, однако, вирусонейтрализующие антитела не препятствуют сохранению вируса в организме.

Микробиологическая диагностика. Исследуют кровь, грудное молоко, мочу, слюну, отделяемое цервикального канала и спинномозговую жидкость. Инфицированные клетки в организме человека характеризуются увеличенными размерами (25–35 мкм) и внутриядерными включениями в виде «глаза совы» (окраска гематоксилин-эозин). Вирус выделяют в культуре клеток. Идентификацию проводят с помощью ПЦР, а также в РИФ и ИФА с использованием моноклональных антител. Антитела в сыворотке крови больных определяют в ИФА, РСК, реакции нейтрализации и др.

Лечение. Для лечения применяют аналоги нуклеозидов (ацикловир, ганцикловир, фоскарнет и др.), иммуномодуляторы (интерферон, левамизол и др.) и индукторы интерферона (полудан и др.), а также нормальный иммуноглобулин человека.

Профилактика. Специфические методы профилактики отсутствуют. Необходимо оберегать лиц с ослабленным иммунитетом от контактов с инфицированными лицами, детьми с врожденной цитомегалией, которые могут до 5 лет выделять вирус в окружающую среду.

При рождении ребенка с врожденной цитомегалией, повторная беременность может быть рекомендована не ранее, чем через два года (срок персистенции вируса).

Герпесвирус человека типов 6, 7 и 8 **ГВЧ-6** и **ГВЧ-7** являются лимфотропными вирусами, они инфицируют Т-лимфоциты. **ГВЧ-6** и **ГВЧ-7** относятся к роду *Roseolovirus*. **ГВЧ-6** был выделен в 1986 г. группой Р. Галло из лимфоцитов крови больных лимфопролиферативными заболеваниями и СПИДом. Это распространенный лимфотропный вирус, как ВЭБ и ЦМВ. Предполагают, что ГВЧ-6 может постоянно инфицировать слюнные железы и выделяться из них. Очевидно вирус становится латентным после первичного инфицирования и может реактивироваться после иммуносупрессии. Известны две разновидности – ГВЧ-6А и ГВЧ-6В.

ГВЧ-6 вызывает: 1) внезапную экзантему у младенцев (0,5–3 лет жизни) с внезапным подъемом температуры (40 °С) и таким же спадом через три дня на фоне сыпи; 2) синдром хронической усталости с субфебрильной температурой, потливостью, артралгией и слабостью. Возможна лимфаденопатия.

ГВЧ-7 был выделен в 1990 г. Френкелем из Т-лимфоцитов здоровых людей, а затем его выделяли от больных СПИДом, синдромом хронической усталости.

ГВЧ-8. В 1994 г. при изучении ткани от эпидемических форм саркомы Капоши у больных СПИДом, были идентифицированы ДНК-последовательности нового герпесвируса человека, получившего название **ГВЧ-8,** или герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши. **ГВЧ-8** относится к роду *Rhadinovirus*. Лабораторная диагностика – ПЦР.

Микробиологическая диагностика. ГВЧ-6 или **ГВЧ-7** выделяют при культивировании лимфоцитов периферийной крови с митоген-активированными лимфоцитами. В культуре образуются большие многоядерные клетки. Вирионы можно выделить из слюны.

В диагностике, в том числе, **ГВЧ-8,** определяют маркерные гены возбудителя в ПЦР.

Поксвирусы (семейство Poxviridae)

Семейство Poxviridae (от анг. Pox – оспа) включает вирусы, патогенные для насекомых, птиц и млекопитающих. Виды, вызывающие поражения у человека, включены в состав родов Orthopoxvirus, Parapoxvirus, Molluscipoxvirus и др.

Натуральная оспа (variola vera) – особо опасная вирусная инфекция, проявляющаяся интоксикацией, лихорадкой и пустулезно-папулезной сыпью. Она одна из древнейших болезней, которая оставила печальный след в истории человечества. Она уносила жизни миллионов людей, свирепствуя в течение шести тысяч лет по всей планете.

Саму историю оспы разделили на 2 периода: первый – мрачный период торжества инфекции и второй – после открытия вакцинации Э. Дженнером в 1796 году – период активной иммунизации и победы человечества над этой болезнью.

Времена торжества страшного мора, который «косил» целые народы, уходят в эпоху глубокой древности, когда эпидемии опустошали города и даже страны Африки и Азии. Кстати, именно Центральная Африка считается родиной оспы, о чем говорят рукописные памятники Древнего Египта. Доказательством того, что оспа свирепствовала в Египте с незапамятных времен, является обнаруженная учеными-археологами мумия человека со

следами перенесенной оспы на теле, относящаяся к 3-му тысячелетию до н.э. Об оспе говорится в одном из самых ранних трактатов древнеиндийских врачей (IX в. до н.э.). Китайские летописи сообщают о существовании оспы в XII в. до н.э. Оспу упоминают в своих сочинениях Гален, Гиппократ... Но первое детальное описание этой болезни, как считают историки, сделал ученый по имени Рази. Он считал, что оспа – это болезнь, которая переносится человеком в детстве, как, например, корь. До него, многие врачи считали оспу и корь разными проявлениями одной и той же болезни, ведь обе они сопровождаются сыпью по всему телу, и лишь Рази обратил внимание на различный характер высыпаний и выделил оспу в самостоятельное заболевание. А первым врачом, понявшим, что оспа заразна, стал Ибн-Сина, который настоятельно советовал в своем знаменитом «Каноне врачебной науки» не пить воду после больных оспой, не прикасаться к их белью, ухаживать за ними только будучи одетыми в специальную одежду.

На протяжении своей истории оспа «путешествует» по всему миру. Торговля, двигатель развития государственной мощи и экономики, слишком дорого обошлась человечеству. Вместе с дорогими восточными тканями, благовониями и драгоценностями, столь ценившимися в Европе, из Аравии в VI в. сюда завезли и оспу. А после начала крестовых походов эпидемии этой опустошительной болезни не прекращались на всем Европейском континенте: с VI по VII века ею «заразились» Франция, Италия, Испания, Сицилия... В XIII веке инфекция дошла до Исландии. XV век – оспа появилась в Германии и России. В XVI столетии оспу завезли в Америку; это произошло в период завоевания континента испанцами: в отряде, который шел к берегам Мексики, был больной оспой. В то время, оккупанты использовали болезнь, как биологическое оружие: колонизаторы развешивали в лесах одежду яркого цвета, зараженную гноем больных оспой. Эта одежда привлекала неграмотных туземцев и вместе с таким «подарком» они получали и оспу, от которой не только гибли сами, но и заражали окружающих. В Америке так вымирали целые племена.

1563 год – уже регистрируются первые случаи заражения в Бразилии. Только в провинции Читу (!) погибло 100000 человек.

На Восточное побережье Северной Америки болезнь была завезена англичанами; в 1616–1617-х годах была крупнейшая эпидемия среди индейцев и погибла цивилизация племени алгонкинов, живших на территории нынешнего штата Массачусетс. В Австралии оспа появится в XVIII веке.

Понять, насколько грозной была эта инфекция, помогут цифры: в отдельные годы в Европе заболевало до 10–12 млн. человек, из которых каждый четвертый умирал (смертность достигала 40%!). Перенести эту болезнь и не умереть считалось великим чудом, но страшная зараза беспощадно клеймила выживших людей обезображенным лицом и пожизненной слепотой.

Оспа стала проблемой и болью врачей во всем мире. Богословы и простой народ называли оспу карой Божьей и считали, что от нее нет спасения. В XVII веке человечество объявит оспе настоящую войну и одним из первых в бой вступит английский врач Эдуард Дженнер (1749–1823) – великий ученый, которому человечество обязано победой над грозной инфекцией.

Он с удивлением отметил, что за всю свою долгую 23-летнюю практику он ни разу не видел случая заражения оспой доярок или других людей, ухаживающих за коровами; оспа будто бы обходила стороной этих людей по непонятной причине. Почему? Оказалось, что эти люди заразились от животных коровьей оспой и уже переболели этим легким недугом без особых последствий... И тогда зародилась гениальная догадка, спасшая впоследствии миллионы жизней во всем мире: а нельзя ли точно так же заразить других людей вирусом коровьей оспы и уберечь их, тем самым, от оспы настоящей?

Более пяти лет Дженнер изучал всевозможные пути заражения коровьей оспой. Как-то раз хирург, его друг из Лондона, посоветует Дженнеру проверить свои догадки на настоящем опыте. Взвесив все «за» и «против», Дженнер решается на эксперимент. 14 мая 1796 года он ввел восьмилетнему соседскому мальчику Джеймсу Фиппсу содержимое пустулы с руки доярки Сарры Неймс, заразившейся коровьей оспой как раз при доении коров. Когда во время новой эпидемии мальчик не заразился, стало ясно, что сделан первый шаг к победе.

Не все ученые поверили в защиту от оспы путем простого прививания. Никто из светил науки и помыслить не мог, что от оспы вообще можно излечиться и отказались напечатать работу Дженнера о проделанном опыте.

Некоторые ученые даже думали, что после прививки у человека могут вырасти хвост или рога! И тогда в 1798 году ученый сам издаст книгу, в которой впервые использует новое название для вируса коровьей оспы -вакцина (от слова vacca – корова).

Лишь спустя 5 лет после публикации его труда услуги Дженнера будут оценены по достоинству. Английский парламент выдал ему денежную премию, а в 1803 году в Лондоне был организован институт оспопрививания, руководителем которого, до конца жизни, был сам Дженнер.

Уже в начале XIX века, вакцинация по Дженнеру применяется во Франции, Испании, Пруссии и других странах. В России вакцинация была впервые произведена в 1801 году профессором Е. О. Мухиным в Московском воспитательном доме мальчику Антону Петрову, фамилия которого в память об этом событии особым указом была изменена на Вакцинова.

Эпидемиология. Как мы уже говорили, натуральная оспа передается воздушно-капельным путем: больной при кашле и разговоре разбрызгивает в воздух отделяемое оспенных поражений слизистых оболочек. Также можно заразиться через предметы обихода, одежду больного, потому что вирус очень стоек в окружающей среде. В течение всего периода заболевания, больной должен считаться заразным, вплоть до отпадения корочек, но наиболее заразным он считается первые 8-10 дней.

Эпидемии возникают во многих странах, но главным очагом оспы всегда считалась родина многих инфекций – Юго-Восточная Азия. Известны случаи, когда, например, в Индии, вымирали целые города. Именно из Индии завезут оспу на территорию бывшего СССР в 1960 г., хотя уже в 1936 г. оспа считалась ликвидированной в СССР.

В 1958 г. ВОЗ приняла решение о глобальном искоренении оспы и в течение 18 лет добилась реализации этой великой задачи. Огромное количество специалистов всего мира, были вовлечены в этот процесс и в 1975 г. будет зарегистрирован последний случай натуральной оспы в Бангладеш, а аластрима – в 1976 г. в Сомали.

Морфология. Ровно через 90 лет после открытия прививки Дженнером будет обнаружен сам возбудитель натуральной оспы ученым Бьюстом, который даст ему название Strongyloplasma variola (1886). Известно, что вирусы, а тем более, их компоненты невозможно или очень трудно увидеть в световой микроскоп. Через 20 лет после обнаружения вируса, то есть в 1906 году, ученый Э. Пашен впервые предложит для выявления вируса специальный метод окрашивания, при котором вирионы, которые исследователь видит в окуляр своего микроскопа, имеют специфический цвет и форму. Впоследствии их стали называть по автору «тельцами Пашена».

Из всех существующих вирусов животных и человека вирион вируса оспы устроен наиболее сложно. Во-первых, вирус относится к крупным – его диаметр около 300 нм, а по форме он похож на массивный кирпич (или параллелепипед) с закругленными углами. Если взять культуру зараженных клеток и сделать ультратонкий срез, то можно увидеть, вирион покрыт внешней двуслойной оболочкой, которая состоит из липопротендов. Кроме того, оболочка имеет микроворсинки на своей поверхности диаметром 8 нм.

Под оболочкой находится цитоплазма вируса – вироплазма. Она содержит наследственный материал – нуклеокапсид, уложенный в форме латинской буквы S и окруженный двумя, так называемыми, латеральными тельцами.

Нуклеокапсид натуральной оспы – это линейная молекула ДНК из двух цепочек. Молекулярная масса ее довольно значительна: 150–200*106 Да. Длина ДНК 82 мкм и содержит около 240 тысяч нуклеотидных пар. Молекула ДНК вируса оспы очень прочная, ее не могут разделить на отдельные нити даже щелочи, и все это благодаря тому, что на обоих концах молекулы нити ДНК соединены друг с другом особыми ковалентными сшивками. В такой длинной и «тяжелой» молекуле может быть закодирована информация к синтезу нескольких сотен белков. Часть из них расходуется на построение новых вирионов, а часть является «боевым арсеналом» вируса, которым он поражает здоровые клетки. Но известно, что синтез белковой молекулы, пусть даже самой короткой и «легкой» – поэтапный и сложный процесс, тем не менее проходящий быстро, благодаря природным катализаторам – ферментам. И в синтезе вирусных белков, участвует особый фермент, обнаруженный в нуклеокапсиде – ДНК-зависимая РНК-полимераза.

Химсостав вируса:

ДНК – 5%

Белки – 87%

Липиды – 5%

Углеводы – менее *2%*

+ следы меди, биотина, флавина.

12-13 ферментов (ДНК-зависимая РНК-полимераза и другие ферменты, нужные для транскрипции ДНК, создания иРНК, различные киназы и протеазы).

Белки и антигены. Каждый вирион оспы содержит около 30 видов структурных белков, из которых 17 находятся в нуклеоиде. 5 белков располагаются на наружной поверхности оболочки вириона, остальные 8 – на ее внутренней поверхности. По своему химическому строению поверхностные белки – это гликопротеиды. Именно с ними связан механизм формирования иммунитета к оспе: когда вирус проникает в организм человека, поверхностные белки служат командой для системы иммунитета вырабатывать антитела против вируса.

Есть три группы антигенов вируса оспы: структурные, растворимые и гемагглютинин. Пример структурных антигенов – это МР(ДНК-протеиновый)-антиген (он есть у всех представителей семейства Поксвирусов); он всегда связан с белком нуклеокапсид а. К растворимым антигенам относятся термолабильный (Л-) антиген и термостабильный (С-) антиген. Гемагглютинин – самый сложно устроенный антиген. Это своеобразный комплекс из трех гликопротеидов, свернутых в виде трубки. Его очень легко отделить от вириона. Именно гемагглютинин нужен для склеивания эритроцитов хозяина.

Знание антигенов вируса имеет большое значение – если у больного при серологическом исследовании выявляются ЛС-антигены, то результат анализа на диагностику оспы считается положительным.

Устойчивость вируса к условиям окружающей среды – резистентность. Сам по себе вирус натуральной оспы очень устойчив. Он выдерживает высушивание – именно поэтому больной оспой считается заразным даже тогда, когда пустулы подсыхают с образованием из них корочек. Вирус разрушается при нагревании до 60 градусов по Цельсию в течение 20 мин, при обработке 50% этиловым спиртом – в течение 60 мин, 3% раствором хлорамина, лизола и фенола (и др. дез. средствами) – в течение получаса. Если сделать лиофилизацию, вирус тоже хорошо сохранится.

Культивирование. Вирус оспы человека можно культивировать в курином эмбрионе. Если заразить куриный эмбрион 11–12-дневного возраста вирусом оспы и продержать их в инкубаторе в течение 2-3 дней при температуре 34–35 °С, то исследователь по истечении этого срока заметит на хорион – аллантоисной оболочке мелкие (до 1 мм) белые округлые оспины, возвышающиеся над здоровой тканью. Они очень похожи на оспины, появляющиеся на коже человека при заболевании оспой. Белый цвет оспин куриных эмбрионов – признак типичный, только для вириона оспы, что помогает исследователю отличить его от других вирусов этого семейства: например, при заражении куриных эмбрионов вирусом оспы обезьян, образуются оспины не белого, а красного цвета.

Также вирус хорошо культивируется в культурах перевиваемых клеток человека- это опухолевые клетки типа HeLa. Вирус вызывает особое цитопатическое действие: сначала наблюдаются очаги пролиферации клеток, окруженные контуром, затем эти очаги подвергаются некрозу.

Репродукция вируса. Проникнув в организм человека, вирус адсорбируется на поверхности здоровой клетки. О том, что на мембране «сидит» чужеродный агент, тут же «сообщают» генштабу клетки – ядру. Это делают рецепторные белки на поверхности мембраны. Ядро, в свою очередь, «дает команду» лизосомам «уничтожить врага», то есть поглотить и переварить «чужака». Образуется так называемая фаголизосомная вакуоль, которая начинает окружать вирион. Попав в вакуоль, вирус под действием ферментов лизосом (гидролазы протеолитического характера) освобождается от своей оболочки. Этот процесс ученые назвали «раздеванием» вируса. Так как вирус освобождается от белковой оболочки, то по-другому процесс называется депротеинизацией.

«Раздевание» происходит не сразу, а в 2 этапа.

1-й этап. Ферменты лизосом клетки-хозяина разрушают внешнюю оболочку вириона и боковых тел, тем самым освобождая вирусный нуклеокапсид.

2-й этап. Особый фермент ДНК-зависимая РНК-полимераза, который содержится в нуклеокапсиде, ускоряет синтез вирусспецифических ферментов. Они освобождают ДНК вируса от капсида, то есть подвергают вирус окончательному «раздеванию».

Итак. вирусная ДНК освободилась. На ее матрице начинается транскрипция иРНК, в которой заложена информация для синтеза «ранних» ферментов (ДНК-полимераза и др.). Эти ферменты катализируют синтез структурных компонентов вируса – белков-»кирпичиков», из которых под контролем вирусной ДНК произойдет сборка новых вирусов. Сначала образуется «сырье» для будущего капсида, только потом – для других структурных белков и ферментов, которые будут включены в этот нуклеокапсид и из части которых будут образованы боковые тельца. Так образуется комплекс из нуклеоида и белков (протеинов) – то есть вирусный нуклеопротеид. Теперь это – зрелый вирион, который может выйти из клетки и заразить другие клетки. Весь этот процесс идет в среднем около 6-7 часов.

Как происходит выход вируса из клетки? Оказалось, что как только вирион становится зрелым (то есть, обретает наряду с нуклеоидом, боковые тельца и вирусспецифические ферменты), ток цитоплазматической жидкости уносит его к цистернам аппарата Гольджи, откуда он транспортируется на клеточную поверхность и выходит из клетки путем экзоцитоза. Именно в это время прохождения через клеточную мембрану вирус вновь «одевается» в двухслойный «плащ», состоящий из компонентов мембраны пораженной клетки.

Что интересно, в каждой зараженной клетке около ядра исследователь может увидеть в микроскопе особые включения. Ученые по-разному говорят о причинах их возникновения. Одни считают, что это «фабрики», созданные самим вирусом для синтеза его белков;

другие думают, что это фабрики вперемежку с продуктами распада элементов клетки-хозяина. Эти включения красятся кислыми красителями (ацидофильны). По имени ученого, впервые их описавшего, они названы «тельцами Гверниери». Поскольку такие включения появляются в клетке только при заражении ее оспой, по наличию их в клетках тоже можно поставить соответствующий диагноз.

Патогенез и клиническая картина. Основной путь заражения -воздушно-капельный и пылевой (с потоками воздуха инфекция «путешествует» по соседним комнатам и даже этажам). Также можно заразиться через кожу, то есть просто прикоснувшись к больному или к его вещам (бинтам, белью); к предметам, с которыми этот больной имел контакт (например, к носилкам). Третий путь заражения – когда болезнь передается трансплацентарно, то есть от больной матери плоду, через кровеносные сосуды плаценты.

Итак, в основном, вирус проникает в организм через слизистую оболочку верхних дыхательных путей. Здесь очень много лимфатических образований. В лимфоузлах происходит первое размножение вируса. Лимфа, постоянно протекающая через эти образования, унесет с собой вновь образовавшиеся вирионы в кровь, – так инфекция разнесется по всему организму. То состояние, когда вирионы обнаруживаются в крови после первого размножения в лимфатической системе, получило название **первичной вирусемии.** Она приводит к поражению ретикулоэндотелиальной системы, но этот период болезни коварен тем, что он не сопровождается никакими признаками настоящей оспы, поэтому больной даже не подозревает о том, что заразился.

После этого в лимфоузлах вирус размножается второй раз. Это приводит к более интенсивной **вторичной вирусемии:** именно в этот период болезнь начинает проявлять себя: вирус накапливается в эпидермисе и вызывает поражения кожи. Как только появляется сыпь, больной считается заразным. Основной источник заражения – отделяемое носоглотки.

Скрытый период заболевания или инкубационный, длится около 8-18 дней. После его истечения, больной чувствует внезапную лихорадку, у него начинает болеть голова, мышцы, появляется сыпь. Со стороны нервной системы отмечаются общее снижение настроения, прострация, бред и даже потеря сознания. Сыпь, которая появляется в это время, проходит стадию макулы, папулы, везикулы, пустулы и завершается образованием рубца – все это длится 3 нед. С появлением сыпи температура снижается и вновь поднимается на стадии пустулы. Есть 2 формы оспы – натуральная (variola major), при которой из 10 человек погибает каждый 2–4-ый (то есть смертность составляет 20–40%; и так называемый аластрим (variola minor), при которой из 10 человек погибает лишь 1-2 (то есть смертность составляет около 1-2%).

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет – стойкий и пожизненный. Аналогичен поствакцинальный: именно это позволило врачам ликвидировать оспу во всем мире.

Лабораторная диагностика. Несмотря на то, что оспа считается ликвидированной во всем мире, каждый грамотный вирусолог должен уметь обследовать подозрительного на оспу больного и, самое главное, уметь отличить по клиническим признакам вирус оспы от похожих болезней, которые вызываются представителями этого же семейства (например, вирусом коровьей оспы, осповакцины, оспы обезьян), от простого герпеса и других болезней, которые сопровождаются сыпью.

Материал для исследования – это, прежде всего, содержимое везикул, пустул, корочки, чешуйки, которые исследователь берет с кожи и которые выделяются с кровью и мокротой из носоглотки. Если больной умирает, можно взять на исследование кусочек его органа или ткани – например, кусочек легкого, селезенки. Готовят так называемые мазки-отпечатки. Так как оспа очень опасное и заразное заболевание, то даже мазки отправ-

ляются в лабораторию при соблюдении всех правил обращения с особо опасными инфекционными материалами.

Экспресс-диагностика. Чтобы поставить диагноз быстрее, в острой стадии болезни микробиологи используют следующие методы:

- вирусоскопия;
- иммунофлюоресценция;
- выявление вирусного антигена в инфекционном материале.

Если исследователь поместит мазок, приготовленный из содержимого везикул, то в окуляре электронного микроскопа он видит «кирпичики» -вирусные частицы, причем, их очень много в одном мазке. Кроме того, в каждом «кирпичике» обнаруживаются тельца Гварниери, по которым ставится положительный диагноз.

Антиген вируса (ЛС-антиген) исследователь находит методом иммунофлюоресценции (ИФ). В окрашенных препаратах антиген выглядит как круглые мелкие зерна, очень ярко светящиеся. Также антиген выявляется с помощью гипериммунных сывороток животных, реакции связывания комплемента, реакции гемагглютинации, иммуноферментном анализе и других специфических реакциях.

Лечение и профилактика оспы. Кроме лечения, направленного на устранение симптомов заболевания, раньше применяли особый антибиотик из группы бета-тиосемиркабазонов – метисазон. Им же лечили людей, соприкасавшихся с больными. Но основным и самым мощным средством против оспы, несомненно, считается оспенная вакцина, предложенная Дженнером. Конечно, генетики и фармакологи в настоящее время намного усовершенствовали классический препарат оспенной вакцины, а врачи по-другому делают прививки, нежели много лет назад. Для массовых прививок используются безыгольные инъекции, а для индивидуальных – раздвоенная игла, позволяющая определить и ввести точную дозу.

Другие поксвирусы, поражающие человека

Вирус вакцины использовался в качестве живой вакцины при осуществлении программы ликвидации оспы на Земле. Происхождение вируса вакцины неизвестно; является самостоятельным вирусом, отличающимся от возбудителя оспы коров, хотя полагают, что он произошел от последнего. Считают, что вирус вакцины существует только в виде лабораторных штаммов. Вирус вакцины вызывает осоподобные локальные поражения, иногда – генерализованную папулезную сыпь.

Вирус контагиозного моллюска вызывает образование эритематозных узелков, превращающихся в жемчужно-розовые капсулы; возбудитель передается контактно через микротравмы кожи и слизистых оболочек. Поражает детей и взрослых. У взрослых поражения чаще локализуются в области гениталий.

Тананоксвирусы человека вызывают лихорадку и образование на коже одного везикулярного очага. Вирус оспы Тана встречается среди племен в Кении, проживающих в долине реки и озера Тана.

Вирус Орф вызывает контагиозную эктиму (болезнь Орф) – инфекционный пустулезный дерматит в виде лихорадки и везикулярных высыпаний на лице и руках. Основной резервуар вируса – овцы.

Вирус оспы обезьян – инфекционная болезнь, вызываемая вирусом оспы обезьян, характеризуется интоксикацией, лихорадкой и пустулезно-папулезной сыпью. Вирус выделен в 1958 г. от больных обезьян, а в 1970 г. – от больного ребенка.

Таксономия и антигенные свойства. Возбудитель по таксономическим, биологическим и антигенным свойствам близок к вирусу натуральной оспы.

Эпидемиология и патогенез. Вирус оспы обезьян патогенен для человека, хотя восприимчивость людей относительно невысокая. Источником инфекции для людей являются обезьяны. Контагиозность больного человека невысокая. Механизм передачи возбудителя воздушно-капельный.

Клиника. Инкубационный период точно не установлен. Клинические проявления болезни похожи на легкую форму оспы человека, однако, имеются случаи летальных исходов.

Микробиологическая диагностика. Такая же, как при натуральной оспе.

Лечение. Применяют противовирусные препараты (интерферон, интерфероногены и др.).

Профилактика. Для профилактики можно применять противооспенную живую вакцину.

Цирциновирусы (семейство Circinoviridae – TTV)

Circinoviridae содержит ТТ-вирус (TTV) – безоболочечный ДНК-содержащий вирус, первоначально отнесенный к семейству *Circoviridae*. Однако, на основании полного секвенирования ДНК ТТ-вируса, его предположительно классифицировали, как первого представителя нового семейства *Circinoviridae*. Передается гемотрансмиссивно и фекально-оральным механизмом.

TTV обнаружен в 1997 г. Nishizawa и др. в сыворотке крови больного с инициалами Т. Т., страдавшего гепатитом неизвестной этиологии. Название вируса соответствует инициалам данного больного.

Структура. TTV – простоустроенный вирус, имеющий икосаэдрический тип симметрии. Размер вириона 30–50 нм. Он содержит кольцевую однонитевую минус-ДНК. Капсид икосаэдрический, состоит из белка VP1. Различают более 10 генотипов вируса.

Репродукция вируса, очевидно, происходит в ядрах гемопоэтических клеток. Вирионы собираются в цитоплазме и выходят при лизисе клеток. Предположительным резервуаром вируса являются гепатоциты.

Эпидемиология. Вирус широко распространен. Устойчив к факторам окружающей среды. Передается гемотрансмиссивно и фекально-оральным механизмом. Однако, эпидемиология TTV-инфекции изучена недостаточно.

Патогенез и иммунитет. Патогенез изучен недостаточно. Предполагают, что TTV можно рассматривать, как представителя нормальной микрофлоры человека. TTV-вирусемия распространена среди здоровых людей. Возможно участие вируса в поражении печени (гепатит). В результате высокой изменчивости вируса, одновременного наличия в организме различных вариантов TTV происходит «ускользание» вируса от иммунитета.

Микробиологическая диагностика. В сыворотке крови больных выявляют ДНК вируса (с помощью ПЦР) и антитела против вируса в реакции преципитации и др. Дифференциация проводится с учетом маркеров других возбудителей вирусных гепатитов.

18.4. Медленные вирусные инфекции и прионные болезни

Медленные **вирусные инфекции** характеризуются следующими признаками:

1) необычно длительным инкубационным периодом (месяцы, годы);

2) своеобразным поражением органов и тканей, преимущественно ЦНС;

3) медленным неуклонным прогрессированием заболевания;

4) неизбежным летальным исходом.

Медленные вирусные инфекции могут вызывать вирусы, известные как возбудители острых вирусных инфекций. Например, вирус кори иногда вызывает ПСПЭ, вирус крас-

нухи — прогрессирующую врожденную краснуху и краснушный панэнцефалит (табл. 18.8).

Типичную медленную вирусную инфекцию животных вызывает вирус Мэди/Висна относящийся к ретровирусам. Он является возбудителем медленной вирусной инфекции и прогрессирующей пневмонии овец.

Сходные по признакам медленных вирусных инфекций заболевания, вызывают прионы – возбудители прионных инфекций.

Прионы – белковые инфекционные частицы (транслитерация от сокр. англ. *proteinaceous infection particle*). Прионный белок обозначается как **PrP** (англ. prion protein), он может быть в двух изоформах: клеточной, нормальной (**PrP^C**) и измененной, патологической (**PrP^{sc}**). Ранее патологические прионы относили к возбудителям медленных вирусных инфекций, теперь более правильно их относить к возбудителям конформационных болезней[1], вызывающим диспротеиноз (табл. 18.9).

Прионы – неканонические патогены, вызывающие трансмиссивные губкообразные энцефалопатии: человека (куру, болезнь Крейтцфельдта–Якоба, синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера, семейная фатальная бессонница, амиотрофический лейкоспонгиоз); животных (скрепи овец и коз, трансмиссивная энцефалопатия норок, хроническая изнуряющая болезнь находящихся в неволе оленя и лося, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, губкообразная энцефалопатия кошек).

Таблица 18.8.

Возбудители некоторых медленных вирусных инфекций человека

Возбудитель	Болезнь
Вирус кори	Подострый склерозирующий панэнцефалит
Вирус краснухи	Прогрессирующая врожденная краснуха, прогрессирующий краснушный панэнцефалит
Вирус клещевого энцефалита	Прогредиентная форма клещевого энцефалита
Вирус простого герпеса	Подострый герпетический энцефалит
Вирус иммунодефицита человека	ВИЧ-, СПИД-инфекция
HTLV-1, -2	Е-клеточная лимфома
Полиомавирус JC	Прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия

Таблица 18.9.

Свойства прионов

PrP^C (cellular prion protein)	PrP^{sc} (scrapie protein)
PrP^C (cellular prion protein) – клеточная, нормальная изоформа прионного белка с молекулярной массой 33-35 кДа, детерминируется геном прионного белка (прионный ген – PrNP – находится на коротком плече 20-й хромосомы человека). Нормальный PrP^C появляется на поверхности клетки (заякорен в мембрану	**PrP^{sc}** (scrapie protein – от названия прионной болезни овец скрепи – scrapie) и другие, например, PrP^{sCJ} (при болезни Крейтцфельдта–Якоба) – патологические, измененные посттрансляционными модификациями изоформы прионного белка с молекулярной массой 27-30 кДа. Такие прионы устойчивы к протеолизу (к протеазе К), к излучениям, высокой температуре, формаль-

гликопротеином молекулы), чувствителен к протеазе. Он регулирует передачу нервных импульсов, циркадианные ритмы (суточные) циклы, участвует в метаболизме меди в ЦНС	дегиду, глютаральдегиду, бета-пропиолактону; не вызывают воспаления и иммунной реакции. Отличаются способностью к агрегации в амилоидные фибриллы, гидрофобностью и вторичной структурой в результате повышенного содержания бета-складочных структур (более 40% по сравнению с 3% у PrP). PrP^{sc} накапливается в плазматических везикулах клетки

Патогенез и клиника. Прионные инфекции характеризуются губкообразными изменениями мозга (трансмиссивные губкообразные энцефалопатии). При этом развиваются церебральный амилоидоз (внеклеточный диспротеиноз, характеризующийся отложением амилоида с развитием атрофии и склероза ткани) и астроцитоз (разрастание астроцитарной нейроглии, гиперпродукция глиальных волокон). Образуются фибриллы, агрегаты белка или амилоида. Иммунитета к прионам не существует.

Куру – прионная болезнь, ранее распространенная среди папуасов (в переводе означает дрожание или дрожь) на о. Новая Гвинея, в результате ритуального каннибализма – поедания недостаточно термически обработанного инфицированного прионами мозга погибших сородичей. В результате поражения ЦНС нарушаются координация движений, походка, появляются озноб, эйфория («хохочущая смерть»). Смертельный исход наступает через год. Инфекционные свойства болезни доказал К. Гайдушек.

Болезнь Крейтцфельдта–Якоба – прионная болезнь (инкубационный период – до 20 лет), протекающая в виде деменции, зрительных и мозжечковых нарушений и двигательных расстройств, со смертельным исходом через 9 месяцев, от начала болезни. Возможны различные пути инфицирования и причины развития болезни: 1) при употреблении недостаточно термически обработанных продуктов животного происхождения, например, мяса, мозга коров, больных губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота; 2) при трансплантации тканей, например, роговицы глаза, при применении гормонов и других биологически активных веществ животного происхождения, при использовании контаминированных или недостаточно простерилизованных хирургических инструментов, при прозекторских манипуляциях; 3) при гиперпродукции PrP и других состояниях, стимулирующих процесс преобразования PrP^{c} в PrP^{sc}. Заболевание может развиваться в результате мутации или вставки в области прионового гена. Распространен семейный характер болезни, в результате генетической предрасположенности к данному заболеванию.

Синдром Герстманна–Штреусслера– Шейнкера – прионная болезнь с наследственной патологией (семейное заболевание), протекающая с деменцией, гипотонией, нарушением глотания, дизартрией. Нередко носит семейный характер. Инкубационный период – от 5 до 30 лет. Летальный исход.

Прекращение **PrP** и измененные формы (**PrP^{sc}** и др.), происходит при нарушении кинетически контролируемого равновесия между ними. Процесс усиливается при подрастании количества патологического (PrP) или форма **PrP^{1}** – нормальный белок, тякорепный в мембране клетки (/). **PrP^{sc}** – глобулярный гидрофобный белок, образующий агрегаты с собой и с **PrP** на поверхности клетки (2>: в результате **PrP** I) преобразуется в **PrP^{sc}** "(ǂ/). Клетка синтезирует новый **PrP^{sc}** 1 5) и далее цикл продолжается. Патологическая форма **PrP^{sc}»'** <0) накапливается в нейронах, придавая клетке губкообразный вид. Naioioi-ческие и ю формы приона могут образовываться при участи **iiiaiieроНоВ** (01 англ. *chii/\vr/ui* – временное сопровождающие прио», участвующих в правильном сворачивании поли-

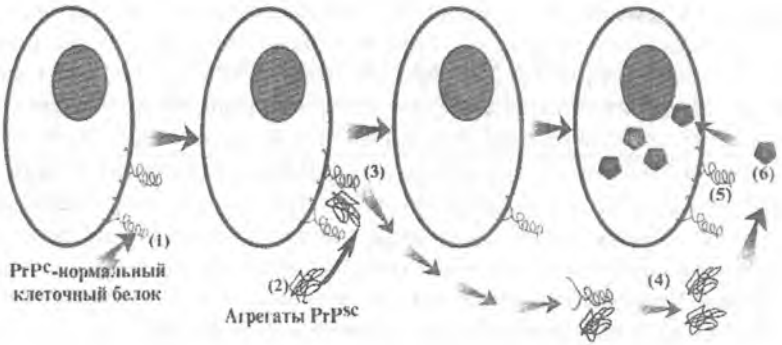


Рис. 18.21. Схема пролиферации прионов.

пептидной цепи агрегируемого белка, ее преобразование в процессе агрегации, наступает через 4–5 лет от начала заболевания.

Фатальная семейная бессонница – аутосомно-доминантное заболевание с прогрессирующей бессонницей, симпатической гиперреактивностью (гипертензия, гипертермия, гипергидроз, тахикардия), тремором, атаксией, миоклониями, галлюцинациями. Нарушаются циркадианные ритмы. Смерть – при прогрессировании сердечно-сосудистой недостаточности.

Скрепи (от англ. *scrape* – скрести) – «чесотка», прионная болезнь овец и коз, характеризующаяся сильным кожным зудом, поражением ЦНС, прогрессирующим нарушением координации движений и неизбежной гибелью животного.

Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота – прионная болезнь крупного рогатого скота, характеризующаяся поражением ЦНС, нарушением координации движений и неизбежной гибелью животного. У животных наиболее инфицированы головной, спинной мозг и глазные яблоки.

Микробиологическая диагностика. При прионной патологии характерны губкообразные изменения мозга, астроцитоз (глиоз), отсутствие инфильтратов воспаления; Окраска: мозг окрашивают на амилоид. В цереброспинальной жидкости выявляют белковые маркеры прионных мозговых нарушений (с помощью ИФА, ИБ с моноклональными антителами). Проводят генетический анализ прионного гена; ПЦР для выявления PrP.

Профилактика. Введение ограничений на использование лекарственных препаратов животного происхождения. Прекращение производства гормонов гипофиза животного происхождения. Ограничение трансплантации твердой мозговой оболочки. Использование резиновых перчаток при работе с биологическими жидкостями больных.

18. 5. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций

ОРВИ – это группа клинически сходных, острых инфекционных вирусных заболеваний человека, которые передаются преимущественно аэрогенно и характеризуются поражением органов дыхания и умеренной интоксикацией.

Актуальность. ОРВИ относятся к числу самых распространенных болезней человека. Несмотря на обычно доброкачественное течение и благоприятный исход, эти инфекции опасны своими осложнениями (например, вторичными инфекциями). ОРВИ, ежегодно поражающие миллионы людей, наносят значительный ущерб экономике (теряется до 40% рабочего времени).

Этиология. Острые инфекционные заболевания, при которых поражается дыхательный тракт человека, могут быть вызваны и бактериями, и грибами, и простейшими, и вирусами. Различные вирусы могут передаваться аэрогенно и вызывать симптоматику, характерную для поражения респираторного тракта (например, вирусы кори, эпидемического паротита, вирусы герпеса, некоторые энтеровирусы и др.). Однако, возбудителями ОРВИ принято считать только те вирусы, у которых первичная репродукция происходит исключительно в эпителии респираторного тракта. В качестве возбудителей ОРВИ зарегистрировано более 200 антигенных разновидностей вирусов. Они относятся к разным таксонам, каждый из которых имеет свои особенности.

Таксономия. Большинство возбудителей впервые выделены от человека и типированы в 50–60-е годы XX в. Наиболее частыми возбудителями ОРВИ являются представители семейств, приведенных в табл. 18.10.

Общая сравнительная характеристика возбудителей. Большинство возбудителей ОРВИ – РНК-содержащие вирусы, только аденовирусы содержат ДНК. Геном у вирусов представлен: двухцепочечной линейной ДНК – у аденовирусов, одноцепочечной линейной плюс-РНК – у рино- и коронавирусов, одноцепочечной линейной минус-РНК – у парамиксовирусов, а у реовирусов РНК двухцепочечная и сегментированная. Многие возбудители ОРВИ генетически стабильны. Хотя РНК, особенно сегментированная, предрасполагает к готовности генетических рекомбинаций у вирусов и, как следствие, к изменению антигенной структуры. Геном кодирует синтез структурных и неструктурных вирусных белков.

Среди вирусов ОРВИ есть простые (адено-, рино- и реовирусы) и сложные оболочечные (парамиксовирусы и коронавирусы). Сложноорганизованные вирусы чувствительны к эфиру. У сложных вирусов – спиральный тип симметрии нуклеокапсида и форма вириона сферическая. У простых вирусов – кубический тип симметрии нуклеокапсида и вирион имеет форму икосаэдра. У многих вирусов имеется дополнительная белковая оболочка, покрывающая нуклеокапсид (у адено-, ортомиксо-, корона- и реовирусов). Размеры вирионов, у большинства вирусов, средние (60–160 нм). Самые мелкие – риновирусы (20 нм); самые крупные – парамиксовирусы (200 нм).

Антигенная структура вирусов ОРВИ сложная. У вирусов каждого рода, как правило, есть общие антигены; кроме того, вирусы имеют и типоспецифические антигены, по которым можно проводить идентификацию возбудителей, с определением серотипа. В состав каждой группы вирусов ОРВИ входит различное количество серотипов и сероваринтов. Большинство вирусов ОРВИ обладает гемагглютинирующей способностью (кроме РС- и риновирусов), хотя не все они имеют собственно гемагглютинины. Этим определяется применение РТГА для диагностики многих ОРВИ. Реакция основана на блокировании активности гемагглютининов вируса специфическими антителами.

Репродукция вирусов происходит: а) целиком в ядре клетки (у аденовирусов); б) целиком в цитоплазме клетки (у остальных). Эти особенности имеют значение для диагностики, так как определяют локализацию и характер внутриклеточных включений. Такие включения представляют собой «фабрики» по производству вирусов и обычно содержат большое количество вирусных компонентов, «неиспользованных» при сборке вирусных частиц. Выход вирусных частиц из клетки может происходить двумя способами: у простых вирусов – «взрывным» механизмом с разрушением клетки хозяина, а у сложных вирусов – путем «отпочковывания». При этом, сложные вирусы получают от клетки хозяина свою оболочку.

Таблица 18.10.

Наиболее частые возбудители ОРВИ

Семейство	Род	Вирусы
		РНК-содержащие
	Respirovirus	Вирусы парагриппа человека, серотипы 1, 3
	Pneumovirus	РС-вирус, 3 серотипа
Paramyxoviridae	Rubulavirus	Вирусы парагриппа человека, серотипы 2, 4a, 4b, *вирус эпидемического паротита и др.**
	Morbillivirus	*Вирус кори и др.**
Coronaviridae	Coronavirus	Коронавирусы, 11 серотипов
Picornaviridae	Rhinovirus	Риновирусы (более 113 серотипов)
Reoviridae	Orthoreovirus	Респираторные реовирусы, 3 серотипа
		ДНК-содержащие
Adeniviridae	Mastadenovirus	Аденовирусы,Ю чаще серотипы 3, 4, 7 (известны вспышки, вызванные типами 12, 21)

**Инфекции являются самостоятельными нозологическими формами и обычно не включаются в группу собственно ОРВИ.*

Культивирование большинства вирусов ОРВИ проводится достаточно легко (исключение составляют коронавирусы). Оптимальная лабораторная модель для культивирования этих вирусов – культуры клеток. Для каждой группы вирусов, подобраны наиболее чувствительные клетки (для аденовирусов – клетки HeLa, эмбриональные клетки почек; для коронавирусов – эмбриональные клетки и клетки трахеи и т.д.). В зараженных клетках, вирусы вызывают ЦПЭ, но эти изменения не патогномоничны для большинства возбудителей ОРВИ и обычно не позволяют идентифицировать вирусы. Культуры клеток используют также при идентификации возбудителей с цитолитической активностью (например, аденовирусов). Для этого, применяют так называемую, реакцию биологической нейтрализации вирусов в культуре клеток (РБН или РН вирусов). В ее основе – нейтрализация цитолитического действия вирусов типоспецифическими антителами.

Эпидемиология. «Респираторные» вирусы встречаются повсеместно. Источник инфекции – больной человек. Основной механизм передачи инфекции – аэрогенный, пути – воздушно-капельный (при кашле, чихании), реже – воздушно-пылевой. Доказано также, что некоторые возбудители ОРВИ могут передаваться контактно (адено-, рино- и РС-вирусы). В окружающей среде устойчивость респираторных вирусов средняя, инфекционность особенно хорошо сохраняется при низких температурах. Прослеживается сезонность большинства ОРВИ, которые чаще возникают в холодное время года. Заболеваемость выше среди городского населения. Предрасполагающими и утяжеляющими течение факторами являются пассивное и активное курение, заболевания органов дыхания, физиологический стресс, снижение общей сопротивляемости организма, иммунодефицитные состояния и неинфекционные заболевания, при которых они наблюдаются.

Болеют и дети, и взрослые, но чаще дети. В развитых странах большинство посещающих детские сады и ясли дошкольников, болеют ОРВИ 6–8 раз в год, причем, обычно это инфекции, вызванные риновирусами. Естественный пассивный иммунитет и грудное вскармливание формируют защиту против ОРВИ у новорожденных (до 6–11 месяцев).

Патогенез. Входные ворота инфекции – верхние дыхательные пути. Респираторные вирусы инфицируют клетки, прикрепляясь своими активными центрами к специфическим рецепторам. Например, практически у всех риновирусов, белки капсида соединяются с молекулами рецептора адгезии ICAM-1, чтобы затем проникнуть в фибробласты и другие чувствительные клетки. У вирусов парагриппа, белки суперкапсида присоединяются к гликозидам на поверхности клеток, у коронавирусов прикрепление осуществляется за счет связывания с гликопротеиновыми рецепторами клетки, аденовирусы взаимодействуют с клеточными интегринами и т.п.

Большинство респираторных вирусов, реплицируется локально в клетках респираторного тракта и, соответственно, вызывает лишь кратковременную виремию. Местные проявления ОРВИ вызваны, в большинстве своем, действием медиаторов воспаления, в частности, брадикининов. Риновирусы обычно вызывают незначительные повреждения эпителия слизистой носа, но РС-вирус значительно более разрушителен и может вызывать некроз эпителия дыхательного тракта. Некоторые аденовирусы имеют цитотоксическую активность и быстро оказывают цитопатический эффект и отторжение инфицированных клеток, хотя обычно сам вирус не распространяется дальше регионарных лимфоузлов. Отек, клеточная инфильтрация и десквамация поверхностного эпителия в месте локализации возбудителей, характерны и для других ОРВИ. Все это, создает условия для присоединения вторичных бактериальных инфекций.

Клиника. При ОРВИ различной этиологии клиническая картина может быть сходной. Течение заболевания может существенно различаться у детей и взрослых. Для ОРВИ характерен короткий инкубационный период. Заболевания, как правило, кратковременные, интоксикация слабая или умеренная. Нередко, ОРВИ даже протекают без сколько-нибудь значимого подъема температуры. Характерными симптомами являются катар верхних дыхательных путей (ларингит, фарингит, трахеит), ринит и ринорея (при риновирусной инфекции часто бывает изолированный ринит и сухой кашель). При аденовирусной инфекции могут присоединиться фарингоконъюнктивит, лимфоаденопатия. У детей обычно тяжело протекает инфекция, вызванная РС-вирусами. При этом, поражаются нижние отделы дыхательного тракта, возникают бронхиолиты, острая пневмония и астматический синдром. При ОРВИ часто развивается сенсибилизация организма.

Тем не менее, большинство неосложненных ОРВИ у практически здоровых лиц, протекает не тяжело и заканчивается в течение недели полным выздоровлением больного, даже без сколько-нибудь интенсивного лечения.

Течение ОРВИ нередко осложняется, так как на фоне постинфекционного иммунодефицита возникают вторичные бактериальные инфекции (например, синуситы, бронхиты, отиты и т.п.), которые значительно утяжеляют течение заболевания и увеличивают его продолжительность. Наиболее тяжелым «респираторным» осложнением является острая пневмония (вирусно-бактериальные пневмонии протекают тяжело, нередко приводя к гибели больного из-за массивного разрушения эпителия дыхательных путей, геморрагии, формирования абсцессов в легких). Кроме того, течение ОРВИ может осложняться неврологическими расстройствами, нарушением функций сердца, печени и почек, а также симптомами поражения ЖКТ. Это может быть связано с действием, как самих вирусов, так и с токсическим воздействием продуктов распада инфицированных клеток.

Иммунитет. Наиболее важную роль в защите от повторных заболеваний, несомненно, играет состояние местного иммунитета. При ОРВИ наибольшими защитными функциями в организме обладают вируснейтрализующие специфические IgA (обеспечивают местный иммунитет) и клеточный иммунитет. Антитела обычно продуцируются слишком медленно, чтобы быть эффективными факторами защиты во время заболевания. Другим важным

фактором в защите организма от вирусов ОРВИ является местная выработка ос-интерферона, появление которого в носовом отделяемом, приводит к значительному снижению количества вирусов. Важной особенностью ОРВИ является формирование вторичного иммунодефицита.

Постинфекционный иммунитет при большинстве ОРВИ нестойкий, непродолжительный и типоспецифический. Исключение составляет аденовирусная инфекция, которая сопровождается формированием достаточно прочного, но также типоспецифического иммунитета. Большое число серотипов, большое количество и разнообразие самих вирусов объясняют высокую частоту повторных заболеваний ОРВИ.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат носоглоточная слизь, мазки-отпечатки и смывы из зева и носа.

Экспресс-диагностика. Обнаруживают вирусные антигены в инфицированных клетках. Применяют РИФ (прямой и непрямой методы) с использованием меченных флюорохромами специфических антител, а также ИФА. Для труднокультивируемых вирусов, используют генетический метод **(ПЦР).**

Вирусологический метод. В течение долгого времени заражение культур клеток секретами респираторного тракта для культивирования вирусов, было основным направлением в диагностике ОРВИ. Индикацию вирусов в зараженных лабораторных моделях проводят по ЦПЭ, а также РГА и гемадсорбции (для вирусов с гемагглютинирующей активностью), по образованию включений (внутриядерные включения при аденовирусной инфекции, цитоплазматические включения в околоядерной зоне при реовирусной инфекции и т.п.), а также по образованию «бляшек» и «цветной пробе». Идентифицируют вирусы по антигенной структуре в РСК, РПГА, ИФА, РТГА, РБН вирусов.

Серологический метод. Противовирусные антитела исследуют в парных сыворотках больного, полученных с интервалом в 10–14 дней. Диагноз ставят при увеличении титра антител, как минимум, в 4 раза. При этом определяется уровень IgG в таких реакциях, как РБН вирусов, РСК, РПГА, РТГА и др. Так как продолжительность заболевания часто не превышает 5–7 дней, то серологическое исследование обычно служит для ретроспективной диагностики и эпидемиологических исследований.

Лечение. Эффективного этиотропного лечения ОРВИ в настоящее время нет (попытки создать препараты, действующие на вирусы ОРВИ, ведутся в двух направлениях: препятствие «раздеванию» вирусной РИК и блокирование клеточных рецепторов). Неспецифическим противовирусным действием обладает а-интерферон, препараты которого применяют интраназально. Внеклеточные формы адено-, рино- и миксовирусов инактивирует оксолин, который применяют в виде глазных капель или мази интраназально. Только при развитии вторичной бактериальной инфекции назначают антибиотики. Основное лечение – патогенетическое/симптоматическое (включает детоксикацию, обильное теплое питье, жаропонижающие препараты, витамин С и т.п.). Для лечения можно использовать антигистаминные препараты. Большое значение имеет повышение общей и местной сопротивляемости организма.

Профилактика. Неспецифическая профилактика заключается в противоэпидемических мероприятиях, ограничивающих распространение и передачу вирусов аэрогенно и контактно. В эпидсезон необходимо принимать меры, направленные на повышение общей и местной сопротивляемости организма.

Специфическая профилактика большинства ОРВИ неэффективна. Для профилактики аденовирусной инфекции разработаны пероральные живые тривалентные вакцины (из штаммов типов 3, 4 и 7; вводятся перорально, в капсулах), которые применяются по эпидпоказаниям.

18. 6. Возбудители вирусных острых кишечных инфекций

Острые кишечные инфекции (ОКИ) – обширная группа инфекционных заболеваний, преимущественно антропонозного ряда с фекально-оральным механизмом заражения. В этиологической структуре ОКИ основными возбудителями являются представители семейства Enterobacteriaceae. Все большее значение приобретают криптоспоридии и Clostridium difficile.

Важнейшее место в этиологической структуре ОКИ занимают вирусы: энтеровирусы ротавирусы, вирусы гепатитов А и Е, некоторые аденовирусы и др. При ОКИ вирусной природы наряду с поражениями кишечника отмечаются изменения со стороны верхних дыхательных путей: нёба, дужек, язычка – при ротавирусной инфекции; трахеобронхит – при аденовирусной инфекции.

Диагноз устанавливается на основании клинических признаков болезни, результатов микробиологического (вирусологического, серологического) исследования, эпидемиологического анамнеза.

18. 7. Возбудители парентеральных вирусных гепатитов B, D, C, G

Возбудителями парентеральных вирусных гепатитов является вирус гепатита В (см. разд. 18. 2), а также вирусы гепатитов D, C, G.

Вирус гепатита D

Вирус гепатита D (ВГD) впервые был обнаружен в 1977 г. Ризетто. ВГD не классифицирован. ВГD является сателлитом вируса гепатита В и представляет дефектный вирус, не имеющий собственной оболочки. Вирион ВГD имеет сферическую форму (диаметр 36 нм), который состоит из одноцепочатой РНК и сердцевинного HDe-антигена (дельта-антигена), который построен из двух белков, имеющих полипептидные цепи разной длины. Эти белки регулируют синтез генома вируса: один белок стимулирует синтез генома, другой – тормозит. Различают три генотипа вируса. В России преобладает 1 генотип. Все генотипы относятся к одному серотипу. В качестве внешней оболочки ВГD использует HBs-антиген внешней оболочки вируса гепатита В.

Резервуаром ВГD в природе являются носители ВГВ. Заражение ВГD аналогично инфицированию ВГВ. Одновременное инфицирование ВГВ и ВГD (коинфекция) приводит к развитию умеренной формы болезни. Инфицирование *ВГD* больных хронической формой гепатита В, утяжеляет течение инфекции, приводя к развитию острой печеночной недостаточности и цирроза печени. РНК вируса можно обнаружить в гепатоцитах ПЦР.

Диагностика осуществляется серологическим методом, путем определения антител к ВГD методом ИФА.

Для профилактики гепатита D, применяются все те мероприятия, которые используют для профилактики гепатита В. Для лечения используют препараты интерферона. Вакцина против гепатита В защищает и от гепатита D.

Вирус гепатита C

Вирус гепатита С (ВГС) относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus.*

Морфология. ВГС является сложноорганизованным РНК-содержащим вирусом сферической формы (диаметр 55–65 нм). Геном представлен одной линейной «+» цепью РНК.

обладает большой вариабельностью. Известно около 14 генотипов вируса. Наиболее вирулентен Ib генотип.

Антигенная структура. Вирус обладает сложной антигенной структурой. Антигенами являются:

1. Гликопротеины оболочки (gp-антигены). E1 и E2.
2. Сердцевинный антиген HCc-антиген (core-антиген)
3. Неструктурные белки: NS2, NS3, NS4, NS5.

Культуральные свойства. ВГС не культивируется на куриных эмбрионах, не обладает гемолитической и гемагглютинирующей активностью. Экспериментальной моделью является шимпанзе. Трудно адаптируется к культивированию в культуре клеток.

Резистентность. ВГС чувствителен к эфиру, детергентам, УФ-лучам, нагреванию до 50 °С.

Эпидемиология. Заражение ВГС аналогично заражению ВГВ. Однако, для заражения ВГС требуется большая заражающая доза, чем при гепатите В. Наиболее часто, ВГС передается при переливаниях крови (7/ случаев), трансплацентарно (10%), половым путем (7%). В мире насчитывается более 200 млн. носителей ВГС.

Клиника заболевания. Инкубационный период короче, чем при гепатите В и составляет от 6 до 120 недель. Клиническое течение острого гепатита С более легкое, чем гепатита В. Часто встречаются безжелтушные формы, выявить заболевание при которых, можно по увеличению аланинтрансаминазы в крови. Но, несмотря на более легкое, чем при гепатите В, течение инфекции в острой форме, в 50% случаев, процесс переходит в хроническое течение с развитием цирроза и первичного рака печени. Переход в хроническое состояние связан с отсутствием выраженного клеточного CD 4 иммунного ответа. CD 4 имунный ответ направлен против неструктурного белка NS 3 и направлен на эпитоп, который одинаков у всех генотипов. При ослаблении CD 4 иммунного ответа происходит реактивация вируса. Предполагается, что ВГС представляет собой персистирующую вирусную инфекцию, при которой вирус персистирует в лимфатических узлах.

Диагностика. Используются ПЦР и серологическое исследование. Подтверждением активного инфекционного процесса является обнаружение в крови вирусной РНК ПЦР. Серологическое исследование направлено на определение антител к NS3 методом ИФА.

Профилактика и лечение. Для профилактики используют те же мероприятия, что и при гепатите В. Для лечения применяют интерферон и рибовирин. Специфическая профилактика не разработана.

Вирус гепатита G

Вирус гепатита G предположительно относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus*. Известно 5 генотипов вируса: GB-A, GB-B, GB-C и др. Вирус гепатита G пока мало изучен. Известно, что он имеет РНК-зависимую протеиназу, поверхностный HGs- и сердцевинный HGc-антигены. Предполагается, что в сердцевинном (core) белке имеется дефект, поэтому для его репликации требуется вирус гепатита С. Считается, что вирус гепатита G обладает лимфотропностью, с ним связывают развитие персистирующих форм инфекции, а популяция GB-C, возможно, вызывает молниеносную инфекцию.

18. 8. Онкогенные вирусы

Впервые этиологическая роль вирусов была продемонстрирована в 1910 г. П. Раусом на примере саркомы кур, хотя гипотеза о вирусной этиологии опухолей высказывалась и ранее. В 30-е годы XX в. была показана роль фильтрующих агентов в развитии папилло-

мы и рака кожи у кроликов, рака молочной железы у мышей, лимфомы у цыплят. В 1946 г. российский вирусолог Л. А. Зильбер опубликовал монографию «Вирусная теория происхождения злокачественных новообразований», в которой изложил свою вирусогенетическую теорию происхождения опухолей. Основу этой теории составляет постулат о необходимости тесного взаимодействия геномов вируса и клетки для последующей ее трансформации. Благодаря развитию молекулярной биологии, вирусо-генетическая теория онкогенеза в начале 70-х годов XX в. нашла экспериментальное подтверждение.

В настоящее время установлена связь между вирусной инфекцией и последующей трансформацией клетки для вирусов, входящих в следующие семейства:

РНК-содержащие: семейство *Retroviridae*.

ДНК-содержащие: семейства *Papillomaviridae, Polyomaviridae, Adenoviridae 12, 18, 31, Hepadnaviridae, Herpesviridae, Poxviridae*

Наиболее хорошо изучен механизм вирусного онкогенеза у представителей РНК-содержащих вирусов семейства *Retroviridae*.

РНК-содержащие онкогенные вирусы

Семейство Retroviridae включает 7 родов.

Онковирусы являются сложноорганизованными вирусами. Вирионы построены из сердцевины (диаметр 70–80 нм), окруженной липопротеиновой оболочкой с шипами. Размеры и формы шипов, а также локализация сердцевины служат основой для подразделения вирусов на 4 морфологических типа (A, B, C, D), а также вирус бычьего лейкоза.

Большинство онкогенных вирусов, относится к типу С. Этот тип распространен среди рыб, пресмыкающихся, птиц, млекопитающих, включая человека. К типу В относятся вирусы, вызывающие рак молочной железы у мышей, а некоторые онковирусы обезьян принадлежат к типу D.

Капсид онковирусов построен по кубическому типу симметрии. В него заключены нуклеопротеин и фермент ревертаза (обратная транскриптаза). От наличия этого фермента, осуществляющего обратную реакцию (лат. *retro* – обратный), и произошло название семейства. Ревертаза обладает способностью транскрибировать ДНК, как на матрице РНК, так и ДНК, а также нуклеазной активностью.

Геном представлен двумя идентичными позитивными цепями РНК, т.е. геном обладает диплоидностью. Обе молекулы РНК связаны на 5'-конце водородными связями. С 5'-концом каждой цепи связана тРНК клеточного происхождения, которая служит затравкой при транскрипции генома.

Геном состоит из структурных и регуляторных генов. Последовательность структурных генов от 5'-конца к 3'-концу следующая: gag–pol-env.

Gag кодирует синтез групповоспецифических антигенов капсида, основными из которых являются белки капсида с р27–р30. Pol кодирует ревертазу. Env кодирует белки шипов оболочки.

Структурные гены с двух сторон ограничены длинными концевыми повторами, получившими название LTR (*long terminal repeat*, англ.), которые выполняют регуляторную функцию. В их состав входят сайты, связывающие затравку, которой является тРНК и клеточные полимеразы. Кроме того, имеется ген-трансактиватор, являющийся усилителем транскрипции.

По краям LTR ограничены повторяющимися последовательностями, которые представляют участки узнавания в процессе интеграции провируса в геном клетки.

Культивирование вирусов. Не культивируются на куриных эмбрионах, культивируются в организме чувствительных животных, а также культурах клеток.

Репродукция вирусов. Онковирусы проникают в клетку путем эндоцитоза. После освобождения из вакуоли нуклеокапсида начинает функционировать ревертаза. Этот процесс включает 3 этапа:

– синтез ДНК. на матрице РНК, при использовании тРНК в качестве затравки;

– ферментативное расщепление матричной РНК;

– синтез комплементарной нити ДНК на матрице первой нити ДНК.

Все три этапа осуществляются ревертазой. Благодаря наличию на LTR инвертированных повторов, линейная двухцепочечная ДНК замыкается в кольцо и интегрирует в ДНК клетки.

Транскрипция участков хромосомы, соответствующих геному провируса, осуществляется с помощью клеточной РНК-полимеразы 2.

Существуют две большие группы онковирусов: эндогенные и экзогенные.

Эндогенные онковирусы являются составными элементами генома всех органов и тканей организма человека и животных и передаются потомству от одного поколения другому, т.е. «вертикально», подобно обычным клеточным генам. Эндогенные онковирусы не являются онкогенными для представителей того вида животного, в клетках которого они находятся в виде постоянного генетического элемента.

Экзогенные онковирусы распространяются «горизонтально» от одной особи другой в форме вирионов.

Механизм онкогенеза, вызываемого онковирусами, связан с функционированием one-генов, которые имеются в геноме всех клеток человека и животных. В нормальных здоровых тканях этот one-ген находится в неактивном состоянии, в так называемой форме проонкогена. В настоящее время, известно более двух десятков one-генов, функционирование которых приводит к трансформации клетки. Например, src-ген связан с развитием саркомы Рауса у кур, ras-ген опосредует развитие саркомы у крыс.

Включение в геном клетки ДНК-провируса может приводить к активации one-гена, результатом чего, будет развитие трансформации клетки. Кроме того, в процессе исключения ДНК-провируса из хромосомы клетки one-ген может встроиться в вирусный геном и в составе вирусного генома попасть в новые клетки в активном состоянии.

Последовательность одного и того же протоонкогена может определять трансформирующую активность онковирусов разных животных.

Активация протоонкогена может быть результатом увеличения транскрипционной активности, вследствие действия трансактиватора, расположенного на LTR генома провируса, а также результатом перестройки генетического материала, как следствие включения провируса в геном клетки.

Помимо онковирусов, активацию протоонкогена могут вызвать мутагены, подвижные генетические элементы.

Онковирусы чувствительны к эфиру, детергентам, формалину, инактивируются при температуре +56 °С. Устойчивы к УФ-лучам и низким температурам.

К семейству *Retroviridae* относится примерно 150 видов вирусов, вызывающих развитие опухолей у животных и только 4 вида вызывают опухоли у человека: HTLV-1, HTLV-2, ВИЧ-1,ВИЧ-2.

Вирусы Т-клеточного лейкоза человека

К семейству *Retroviridae* роду *Deltaretrovirus* относятся вирусы, поражающие CD 4 Т-лимфоциты, для которых доказана этиологическая роль в развитии опухолевого процесса у людей: HTLV-1 и HTLV-2

Вирус HTLV-1 *(human T-lymphotropic virus)* является возбудителем Т-клеточного лимфо-лейкоза взрослых. Вирус был изолирован в 1980 г. от больного Т-лимфомой. Он является экзогенным онковирусом, который, в отличие от других онковирусов, имеет два дополнительных структурных гена: tax и rex.

Продукт tax-гена действует на терминальные повторы LTR, стимулируя синтез вирусной иРНК, а также образование ИЛ-2 рецепторов на поверхности зараженной клетки.

Продукт rex-гена определяет очередность трансляции вирусных иРНК.

HTLV-2 был изолирован от больного волосисто-клеточным лейкозом. Отличается от HTLV-1 по группоспецифическим антигенам.

Оба вируса передаются половым, трансфузионным и трансплацентарным путями. Заболевания, вызываемые вирусами, характеризуются медленным развитием (инкубационный период – до 20 лет с момента заражения) и летальным исходом. Патогенез и течение инфекции напоминают таковые ВИЧ-инфекции, так как при обеих инфекциях поражается иммунная система. В крови у больных можно обнаружить антитела к вирусам. Заболевания встречаются среди представителей населения определенных географических регионов: в Сахаре, на Антильских островах, островах Юга Японии, а также в России (Восточная Сибирь, Дальний Восток). Эпидемиология Т-клеточных лейкозов изучена недостаточно. Специфическая профилактика и лечение не разработаны.

ДНК-содержащие онкогенные вирусы

Для многих ДНК-содержащих онкогенных вирусов, механизмы вызываемого ими онкогенеза схожи. Это связано с тем, что большинство таких вирусов вызывают трансформацию непермиссивных клеток, т.е. тех клеток, в которых они не реплицируются с формированием нового поколения вирионов.

Существенным шагом в осуществлении онкогенеза ДНК-содержащими вирусами является экспрессия, так называемых, «ранних» генов. Эти гены кодируют набор белков, называемых Т- (англ. *tumor* – опухоль) антигенами, большинство из которых, локализуется в ядре, но некоторые – в клеточной мембране.

В механизм онкогенеза, вызываемого ДНК-содержащими вирусами, также вовлечены клеточные белки, являющиеся продуктами опухоль-супрессирующих генов: p53 и Rb.

Белок p53 является супрессором опухолевого роста. Он представляет собой фосфопротеин, синтез которого усиливается в ответ на поврежденную ДНК. P53 активирует транскрипцию белка (WAF1), который, в свою очередь, связывает и инактивирует два важных циклина, усиливающих клеточное деление. Результатом деятельности белка p53 является ограничение деления клеток. Если же происходит репарация поврежденной ДНК, уровень p53 падает и клеточное деление восстанавливается.

Rb (англ. *retinoblastome* – ретинобластома) ген кодирует белок, который осуществляет контроль клеточной пролиферации.

Семейство Papillomaviridae включает в себя вирусы папилломы человека, кроликов, коров, собак.

Вирусы папилломы человека вызывают продуктивную инфекцию только в дифференцированных клетках плоского эпителия. Размножающиеся клетки базального слоя, не способны к поддержанию полного репродуктивного цикла.

Насчитывается более 100 типов вируса папилломы человека, большинство из которых, вызывает образование доброкачественных бородавок, папиллом и кондилом в области половых органов, ануса, на слизистых оболочках дыхательных путей и пищеварительного тракта, а также на коже. В клетках этих образований ДНК вируса находится, в ядре, в виде независимой от генома клетки плазмидной формы, кольцевой, двухцепочечной ДНК.

Определенные типы вируса папилломы человека, в частности типы, 2, 5, 8, способны вызвать рак кожи, злокачественные опухоли в полости рта, гортани. Типы 16 и 18 почти в 100% случаев являются возбудителями рака шейки матки.

В раковых клетках вирусная ДНК интегрирована в клеточную. Канцерогенез связан с экспрессией белков Е6 и Е7, которые инактивируют супрессирующие опухолевый рост белки p53 и Rb.

Семейство Polyomaviridae (от лат. *poly* – много, *oma* – опухоль), а также вакуолизирующий вирус обезьян SV-40, различаются между собой по антигенным свойствам.

Полиомавирусы и вирус SV-40 имеют одинаковый механизм онкогенеза. Эти вирусы вызывают продуктивную инфекцию в клетках природных хозяев. При инфицировании новорожденных животных других видов или гетерологических культур клеток, они стимулируют образование опухолей широкого гистологического спектра.

В трансформированных клетках вирусная ДНК интегрирована в клеточную и экспрессирует только ранние белки. Некоторые из них, в частности Т-антиген, препятствуют связыванию белка p53 с клеточной ДНК.

Известны два вируса полиомы человека: ВК, изолированный из мочи больного, с трансплантацией почки и JC.

Вирус JC был выделен из мозга человека, страдающего прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией – заболевания, характеризующегося демиелинизацией белого вещества мозга и встречающегося у лиц с пониженным Т-клеточным иммунитетом. Вирус JC способен вызвать развитие опухолей мозга у обезьян и новорожденных хомячков.

Вакуолизирующий вирус SV-40 был обнаружен в культуре клеток почки макаки-резуса, в которой он не вызывал ни ЦПД, ни трансформации. При заражении этим вирусом культуры клеток из почки зеленой мартышки он вызвал вакуолизацию и гибель клеток. SV-40 вызывает также развитие опухолей у хомяков, крыс и обезьян-мармозеток.

Вирус SV-40 не обладает онкогенным эффектом в отношении человека. Об этом свидетельствуют наблюдения за десятками миллионов лиц, которым в детстве (в первые годы массовых прививок против полиомиелита) был введен этот вирус, так как им были контаминированы культуры клеток почки макаки-резуса, на которых получали вакцину. Тщательные наблюдения за эти контингентом, а также за добровольцами из США, которые были инфицированы SV-40, показали, что вирус вызывает у человека бессимптомное носительство, стимулирует образование антител, но не вызывает опухо-лерод-ного эффекта.

Семейство Adenoviridae. Некоторые аденовирусы человека, особенно серотипы 12, 18 и 31, индуцируют саркомы у новорожденных хомячков и трансформируют культуры клеток грызунов. Механизм онкогенеза аналогичен таковому у полиомавирусов, за исключением того факта, что в непермиссивных клетках не вся ДНК вируса, а только 10% генома интегрирует в ДНК-клетки, экспрессируя при этом Т-антиген.

Данные о способности аденовирусов вызывать онкогенез у человека отсутствуют.

Вирус гепатита В. ВГВ вызывает развитие первичного рака печени. Опухоль развивается у хронических носителей вируса, у которых вирусная ДНК интегрирована в геном гепатоцита. Онкогенез связывают с возможностью интеграции вирусной ДНК в район сильного промотора, в результате чего, начинается синтез и накопление HBx-антигена, который обладает способностью связывать супрессор опухолевого роста p53.

Семейство Poxviridae. В состав семейства входят вирусы фибромы-миксомы кролика, вирус Ябы, вызывающий развитие опухолей у обезьян, и вирус контагиозного моллюска, патогенный для человека. Этот вирус вызывает образование эритематозных узелков, локализующихся на коже лица, шеи, век, половых органов. Болезнь передается при прямом и половом контакте.

Семейство Herpesviridae. Различные представители семейства вызывают лимфомы у обезьян, карциному почки у лягушки (болезнь Люке), нейролимфому у цыплят (болезнь Марека)

Онкогенез у человека связан с вирусом простого герпеса 2 типа (ВПГ-2) и вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ).

ВПГ-2 связывают с развитием рака шейки матки у женщин. Эта корреляция основана на результатах эпидемиологических обследований, показывающих взаимосвязь между половым герпесом у женщин и последующим раком шейки матки. Кроме того, у больных раком шейки матки женщин обнаруживаются антитела к ВПГ-2 чаще, чем у здоровых женщин.

С **ВЭБ** связывают лимфомы Беркитта – опухоли верхней челюсти, встречающейся у детей и юношей в странах Африки и карциномы носоглотки, которая, в основном, поражает мужское население в некоторых районах Китая. В клетках опухолей обнаруживаются множественные копии интегрированного генома вируса. В ядрах пораженных клеток выявляется ядерный антиген ВЭБ. В крови больных вначале появляются антитела к капсидному антигену, а позже – к мембранному и ядерному антигенам ВЭБ.

В зависимости от локализации грибов, первичной колонизации организма грибами, а также от аллергизирующих и токсических свойств грибов можно выделить следующие заболевания.

1. Поверхностные микозы или кератомикозы – поражения поверхностных слоев кожи и волос.

2. Эпидермофитии (эпидермомикозы, дерматомикозы) – поражения эпидермиса, кожи и волос.

3. Подкожные или субкутанные, микозы, вовлекающие в процесс дерму, подкожные ткани, мышцы и фасции.

4. Системные или глубокие, микозы, при которых поражаются внутренние органы и ткани.

5. Оппортунистические микозы.

6. Аллергии, вызванные грибами (пневмоаллергии и дермоаллергии).

7. Микотоксикозы – пищевые интоксикации, вызванные токсинами грибов.

19.1. Возбудители поверхностных микозов

Возбудителями поверхностных микозов (кератомикозов) являются кератомицеты – малоконтагиозные грибы, поражающие поверхностные отделы рогового слоя эпидермиса и поверхность волоса (табл. **19. 1).**

Лечение поверхностных микозов. Лечение направлено на удаление пораженных участков с помощью кератолитических средств. Применяют препараты, содержащие дисульфид селена, тиосульфат, амфотерицин В, салициловую кислоту. Противогрибковый эффект достигается применением нитрата миконазола, подавляющего синтез эргостерола. При инфекциях, вызванных *Piedraia hortae* или *Trichosporon beigelii* эффективно удаление волос бритвой и соблюдение личной гигиены.

Возбудитель разноцветного лишая *(Malassezia furfur)*

Malassezia furfur (*Pityrosporum orbiculare*) – широко распространенный дрожжеподобный *липофильный* гриб, обитающий в норме на коже человека. Чаще гриб находят в областях тела с повышенным количеством сальных желез, из-за потребности его в сложных жирных кислотах. Кроме *M. furfur* различают еще 6 видов.

M. furfur может поражать поверхностные отделы рогового слоя эпидермиса. Вызывает разноцветный (пестрый, отрубевидный) лишай, характеризующийся появлением на коже туловища, шее, руках розовато-желтых невоспалительных пятен. Кроме гиперпигментированных пятен образуются и гипопигментированные пятна. При соскабливании на пятнах появляются чешуйки, похожие на отруби, в которых находятся дрожжеподобные клетки и псевдомицелий в виде коротких, слегка изогнутых нитей.

Таблица 19. 1.

Характеристика кератомицетов

Вид гриба	Болезнь	Форма гриба к ткани
Malassezia furfur	Отрубевидный лишай	В роговом слое эпидермиса короткие, изогнутые гифы и дрожжеподобные клетки
Exophiala werneckii	Черный лишай	В роговом слое эпидермиса темные, септированные гифы и почкующиеся клетки
Piedraia horiae	Черная пьедра	На волосе черные узелки, содержащие аски
Trichosporon beigelii	Белая пьедра	Вокруг волоса желтые узелки содержащие фрагменты мицелия и артроконидии

Микробиологическая диагностика. В чешуйках, обработанных 20% щелочью, выявляются короткие, слегка изогнутые гифы и дрожжеподобные почкующиеся клетки *M. furfur*. Культивирование проводят на средах, содержащих твин 80 и липидные компоненты. Можно использовать среду Сабуро с тетрациклином. После посева в среду добавляют несколько капель стерильного оливкового масла. Рост отмечается через неделю в виде белых сливкообразных колоний, состоящих из овальных, бутылкообразных почкующихся клеток (2х6 мкм). Истинный мицелий отсутствует.

Возбудитель черного лишая (Exophiala werneckii)

Возбудитель черного лишая – *Exophiala (Phaeoanellomyces) werneckii*. Встречается в тропиках. Растет в роговом слое эпидермиса в виде почкующихся клеток и фрагментов коричневых, ветвистых, септированных гиф. На ладонях и подошвах появляются коричневые или черные пятна. Гриб образует меланин, растет на сахарных средах в виде коричневых, черных колоний. Колонии состоят из дрожжеподобных клеток. В старых культурах преобладают мицелиальные формы и конидии.

Микробиологическая диагностика. Выявление *E. werneckii* проводится путем микроскопического изучения мазка из клинического материала, обработанного гидроокисью калия.

Лечение. Назначают антимикотики местного применения.

Возбудитель черной пьедры (Piedraia hortae)

Черная пьедра (пьедраноз) – поверхностная инфекция волос, вызываемая *Piedraia hortae*. Встречается в тропических регионах Южной Америки и Индонезии. Колонизация волоса, вплоть до внедрения гриба в кутикулу, происходит в результате полового размножения гриба (телеоморфа). Появляются овальные, крупные (размер до 50 мкм), аски, которые содержат веретенообразные аскоспоры. Культуры, растущие на питательных средах, например, на среде Сабуро, размножаются бесполым путем (анаморфа). Колонии мелкие, темно-коричневые, с бархатистыми краями. Состоят из темно-коричневого мицелия с хламидоспорами.

Главным признаком черной пьедры, является наличие плотных черных узелков (диаметр 1 мм) на инфицированном волосе. Узелки состоят из темно-бурых, септированных, ветвящихся нитей толщиной 4–8 мкм и асков.

Микробиологическая диагностика. Выявление *P. hortae.* проводится путем микроскопического исследования пораженных волос.

Лечение. Назначают антимикотики местного применения.

Возбудитель белой пьедры (Trichosporon beigelii)

Белая пьедра (трихоспороз) – инфекция волос головы, усов, бороды, вызываемая *Trichosporon beigelii* (*Trichosporon cutaneum* – комплекс). Заболевание чаще встречается в странах с тропическим климатом. Этот дрожжеподобный гриб образует зеленовато-желтый чехол из твердых узелков вокруг волоса и поражает кутикулу волоса. Септированные гифы гриба, толщиной около 4 мкм, фрагментируются с образованием овальных артроконидий.

На питательной среде, например, на среде Сабуро, образуются кремовые и серые морщинистые колонии, состоящие из септированного мицелия, артроконидий и бластоконидий.

Микробиологическая диагностика. Выявление *T. beigelii* проводится путем микроскопического исследования пораженного волоса и по биохимической активности чистой культуры гриба.

Лечение. Назначают антимикотики местного применения, например, клотримазол.

19. 2. Возбудители эпидермофитии

Возбудители эпидермофитии (эпидермомикозов, дерматофитий, дерматомикозов) – дерматофиты или дерматомицеты; поражают кожу, ногти и волосы, вызывая трихофитию, микроспорию, фавус, эпидермофитию и др. Дерматофиты подразделяют на 3 рода: *Microsporum, Trichophyton, Epidermophyton.* Они отличаются по способам споруляции (рис. 19. 1–19. 4).

Морфология и физиология. Дерматофиты образуют септированный мицелий с артроконидиями хламидоспорами, макро – и микро конидиями. Макроконидии различны: у рода *Microsporum* – толстостенные, многоклеточные, веретенообразные и покрыты шипами (рис. 19. 1); у рода *Trichophyton* – крупные, гладкие, септированные (рис. 19. 2 и 19. 3); у рода *Epidermophyton* имеется множество гладких дубинкообразных макроконидий (рис. 19. 4).

Грибы размножаются бесполым (анаморфы) или половым (телеоморфы) путями, образуя аски. Растут на среде Сабуро и др. Колонии (в зависимости от вида) разноцветные, мучнистые, зернистые, пушистые.

Резистентность. Грибы устойчивы к высушиванию и замораживанию. Трихофитоны сохраняются в волосах до 4–7 лет. Дерматофиты погибают при 100 °С через 10–20 мин. Чувствительны к действию УФ-лучей, растворов щелочи, формальдегида, йода.

Эпидемиология. Около 40 видов дерматофитов вызывают патологические процессы у человека. Возбудитель передается при контакте с больным человеком или животным, а также при контакте с различными объектами окружающей среды. Грибы передаются через предметы обихода (расчески, полотенца). Люди чаще инфицируются в банях, душевых, бассейнах.

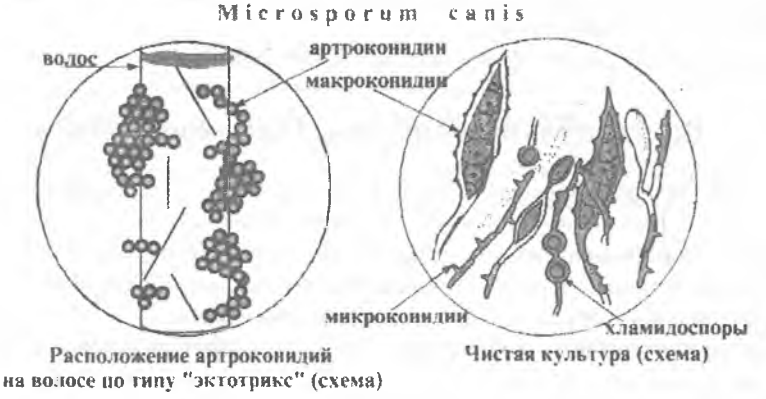


Рис. 19. 1. Схема строения *Microsporum canis in vivo и in vitro.*

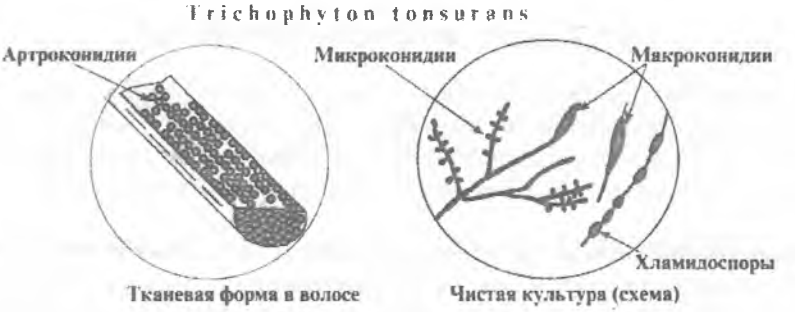


Рис. 19. 2. Схема строения *Trichophyton tonsurans in vivo и in vitro.*



Рис. 19. 3. Схема строения *Trichophyton mentagrophytes var mentagrophytes in vivo и in vitro.*

Таблица 19. 2.

Антропофильные дерматофиты

Вид дерматофитов	Вызываемые микозы
Microsporum audouinii Microsporum ferrugineum	Микроспория
Trichophyton tonsurans Trichophyton violaceum	Трихофития
Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale	Эпидермофития стоп. Эпидермофития ногтей (онихомикоз)
Epidermophyton floccosum	Эпидермофития паховая. Эпидермофития ногтей (онихомикоз)
Trichophyton rubrum	Руброфития стоп и др. Руброфития ногтей (онихомикоз)
Trichophyton schoenleini	Фавус

Таблица 19. 3

Зоофильные дерматиты

Вид дерматофитов	Природный резервуар	Микозы
Microsporam canis Microsporum gallinae	Кошки, собаки Домашняя птица	Микроспория
Trichophyton verracosum Trichophyton equinum Trichophyton mentagrophytes var mentagrophytes	Крупный рогатый скот Лошади Грызуны	Трихофития

Таблица 19. 4.

Геофильные дерматофиты

Вид дерматофитов	Вызываемые микозы
Microsporum cookei Microsporum gypseum Microsporum fulvum Microsporum nanum	Микроспория

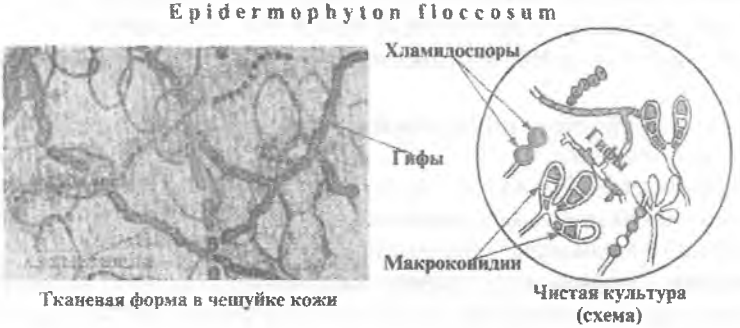


Рис. **19. 4.** Схема строения *Epidermophytonfloccosum in vivo u in vitro.*

Различают антропофильные, зоофильные и геофильные грибы (табл. 19.2–19.4). **Антропофильные дерматофиты** передаются от человека человеку, **зоофильные дерматофиты** – человеку от животных. Например, *Trichophyton verrucosum* передается от крупного рогатого скота («телячий лишай»). *Геофильные дерматофиты* обитают в почве и передаются при контакте с ней. Например, *Microsporum gypseum* передается при обработке почвы голыми руками – «микроспория садоводов».

Патогенез и клиника. Развитию заболевания способствуют мацерация, мелкие повреждения кожи, повышенная потливость, ослабленный иммунитет, эндокринные нарушения, длительное применение антибиотиков и др. В зависимости от вида гриба, в различной степени поражаются кожа, волосы и ногти. Возбудители обитают на ороговевших субстратах (кератинофильные грибы). Продуцируют кератиназу, расщепляющую кератин наружных покровов. Дерматофиты не проникают далее базальной мембраны эпидермиса.

Различают дерматомикоз туловища, конечностей *(tinea corporis)*, лица *(tinea facialis)*, стопы *(tinea pedis)*, ногтей *(tinea uniquium)*, кисти *(tinea manus)*, промежности *(tinea cruris)*, области бороды *(tinea barbae)*, волосистой части головы *(tinea capitis)*.

Волосы, пораженные грибами, обламываются; развивается плешивость, очаговое облысение. Кожа шелушится, появляются везикулы, пустулы, трещины. Развивается зуд очагов поражения. Воспаление отсутствует или может быть в выраженной форме. Например, *M. gypseum* вызывает гнойно-воспалительный процесс волосистой части головы (керион), заканчивающийся через 8 недель умеренным рубцеванием.

Грибковые инфекции ногтей (онихомикозы) сопровождаются изменением цвета, прозрачности, толщины, поверхности, прочности и целостности ногтевой пластинки. Возбудителем онихомикоза может быть любой дерматофит, но чаще, его вызывают *Trichophyton rubrum* и *Trichophyton interdigitale*.

Иммунитет. Снижение иммунитета способствует развитию микозов. У людей, инфицированных грибами, появляются антитела IgM, IgG, IgE; развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. Применяют микроскопический, микологический (культуральный), аллергологический, серологический и биологический методы диагностики.

Микроскопически исследуют соскобы с пораженной кожи, чешуйки, ногтевые пластинки, волосы, обработанные в течение 10–15 мин 10–15% раствором КОН. При микроскопии выявляют нити мицелия, артроконидии, макро- и микроконидии, бластоспоры. Артроконидии рода *Trichophyton* (см. рис. 19.2 и 19.3) могут располагаться параллельными цепочками снаружи волоса (эктотрикс) и внутри волоса (эндотрикс). Артроконидии рода *Microsporum* располагаются мозаично снаружи волоса (см. рис. 19.1). При фавусе внутри волоса обнаруживаются элементы гриба и пузырьки газа.

При микологическом методе делают посев на питательные среды – сусло-агар, Сабуро и др. Рост грибов изучается через 1–3 недели культивирования при 25 °С.

Для серодиагностики используют РСК, РПГА, РП, РИФ, ИФА.

При аллергологической диагностике ставят кожно-аллергические пробы с аллергенами из грибов.

Биопробу ставят на лабораторных животных (морские свинки, мыши и др.), заражая их в кожу, волосы и когти.

Лечение. Проводят местную и системную противогрибковую терапию. Назначают гризеофульвин, тербинафин, амфотерицин В, низорал (кетоконазол), клотримазол и другие антимикотики. Пораженные ногтевые пластинки удаляют.

Профилактика. Профилактика основана на соблюдении правил гигиены (гигиена кожи, использование только личной обуви и др.), выявлении и лечении больных, обследовании контактных лиц. В эпидемических очагах проводят дезинфекцию.

Возбудители микроспории (род Microsporum)

Микроспория (син. стригущий лишай) – высококонтагиозное заболевание, в основном, детей, вызываемое грибами рода *Microsporum*. Поражается преимущественно волосистая часть головы (кожа, волосы), редко ногти. Вокруг волос образуются муфты или чехлы из мозаично расположенных спор (по типу «экто – эндотрикс»).

Возбудители антропонозной микроспории M. audouinii, M. ferrugineum поражают практически только человека.

Чистая культура *M. audouinii* состоит из широкого (4–5 мкм) септированного мицелия, хламидоспор (диаметр около 30 мкм) и артроспор. Редко встречаются макро- и микроконидии.

Чистая культура *M. ferrugineum* представлена ветвистым септированным мицелием, артроспорами и хламидоспорами.

Возбудитель зооантропонозной микроспории M. canis вызывает заболевание у кошек, собак и человека. Часто бессимптомно находится в шкуре животных. Чистая культура гриба состоит из септированного мицелия, округлых хламидоспор и толстостенных, многоклеточных, веретенообразных макроконидий с шипами (см. рис. 19. 1).

Возбудители трихофитии (род Trichophyton)

Трихофития (син. стригущий лишай) вызывается грибами рода *Trichophyton*. Различают антропонозную и зооантропонозную трихофитию.

Антропонозная (поверхностная) трихофития

Вызывается T. tonsurans и T. violaceum. Болеют только люди, чаще дети. Развивается воспаление и шелушение кожи. Волосы поражаются по типу «эндотрикс» и надламываются у поверхности кожи (см. рис. 19. 2).

Чистая культура *T. tonsurans* представлена тонким (2–3 мкм), редко – септированным мицелием, грушевидными микроконидиями, артроспорами, хламидоспорами и, иногда, макроконидиями.

Чистая культура *T. violaceum* состоит из тонкого (3–4 мкм), извитого, малосептированного мицелия, разнообразных хламидоспор. В старых культурах появляются артроспоры.

Зооантропонозная (инфильтративно-нагноительная) трихофития вызывается *T. mentagrophytes var. mentagrophytes* (см. рис. 19.3). Возбудитель передается человеку от мышей, домашних животных. В коже развиваются абсцессы, гранулемы. Снаружи волос имеются артроконидии («эктотрикс»); волосы выпадают. Поражается волосистая часть головы, борода, ногти, стопы. Чистая культура гриба состоит из тонкого (2 мкм) септированного мицелия со штопорообразными гифами, а также из округлых микроконидий (2–4 мкм), хламидоспор и удлиненных макроконидий (8 х 40 мкм).

Возбудитель фавуса (Trichophyton schoenleinii)

Фавус (син. парша) – хроническое заболевание, главным образом, детей, вызываемое *Trichophyton schoenleinii*. Антропоноз. Поражаются кожа, волосы и ногти.

Характерным является образование желтого цвета скутулы – скопления спор, мицелия, клеток эпидермиса и жира. В чешуйках наблюдается ветвящийся септированный мицелий с артроспорами. Внутри пораженного волоса обнаруживают пузырьки газа и элементы гриба: септированный мицелий, скопления спор («эндотрикс»).

В чистой культуре *T. schoenleinii* представлен септированным мицелием с утолщениями и ветвлениями (канделябры, рога оленя), а также артроспоровым мицелием, хламидоспорами и макроконидиями (8х50 мкм).

Возбудитель эпидермофитии паховой (Epidermophyton floccosum)

Эпидермофития паховая вызывается грибом *Epidermophyton floccosum.* Антропоноз. Поражаются кожа паховых складок, голеней, реже – кожа межпальцевых складок и ногтевые пластинки.

В чешуйках кожи выявляются септированный ветвящийся мицелий, прямоугольные артроспоры, расположенные цепочками.

В чистой культуре *E. floccosum* состоит из септированного желтоватого мицелия, крупных хламидоспор (20–30 мкм) и тупоконечных макроконидий. Макроконидии располагаются группами на концах гиф (см. рис. 19. 4).

Поражения паха (паховый дерматомикоз) могут также вызывать *Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes,* грибы рода *Candida.*

Возбудитель эпидермофитии стоп (Trichophyton interdigitale)

Эпидермофития стоп вызывается грибом *Trichophyton interdigitale (T. mentagrophytes var interdigitale).* Антропоноз. Поражаются ногтевые пластинки (онихомикозы) и кожа стоп (образование пузырьков, трещин, чешуек и эрозий). Волосы не поражаются.

В соскобе ногтевых пластинок и в чешуйках кожи находятся мицелий и артроспоры.

Чистая культура *T. interdigitale* состоит из тонкого ветвистого септированного мицелия с грушевидными микроконидиями (2–3 мкм), макроконидий (5 х 25 мкм) и хламидоспор.

Поражения стоп могут также вызывать *Trichophyton rubrum, Epidermophyton floccosum.*

Возбудитель руброфитии (Trichophyton rubrum)

Руброфития (рубромикоз) – распространенный микоз кожи туловища и конечностей, ногтей и пушковых волос, вызванный красным трихофитоном (*Trichophyton rubrum*). Антропоноз.

В четко отграниченных очагах поражения кожи появляются мелкие розовые очаги, пузырьки, корочки. В чешуйках выявляют нити ветвящегося септированного мицелия, реже – артроспоры.

В чистой культуре *T. rubrum* видны септированные тонкие ветвистые нити мицелия, скопления грушевидных, овальных микроконидий, а также удлиненные макроконидии (6 х 50 мкм). При старении культуры гриба появляются хламидоспоры.

19. 3. Возбудители подкожных или субкутанных микозов

Возбудители подкожных или субкутанных микозов (табл. 19. 5) находятся в почве, древесине или на отмирающих, гниющих растениях. Внедряясь в местах микротравмы кожи (повреждения занозой, шипом, внедрение других посторонних тел), они вовлекают в процесс глубокие слои дермы, подкожные ткани, мышцы и фасции. К подкожным микозам относятся споротрихоз, хромобластомикоз, феогифомикоз и эумикотическая мицетома.

Таблица. 19. 5.

Возбудители подкожных или субкутанных микозов

Возбудитель	Микозы
Sporothrix schenckii	Споротрихоз
Fonsecaea compacta, Fonsecaea pedrosoi, Phialophora verrucosa, Cladophialophora carrionii, Exophiala jeanselmei	Хромобластомикоз
Madurella grisea, Phialophora cryaneseens, Exophialajeanselmei, Pseudallescheria boydii, Acremoniurn (Cephalosporium) falctforme. Leptosphaeria senegalensis, Curvularia spp.	Мицетома (мадуромикоз)
Главным образом виды Exophiala, Phialophora, Wangiella, Bipolaris, Exserohilum, Cladophialophora, Phaeoannellomyces, Aureobasidium, Cladosporium, Curvularia, Alternaria, Phoma	Феогифомикоз

Возбудитель споротрихоза (Sporothrix schenckii)

Своротрихоз (болезнь Шенка) – хроническая болезнь с локальным поражением кожи, подкожной клетчатки и лимфоузлов. Возбудитель (*Sporothrix schenckii)* впервые описан Шенком в 1898 г.

Морфология и физиология. *Sporothrix schenckii*– диморфный гриб. В организме больного он растет в дрожжевой (тканевой) форме, образуя сигарообразные, овальные клетки диаметром 2 мкм. Выявляются также астероидные тела (10–20 мкм). Астероидные тела образованы дрожжеподобными клетками и окружены лучеобразными радиально расположенными структурами.

На питательной среде (глюкозный агар, среда Сабуро, при 18–30 °С) гриб образует складчатые белые или темные колонии, состоящие из тонкого септированного мицелия (мицелиальная форма) со скоплениями овальных конидий в виде «цветов маргаритки». Встречаются также «сидячие» (на гифах) конидии более темного цвета. Конидии (споры) связаны с гифами волосками, отсюда и их название – *Sporothrix.*

Эпидемиология. S. schenckii в мицелиальной форме обитает в почве и на гниющем растительном материале; его находят в древесине, в воде и воздухе. Распространен в тропиках и субтропиках. Чаще болеют лица, занятые на сельскохозяйственных работах. Возбудитель попадает в участки микроповреждений кожи контактным путем (болезнь работающих с розами). При первичной легочной форме возможно попадание его по аэрогенному механизму.

Патогенез и клиника. На месте проникновения *S. schenckii* через поврежденную кожу образуются язва неправильной формы, узелки и абсцессы. Гриб распространяется лимфогенным путем. По ходу проксимальных лимфатических путей формируются узелки с последующим их изъязвлением. Наиболее распространенная форма болезни – **лимфангический (лимфокож-ный) споротрихоз.** Пораженные участки уплотнены и безболезненны Узелковые поражения кожи могут появляться и при микобактериозах, вызываемых условно-патогенными микобактериями (*M. marinum* и др.).

Иногда происходит диссеминация возбудителя с развитием висцерального споротрихиоза: поражаются легкие, костная система, органы брюшной полости и мозг. Возможно развитие и первичного легочного споротрихиоза.

Иммунитет. При споротрихозе появляются антитела, развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом исследовании мазка или биоптата из очага поражения выявляют дрожжеподобные клетки и «астероидные тела» гриба.

Чистую культуру гриба, в виде мицелиальной фазы, выделяют путем культивирования на питательных средах при 22–25 °С в течение 7-10 дней (при 37 °С развивается дрожжевая форма

гриба). В случае интертестикулярного введения морским свинкам взвеси выращенного мицелия, происходит его превращение в дрожжевую форму.

В сыворотке крови больных выявляют антитела в РА, РП, ИФА и др.

Лечение. Локальные поражения лечат йодидом калия, а системные – амфотерицином **В.**

Профилактика. Профилактика не разработана.

Возбудители хромобластомикоза

Хромобластомикоз (хромомикоз) – хроническая гранулематозная болезнь с поражением кожи, подкожной клетчатки и нижних конечностей.

Возбудители хромомикоза *(Fonsecaea com-pacta, Fonsecaea pedrosoi, Phialophora verrucosa, Cladophialophora carrionii, Exophiala jeanselmei, Rhinosporidium seeberi)* являются диморфными грибами. Они относятся (наряду с возбудителями феогифомикозов и мицетомы) к *демациевым грибам,* характеризующимся коричнево-черным оттенком колоний и клеточных стенок элементов гриба. Темный оттенок обусловлен наличием в них меланинов.

Морфология и физиология. Возбудители находятся в тканях и экссудатах в виде скоплений округлых делящихся клеток (диаметр 10 мкм).

Грибы, выращенные на среде Сабуро, образуют пушистые колонии темно-коричневых тонов, состоящие из септированного мицелия и разного типа конидий.

Эпидемиология. Возбудители хромобластомикоза обитают в почве на растениях, в гнилой древесине. Передаются контактным путем. Больной не заразен для окружающих. Чаще заболевания встречаются в тропиках и субтропиках.

Патогенез и клиника. Возбудитель попадает в микротравмы кожи, причем, чаще на ступнях и голенях. В течение нескольких месяцев или лет на коже образуются бородавчатые узелки, появляются абсцессы и рубцовые изменения. Вокруг первичного поражения образуются сателлитные изменения в виде цветной капусты.

Иммунитет. При хромомикозе появляются антитела, развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. В патологическом материале, обработанном 10% раствором КОН, выявляются коричневые округлые клетки возбудителя и его тела (так называемые склероции) с перегородками. Исключение составляет *Exophiala jeanselmei,* отличающийся образованием септированных гиф, а также *Rhinosporidium seeberi*,* образующий спорангии и спорангиоспоры.

При культивировании на агаре Сабуро при 20–25 °С возбудители хромобластомикоза образуют медленнорастущие колонии (рост 5–30 дней), состоящие из черного септированного мицелия и разного типа конидий.

Лечение. При лечении хромобластомикоза применяют итраконазол, 5-флуцитозин и амфотерицин В. Проводят также хирургическое удаление пораженных участков.

Профилактика. Не разработана.

Возбудители феогифомикоза

Феогифомикоз – микоз, вызванный множеством демациевых (коричнево-пигментированных) грибов, образующих в тканях гифы (мицелий).

Этиологические агенты включают различные демациевые гифомицеты**, особенно представители родов *Exophiala, Phialophora, Wdngiella, Bipolaris, Exserohilum, Cladophialophora, Phaeoannellomyces, Aureobasidium, Cladosporium, Curvularia, Alternaria, Phoma.* Феогифомикоз (феомикотическая киста) развивается после попадания из почвы демациевых грибов в микроповреждения кожи. Образуется безболезненная осумкованная масса, которая некротизируется и развивается подкожный абсцесс. В тканях, гное обнаруживают коричневые дрожженодобные клетки, псевдогифы и гифы. Эти грибы могут вызывать оппортунистические инфекции, в том числе, синусит (например, виды *Bipolaris, Exserohilum, Curvularia, Alternaria* у больных с хроническим аллергическим ринитом или иммуносупрессией) и абсцесс мозга при иммунодефицитах после ингаляции конидий. Чаще поражения мозга вызывает нейротропный гриб *Cladophialophora bantiana.*

Микробиологическая диагностика. В патологическом материале (соскобы кожи, биоптаты тканей, мокрота, цереброспинальная жидкость и др.), обработанном 10% раствором КОН, выявляют коричневые септированные гифы. Делают посевы на питательные среды типа Сабуро-декстрозный агар.

Лечение. Хирургическое удаление пораженных участков; назначают амфотерицин В, итраконазол.

Возбудители мицетомы

Мицетома (мадуромикоз, «мадурская нога») – хронический гнойно-воспалительный процесс подкожной клетчатки и смежных тканей.

Возбудителями мицетомы являются демациевые грибы (эумикотическая мицетома) или актиномицеты (актиномицетома) родов *Actinomyces, Nocardia, Streptomyces, Actinomadura.* Среди грибов встречаются: *Madurella grisea, Phialophora cryanescens, Exophiala jeanselmei, Pseudallescheria boy-dii, Acremonium (Cephalosporium) falciforme, Leptosphaeria senegalensis, Curvularia spp.*

Эпидемиология. Возбудители мицетомы обитают в почве и на растениях. Передаются контактным путем. Возможна также аэрогенная передача с поражением дыхательных путей. Мицетома чаще встречается в тропиках и субтропиках.

Патогенез и клиника. Возбудители проникают в организм через поврежденную кожу. Постепенно образуются папулы, глубинные узлы и абсцессы. Деструктивный процесс затрагивает фасции, мышцы и кости. Развивается фибринозная ткань. Чаще поражаются нижние конечности. Стопа отекает и деформируется.

Микробиологическая диагностика. В гное, биоптате, обработанных раствором КОН, выявляют характерные разноцветные «зерна» (0,5–2 мкм в диаметре), септированные гифы и хламидоспоры грибов. Гифы *Pseudallescheria boydii* трудно отличить от *Aspergillus.* При наличии актиномицет видны друзы и ветвящиеся тонкие бактериальные нити.

Лечение. При мицетоме, вызванной грибами, применяют 5-флуцитозин, кетоконазол, амфотерицин В. Проводят также хирургическое удаление пораженных участков.

Профилактика. Не разработана.

19. 4. Возбудители системных или глубоких микозов

Возбудители гистоплазмоза *(Histoplasma capsulatum, H. duboisii)*

Гистоплазмоз – природно-очаговый глубокий микоз, характеризующийся преимущественным поражением дыхательных путей.

Различают *американский гистоплазмоз* (H. capsulatum) и *африканский* (H. duboisii) *гистоплазмоз,* который регистрируется только на Африканском континенте. Для последнего характерны поражения кожи, подкожной клетчатки и костей у сельских жителей, а также у лиц, контактирующих с почвой и пылью. Кроме человека, в природных условиях этим микозом болеют обезьяны бабуины.

Морфология. Диморфные грибы; мицелиальная фаза представлена септированным мицелием толщиной 1–5 мкм, микроконидиями сферической или грушевидной формы диаметром 1–6 мкм, бугристыми макроконидиями диаметром 10–25 мкм. При 35–37 °С растут в виде дрожжевых клеток, размеры которых составляют у H. *capsulatum* – 1,5-ъ2х3-ъ3,5 мкм, а у H. *duboisii* – 15-20 мкм.

Культуральные свойства. Колонии дрожжеподобные, блестящие, мягкой консистенции. Оптимальная температура роста 25–30 °С, pH 5,5-6,5, но возможен рост в широких интервалах **pH** 5-10.

Антигенная структура. *H. capsulatum* имеет общие антигены с *Blastomyces dermatitidis.* При росте на жидкой среде в течение 3 суток ми-целиальная форма продуцирует экзоантигены h, m которые можно определять с помощью иммунодиффузии в геле.

Факторы патогенности. Микроконидии.

Устойчивость. Микроконидии обладают высокой устойчивостью во внешней среде, сохраняя жизнеспособность в сухой почве около 4 лет, в воде при 4 °С – около 600 дней. Чувствительны к амфотерицину В и кетоконазолу, а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Гистоплазмоз – сапроноз; естественной средой обитания является почва. Гриб хорошо вегетирует в почве, загрязненной пометом птиц и летучих мышей, где он растет в виде мицелия. Экология *H. duboisii* изучена недостаточно, сообщения о выделении этого вида из почвы носят единичный характер.

Источником возбудителя инфекции для человека и животных служит почва эндемичных зон. Эндемические зоны выявлены в Северной, Центральной и Южной Америке, странах Карибского бассейна, Южной Африке, Индии, Юго-Восточной Азии, Новой Зеландии и Австралии. Больные люди и животные не заразны для окружающих. Механизм передачи – аэрогенный, путь – воздушно-пылевой. Восприимчивость населения – всеобщая.

Патогенез и клиника. Заражение происходит микроконидиями, которые трансформируются в организме в дрожжевые клетки. Инкубационный период – около 10 дней. Клинические проявления болезни зависят от иммунного статуса организма: острые формы наблюдаются у детей в силу особенностей их иммунной системы, хронические диссеминированные формы, как правило, развиваются на фоне недостаточности клеточного звена иммунитета.

Иммунитет. Клеточный, но его напряженность и длительность не изучены.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат гной из язвенных поражений кожи и слизистых оболочек, мокрота, кровь, моча, ликвор, пунктаты костного мозга, селезенки, печени, лимфатических узлов и подкожной клетчатки.

Используют *микроскопический, микологический, биологический, серологический, аллергологический* и *гистологический методы диагностики.* **Работа с возбудителем проводится в лабораториях особо опасных инфекций.**

Микроскопическое исследование гноя и экссудата позволяет выявлять гистоплазмы в гиперплазированных клетках системы мононуклеарных фагоцитов в виде овальных дрожжеподобных клеток размером 10–15 мкм, располагающихся внеклеточно или внутри моноцитов и макрофагов. Мазки окрашивают по Романовскому–Гимзе.

Для выделения чистой культуры исследуемый материал сеют на среду Сабуро, сывороточный или кровяной агар, а также заражают куриные эмбрионы.

Для стимуляции роста в среды добавляют тиамин, для подавления роста бактерий – пенициллин и стрептомицин. Часть посевов выращивают при 22–30 °С, а другую – при 37 °С в течение 3 недель. Затем выделенную культуру идентифицируют по морфологическим признакам и результатам биопробы на мышах. Выявление двухфазного гриба с характерной морфологией мицелиальной фазы (тонкий септированный мицелий, микроконидии и бугристые макроконидии) и дрожжевых колоний, состоящих из мелких клеток, позволяет идентифицировать *H. capsulatum.* Выделение лишь мицелиальной формы гриба требует доказательства его диморфизма. Трансформация достигается либо выращиванием мицелиальных элементов при 30–35 °С, либо внутрибрюшинным заражением мышей, которые на 2–6-й неделе погибают, и во внутренних органах выявляют мелкие дрожжи.

Выделить чистую культуру можно путем внутрибрюшинного заражения белых мышей или золотистых хомячков. Через месяц животных забивают, измельченную печень и селезенку засевают в среду Сабуро с глюкозой и выращивают 4 недели в термостате при 25, 30 и 37 °С, после чего, посевы исследуют на наличие гистоплазм.

Выделение культуры при первичном гистоплазмозе затруднено из-за минимальных изменений в легких, поэтому в таких случаях, следует ориентироваться на результаты серологических реакций, из которых наиболее эффективны РП и РСК с гистоплазмином. РП, иммунодиффузия и латекс-агглютинация становятся положительны на 2–5-й неделе после заражения. Позднее выявляется положительная РСК, титры которой повышаются при генерализации инфекции.

Положительная внутрикожная проба с гистоплазмином (1:100) появляется на ранней стадии заболевания и сохраняется в течение многих лет. Диагностическое значение имеет лишь переход ранее отрицательной реакции в положительную. Гистоплазминовая внутрикожная проба может стимулировать антителогенез, поэтому ее надо ставить после серологических исследований.

Для гистологического исследования препараты-срезы окрашивают реактивом Шиффа, но наиболее четкие результаты дает метод Гомори– Грокотта: дрожжевые клетки окрашиваются в черный или коричневый цвет. Возбудитель можно обнаружить в цитоплазме лимфоцитов, гистиоцитов в виде небольших округлых одиночных или почкующихся клеток.

Лечение. Препарат выбора – кетоконазол. Для лечения неясных и быстро прогрессирующих форм применяют амфотерицин **В.**

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана.

Возбудитель бластомикоза *(Blastomyces dermatitidis)*

Бластомикоз (син. североамериканский бластомикоз, болезнь Джилкрайста) – хронический микоз, первично повреждающий легкие и склонный к гематогенной диссеминации у некоторых больных, приводящей к поражению кожи и подкожной клетчатки, костей и некоторых внутренних органов.

Морфология. Двухфазный гриб; мицелиальная фаза образуется при 22–30 °С; мицелий ветвящийся септированный, поперечный размер около 3 мкм. Микроконидии округлые, овальные или грушевидные размером 2х10 мкм, прикрепляющиеся к боковым конидиеносцам. В большом количестве выявляются бугристые хламидоспоры, напоминающие макроконидии гистоплазм. При 37 °С и в пораженном организме гриб представлен дрожжевой фазой. Дрожжевые клетки крупные (10–20 мкм), многоядерные, несут единичные почки, прикрепляющиеся к материнской клетке широким основанием.

Культуральные свойства. Не отличается прихотливостью к питательному субстрату.

Антигенная структура. Обладает общими антигенами с *H. capsulatum.* При росте на жидкой среде в течение 3 суток мицелиальная форма продуцирует экзоантиген А, который можно определить с помощью иммунодиффузии в геле.

Факторы патогенности. Микроконидии.

Устойчивость. В почве–низкая. Чувствительны к амфотерицину В и кетоконазолу, а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Бластомикоз - сапроноз; естественной средой обитания является почва эндемичных зон (южные и южно-центральные штаты США, Канада, Южная Америка и Африка).

Источником возбудителя инфекции является почва эндемичных зон. Механизм передачи – аэрогенный, путь – воздушно-пылевой. Массивное попадание дрожжевых клеток может приводить к внедрению возбудителя через слизистые оболочки. Восприимчивость населения – всеобщая, больные не заразны для окружающих.

Патогенез и клиника. Микроконидии попадают в легкие, где развиваются первичные очаги воспаления. Микроконидии трансформируются в дрожжевые клетки крупных размеров. На ранних стадиях заболевания очаги воспаления инфильтрированы гранулоцитами, которые затем замещаются эпителиоидными и гигантскими клетками. Даже при формировании гранулемы выявляются участки нагноения и некроза, соседствующие с неповрежденными тканями. Выраженные процессы альтерации предопределяют массивность выделения гриба с патологическим материалом. Имеют место случаи первичного бластомикоза кожи, развившегося после травмы. Развитию микоза способствуют сахарный диабет, туберкулез, гемобластозы, иммуносупрес-сивные состояния; у таких лиц бластомикоз проявляет склонность к диссеминации. Диссеминированная (системная) форма заболевания может развиться спустя несколько лет, после первичного легочного поражения. В патологический процесс могут вовлекаться любые органы, но чаще, поражаются кожа, кости, органы мужской мочеполовой системы, надпочечники.

Инкубационный период колеблется от нескольких недель до 4 месяцев. Заболевание может начинаться по типу респираторной инфекции с минимальной симптоматикой или же остро и сопровождаться внезапным подъемом температуры, кашлем с выделением гнойной мокроты, миалгиями и артралгиями. Пневмония нередко заканчиваются в течение 6–8 недель без лечения, однако, в последующем у ряда таких больных развивается диссеминированная форма микоза. Распространенная пневмония нередко приводит к гибели больного, несмотря на своевременное лечение.

При кожной форме заболевания первичные очаги представлены узелками, из которых формируются веррукозные язвы с нависающими краями. Участки изъязвления с гнойным отделяемым чередуются с зонами рубцевания. Язвенные поражения могут охватывать слизистую оболочку ротовой полости, распространяясь на глотку и гортань.

Иммунитет. Развивается по клеточному типу, но его напряженность и длительность не изучены.

Микробиологическая диагностика. Исследуемым материалом служит гной из свищей и абсцессов, ликвор, мокрота, моча, пунктат лимфатических узлов.

Применяют *микроскопический, микологический, биологический, серологический* и *аллергологический методы диагностики.*

При *микроскопическом исследовании* в нативном препарате, осветленном щелочью, обнаруживают круглые или овальные крупные дрожжевые клетки с двухконтурной клеточной стенкой, которые образуют единичную почку с широким основанием.

Для выделения чистой культуры, исследуемый материал сеют на среду Сабуро, сахарный агар, пивное сусло. Посевы инкубируют при температуре 37 °С для получения дрожжевых клеток и при 25–30 °С – мицелиальной фазы. Трансформация дрожжевых клеток в мицелий достигается снижением температуры выращивания до 25–30 °С.

Характерные морфологические элементы мицелиальной фазы удается наблюдать на 2– 3-й неделе инкубации. В мазках из культуры гриба обнаруживают капсулу, широкий септированный мицелий с толстыми стенками. Конидии круглые, овальные или грушевидные. В старых культурах образуются хламидоспоры.

Биопробу ставят путем заражения белых мышей с последующим посевом пораженной ткани на питательные среды.

Для *серодиагностики* применяют РСК. Комплементсвязывающие антитела в достаточных титрах выявляются на поздних стадиях заболевания.

Внутрикожные *аллергические пробы* ставят с аллергеном бластомицином.

Лечение. Препарат выбора – кетоконазол. Для лечения неясных и быстро прогрессирующих форм применяют амфотерицин В.

Профилактика. Не разработана.

Возбудитель кокцидиоидоза *(Coccidioides immitis)*

Кокцидиоидоз – эндемичный системный микоз с преимущественным поражением дыхательных путей.

Морфология. Диморфный гриб: в естественных условиях и культивировании при комнатной температуре (20–22 °С) растет в виде мицелиальной фазы. Мицелий септированный, шириной 2–4 мкм, лишен микроконидий. По мере роста культуры цитоплазматическое содержимое концентрируется, мицелиальная трубка в области септ запустевает, затем клеточная стенка мицелия разрывается и мицелиальная нить распадается на артроспоры шириной 1,5–2,3 мкм и длиной 1,5–15,0 мкм. Фрагментация наблюдается на 10–12-е сутки культивирования.

Культуральные свойства. Не требователен к питательным средам: на среде Сабуро образует при комнатной температуре разнообразные колонии белого, серого или коричневого цвета.

Антигенная структура. При росте на жидкой среде в течение 3 суток мицелиальная форма продуцирует экзоантигены HS, F, HL, которые можно определить с помощью иммунодиффузии в геле.

Факторы патогенности. Вирулентность связана с интенсивностью образования артроспор: снижение артроспорообразования у музейных штаммов сопровождается падением их вирулентности.

Устойчивость. Артроспоры гриба обладают высокой устойчивостью к факторам внешней среды; чувствительны к антибиотикам (амфотерицину В, кетоконазолу, миконазолу), а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Экологической нишей гриба является почва эндемичных зон (западные и юго-западные штаты США, Центральная и Южная Америка). Гриб преимущественно выявляется в зонах пустынь и полупустынь, но встречается также в тропических зонах и прибрежных лесных массивах (Северная Калифорния). Почва является естественной средой обитания гриба, вовлечение в его жизненный цикл организма человека и животных – случайный момент и не является условием сохранения возбудителя как биологического вида.

Кокцидиоидоз – сапроноз. Источником возбудителя инфекции является почва эндемичных зон, в которой в течение влажного периода года идет интенсивный рост гриба, а с наступлением сухого сезона мицелий распадается на артроспоры, являющиеся единственным инфицирующим элементом. Больной человек не заразен для окружающих. Механизм передачи – аэрогенный и контактный, путь – воздушно-пылевой. Любое соприкосновение с зараженной почвой в эндемичных зонах может приводить к заражению. Восприимчивость населения – всеобщая, для возникновения болезни достаточно аспирации 10 артроспор. Наибольшему риску заражения подвержены лица с различными иммунодефицитами.

Патогенез. После заражения артроспоры в организме хозяина трансформируются в тканевую форму – сферулу. Сферулы представляют собой округлые образования размером 20–90, реже – 200 мкм с мощной двухконтурной клеточной стенкой шириной до 5 мкм. При разрыве клеточной стенки сферул содержащиеся в них эндоспоры распространяются по организму, что обеспечивает диссеминацию возбудителя и формирование вторичных очагов. Развивается **ГЗТ.** Вторичный кокцидиоидоз развивается у лиц со сниженным клеточным иммунитетом на антигены возбудителя. Подобный Т-клеточный иммунодефицит служит причиной развития тяжелой пневмонии с последующим распространением гриба по организму из первичного очага воспаления.

Клиника. Инкубационный период 1–6 недель. Клиническая картина неспецифическая и определяется характером пораженных грибами органов. Для вторичного генерализованного кокцидиоидоза характерна триада признаков:

1) хроническое течение: ремиссии сменяются обострениями в течение десятилетий;

2) наличие фистулезных ходов, открывающихся на поверхности тела, нередко удаленных от очага гнойного воспаления;

3) наличие сферул в патологическом материале. Иммунитет – клеточный.

Основную роль играют Т-эффекторы, в том числе, и Т-эффекторы ГЗТ, которые накапливаются на 2–3-й неделе заболевания. Фагоцитоз незавершенный, фагоциты не способны защитить организм на стадии проникновения возбудителя. Антитела и комплемент не играют роли в защите организма; напротив, наличие антител при отрицательной ГЗТ на антигены гриба является плохим прогностическим признаком.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат гной, мокрота, кровь, ликвор, биопсийный материал.

Применяют *микроскопический, микологический, биологический, серологический* и *аллергологический методы диагностики.*

Микроскопическое исследование нативных и окрашенных по Мак-Манусу или Граму–Вейгеру препаратов, позволяет обнаружить тканевую фазу гриба – сферулу (шаровидные с двухконтурной оболочкой образования, наполненные мелкими округлыми эндоспорами).

Несмотря на характерную морфологию сферулы, возможны артефакты: макрофаги, содержащие фагоцитированные минеральные частицы («пылевые» клетки), а также скопления детрита гранулоцитов могут имитировать сферические структуры, трудноотличимые от тканевой фазы возбудителя. Диагностика, основанная лишь на поиске сферул, ведет к ложноположительным результатам. Простой способ, позволяющий исключить артефакты, заключается в проращивании сферул: патологический материал смешивают в равных объемах с дистиллированной водой,

готовят препарат методом «раздавленной капли», покровное стекло герметизируют парафином и инкубируют при 37 °С. Истинная сферула через 4–6 ч прорастает нитями мицелия, исходящими из эндоспор.

Микологическое исследование проводят с соблюдением особого режима. На плотных питательных средах кокцидиококки образуют при температуре 37 °С колонии кожистой консистенции, врастающие в субстрат; при температуре 25 °С развивается мицелиальная форма гриба.

Мицелий септирован, хламидоспоры крупные, расположены на концах и по бокам мицелия. Типичные артроспоры формируются на 10–12-й день инкубации.

Биологическое исследование проводят на хомяках и самцах морской свинки. Заражение экспериментальных животных интратестикулярно и интраперитонеально приводит к развитию тканевых форм гриба – сферул.

Для *серодиагностики* используют РА, РП, РСК, РНГА, РИФ. РП становится положительной у 53% больных на 1-й неделе и у 91% больных на 2–3-й неделе заболевания. Четкие диагностические титры РСК отсутствуют, поэтому в целях диагностики определяют 4-кратную сероконверсию. Динамика РСК имеет также и прогностическое значение: увеличение ее титра свидетельствует о генерализации процесса.

Внутрикожная *аллергическая проба* с кокцидиоидином имеет диагностическое значение лишь у лиц, у которых она в начале заболевания была отрицательной; в иных случаях, эта проба может служить показателем инфицированности и используется для определения границ эндемичной зоны.

Лечение. Для лечения первичной инфекции применяют амфотерицин В. Вторичный генерализованный кокцидиоидоз лечат кетоканозолом, миконазолом.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Для предупреждения внутрилабораторных заражений все манипуляции с подозрительными культурами надо производить после предварительной их заливки стерильным физиологическим раствором, что исключает распыление артроспор.

Возбудитель паракокцидиоидоза (Paracoccidioides brasiliensis)

Паракокцидиоидоз (син. южно-американский бластомикоз, синдром Лутца– Спленодоре–Алмейды) – хронический микоз, характеризующийся поражением легких, кожи, слизистых оболочек ротовой полости и носа с развитием у некоторых больных диссеминированной формы заболевания.

Морфология. Диморфный гриб, формирующий при температуре 37 °С дрожжевую фазу, а при 20–30 °С – мицелиальную. Дрожжевые клетки – крупных размеров (10–60 мкм) с множественными почками диаметром 2– 10 мкм. Мицелий гриба тонкий септированный, образует хламидоспоры. Микроконидии размером 2–3 мкм.

Культуральные свойства. Гриб неприхотлив к питательному субстрату, активно размножается в стерильной почве, частичках овощей, воде. На естественных субстратах (дрожжевой экстракт, почвенная вытяжка) наблюдается интенсивная споруляция.

Биохимическая активность. При культивировании дрожжевых клеток в питательной среде, накапливается фунгицидный метаболит, близкий по химической структуре к фенолу и бензойной кислоте, вызывающий денатурацию белка.

Антигенная структура. При росте на жидкой среде в течение 3 суток мицелиальная форма продуцирует экзоантигены 1, 2, 3, которые можно определить с помощью иммунодиф-фузии в геле.

Факторы патогенности. Микроконидии.

Устойчивость. Дрожжевая фаза малоустойчива во внешней среде. Мицелий устойчив к изменениям pH, температурным колебаниям и высушиванию. Чрезвычайно чувствителен к антагонистическому действию нормальной микрофлоры окружающей среды. Чувствителен к кетоко-

назолу и амфотерицину В, а также, к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Паракокцидиоидоз – сапроноз; естественной средой обитания является почва эндемичных зон (Южная Америка, Мексика и др.). Источник возбудителя инфекции – почва эндемичных зон. Механизм передачи – аэрогенный, путь – воздушно-пылевой. Восприимчивость населения неизвестна, среди заболевших преобладают сельские жители. Больные не заразны для окружающих.

Патогенез и клиника. Заражение осуществляется микроконидиями. Локализация очагов поражения – на коже и слизистой оболочке ротовой полости, носа и в легких. Кожные поражения носят язвенный или веррукозный характер, в пределах которых чередуются участки нагноения и рубцевания. При диссеминации поражаются кости, надпочечники, печень, мозг, кожа и слизистые оболочки. У всех больных в воспалительный процесс вовлекается селезенка.

Болезнь описана только у человека. Инкубационный период – от одного до нескольких месяцев. У большинства больных, образуются язвы на слизистой оболочке ротовой полости или носа, отличающиеся безболезненностью. Обычно очаги множественные, реже встречаются единичные пустулезные поражения или подкожные абсцессы. Язвенные поражения кожи и слизистых оболочек сопровождаются увеличением регионарных лимфатических узлов Легочные поражения сопровождаются кашлем, болями в грудной клетке, образованием инфильтратов, выявляемых рентгенографически.

Иммунитет – клеточный, малоизучен.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служит гной, ликвор, мокрота, моча, пунктат лимфатических узлов.

Применяют *микроскопический, микологический, биологический, серологический* и *аллергологический методы диагностики.*

При *микроскопическом исследовании* изучают нативные или окрашенные по Граму, Романовскому - Гимзе и другими методами мазки из исследуемого материала. Клетки гриба крупные, имеют круглую или эллипсоидную форму и толстые стенки. Материнская клетка окружена мелкими дочерними почками и имеет вид короны. Аналогичные клетки выявляются и в тканевых срезах. Морфология дрожжевой фазы настолько характерна, что при выявлении таких клеток гриба, диагноз не вызывает сомнений.

Для выделения чистой культуры материал сеют на питательные среды с углеводами, кровяной и сывороточный агар, которые инкубируют при температуре 25–30 °С и 37 °С для получения соответственно мицелиальных и дрожжевых колоний. Возбудитель растет медленно, образуя через 3 недели колонии, напоминающие дрожжевые.

Биопробу ставят на мышах или морских свинках, заражая их внутрибрюшинно исследуемым материалом и выделяя чистую культуру из их внутренних органов.

При *серологическом исследовании* определяют антитела в сыворотке больных в РП или РСК, особенно на поздних сроках болезни. Диагностическое значение имеют РП и РСК в титре 1:16 и более с паракокцидиоидином.

Аллергическая проба ставится с аллергеном из тканевой формы гриба.

Лечение. Препарат выбора – кетоконазол, также применяют амфотерицин В.

Профилактика. Не разработана.

Возбудитель криптококкоза (Cryptococcus neoformans)

Криптококкоз (син. торулез, европейский бластомикоз, болезнь Буссе–Бушке) – подострый или хронический диссеминированный микоз, обычно наблюдаемый у лиц с выраженным иммунодефицитом. Характеризуется поражением кожи, слизистых оболочек полости носа и рта, крови, ЦНС.

Возбудитель криптококкоза – условно-патогенный дрожжеподобный гриб *Cryptococcus neoformans* (совершенная форма – *Filobasidiella neoformans).* Среди грибов рода Cryptococcus только два вида патогенны для человека и вызывают криптококкоз: *C. neoformans* (основной возбудитель) и *C. laurentii* (отмечены спорадические заболевания).

Морфология. Гриб имеет форму круглых, реже овальных дрожжевых клеток, размером 6–13 мкм (иногда до 20 мкм), которые окружены капсулой, размер которой может достигать 5–7 мкм, а порой превышает поперечник вегетативной клетки. Капсула состоит из кислого полисахарида, ее размеры напрямую зависят от вирулентности штамма. Инвазивные формы представлены дрожжевыми клетками, окруженными большой капсулой, придающей им значительные размеры (до 25 мкм).

Культуральные свойства. Неприхотлив к питательному субстрату и хорошо растет на обычных средах (Сабуро, сусло-агар, МПА), оптимальной является слабокислая или слабощелочная реакция среды. *C. neoformans* одинаково хорошо растет как при температуре 25 °С, так и при 37 °С, в то время, как сапрофитные криптококки не способны размножаться при 37 °С. Образует типичные блестящие сочные колонии, опосредованные наличием полисахаридной капсулы. На агаре Сабуро может формировать блестящие кремово-коричневые колонии.

Биохимическая активность. Низкая: инертны к сахарам, не утилизируют нитраты, проявляют уреазную активность. В качестве источника углерода могут использовать глюкозу, галактозу, мальтозу и сахарозу.

Антигенная структура. По структуре капсулярных полисахаридных АГ выделяют четыре серовара: A, B, C, D; среди возбудителей доминируют серовары A и D; серовары B и C вызывают спорадические поражения в тропиках и субтропиках.

Факторы патогенности. Капсула, защищающая возбудитель от действия фагоцитов и гуморальных защитных факторов, неспецифически активирующая субпопуляцию Т-супрессоров и индуцирующая расщепление компонентов комплемента и сывороточных опсонинов. Как возможный фактор патогенности рассматривается фермент фенолоксидаза, секретируемый грибом.

Устойчивость. Хорошо сохраняются в почве; чувствительны к амфотерицину В и флуконазолу, а также к действию, обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Источник инфекции – почва. Гриб выделен из почвы, гнезд голубей и помета этих птиц, из фруктовых соков, молока, масла. Механизм передачи – аэрогенный, путь – воздушно-пылевой. Из почвы, где гриб при недостатке влаги имеет малые размеры (2–3 мкм), с пылью он попадает в легкие. Первичные очаги поражения локализованы в легких, хотя нельзя исключить возможность внедрения гриба в кожу и слизистые оболочки при пищевом и контактном путях передачи. Восприимчивость населения – низкая, зависит от состояния клеточного иммунитета. Заболевания носят спорадический характер, среди заболевших превалируют мужчины. Описаны групповые заболевания, связанные с вдыханием инфицированной пыли при работе в старых строениях, загрязненных пометом голубей. Больной не заразен для окружающих. Основные состояния, предрасполагающие к развитию заболевания, – СПИД, лейкозы, болезнь Ходжкина, нарушения обменных процессов, состояния после трансплантации органов и длительного приема иммунодепрессантов.

Патогенез и клиника. Криптококки формируют первичный очаг воспаления в легких с вовлечением регионарных лимфатических узлов. В большинстве случаев, процесс заканчивается спонтанным излечением, однако, возможно диссеминирование грибов из первичного очага в легких. Воспалительный ответ варьирует в зависимости от иммунного статуса пациента, и в первую очередь, от состояния клеточного иммунитета. Группу риска по диссеминированию образуют лица, с нарушением функций Т-лимфоцитов. В элиминации возбудителя основную роль играют цитотоксические реакции, в меньшей мере – гуморальные реакции.

Инкубационный период – месяцы и годы. Основные клинические формы заболевания составляют менингеальные поражения, имеющие характерные признаки (до 80% криптококковых менингитов наблюдают у больных со СПИДом).

Первичный криптококкоз часто протекает либо бессимптомно, либо его проявления незначительны и не требуют медицинской помощи. Случаи выявления первичных форм чрезвычайно редки. Значительно реже наблюдают первичные поражения кожи. Основную клинически диагностируемую форму заболевания составляет криптококковый менингит. Для поражений характерны медленное развитие и отсутствие специфических признаков в начальной стадии. Типичны перемежающиеся головные боли (возрастающие по интенсивности), головокружение, наруше-

ния 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 ригидность затылочных мышц. Возможны эпиллептоидные припадки, отек диска зрительного нерва и симптоматика поражений черепных нервов. Более, чем у 50% пациентов наблюдают остаточные неврологические расстройства.

Иммунитет. Клеточный, антитела и комплемент не обеспечивают резистентности организма к возбудителю. Наличие у больных антител при отрицательной ГЗТ на антигены гриба является плохим прогностическим признаком. Как правило, у больного имеется клеточный иммунодефицит.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат мокрота, гной, соскобы язв, цереброспинальная жидкость, моча, кости, биоптаты тканей.

Применяют *микроскопический, микологический, биологический, серологический методы диагностики.*

В нативных препаратах возбудитель, окруженный слизистой желтоватой капсулой, имеет вид округлых или яйцевидных клеток размером 2x5+10x20 мкм. Грибы легко обнаружить во влажных мазках спинномозговой жидкости, окрашенных тушью. Для выявления капсулы готовят тушевые препараты или окрашивают их по Бури–Гинсу Для выявления *C. neoformans* в гистопатологических препаратах их окрашивают муцикармином.

Для выделения чистой культуры, исследуемый материал засевают на сахарный агар, среду Сабуро, пивное сусло с добавлением антибиотиков.

Посевы патологического материала инкубируют при 37 °С, колонии формируются через 2-3 недели. На плотных средах образуются колонии от беловато-желтоватого до темно-коричневого цвета, сметанообразной консистенции; на морковно-картофельном агаре колонии гриба имеют темно-коричневую или бурую окраску. Идентификация C. neoformans проводится с учетом образования уреазы на среде Христеансена и неспособности усваивать лактозу и неорганический азот, вирулентности, роста при 37 °С.

Биопробу ставят на мышах, которых внутрибрюшинно или интрацеребреально заражают кровью, осадком мочи или экссудатом от больного. Через 2-4 недели животных забивают, вскрывают и засевают на среды с антибиотиками гомогенат печени, селезенки и головного мозга. Выделенные культуры гриба идентифицируют по культуральным, морфологическим и ферментативным свойствам.

В сыворотке больных агглютинины, преципетины, комплементсвязывающие антитела обнаруживаются в невысоких титрах и непостоянно. Титры антител в РСК редко составляют 1:16 и – как исключение – 1:40. Появление антител и увеличение их титра служат благоприятным прогностическим признаком. Абсолютное диагностическое значение имеет выявление в реакции латекс-агглютинации циркулирующего антигена, при этом, титры реакции порой составляют 1:1280 и более.

Лечение. Амфотерицин В, флуконазол.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана.

Возбудители адиаспиромикоза (Emmonsia crescens, E. parva)

Адиаспиромикоз (син. гапломикоз) – хронический микоз, характеризующийся преимущественным поражением легких.

Морфология. Диморфные грибы, микроскопическая картина мицелиальной фазы идентична. Мицелий редко септированный, микроконидии (алейрии) размером 2–4, иногда 5–6 мкм формируются на конидиеносцах одиночно или в виде коротких цепочек. Возможно прикрепление алейрии или их скоплений (кластов) к мицелию без конидиеносцев. В организме развивается тканевая форма гриба адиаспора (т.е. неделящаяся). Адиаспоры *E. crescens* бывают диаметром 700 мкм и являются многоядерными, а *E. parva* – диаметром 40 мкм при одном ядре.

Культуральные свойства. Нетребовательны к питательному субстрату, хорошо растут на простых питательных средах. Растут в широком интервале температуры – от 4 до 30 °С и pH среды.

Антигенная структура и факторы патогенности. Изучены мало.

Устойчивость. Способны расти при низких температурах; чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезин-фектантов, а также к антибиотикам.

Эпидемиология. Экологическая ниша – почва. Адиаспиромикоз – сапроноз. Источник возбудителя инфекции – почва. Больной человек не опасен для окружающих; гибель инфицированных животных может приводить к формированию дополнительных очагов размножения грибов в почве. Механизм передачи – аэрогенный, путь – воздушно-пылевой. Восприимчивость населения – всеобщая.

Патогенез. В естественных условиях инфицирование осуществляется алейриями, которые из-за малых размеров способны проникать в дыхательную систему вплоть до альвеол. Вдыхаемые алейрии оседают в мелких бронхах и альвеолах, вызывая минимальную тканевую реакцию (реакция на инородное тело). Алейрии трансформируются в адиаспоры, которые, увеличиваясь в размерах, вызывают разрастание соединительной ткани. Тяжесть заболевания зависит от массивности обсеменения легких: выраженность фиброза обуславливает степень сердечно-легочной недостаточности. Кроме легких, возбудитель может проникать в поврежденные ткани при загрязнении ран почвой.

Клиника. Инкубационный период не установлен. При формировании единичных адиаспор (солитарный тип) инфекция протекает бессимптомно; массивное попадание алейрии приводит к диссеминированным поражениям. Заболевание, в таких случаях, может протекать под маской бронхопневмонии неясной этиологии, туберкулеза, аллергического альвеолита, гемосидероза, ретикулеза, саркоидоза с явлениями легочной недостаточности и субфебрилитета. Патогномоничная симптоматика отсутствует.

Таблица 19. 6.

Возбудители оппортунистических микозов

Возбудитель	Микозы
Candida spp.	Кандидоз
Зигомицеты (Rhizopus spp., Mucor spp. и др.)	Зигомикоз (фикомикоз)
Aspergillus spp.	Аспергиллез
Penicfflium spp.	Пенициллиоз
Fusarium spp.	Фузариоз, микотоксикоз
Pneumocystis carinii	Пневмоцистная пневмония

Иммунитет. Клеточный, но его напряженность и длительность не изучены.

Микробиологическая диагностика. Спаянность адиаспор с легочной тканью, отсутствие альтернативных изменений исключают возможность их попадания в мокроту и получение культуры возбудителя. Единственный способ диагностики – *гистологическое* и *культуральное исследование* биопсированной ткани.

Лечение. Сульфаниламиды, амфотерицин В, нистатин.

Профилактика. Не разработана.

19. 5. Возбудители оппортунистических микозов

Возбудители оппортунистических микозов – условно-патогенные грибы родов *Aspergillus, Mucor, Penicillium, Fusarium, Candida* и др. (табл. 19. 6). Находятся в почве, воде, воздухе, на гниющих растениях; некоторые входят в состав факультативной микро-

флоры человека (например, грибы рода *Candida*). Вызывают заболевания у лиц с трансплантатами, на фоне сниженного иммунитета, нерациональной длительной анти-биотикотерапии, гормонотерапии, использования инвазивных методов исследования.

Возбудители кандидоза (род Candida)

Возбудители кандидоза (кандидомикоза) относятся к роду *Candida*. Род *Candida* содержит около 200 видов. Таксономические взаимоотношения внутри рода недостаточно изучены. Часть представителей рода является дейтеромицетами (*Fundi imperfecti*); половое размножение которых не установлено.

Выявлены также телеоморфные роды, включающие представителей с половым способом размножения: *Clavispora, Debaryomyces, Issatchenkia, Kluyveromyces и Pichia.*

Клинически значимыми видами являются: *Candida albicans, C. tropicalis, C. catenulata, C. cifferrii, C. guilliermondii, C. haemulonii, C. kefyr (ранее C. pseudotropicalis), C. krusei C. lipolytica, C. lusitaniae, C. norvegensis, C. parapsilosis, C. pulherrima, C. rugosa, C. utilis, C. viswanathii, C. zeylanoides* и C. *glabrata* (прежнее название – *Torulopsis glabrata*). Ведущее значение в развитии кандидоза имеют C. *albicans* и *C. tropicalis.*

Морфология и физиология. Кандиды представлены овальными почкующимися дрожжевыми клетками, псевдогифами и септированными гифами. Аэробы. На простых питательных средах при температуре 25–27 °С образуют дрожжевые и псевдогифальные клетки. Колонии выпуклые, блестящие, сметанообразные, непрозрачные с различными оттенками. Для *C. albicans* характерно образование «ростковой трубки» из бластоспоры (почки) при помещении их в сыворотку. Кроме того, C. *albicans* образует хламидоспо-ры – толстостенные двухконтурные крупные овальные споры. В тканях кандиды растут в виде дрожжей и псевдогиф.

Эпидемиология. Кандиды обитают на растениях. плодах, являются частью нормальной микрофлоры млекопитающих и человека. Виды рода *Candida,* являющиеся частью нормальной микрофлоры, могут вторгаться в ткань (эндогенная инфекция) и вызывать кандидоз у пациентов с ослабленной иммунной защитой. Реже возбудитель передается детям при рождении, при кормлении грудью. При передаче половым путем возможно развитие урогенитального кандидоза.

Патогенез и клиника. Кандиды – одни из наиболее распространенных возбудителей микозов (кандидозов). Развитию кандидоза способствуют неправильное назначение антибиотиков. обменные и гормональные нарушения, иммунодефицита. повышенная влажность кожи, повреждения кожи и слизистых оболочек. Наиболее часто кандидоз вызывается *C. albicans,* которая обладает следующими факторами вирулентности: продукция протеазы и поверхностных интегриноподобных молекул для адгезии к экстрацеллюлярным матриксным белкам и др.

Различают поверхностный кандидоз слизистых оболочек, кожи и ногтей; хронический (гранулематозный) кандидоз; висцеральный кандидоз различных органов, системный (диссеминированный или кандида-сепсис) кандидоз; аллергию на антигены кандид.

При кандидозе рта на слизистых оболочках развивается так называемая «молочница» с развитием белого творожистого налета. возможно развитие атрофии или гипертрофии. гиперкератоза сосочков языка. При кандидозе влагалища (вульвовагинит) происходит отек и эритема слизистых оболочек, появляются белые творожистые выделения. Поражение кожи чаще развивается у новорожденных; на туловище и ягодицах наблюдаются мелкие узелки, папулы и пустулы.

Висцеральный кандидоз развивается с воспалительным поражением определенных органов и тканей (кандидоз пищевода, кандидный гастрит, кандидоз органов дыхания, кандидоз мочевыделительной системы). Важным признаком диссеминированного кандидоза является грибковый эндоофтальмит (экссудативное изменение желто-белого цвета сосудистой оболочки глаза).

Возможно развитие кандидной аллергии желудочно-кишечного тракта, аллергическое поражение органов зрения с развитием зуда век, блефароконъюнктивита.

Иммунитет. В защите организма от кандид участвуют фагоциты-мононуклеары, нейтрофилы и эозинофилы, захватывающие элементы грибов. Антитела и комплемент взаимодействуют с грибами, вызывая их опсонизацию. Развивается ГЗТ, формируются гранулемы с эпителиоидными и гигантскими клетками.

Микробиологическая диагностика. При кандидозе в мазках из клинического материала выявляют псевдомицелий (клетки соединены перетяжками), мицелий с перегородками и почкующиеся бластоспоры.

Посевы клинического материала проводят на среду Сабуро, сусло-агар и др. Колонии *C. albicans* беловато-кремовые, выпуклые, круглые. Выросшие грибы дифференцируют по морфологическим, биохимическим и физиологическим свойствам. Виды кандид отличаются при росте на глюкозо-картофельном агаре по типу филаментации: расположению гломерул – скоплений мелких округлых дрожжеподобных клеток вокруг псевдомицелия. Для бластоспор *C. albicans* характерно образование «ростковых трубок» при культивировании на жидких средах с сывороткой или плазмой (2–3 ч при 37 °С). Кроме того, у *C. albicans* выявляют хламидоспоры: участок посева на рисовом агаре покрывают стерильным покровным стеклом и после инкубации (при 25 °С в течение 2–5 дней) микроскопируют.

Сахаромицеты, в отличие от *Candida spp.*, являются настоящими дрожжами и образуют аскоспоры, расположенные внутри клеток, окрашиваемые по модифицированной окраске по Цилю-Нельсену; сахаромицеты обычно не образуют псевдомицелия.

Наличие *кандидемии* устанавливают при положительной гемокультуре с выделением из крови *Candida spp.* Кандидозная уроинфекция устанавливается при обнаружении более 10^5 колоний *Candida spp.* в 1 мл мочи.

Можно также проводить серологическую диагностику (реакция агглютинации, РСК, РП, ИФА) и постановку кожно-аллергической пробы с кандида-аллергеном.

Лечение. При кандидозе применяют препараты нистатина, леворина (для лечения местных поверхностных микозов, например, орофарингеального), клотримазола, кетоконазола, флуконазола (не действует на *C. krusei*, многие штаммы *C. glabrata*), амфотерицина В (не активен против *C. lusitaniae*).

Профилактика. Профилактика направлена на контроль асептики, стерильности инвазивных процедур (катетеризация вен, мочевого пузыря, бронхоскопия и др.). Для предупреждения развития системного кандидоза больным с выраженной нейтропенией назначают противокандидозные препараты.

Возбудители зигомикоза

Зигомикозы (фикомикозы) вызываются зигомицетами, относящимся к низшим грибам (фикомицетам) с несептированными гифами. Возбудители – грибы родов *Mucor, Rhizopus, Absidia, Rhizomucor, Basidiobolus, Conidiobolus* и др.

Морфология и физиология. Гифы зигомицетов ветвятся и не имеют перегородок. Размножение бесполое с образованием спорангиоспор и половое с образованием зигоспор.

Спорангиоспоры содержатся в округлых спорангиях, которые отходят от спороносящей гифы – спорангиеносца (см. рис. 2.9). Зигоспоры формируются при половом процессе в результате слияния двух клеток, не дифференцированных на гаметы. Воздушный мицелий некоторых зигомицетов (виды *Rhizopus*) имеет дугообразно изогнутые гифы – «усы», или столоны. Мицелий прикрепляется к субстрату ризоидами – специальными ответвлениями.

Элементы грибов различны: *Mucor mucedo* образует крупные (до 200 мкм) желтобурые спорангии с овальными спорами: *Rhizopus nigricans* образует темно-бурый мицелий с чернеющими спорангиями (диаметр до 150 мкм), содержащими шероховатые споры; *Absidia corymbifera* образует спорангии диаметром 40–60 мкм, содержащие бесцветные эллипсоидные, гладкие, реже шероховатые споры.

Грибы растут на простых питательных средах, среде Сабуро. Аэробы. Температурный оптимум роста 22–37 °С.

Эпидемиология. Зигомицеты широко распространены в почве, воздухе, пище, на гниющих растениях, плодах. Споры грибов проникают в организм аэрогенным механизмом или при контакте с травмированными тканями желудочно-кишечного тракта (алиментарным путем) и кожи (контактным путем).

Патогенез и клиника. Грибы вырабатывают липазы и протеазы, способствующие распространению в тканях грибов и их токсинов. У иммунодефицитных лиц грибы проникают в кровеносные сосуды, вызывая тромбоз. Происходит ишемический некроз тканей и образование полиморфно-ядерного инфильтрата. Различают инвазивный легочный зигомикоз, а также желудочно-кишечную и кожную формы болезни. Поражаются также мозг и другие органы и ткани. Известна молниеносная форма инфекции – риноцеребральный зигомикоз.

Иммунитет. Развивается клеточный иммунитет, сопровождаемый ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. При микроскопии мазков из патологического материала выявляют широкие неравномерной толщины несептированные гифы. На питательных средах образуются серые, черно-серые, коричневые колонии.

Лечение. Применяются амфотерицин В, итраконазол, нистатин, 5-флуцитозин.

Профилактика. Профилактика осуществляется на основе санитарно-гигиенических мероприятий. Внутрибольничное инфицирование предупреждается контролем стерильности медицинского оборудования и чистоты воздуха.

Возбудители аспергиллеза (род Aspergillus)

Аспергиллез вызывается аспергиллами – септированными плесневыми грибами рода *Aspergillus*.

Морфология и физиология. Аспергиллы имеют септированный ветвящийся мицелий (рис. 2. 10). Размножаются в основном бесполым путем, образуя конидии черного, зеленого, желтого или белого цветов. Конидии отходят от одного или двух рядов клеток – стериг м (метул, фиалид), находящихся на вздутии спороносущей гифы (конидиеносца). Аспергиллы – строгие аэробы. Растут на средах Сабуро, Чапека, сусло-агаре и других при температуре 24–37 °С. Через 2–4 дня на плотных средах вырастают белые пушистые колонии с последующей дополнительной окраской.

Эпидемиология. Аспергиллы находятся в почве, воде, воздухе и на гниющих растениях. Из 200 изученных видов аспергилл, около 20 видов (*A.fumigatus, A.flavus, A. niger, A. terreus, A. nidulans* и др.) вызывают заболевания у человека. Аспергиллы передаются в результате ингаляции конидий, реже – контактным путем. Они могут попадать в легкие

при работе с заплесневелыми бумагами, пылью («болезнь старьевщиков, мусорщиков»). Инфицированию способствуют инвазивные методы лечения и обследования больных (пункция, бронхоскопия, катетеризация).

Патогенез и клиника. При иммунодефиците отмечается диссеминированный аспергиллез с поражением кожи, ЦНС, эндокарда, носовой полости, придаточных пазух носа.

У больных развиваются:

1) *инвазивный аспергиллез легких* (обычно вызываемый *A. fumigatus*) с быстрым ростом аспергилл и тромбозом сосудов;

2) *аллергический бронхолегочный аспергиллез* в виде астмы с эозинофилией и аллергического альвеолита;

3) *аспергиллома (аспергиллезная мицетома)* – гранулема, обычно легких, в виде шарика из мицелия, окруженного плотной волокнистой стенкой.

Факторами патогенности грибов являются кислая фосфатаза, коллагеназа, протеаза, эластаза.

Токсины аспергилл, например афлатоксины, обуславливают *афлатоксикозы* – отравления пищевой этиологии, связанные с накоплением в продуктах питания афлатоксинов *A. flavus* и *A. parasiticus*. Афлатоксины вызывают цирроз печени, оказывают канцерогенное действие.

Иммунитет. В защите участвуют гранулоциты и макрофаги, переваривающие конидии. Развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика.

Используют микроскопический метод – выявление септированного мицелия, цепочек конидий в окрашенных по Граму мазках гноя, пораженной ткани. Отдельные комочки мокроты можно перенести в каплю спирта с глицерином или в каплю 10% КОН и затем, после надавливания покровным стеклом, микроскопировать. Возможно культивирование возбудителя на питательных средах.

Можно ставить кожно-аллергическую пробу, серологические реакции (РП, ИФА и др.).

Лечение. Лечение аспергиллеза проводят 5-флюцитозином, амфотерицином В, миконазолом и хирургическим удалением пораженных участков.

Профилактика. Профилактика осуществляется на основе санитарно-гигиенических мероприятий. Внутрибольничное инфицирование предупреждается контролем стерильности медицинского оборудования и чистоты воздуха.

Возбудители пенициллиоза (род Penicillium)

Пенициллиоз вызывается пенициллами– септированными плесневыми грибами рода *Penicillium*.

Морфология и физиология. Пенициллы образуют мицелий из септированных ветвящихся гиф. На конце плодоносящей гифы (конидиеносца) образуются первичные и вторичные разветвления – метулы I и II порядка (многомутовчатые кисточки). От вершин метул отходят пучки бутылкообразных фиалид, несущих цепочки округлых конидий зеленого, желтокоричневого, розового или фиолетового цвета. Элементы грибов различны: у *P. crustaceum* кисточки двух-, трех- и многомутовчатые; у *P. notatum*– несимметричные, двух-, трехмутовчатые: у *P. glaucum* – одно- и многомутовчатые; у *P. mycetomagenum* – одно- двух- и трехмутовчатые, а конидии более мелкие, чем у предыдущих, – до 2.2 мкм в диаметре.

Эпидемиология. Пенициллы широко распространены в почве, воздухе, в складах для овощей и фруктов, на гниющих растениях. Заражение происходит аэрогенным механизмом при вдыхании пыли, содержащей элементы гриба.

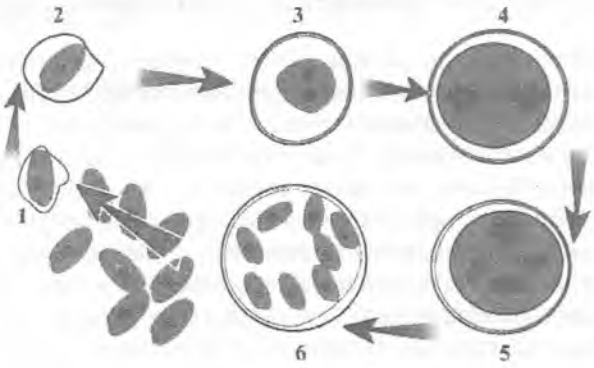


Рис. 19.5. Схема цикла развития пневмоцист:
1–2–трофозоиты амебоидной формы; *3–5* – стадии мейоза и митоза;
6–циста, содержащая 8 внутрицистных телец.

Патогенез и клиника. Патогенез и клиника сходны с аспергиллезом

Иммунитет. Основной иммунитет – клеточный. Развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. В препаратах патологического материала выявляют длинные ветвящиеся септированные гифы и крупные округлые конидии.

Лечение и профилактика. Сходны с лечением и профилактикой аспергиллеза.

Возбудители фузариоза (род *Fusarium)*

Фузариоз вызывается септированными плесневыми грибами рода *Fusarium.*

Морфология и физиология. Грибы рода Fusarium образуют хорошо развитый мицелий белого, розового или красного цвета. Имеются микроконидии, макроконидии, редко – хламидоспоры. Макроконидии – многоклеточные, веретено видно-серповидные. Микроконидии – овальные, грушевидные. Растут на среде Чапека в виде пушистых колоний.

Эпидемиология. Грибы широко распространены, особенно на растениях.

Патогенез и клиника. У лиц с иммунодефицитами грибы могут поражать кожу, ногти, роговицу и другие ткани *(F. moniliforme, F. dimerum, F. solani, F. oxysporum, F. anthopilum, F. chlamydosporum).*

При пониженных температурах на злаках развивается психрофильный гриб *F. sporotrichiella,* продуцирующий микотоксин.

Употребление в пищу таких злаков, перезимовавших под снегом, вызывало микотоксикоз (алиментарно-токсическую алейкию). Микотоксикозы вызывались также при употреблении изделий из зерна, пораженного *F. graminearum:* происходило отравление «пьяным хлебом» – поражение ЦНС с нарушением координации движений (см. разд. 19. 6 «Возбудители микотоксикозов»).

Микробиологическая диагностика. Диагностика основана на выделении грибов и определении их токсинов. На питательных средах растут пушистые или ватообразные колонии белого цвета, которые по мере старения приобретают цветные оттенки (сиренево-синего, розово-красного, желтого или зеленого цвета). Грибы образуют мицелий, микро- и макроконидии. Старые культуры могут образовывать хламидоспоры.

Возбудитель пневмоцистоза (Pneumocystis carinii)

Пневмоцистоз (син. пневмоцистная пневмония) – болезнь, вызванная пневмоцистами; характеризуется развитием пневмонии у лиц с ослабленным иммунитетом (недоношенность, врожденный или приобретенный иммунодефицит, ВИЧ-инфекция).

Возбудителей (*Pneumocystis carinii hominis* – у человека и другие субгруппы пневмоцист у животных – мышей, крыс, кроликов, собак, коров, свиней), относят к условно-патогенным дрожжеподобным грибам. Однако, по морфологическим и другим свойствам, чувствительности к антимикробным препаратам они – типичные простейшие.

Морфология и физиология. Цикл развития пневмоцист включает образование трофозоитов, предцист, цист и внутрицистных телец (рис. 19. 5). Трофозоиты – клетки, покрытые пелликулой и капсулой. Они имеют овальную или амебоидную форму (размером 1,5–5 мкм). Наблюдаются скопления внеклеточных паразитов, вплотную прилежащих к эпителию альвеол. Трофозоиты с помощью выростов пелликулы прикрепляются к пневмоцитам I порядка (в отличие от эндогенных стадий *Cryptosporidium,* которые в легких обитают в пневмоцитах II порядка).

Трофозоиты округляются, образуют утолщенную клеточную стенку, превращаясь в предцисту и цисту. Предцисты и цисты находятся в пенистом экссудате альвеол. Циста (размер 4–8 мкм) имеет толстую, трехслойную стенку, которая интенсивно красится на полисахариды. Внутри цисты образуется розетка из 8 дочерних тел (спорозоитов). Эти внутрицистные тела имеют 1–2 мкм в диаметре, мелкое ядро и окружены двухслойной оболочкой. После выхода из цисты, они превращаются во внеклеточные трофозоиты.

Эпидемиология. Пневмоцистная пневмония не зооноз. Источник инфекции – люди. Путь передачи – преимущественно воздушно-капельный. Инкубационный период – от 1 до 5 недель.

Клиника. Пневмоцистоз – оппортунистическая инфекция с поражением легких, ведущая СПИД-маркерная инфекция. Обычно, это – бессимптомная инфекция; свыше 70% здоровых людей имеют антитела против пневмоцист.

Микробиологическая диагностика. Микроскопический метод включает микроскопию мазка из лаважной жидкости, биоптата, легочной ткани, мокроты, окрашенного по Романовскому– Гимзе: цитоплазма паразита голубого цвета, а ядро – красно-фиолетового. К специальным методам окраски, выявляющим клеточную стенку пневмоцист, относят окраску толуидиновым синим и серебрением по Гомори–Грокотту.

Для диагностики применяют также РИФ, ИФА. Обнаружение IgM или нарастание уровня антител IgG в парных сыворотках свидетельствует, об острой пневмоцистной инфекции.

Лечение. Применяют котримоксазол, пентамидин, триметрексат, атоваквон.

Профилактика. Профилактика пневмоцистоза сводится к предупреждению воздушно-капельного инфицирования пневмоцистами и повышению иммунного статуса организма.

19.6. Возбудители микотоксикозов

Микотоксикозы – пищевые отравления человека и животных, вызываемые микотоксинами – продуктами жизнедеятельности грибов, образующимися при их росте на пищевых продуктах и пищевом сырье.

Микотоксины продуцируются многими фитопатогенными и сапрофитными грибами, широко распространенными в почве. Продуцируемые ими микотоксины накапливаются в

сельскохозяйственных культурах и продуктах питания при неблагоприятных условиях сбора, хранения и обработки.

Особое внимание следует уделять обнаружению микотоксинов в продуктах животного происхождения (мясомолочные продукты, яйца), которые загрязняются в результате скармливания сельскохозяйственным животным и домашним птицам кормов, содержащих микотоксины. При этом, микотоксины могут присутствовать в корме без видимого роста плесени. Отравление животных возможно при пастьбе по стерне осенью или на полях с травой ранней весной после заморозков. Микотоксины устойчивы к действию факторов окружающей среды, в том числе, к замораживанию, высокой температуре, высушиванию, к воздействию ультрафиолетового и ионизирующего излучения.

Одним из распространенных алиментарных микотоксикозов людей и животных являются *фузариотоксикозы: споротрихиеллотоксикоз, фузариограминеаротоксикоз, фузарионивалетоксикоз.* Возбудителями являются несовершенные грибы рода *Fusarium,* продуцирующие токсины группы трихоцетенов и др.

Споротриеллотоксикоз (алиментарно-токсическая алейкия) – тяжелое заболевание, связанное с действием микотоксинов гриба *Fusarium sporotrichiella.*

Гриб развивается на зерновых культурах, перезимовавших под снегом или при позднем сборе урожая зерновых. Отравление фузариозным зерном раньше называли септической ангиной из-за сходства заболевания с некротической ангиной. Обычно, через 1–2 недели после употребления хлеба, выпеченного из пораженного зерна, в крови резко уменьшается количество гранулоцитов, а затем, возникают выраженные поражения миелоидной и лимфоидной тканей, некроз костного мозга, что ведет к нарушению кроветворения.

В связи с характером патогенеза заболевание называют алиментарно-токсической алейкией. К токсину гриба чувствительны многие домашние животные. Определить присутствие в продукте питания токсина *F. sporotrichiella* можно путем введения экстрактов продукта птицам, кошкам, морским свинкам и мышам.

Считают, что поражение так называемой *уровской болезнью* (болезнь Кашина–Бека) связано с употреблением зерна, зараженного разновидностью гриба рода *Fusarium (F.tricinetum, F. poae, F. sporotrichiella).* Болезнь встречается в Восточном Забайкалье и вдоль селений по берегу р. Урова (отсюда и название болезни). Заболевание сопровождается дистрофией костей скелета. Оказалось, что при переходе населения на употребление хлеба из зерна, привезенного из других районов страны, заболеваемость резко снижалась. Сходные заболевания были описаны и в других странах.

Фузариограминеаротоксикоз (синдром «пьяного хлеба») – заболевание, возникающее в результате употребления изделий, выпеченных из зерна, пораженного *Fusarium gramimarum.*

Этот гриб продуцирует токсические вещества, относящиеся к азотсодержащим глюкозидам, холинам и алкалоидам, которые воздействуют на ЦНС. При этом, возникают слабость, скованность походки, резкие головные боли, головокружение, рвота, диарея, боли в животе.

Возможны анемия и психические расстройства. Другой микотоксин *F. graminearum* – зеараленон – при употреблении кормов (кукурузы, ячменя), загрязненных грибами, вызывает у свиней и крупного рогатого скота вульвовагиниты, аборты, бесплодие.

Фузарионивалетоксикоз возникает при употреблении продуктов питания из пшеницы, ячменя и риса, зараженных «красной плесенью» – грибами рода *Fusarium (F. graminearum, F. nivale, F. avenaceum).*

Эти грибы продуцируют микотоксины – ниваленон, фузаренон *X*, относящиеся к группе трихотеценов типа Б. Отравление вызывает рвоту, диарею, головные боли, конвульсии.

Сердечная форма синдрома бери-бери – заболевание, известное с 1700 г. в Японии, возникает в результате употребления в пищу желтоокрашенного («желтушного») риса сорго, зараженных *Penicillium citreoviridae, P. islandicum.*

Микотоксин цитреовиридин поражает центральную нервную и сердечно-сосудистую системы: вызывает нисходящие параличи. Возможен смертельный исход. *P. islandicum* продуцирует исландитоксин, поражающий печень.

Другие грибы – *Penicillium patulum, P. expansum, P. urticae, Aspergillu selevatus, A. Terreus* будучи распространены в ячменном солоде, проросшей пшенице и гнилых яблоках (сидр), вызывают нейротоксикоз, отек легких, рвоту, дерматит. Действующим началом при этом, является микотоксин патулин. Заболевание известно с 1954 г., обнаружено в Германии, Франции, Японии, США.

Эрготизм (от франц. *ergoe* – рожки) – заболевание, известное давно, распространено во всем мире. Возникает при употреблении злаковых (чаще рожь), пораженных рожками спорыньи – *Clavuiceps purpurea* и *Clavuiceps paspalum.*

Рожки спорыньи – это склероции грибов, похожие на семена злаков. Однако, они крупнее и темнее зерен растений; имеют удлиненную и искривленную, в виде рожка, форму. Микотоксины спорыньи являются алкалоидами лизергиновой кислоты, клавиновыми алкалоидами (нейротокси-ческое действие). Поражаются люди и животные. Токсины грибов переходят в молоко животных.

Острая форма характеризуется высокой летальностью. У больных возникают симптомы острого гастроэнтерита и поражения ЦНС (парестезии, судороги). Хроническая форма характеризуется «ползанием мурашек» (особенно на конечностях), рвотой, желудочно-кишечными расстройствами. При поражении половой системы возможно бесплодие. Различают 3 формы эрготизма: конвульсивную (токсические судороги мышц, чаще сгибателей – срок около месяца); гангренозную (через 10–20 дней на фоне отравления появляются некротические изменения периферических частей конечностей с сильными болями); смешанную.

Афлатоксикозы – заболевания, возникающие при употреблении продуктов питания, которые содержат токсины-метаболиты, так называемые афлатоксины, продуцируемые *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus.*

Название «афлатоксины» образовано от слов *A (spergillus) fla (vus) toxins.* Они были открыты в 1960 г., как причина вспышки болезней неизвестного происхождения в Великобритании и других странах. Действующее начало – афлатоксины B1, B2, B2a, Gl, G2, G2a, Ml, M2, которые широко распространены в растительных продуктах питания, главным образом, в зерновых. Они обнаружены также в арахисе, моркови, фасоли, какао, мясе, молоке, сыре; возможно накопление афлатоксинов в продуктах животного происхождения.

Афлатоксины не разрушаются при термической обработке. Они очень токсичны. Например, острое отравление животных, вызванное афлатоксином группы В, сопровождается быстрым течением заболевания и высокой летальностью. Острое отравление характеризуется вялостью движений, судорогами, парезами, геморрагиями, отеками, нарушением функции ЖКТ и поражением печени, в которой развиваются некрозы, цирроз, первичный рак.

Аспергиллы продуцируют также другие микотоксины – охратоксины А, В, С *(A. ochraceus),* патулин *(A. terreus, A. niveus, A. candidum),* глиотоксин *(A. giganteus, A. fumigatus),* стеригматоцистин *(A. versicolor, A. nidulans),* треморген (*A. clavatus, A. flavus, A. candidum)* цитохалазины *(A. clavatus),* цитринин *(A. terreus, A. niveus, A. candidum).*

Стахиботриотоксикоз – тяжелое заболевание лошадей, реже – рогатого скота и домашней птицы.

Возникает вследствие скармливания животным кормов, содержащих токсин гриба *Stachybotrys altemans.* У людей контакт с зараженным кормом может приводить к развитию дерматитов или пневмоканиозов.

Микробиологическая диагностика микотоксикозов. Основана на выявлении в исследуемом материале грибов или микотоксинов. Применяют хроматографию, спектрофотометрию и биопробы на куриных эмбрионах, культурах клеток, утятах, крысятах, голубях и некоторых микроорганизмах.

Лечение. Симптоматическое. Проводят промывание желудка, очищение кишечника и другие мероприятия, направленные на детоксикацию организма.

Профилактика. Включает в себя предупреждение заражения продуктов и кормов грибами и последующего их размножения, токсинообразования. Подозрительные продукты должны исследоваться на токсичность. В ряде стран разработаны нормы ПДК микотоксинов в продуктах питания. Конечной целью профилактики микотоксикозов, является полное освобождение продуктов питания и кормов от микотоксинов.

19. 7. Неклассифицированные патогенные грибы

Loboa loboi – возбудитель лобомикоза (болезнь Лобо, амазонского бластомикоза), характеризующегося кожными поражениями и развитием кело-идоподобных рубцов, а также большого количества гистиоцитов и гигантских клеток. В 1999 г. было предложено новое название – *Locazia loboi.* Впервые заболевание описано Лобо в 1931 г. и является эндемичным для бассейна р. Амазонки (Бразилия). Источник инфекции – водоемы. Внедрению гриба способствует травма кожи. Отмечено несколько случаев в Европе у лиц, контактировавших с атлантическими дельфинами. От человека человеку возбудитель не передается.

L. loboi – диморфный гриб. Морфологически близок к *Blastomyces dermatitidis.* В ткани выявляются овальные клетки диаметром 8–16 мкм, имеющие двухконтурную оболочку и 1–2 дочерние почки. Культуральная фаза гифальная. Она плохо изучена из-за трудности культивирования.

Rhinosporidium seeberi вызывает ринос-поридиоз – хроническое гранулематозное поражение слизистых оболочек носа, рта, носоглотки, глаз, прямой кишки, наружных половых органов. Болеют люди, лошади, крупный рогатый скот, главным образом, в странах с теплым климатом. В препаратах из комочков папилломатозных разрастаний обнаруживают крупные (диаметр 200–300 мкм) сферулы, наполненные многочисленными спорами (диаметр 6–10 мкм). Увеличенные сферулы лопаются с освобождением спор. На питательных средах возбудитель не растет.

Лечение. Применяют амфотерицин В. Разрастания прижигают или удаляют.

ГЛАВА 20. ЧАСТНАЯ ПРОТОЗООЛОГИЯ

Простейшие – одноклеточные животные (размер от 2 до 100 мкм), эукариоты. Относятся к полцарству *Protozoa,* царству *Animalia* (животных). Различают 7 типов простейших, из которых 4 типа включают возбудителей болезней (инвазий) человека: *Sarcomastigophorae* (саркодовые и жгутиконосцы), *Apicomplexa* (споровики), *Ciliophora* (ресничные инфузории) и *Microspora* (табл. 20.1). Болезни, вызываемые простейшими, называются паразитарными, а дисциплина, изучающая эти болезни, называется протозоологией.

Саркодовые (амебы)

Амебы относятся к типу *Sarcomastigophorae,* подтипу *Sarcodina.* Большинство амеб обитает в окружающей среде, некоторые виды – в организме человека и животных. Форма клетки непостоянна; передвигаются, образуя изменяющиеся выросты – псевдоподии (отсюда название от греч. *amoibe* – изменение). Питаются бактериями, мелкими простейшими. Размножаются бесполым способом (делением надвое). В неблагоприятных условиях образуют цисты. Различают патогенные и непатогенные амебы.

Таблица 20. 1.

Простейшие, имеющие медицинское значение

Таксоны	Представители	Болезни
ТИП Sarcomastigophorae		
Подтип Sarcodina (саркодовые)	АМЕБЫ:	
Подтип Mastigophora (жгутиконосцы)	Entamoeba histolytica,	Амебиаз
	Acanthamoeba species	Кератит, амебный энцефалит, менингоэнцефалит
	Negleria fowled	
	ЛЕЙШМАНИИ	Лейшманиозы
	ТРИПАНОСОМЫ	
	Trypartosoma gambiense	Африканский трипаносомоз
	Trypanosoma rhodesiense	Африканский трипаносомоз
	Trypanosoma cruzi	Болезнь Шагаса
	ЛЯМБЛИИ Giardia lamblia	Диарея, мальабсорбция
	ТРИХОМОНАДЫ	
	Trichomonas vaginalis	Вагинит, уретрит, простатит
ТИП Apicomptexa		
Класс Sporozoa (споровики)	ПЛАЗМОДИИ МАЛЯРИИ:	
	Plasmodium vivax	Трехдневная малярия
	Plasmodium ovale	Трехдневная малярия
	Plasmodium malariae	Четырехдневная малярия
	Plasmodium faleiparum	Тропическая малярия
	ТОКСОПЛАЗМЫ Toxoplasma gondii	Токсоплазмоз
	САРКОЦИСТЫ	Саркоцистоз
	ИЗОСПОРЫ	Диарея

	КРИПТОСПОРИДИИ ЦИКЛОСПОРЫ Cyclospora cayetanensis БАБЕЗИИ	Диарея Диарея Бабезиоз
ТИП Ciliophora (ресничные)		
Класс Kinetofragninophorea	БАЛАНТИДИИ Balantidium coli	Балантидиазная дизентерия
ТИП Microspora		
Класс Microsporea Неклассифицированные:	МИКРОСПОРИДИИ БЛАСТОЦИСТЫ	Микроспоридиоз Бластоцистоз

К патогенным амебам относят дизентерийную амебу *(Entamoeba histolytica),* свободно-живущие патогенные амебы – неглерии (род *Naegleria),* акантамебы (род *Acanthamoeba),* гартманеллы (род *Hartmanella).*

В толстой кишке человека обитают непатогенные амебы – кишечная амеба {*Entamoeba coli),* амеба Гартмана *(Entamoeba hartmanni)* и др. Оказалось, что считающиеся ранее непатогенными амебы родов *Endolimax, Iodamoeba* могут вызывать заболевания. Во рту часто обнаруживают ротовую амебу *(Entamoeba gingivalis),* особенно при заболеваниях полости рта.

Возбудитель амебиаза (Entamoeba histolytica)

Амебиаз – антропонозная болезнь (инвазия), вызванная *Entamoeba histolytica,* сопровождающаяся язвенным поражением толстой кишки, частым жидким стулом, тенезмами и дегидратацией (амебная дизентерия); возможно образование абсцессов в различных органах. Протекает хронически.

Таксономия. Возбудитель открыт в 1875 г. русским ученым Ф. А. Лешем; относится к типу *Sarcomastigophorae,* подтипу *Sarcodina,* классу *Lobosia,* отряду *Amoebida.*

Морфология. Различают две стадии развития возбудителя: вегетативную и цистную (рис. 20.1). Вегетативная стадия имеет несколько форм: большая вегетативная (тканевая)



Рис. 20.1. Формы *Entamoeba histolytica.*

– forma magna; малая вегетативная (просветная) – forma minuta; предцистная форма, сходная с просветной, образующая цисты.

• *Циста* (покоящаяся стадия) имеет овальную форму, диаметр 9–16 мкм. Зрелая циста содержит 4 ядра (у непатогенного обитателя кишечника *Entamoeba coli* 8 ядер в цисте).

• *Просветная форма* (размер 15–20 мкм) малоподвижна, обитает в просвете верхнего отдела толстой кишки как безвредный комменсал, питаясь бактериями и детритом.

• *Большая вегетативная форма* образуется, при определенных условиях, из малой вегетативной формы. Она наиболее крупная (около 30 мкм), образует псевдоподии и обладает толчкообразным поступательным движением. Может фагоцитировать эритроциты. Обнаруживается в свежих испражнениях при амебиазе.

Культивирование. Культивирование возбудителя возможно на питательных средах, богатых питательными веществами.

Резистентность. Вне организма быстро (за 30 мин) погибают вегетативные формы возбудителя. Цисты (цистоносители ежедневно выделяют около 8 млн цист) устойчивы в окружающей среде, сохраняются в фекалиях и воде при температуре 20 °С в течение 1 мес. В продуктах питания, на овощах и фруктах цисты сохраняются в течение нескольких дней. При кипячении погибают.

Эпидемиология. Амебиаз – антропонозная болезнь; источником инвазии является человек. Механизм передачи – фекально-оральный. Заражение происходит при занесении цист с продуктами питания, особенно овощами и фруктами, реже – с водой, через предметы домашнего обихода. Распространению цист способствуют мухи и тараканы. Болеют преимущественно лица старше 5 лет. Наибольшая заболеваемость характерна для регионов тропического и субтропического климата.

Патогенез и клиника. Цисты, попавшие в кишечник, и образовавшиеся затем из них просветные формы амеб могут обитать в толстой кишке, не вызывая заболевания. При снижении резистентности организма амебы (тканевые формы) внедряются в стенку кишки и размножаются. Развивается кишечный амебиаз. Этому процессу способствуют и некоторые представители микрофлоры кишечника.

Трофозоиты тканевой формы подвижны за счет формирования псевдоподий. Они проникают в стенку толстой кишки, вызывая коагуляционный некроз; способны фагоцитировать эритроциты (эритрофаги); могут обнаруживаться в свежевы-деленных фекалиях человека. При некрозе образуются кратерообразные язвы с подрытыми краями. Клинически кишечный амебиаз проявляется в виде частого жидкого стула с кровью («малиновое желе»), сопровождающегося тенезмами, лихорадкой и дегидратацией. В испражнениях обнаруживают гной и слизь, иногда с кровью.

Амебы с током крови могут попадать в печень, легкие, головной мозг, в результате чего, развивается внекишечный амебиаз. Возможно появление кожного амебиаза: на коже перианальной области и промежности образуются эрозии и малоболезненные язвы. Широко распространено бессимптомное но-сительство *E. hisolytica.*

Иммунитет. Нестойкий, активируется преимущественно клеточное звено.

Микробиологическая диагностика. Основным методом является микроскопическое исследование испражнений больного, а также содержимого абсцессов внутренних органов. Мазки окрашивают раствором Люголя или гематоксилином. Серологические исследования (РНГА, ИФА, РСК и др.): наиболее высокий титр антител в сыворотке крови выявляют при внекишечном амебиазе.

Лечение. Применяют метронидазол, мексаформ, осарсол, ятрен, дийодохин, делагил, фурамид, интестопан и др.

Профилактика. Связана с выявлением и лечением цистовыделителей и носителей амеб, проведением общесанитарных мероприятий.

Свободноживущие патогенные амебы

Свободноживущие амебы – неглерии (род *Naegleria*), акантамебы (род *Acanthamoeba*) и гартманеллы (род *Hartmanella*) вызывают первичный амебный менингоэнцефалит, гранулематозный амебный энцефалит; акантамебы могут вызывать кератит.

Таксономия. Таксономическое положение сходно с таковым возбудителя амебиаза.

Морфология. Форма трофозоитов амебовидная. Размер неглерии – около 15 мкм. Неглерии образуют одну большую псевдоподию и иногда, вытягиваясь в овальную форму, приобретают два полярных жгутика («амебофлагелляты»). Акантамебы имеют мелкие шипообразные псевдоподии. Диаметр клеток 10 мкм. При движении они образуют 2-3 пальцевидные псевдоподии. Передвигаются медленнее, чем неглерии. Могут в норме обнаруживаться в полости рта и носоглотки.

В неблагоприятных условиях, эти амебы образуют одноядерные цисты овальной формы с морщинистой двухконтурной оболочкой (у неглерии она гладкая).

Резистентность. Цисты резистентны к дезинфицирующим веществам, высушиванию и замораживанию.

Эпидемиология. Свободноживущие амебы, питаясь бактериями, обитают в загрязненных пресноводных водоемах, сточных водах, иле, влажных почвах, воздушных фильтрах. Неглерии и акантамебы, как и легионеллы, могут обитать в увлажнителях кондиционеров и оттуда попадать в воздух помещений. Инфицирование чаще происходит летом, после купания в озерах, прудах, бассейнах или в результате заноса из почвы грязными руками. Входными воротами являются носовая полость и носоглотка. Возможен и аэрогенный механизм заражения.

Патогенез и клиника. Возбудители проникают в ЦНС через слизистую оболочку носа (ринит), покрывающую, решетчатую кость, по ходу обонятельного нерва. Возможно проникновение паразитов через кровоток. Развивается геморрагическое воспаление обонятельных луковиц, воспаление мозговых оболочек и тканей мозга (первичный амебный менингоэнцефалит, вызванный акантамебами), гранулематозный процесс (гранулематозный энцефалит, вызванный *Naegleria fowleri*). У людей, носящих контактные линзы, могут поражаться глаза.

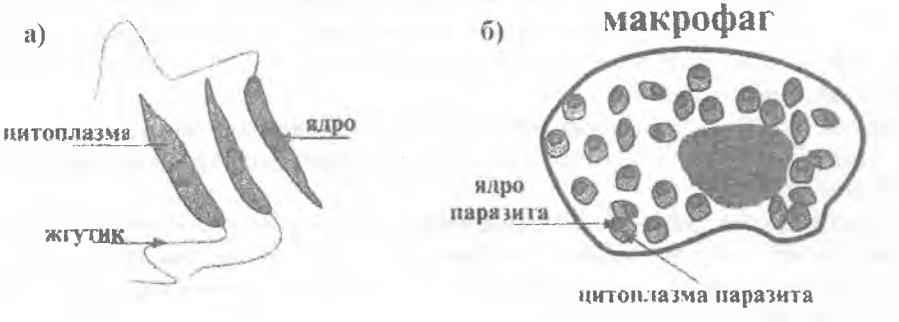


Рис. 20.2, а,б. Схема строения лейшмании:
а – жгутиковая форма (промастигота); *б* - безжгутиковая форма в макрофаге

Клиническая симптоматика проявляется через 5 дней после инфицирования. Появляются головная боль, тошнота, ринит. Летальный исход – через 3–10 суток. Менее остро протекает болезнь, вызванная акантамебами. Акантамебы могут поражать носоглотку, легкие, кожу, роговицу, слизистую оболочку желудка, редко – ЦНС.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом исследовании готовят нативные и окрашенные мазки из цереброспинальной жидкости, мокроты, соскобов со слизистых носоглотки, биоптатов пораженных участков. В мазках выявляют единичные подвижные, увеличенные амебы. Для идентификации применяют РИФ.

Лечение. Малоэффективно из-за низкой чувствительности неглерий к антимикробным препаратам. Акантамебы более чувствительны к препаратам (сульфаниламидам, клотримазолу, 5-фторцитозину).

Профилактика. Включает соблюдение общегигиенических правил; избежание контакта с загрязненной водой.

Жгутиконосцы

Жгутиконосцы (лейшмании, трипаносомы, лямблии и трихомонады) относятся к типу *Sarcomastigophorae,* подтипу *Mastigophora.* Имеют один или несколько жгутиков. У основания жгутика расположен блефаропласт; у некоторых простейших рядом имеется кинетопласт – ДНК-содержащий органоид митохондриального происхождения, энергетически способствующий движению жгутика. Трихомонады имеют жгутик, соединенный с клеткой волнообразной (ундулирующей) мембраной.

Лейшмании (род Leischmania)

Лейшманиозы – протозойные болезни (инвазии) человека и животных, вызываемые простейшими — лейшманиями и передающиеся москитами; характеризуются поражением внутренних органов (висцеральный лейшманиоз) или кожи и слизистых оболочек (кожный, кожно-слизистый лейшманиозы).

Возбудитель кожного лейшманиоза был открыт в 1897 г. русским врачом П. Ф. Боровским в Ташкенте, а возбудитель висцерального лейшманиоза – У. Лейшманом (1900) и Ш. Донованом (1903) независимо друг от друга.

Инфекцию у людей вызывают 21 из 30 видов, инфицирующих млекопитающих. Они включают L. donovani-комплекс с 3 видами *(L. donovani, L. infantum, L. chagasi);* L. mexicana-комплекс с 3 главными видами *(L. mexicana, L. amazonensis, L. venesuelensis); L. tropica; L. major; L. aethiopica;* подрод *Viannia* с 4 главными видами *[L.(V.) braziliensis, L. (V.) guyanensis, L. (V.)panamensis, L. (V.)peruviana].* Различные виды морфологически неразличимы, но они могут дифференцироваться молекулярными методами или моноклональными антителами.

Таксономия. Возбудители лейшманиозов относятся к типу *Sarcomastigophorae,* подтипу *Mastigophora* – жгутиковые, классу *Zoomastigophora,* отряду *Kinetoplastida,* роду *Leishmania.*

Характеристика возбудителей. Лейшмании – внутриклеточные паразиты, развивающиеся в макрофагах или клетках ретикулоэндотелиальной системы. Размножаются простым делением, проходят два цикла бесполого развития: жгутиковый (промастиготный) и безжгутиковый (амастиготный).

В жгутиковом цикле паразиты развиваются на питательных средах или в кишечнике москита, зараженного при сосании крови больных людей или животных. Заглоченные

москитом амастиготы превращаются в кишечнике в промастиготы, делятся и на 6–8-е сутки накапливаются в глотке москита. Возбудитель имеет удлиненную веретенообразную форму (длина 10–20 мкм, поперечник – около 5 мкм).

Протоплазма содержит ядро, цитоплазму, зерна волютина и кинетопласт. Жгутик, отходящий от заостренного конца, способствует перемещению лейшманий (рис. 20.2, а).

Безжгутиковый цикл проходит в ретикулоэндотелиальных клетках печени, селезенки, лимфатических узлов, в макрофагах (рис. 20.2, б) инфицированного организма. Паразиты имеют округлую форму (2–5 мкм), без жгутиков; при окраске по Романовскому–Гимзе цитоплазма приобретает серовато-голубой цвет, а ядро и кинетопласт – красновато-фиолетовый.

Культивирование. Для культивирования используют питательную среду NNN (по первым буквам фамилий авторов – Николь, Нови, Нил), содержащую агар с дефибринированной кровью кролика. Лейшманий также растут на хорионаллантоисной оболочке куриного эмбриона и в культурах клеток.

К лабораторному заражению лейшманиями восприимчивы белые мыши, хомяки и обезьяны.

Эпидемиология. Заболевания распространены в странах теплого и тропического климата. Механизм передачи возбудителей – трансмиссивный, через укус переносчиков – москитов.

Основные источники возбудителей: при кожном антропонозном лейшманиозе – люди; при кожном зоонозном лейшманиозе – песчанки и другие грызуны; при висцеральных лейшманиозах – люди (при индийском висцеральном лейшманиозе) или собаки, шакалы, лисы, грызуны (при средиземноморском висцеральном лейшманиозе); при кожно-слизистом лейшманиозе – грызуны, дикие и домашние животные.

Патогенез и клиника. Различают два возбудителя кожного лейшманиоза: *L. tropica* – возбудитель антропонозного лейшманиоза и *L. major* – возбудитель зоонозного кожного лейшманиоза.

Антропонозный кожный лейшманиоз (поздно изъязвляющийся лейшманиоз, городская форма) характеризуется длительным инкубационным периодом – несколько месяцев. На месте укуса москитом появляется бугорок, который увеличивается и через 3–4 месяца изъязвляется. Язвы чаще располагаются на лице и верхних конечностях, рубцуются к концу года («годовик»).

Зоонозный кожный лейшманиоз (рано изъязвляющийся лейшманиоз, пендинская язва, сельская форма) протекает более остро. Инкубационный период составляет 2–4 недели. Мокнущие язвы чаще локализуются на нижних конечностях.

Кожно-слизистый лейшманиоз (эспундия) вызывают лейшманий комплекса *L. braziliensis;* развивается гранулематозное и язвенное поражение кожи носа, слизистых оболочек рта и гортани. Встречается в основном в Центральной и Южной Америке, как и сходные болезни, вызываемые *L. mexicana* (мексиканский лейшманиоз), *L. peruviana* (перуанский лейшманиоз) и др. Инкубационный период – от 2 недель до 3 месяцев.

Антропонозный висцеральный лейшманиоз (индийский кала-азар, черная болезнь) вызывается лейшманиями комплекса *L. donovani;* встречается в основном в Евразии и Южной Америке. Инкубационный период 6–8 месяцев. У больных поражаются печень, селезенка, лимфоузлы, костный мозг и пищеварительный тракт. Развиваются дистрофия и некроз органов. Кожа темнеет, на ней появляются высыпания – лейшманоиды.

Средиземноморский висцеральный лейшманиоз или детский калаазар (возбудитель *L. infantum*) имеет сходную клинику, кроме изменений со стороны кожи, которая бледнеет. Чаще болеют дети.



Рис. 20.3. Схема строения трипаносом: *1* – эпимастиготы (критидиальная стадия); 2 – трипомастиготы (трипаносомальная стадия); *3* – амастиготы (безжгутиковая стадия).

Иммунитет. У переболевших людей остается стойкий пожизненный иммунитет.

Микробиологическая диагностика. В мазках (из бугорков, содержимого язв, пунктатов из органов), окрашенных по Романовскому– Гимзе, обнаруживают внутриклеточно расположенные мелкие, овальной формы лейшманий (амастиготы). Для выделения чистой культуры возбудителя делают посев на среду NNN: инкубация 3 недели при комнатной температуре. Заражают также белых мышей, хомячков. Серологические методы недостаточно специфичны. Возможно применение РИФ, ИФА.

Кожно-аллергический тест (тест Монтенегро) на ГЗТ к лейшманину (препарат из убитых промастигот) применяют при эпидемиологических исследованиях лейшманиоза. Он положителен спустя 4–6 недель после заболевания.

Лечение. При висцеральном лейшманиозе применяют препараты сурьмы (солюсурмин, неостибозан и др.) и ароматические диамидины (стильбамидин, пентамидин). При кожном лейшманиозе – акрихин, амфотерицин В и др.

Профилактика. С целью профилактики лейшманиозов уничтожают больных животных, проводят борьбу с грызунами и москитами. Иммунопрофилактику кожного лейшманиоза осуществляют прививкой живой культуры *L. major,* однако высокая частота осложнений ограничивает ее применение.

Трипаносомы (род *Tripanosoma)*

Для человека патогенны *Tripanosoma brucei gambiense* и *Tripanosoma brucei rhodesiense* (разновидности *Tripanosoma brucei),* вызывающие африканский трипаносомоз или сонную болезнь, и *Tripanosoma cruzi* – возбудитель американского трипаносомоза (болезнь Шагаса).

Возбудители были открыты в 1902 г. Д. Датоном *(T. gambiense),* в 1909 г. Ш. Шагасом *(T.* cruzi) и в 1910 г. Г. Фантенем *(T. rhodesiense).*

Таксономия. Таксономическое положение трипаносом на уровне высших таксонов такое же, как и у лейшманий.

Характеристика возбудителей. Трипаносомы по размерам (1,5-5-3х15-5-30 мкм) более крупные, чем лейшманий. Клетки имеют узкую продолговатую форму, жгутик и ундулирующую мембрану (рис. 20.3). Размножаются бесполым путем (продольное деление). Трипаносомозы – трансмиссивные болезни. Источником инфекции являются домашние и дикие животные, инфицированный человек. Переносчиком африканского трипаносомоза являются кровососущие мухи цеце, а болезни Шагаса – триатомовые клопы. Возбудители имеют различные стадии развития: эпимастиготы, трипомастиготы, амастиготы.

• *Эпимастиготы* (критидиальная стадия) растут в кишечнике переносчиков и на питательных средах. Жгутик отходит от середины удлиненной клетки (около ядра). Ундулирующая мембрана не выражена.

• *Трипомастиготы* (трипаносомальная стадия) находятся в крови животных и человека. Жгутик отходит от задней части удлиненной клетки. Ундулирующая мембрана резко выражена.



1 - Вегетативная клетка **2 - Бинарное деление трофозоита** **3 - Циста**

Рис 20.4. Схема строения лямблий.

• *Амастиготы* не имеют жгутика, клетки овальные. Такая стадия характерна для T. cruzi, обитающей в мышцах и других тканевых клетках человека.

Патогенез и клиника. *Африканский трипаносомоз,* вызываемый *T. gambiense* (гамбийская форма), протекает хронически, а если возбудителем является *T. rhodesiense* (родезийская форма) – развивается острая, более тяжелая форма болезни. В месте укуса переносчиком – мухой цеце к концу недели развивается изъязвляющаяся папула – «трипаносомный» шанкр, откуда размножающиеся паразиты попадают в кровь (паразитемия), где продолжают размножение. Возбудитель обнаруживается также в лимфоузлах, цереброспинальной жидкости. Развиваются лихорадка, менингоэнцефалит, сонливость, утомляемость, истощение и другие нарушения, приводящие к летальному исходу. Возможно бессимптомное носительство возбудителя.

Американский трипаносомоз развивается в течение 1–3 недель после попадания *T. cruzi* в слизистые оболочки или ранку от укуса триатомовыми клопами: возбудитель попадает вместе с инфицированными фекалиями клопов. В участке внедрения паразита образуется плотный инфильтрат темно-красного цвета.

Попав в кровоток, паразит циркулирует в виде трипомастиготы, не размножается. Внедрившись в тканевую клетку, трипомастигота превращается в безжгутиковую форму – амастиготу, размножающуюся бинарным делением. Клетки, содержащие большие количества амастигот, разрываются, освобождая многочисленные трипомастиготы, которые вторгаются в другие клетки.

У больных развиваются лимфаденит, миокардит, лихорадка. Поражаются ЖКТ, печень, селезенка, головной мозг. Характерен длительный латентный период, вплоть до нескольких десятилетий. Болезнь протекает остро или хронически.

Иммунитет. В ответ на инвазию образуются в большом количестве IgM: специфические протективные и неспецифические антитела. В хронической фазе проявляются IgG-антитела. Трипаносомы способны образовывать многочисленные новые антигенные варианты, изменяющие иммунный ответ. Развиваются аутоиммунные механизмы.

Микробиологическая диагностика.

Применяется микроскопический метод диагностики трипаносомозов: мазки из крови, пунктата шейных лимфатических узлов, цереброспинальной жидкости красят по Романовскому–Гимзе или по Райту.

Для выделения возбудителя можно заражать белых мышей или крыс, а также делать посев на питательные среды с кровью.

При серологическом методе определяют антитела (IgM) с помощью ИФА, РСК, непрямой **РИФ** и др.

Лечение. Для лечения африканского трипаносомоза назначают сурамин или пентамидин, а при поражении ЦНС – меларсопрол. Лечение американского трипаносомоза неэффективно.

Профилактика. Проводят неспецифическую профилактику трипаносомоза путем ликвидации мест выплода переносчиков возбудителя и уничтожения инфицированных животных. В личной профилактике применяют репелленты и защитную одежду. Также выявляют и лечат инфицированных лиц.

Лямблии, или гиардии (род Lamblia, или Giardia)

Лямблиоз (гиардиоз) – болезнь (инвазия), протекающая в латентной или манифестной форме в виде дисфункции кишечника с явлениями энтерита.

Возбудитель открыт Д. Ф. Лямблем в 1859 г. В 1915 г. возбудитель отнесен к роду *Giardia* в честь Жиара.

Таксономия. Лямблии (вид *Lamblia intestinalis*, или *Giardia lamblia*) относятся к типу *Sarcomastigophorae*, подтипу *Mastigophora*, классу *Zoomastigophorea*, отряду *Diplomonadida*.

Характеристика возбудителя. Вегетативная клетка лямблий плоская, имеет грушевидную форму (9÷20х5÷10 мкм), два ядра (рис. 20.4). Четыре пары жгутиков обеспечивают вращательное движение клетки. Лямблии размножаются путем продольного деления. Вегетативные клетки лямблий прикрепляются к эпителиоцитам кишечника с помощью присасывательного диска. Попадая из мест обитания – из верхних отделов кишечника в менее благоприятные – нижние отделы кишечника, образуют овальные четырехъядерные цисты (10-И4х6н-10 мкм), окруженные толстой двухконтурной оболочкой.

Резистентность. Цисты лямблий, попавшие с испражнениями в окружающую среду, устойчивы к низким температурам, сохраняются в почве и холодной воде более 2 месяцев. Цисты не погибают при хлорировании воды, но мгновенно погибают при кипячении.

Эпидемиология. Источником инфицирования цистами являются люди – больные и носители, реже – собаки, бобры, олени. Механизм заражения – фекально-оральный, через загрязненные воду, пищу, руки и предметы обихода. Возможны водные вспышки диарей. Имеется связь (до 40% случаев) между мужским гомосексуализмом и инфицированностью лямблиями и (или) амебами.

Патогенез и клиника. Развитие лямблиоза зависит от степени резистентности организма. Лямблии обитают в двенадцатиперстной и тощей кишках. Размножаясь в большом количестве, они блокируют слизистую оболочку, нарушая пристеночное пищеварение и моторику кишечника. Возможно также иммунопатологическое воздействие Т-клеток на слизистую оболочку тощей кишки. Лямблии могут вызывать диарею, энтероколиты, нарушения обмена веществ, потерю аппетита, массы тела и др. Развиваются гастроэнтероколитический, холецистопанкреатический и астенический синдромы.

Иммунитет. Носит клеточный и гуморальный характер.

Микробиологическая диагностика. При *микроскопическом методе* в мазках из испражнений выявляют цисты; в случае диареи – вегетативные формы (трофозоиты), которые также обнаруживают и при дуоденальном зондировании. *Серологический метод* подтверждает наличие специфического процесса по нарастанию титра антител в РИФ.

Лечение. Применяют метронидазол, тинидазол, фуразолидон.

Профилактика. Сходна с профилактическими мерами при амебиазе.

Трихомонады (род *Trichomonas)*

Трихомоноз – антропонозная болезнь (инвазия), вызываемая мочеполовой трихомонадой *(Trichomonas vaginalis)*; сопровождается поражениями мочеполовой системы.

Таксономия. Возбудитель относится к типу *Sarcomastigophora,* подтипу *Mastigophora,* классу *Zoomastigophoreae,* отряду *Trichomonadida.* Различают также комменсалы – ротовую *(T. tenax)* и кишечную *(T. hominis)* трихомонады.

Характеристика возбудителя. *Trichomonas vaginalis* цист не образует. Существует только как трофозоит, размножается делением. Имеет грушевидную форму: размеры 8-й0х3-й4 мкм. Пять жгутиков расположены на переднем конце клетки. Один из них соединен с клеткой ундулирующей мембраной, доходящей до середины клетки. Через клетку проходит осевая нить (аксостиль), выходящая из заднего конца клетки в виде шипа (рис. 20.5).

Резистентность. В окружающей среде быстро погибает; на банных губках и мочалках сохраняется 10–15 мин, а в слизи, сперме и моче – 24 ч.

Эпидемиология. Заболевание передается половым путем, через родовые пути (младенцу), редко – через предметы личной гигиены.

Патогенез и клиника. *Trichomonas vaginalis* вызывает вагинит, уретрит, простатит. Воспалительный процесс сопровождается болью, зудом, гнойно-серозными выделениями. Часто болезнь протекает бессимптомно.

Иммунитет. Не изучен.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом методе выявляют трихомонады в нативных и окрашенных мазках из отделяемого мочеиспускательного канала, секрета предстательной железы или осадка мочи, окрашенных метиленовым синим или по Романовскому– Гимзе. При фазово-контрастной микроскопии нативных препаратов наблюдается подвижность трихомонад. Нативный препарат готовят на предметном стекле, смешивая отделяемое с каплей теплого изотонического раствора хлорида натрия. При приготовлении препарата «висячая капля» наносят каплю исследуемого материала на покровное стекло со смазанными вазелином краями, после чего его переворачивают каплей вниз и помещают на предметное стекло с лункой. Препараты исследуют с объективом х40 и окуляром х10. Трихомонады по размеру близки клейкошитам и имеют характерные толчкообразные движения ундулирующей мембраны и жгутиков.

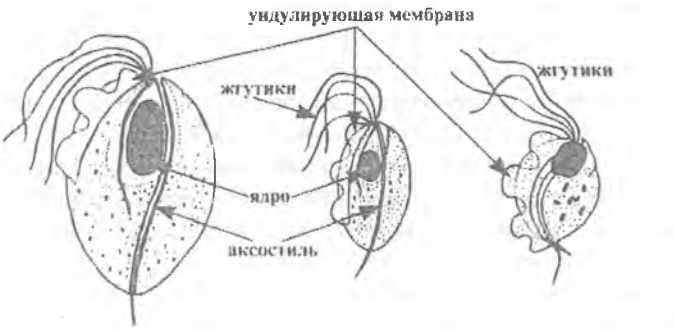


Рис. 20.5. Схема строения трихомонад.

При хронических формах трихомонады выращивают на питательных средах, например, СКДС (солевой раствор с гидролизатами казеина, дрожжей и с мальтозой).

Лечение. Применяют метронидазол, тинидазол, осарсол, аминарсон, фуразолидон.

Профилактика. Аналогична проводимой при венерических заболеваниях.

Споровики

Споровики (класс *Sporozoa,* тип *Apicomplexa*) включают плазмодии малярии, токсоплазмы, саркоцисты, изоспоры, циклоспоры, криптоспоридии, бабезии.

Плазмодии малярии (род Plasmodium)

Малярия – антропонозная протозойная болезнь, вызываемая простейшими рода Plasmodium; сопровождается приступами лихорадки, анемией, увеличением печени и селезенки.

Таксономия. Возбудители малярии человека относятся к типу *Apicomplexa,* классу *Sporozoa,* отряду *Eucoccidiida* (собственно кокцидии), подотряду *Haemosporina* и видам: ***Plasmodium vivax, Plasmodium ovale, Plasmodium malariae, Plasmodium falciparum.*** Впервые возбудитель малярии – *P. malariae* был обнаружен французским врачом А. Лавераном в 1880 г.

Характеристика возбудителя. Жизненный цикл плазмодиев происходит со сменой хозяев: в комаре рода *Anopheles* (окончательном хозяине) осуществляется половое размножение или спорогония (образование вытянутых клеток – спорозоитов), а в организме человека (промежуточном хозяине) происходит бесполое размножение – шизогония, точнее мерогония, при которой, образуются мелкие клетки – мерозоиты.

После укуса, спорозоиты из слюнных желез комара попадают в кровь и далее (в течение часа) – в клетки печени (гепатоциты), в которой совершается первый этап размножения – *тканевая (экзоэритроцитарная) шизогония.* При этом, в гепатоцитах спорозоит превращается в тканевой трофозоит (растущая клетка), который переходит в стадию тканевого шизонта (делящаяся клетка). Тканевой шизонт делится (меруляция) с образованием тканевых мero-зоитов, поступающих в кровь. Из одного спорозоита образуется 2000–40 000 мерозоитов. Мерозоиты проникают эндоцитозом в эритроциты, в которых совершается несколько циклов *эритроцитарной шизогонии.* Из мерозоита в эритроците развиваются трофозоиты – растущие формы паразита: кольцевидный трофозоит юный, полувзрослый, взрослый трофозоит. Они содержат желтовато-коричневые гранулы, образующиеся из гемоглобина эритроцитов. Взрослый трофозоит превращается в многоядерный шизонт (рис. 20.6), из которого образуются 6–24 мерозоита, внедряющиеся затем в другие эритроциты. Этот процесс повторяется многократно. Продолжительность цикла развития в эритроцитах у *P. vivax, P. ovale, P. falciparum* составляет 48 ч, у P. *malariae* – 72 ч. В эритроцитах мерозоиты дают также начало образованию половых незрелых форм – мужских и женских гамет (гамонтов, гаметоцитов), которые способны инфицировать комаров при кровососании больного малярией. Гаметы имеют овальную форму, кроме гамет *P. falciparum,* имеющих полулунную форму.

С началом эритроцитарной шизогонии, размножение возбудителей в печени прекращается, кроме *P. vivax* и *P. ovale,* у которых часть спорозоитов (гипнозоитов, брадизоитов) остается в гепатоцитах на недели или месяцы, что обуславливает появление поздних, отдаленных рецидивов болезни. Ранние рецидивы связаны с сохранившимися формами паразита, при эритроцитарной шизогонии. При укусе комаром, незрелые половые формы

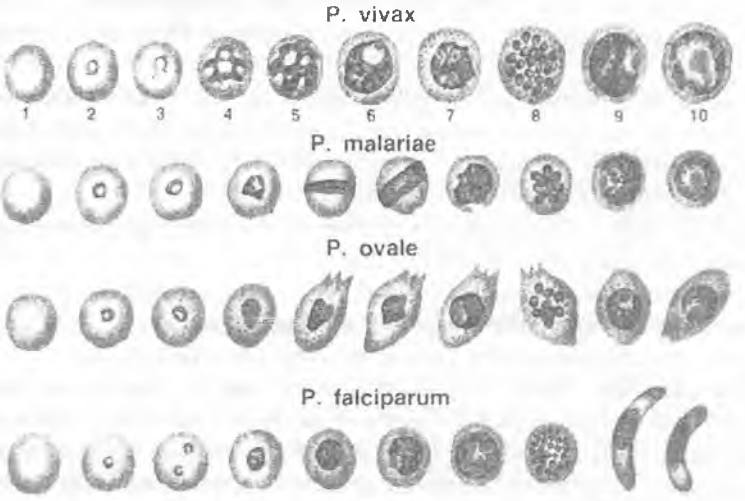


Рис 20.6. Кровяные формы возбудителей малярии:
1 – нормальные эритроциты; 2– кольцевидные трофозоиты; *3–6* – трофозоиты разного возраста; 7– шизонты; *8* – морулы; 9– гамонты женские; *10*– гамонты мужские (модифицировано по Е. А. Павловой)

возбудителя попадают вместе с кровью больного человека в желудок самки комара. В комаре гамонты приступают к гаметогонии. Они дозревают и оплодотворяются, образуя зиготу, превращающуюся в удлиненную подвижную форму – ооокинету. Ооокинета проникает через стенку желудка и образует ооцисту, в которой завершается спорогония с образованием до 10 000 спорозоитов. Часть спорозоитов (2%) затем попадает через гемолимфу в слюнные железы комара.

P. vivax – возбудитель трехдневной малярии, открыт в 1890 г. Б. Грасси и Р. Фелетти. В эритроците, при окраске мазка из крови по Романовскому–Гимзе, трофозоит имеет форму кольца – крупная вакуоль в центре, окаймленная голубой цитоплазмой с рубиново-красным ядром (кольцевидный трофозоит). Иногда, в одном эритроците встречаются 2–3 кольца. Полувзрослый трофозоит имеет в эритроците форму амебы с псевдоподиями, подвижен (*vivax* – живой). Пораженные эритроциты увеличены, в них выявляется многочисленная мелкая кирпично-красная зернистость (зерна Шюффнера). В стадии деления паразита образуется 12–24 мерозоита.

P. malariae – возбудитель четырехдневной малярии открыт в 1880 г. А. Лавераном. В эритроците выявляется один трофозоит в стадии кольца. Полувзрослый трофозоит внутри эритроцита, в отличие от других видов, имеет лентовидную форму. Паразит делится на 6-12 мерозоитов, располагающихся упорядоченно вокруг пигмента, обычно в виде розетки.

P. falciparum – возбудитель тропической малярии открыт в 1897 г. У. Уэлчем. Характерным для него является наличие юных форм паразита в виде мелких колец в эритроците, часто по 2–3 в одной клетке. В пораженных эритроцитах выявляются единичные крупные розово-фиолетовые пятна (Маурера). В периферической крови кроме кольцевидных трофозоитов (другие формы трофозоитов находятся в эритроцитах капилляров) появляются гамонты в виде полулуний.

P. ovale – возбудитель трехдневной малярии открыт в 1922 г. Ж. Стивенсоном. Паразит в стадии кольца в эритроците имеет более крупное ядро, чем *P. vivax*. В эритроците

выявляется крупная зернистость (зерна Джеймса). Инфицированные эритроциты увеличены, часть пораженных эритроцитов имеет овальную форму. Паразит делится на 6–12 мерозоитов.

Эпидемиология. Восприимчивость людей – высокая. Малярией болеют сотни миллионов людей, живущих в странах тропического и субтропического климата: в тропиках основной возбудитель – P. *falciparum;* спорадически – P. *ovale;* в регионах умеренного климата малярию чаще вызывает P. vivax, реже

– P. *malariae.* Поэтому острой является проблема завоза малярии в нашу страну. Очаги малярии имеются в южных регионах России.

Источник возбудителя – человек (больной или паразитоноситель). Основной механизм заражения – трансмиссивный, через укус самки комара рода *Anopheles* (около 30 видов). Возможен парентеральный путь передачи при гемотрансфузии.

Патогенез и клиника. Инкубационный период при различных формах малярии колеблется от недели до года (при трехдневной малярии – до 14 мес.) и заканчивается с момента появления паразитов в крови. Клинические проявления обусловлены эритроцитарной шизогонией. Малярии свойственно приступообразное течение: озноб с сильной головной болью сменяется подъемом температуры до 39–40 °С и выше, после чего происходит быстрое снижение температуры с обильным потоотделением и выраженной слабостью. Малярийный приступ вызван выбросом пирогенных веществ из разрушенных эритроцитов, мерозоитов и продуктов их метаболизма. Приступы могут быть ежедневными или повторяться через 1–2 дня и приводить при длительном течении к поражению печени, селезенки и почек.

Наиболее тяжело протекает тропическая малярия. Плазмодии *P. falciparum* размножаются в эритроцитах (любого возраста) мелких сосудов внутренних органов, вызывая внутрисосудистый гемолиз, закупорку капилляров, гемоглобинурийную лихорадку. Этот процесс усиливается в результате иммунопатологического гемолиза неинфицированных эритроцитов. Нарушение микроциркуляции крови и гемолиз приводят к поражению мозга (малярийная кома), развитию острой почечной недостаточности. Летальность– около 1%.

Иммунитет. При заболевании формируется нестойкий видоспецифический, стадиоспецифический, нестерильный иммунитет. Возможны повторные заболевания. Антитела способствуют фагоцитозу пораженных эритроцитов и мерозоитов. Повышенный уровень противомалярийных антител класса G месяцами и годами сохраняется после заболевания.

Естественную резистентность отмечают у лиц, в эритроцитах которых нет антигенов группы Duffy, а также у людей с врожденным дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, с гемоглобинопатиями (например, при серповидно-клеточной анемии).

Микробиологическая диагностика.

Диагностика основана на микроскопическом исследовании препаратов крови: «толстой капли» и мазков из крови, окрашенных по Романовскому–Гимзе или по Райту и обнаружении различных форм возбудителя (красное ядро, голубая цитоплазма). Препарат «толстая капля» окрашивают не фиксируя, поэтому эритроциты и плазмодии деформируются; возможность обнаружения возбудителя значительно повышается. Если паразиты не обнаружены в крови, взятой на высоте лихорадки, то повторяют исследования мазков крови– через 12 часов и т.д.

В препаратах крови с неосложненной тропической малярией плазмодии *P. falciparum* не обнаруживаются, кроме кольцевидных трофозоитов и гамонтов полулунной формы.

Для обнаружения ДНК паразита в крови используют ДНК-гибридизацию и ПЦР. В серологическом методе применяют РИФ, РПГА, ИФА.

Лечение. Противомалярийные препараты оказывают различное действие на бесполые и половые стадии плазмодиев. Различают препараты шизонтоцидного (гисто- и гематошизонтотропного), гамонтотропного и спорозоитотропного действия. К основным противомалярийным препаратам относят: хинин, мефлохин, хлорохин (хингамин), акрихин, примахин, бигумаль, пириметамин и др.

Профилактика. Профилактические мероприятия направлены на источник возбудителя (лечение больных малярией и паразитоносителей) и на уничтожение переносчиков возбудителя – комаров. Разрабатываются вакцины на основе антигенов, полученных генно-инженерным методом (антиспорозоит-ная антимерозоитная, антигамонтная).

Токсоплазмы (род *Toxoplasma*)

Токсоплазмоз – болезнь (инвазия), вызванная простейшими рода *Toxoplasma*, сопровождающаяся паразитемией и поражением различных органов. У человека клинические проявления полиморфны, заболевание протекает хронически, часто бессимптомно.

Таксономия. Возбудитель – *Toxoplasma gondii*, относится к типу *Apicomplexa*, классу *Sporozoa*, отряду *Eucoccidiida* (собственно кокцидии); выделен в 1908 г. Ш. Николем и Л. Мансо в Тунисе от грызунов гонди.

Характеристика возбудителя. *Toxoplasma gondii* – облигатный внутриклеточный паразит. В жизненном цикле токсоплазм различают несколько морфологических форм (рис 20.7): ооцисты, псевдоцисты, цисты, тахизоиты.

Ооцисты формируются в результате полового размножения паразита в клетках слизистой оболочки кишечника кошки и представителей семейства кошачьих – окончательных хозяев токсоплазм: разнополые гаметоциты сливаются с образованием ооцисты овальной формы (диаметр 10–12 мкм). Ооцисты содержат по 2 спороцисты, в которых заключено по 4 спорозоита. Ооцисты выделяются с фекалиями кошки и через 3 дня созревают в окружающей среде. Попав в кишечник человека (например, с немытыми овощами и фруктами), они освобождают спорозоиты, которые распространяются по лимфатическим сосудам, размножаются внутриклеточно бесполым путем (шизогония). Размножившиеся паразиты (тахизоиты) внедряются затем в другие клетки. Они обнаруживаются при острой стадии инфекции.

Тахизоиты (трофозоиты) имеют характерную форму апельсиновой дольки или полумесяца (размером 3х7 мкм). При окраске по Романовскому–Гимзе цитоплазма голубого цвета, а ядро – рубиново-красного.

Псевдоцисты не имеют оболочки; они образуются в пораженных клетках, макрофагах и содержат скопления трофозоитов (эндозоитов). Обнаруживаются, как и тахизоиты, при острой инфекции.

Цисты (размер 10-1000 мкм) также образуются внутри клеток хозяина. Они имеют плотную оболочку и содержат более сотни паразитов (цистозоиты, или брадизоиты). Цисты сохраняются десятилетиями (хроническая инфекция).

Культивирование. Токсоплазмы культивируют в куриных эмбрионах и на культурах тканей, а также путем заражения белых мышей и других животных.

Резистентность. Ооцисты могут в течение года сохранять жизнеспособность в окружающей среде. Токсоплазмы быстро погибают при температуре 55 °С, высокочувствительны к 50% спирту, 5% раствору NH4OH.

Эпидемиология. Токсоплазмы распространены повсеместно. Источниками инвазии служат многие виды домашних и диких млекопитающих, а также птицы. Заражение человека происходит алиментарным путем, в результате употребления в пищу термически

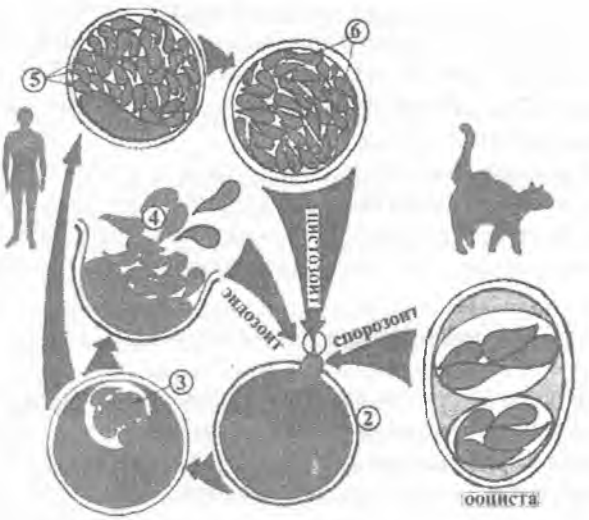


Рис. 20.7. Бесполое размножение токсоплазм в организме человека или другого промежуточного хозяина: *1* – проникновение в клетку хозяина (*2*) паразита в виде эндозоита, цистозоита или спорозоита (спорозоиты выходят из созревшей ооцисты, содержащей две спороцисты со спорозоитами); *3* – скопление эндозоитов в паразитарной вакуоле; *4* – выход эндозоитов из клетки хозяина; 5 – цистозоиты во внутриклеточной цисте; *6* – цистозоиты во внеклеточной цисте.

слабо обработанных продуктов (мясо, молоко, яйца), содержащих в псевдоцистах и цистах трофозоиты (эндозоиты и цистозоиты) паразита. Животные и человек также могут инфицироваться ооцистами, выделяемыми кошками.

Реже токсоплазмы попадают контактным (через поврежденную кожу и слизистые оболочки) или воздушно-пылевым путями. При врожденном токсоплазмозе возбудитель проникает в плод через плаценту. Иногда заражение происходит в результате гемотрансфузии, трансплантации органов.

Патогенез и клиника. Токсоплазмы, проникшие в организм, достигают с током лимфы регионарных лимфоузлов, размножаются в них (тахизоиты), проникают в кровь, разносятся по организму, попадая в клетки ретику-лоэндотелиальной системы практически всех внутренних органов, где образуют псевдоцисты и цисты. Токсоплазмы поражают нервные клетки, печень, почки, легкие, сердце, мышцы, глаза. При острой инфекции наблюдаются паразитемия и скопления токсоплазм в тканях в виде псевдоцист. Хроническая инфекция характеризуется образованием тканевых цист.

Инкубационный период – около 2 недель. Клиническая картина разнообразна: от умеренной лимфоаденопатии до лихорадки, сыпи, гепатоспленомегалии, фарингита, менингоэнцефалита, пневмонии и др. Она зависит от локализации возбудителя и поражаемого органа. При врожденном токсоплазмозе (инфицирование чаще происходит в I триместре беременности) возможны гибель плода, самопроизвольный выкидыш или мертворождение, рождение детей с дефектами развития. Поражаются печень, селезенка, лимфоузлы, ЦНС на фоне выраженной интоксикации и лихорадки.

Иммунитет. При заболевании развивается клеточный и гуморальный иммунитет. Развивается ГЗТ. При врожденном токсоплазмозе в крови матери и ребенка выявляется высокий уровень специфических антител.

Микробиологическая диагностика.

Проводится *микроскопия* мазка (из биоптатов крови, ликвора, пунктатов лимфоузлов, плодных оболочек и др.), окрашенного по Романовскому–Гимзе или по Райту. Реже применяется *биологический метод:* мыши погибают через 7–10 дней после парентерального введения им инфицированного материала (крови, ликвора и др.) больных людей. Возможно культивирование токсоплазм на клетках HeLa, на куриных эмбрионах.

Основным в диагностике токсоплазмоза является *серологический метод:* выявление IgM-антител свидетельствует о ранних сроках заболевания. IgG-антитела достигают максимума на 4–8-й неделе болезни. Применяются РИФ, РИГА, РСК, а также реакция Себина–Фельдмана или красящий тест (при этом методе возбудитель, в зависимости от свойств антител исследуемой сыворотки крови, по-разному окрашивается метиленовым синим). Используют также аллергический метод – внутрикожную пробу с токсоплазмином, которая положительна с 4-й недели заболевания и далее в течение многих лет.

Лечение. Наиболее эффективно применение комбинации пириметамина с сульфаниламидами. При беременности рекомендуется вместо пириметамина применять спирамицин, который не проходит через плаценту.

Профилактика. Осуществляется неспецифическая профилактика токсоплазмоза, включающая гигиенические требования, в частности мытье рук перед едой; необходима тщательная термическая обработка мяса. Следует избегать общения с беспризорными кошками.

Саркоцисты (род *Sarcocystis*)

Саркоцистоз (син. саркоспоридиоз) – болезнь (инвазия), вызванная простейшими рода *Sarcocystis* (от греч. *sarc* – мясо), сопровождающаяся нарушениями со стороны желудочно-кишечного тракта.

Таксономия. Саркоцисты (*Sarcocystis hominis* и *Sarcocystis suihominis*) близки к токсоплазмам: относятся к типу *Apicomplexa*, классу *Sporozoa*, отряду *Eucoccidiida* (собственно кокцидиям).

Характеристика возбудителей. В ворсинках слизистой оболочки тонкой кишки человека происходит половое размножение паразита (гаметогония); в результате копуляции гамет образуются ооцисты, в которых затем образуются спороцисты (содержащие зрелые спорозоиты), выделяющиеся с калом.

Спороцисты имеют овальную форму (размер 10–16 мкм), содержат по 4 зрелых спорозоита. После заглатывания животными спороцист из них освобождаются спорозоиты, которые из кишечника проникают гематогенно в мышцы. В мышцах бесполым путем (шизогония, или мерогония) образуются саркоцисты. Саркоцисты – удлиненные до 5 см образования, покрытые тонкой оболочкой, содержащие многочисленные мерозоиты с заостренным передним концом. Из саркоцист, попавших в кишечник человека, освобождаются мерозоиты, которые внедряются в эпителиальные клетки, повторяя вышеописанный цикл полового размножения.

Эпидемиология. Саркоцисты (прежнее название – саркоспоридии) широко распространены, имеют основного хозяина – человека и промежуточных – крупный рогатый скот (*S. hominis*) и свиньи (*S. suihominis*). Заражение человека происходит алиментарным путем, при употреблении термически недостаточно обработанных говядины или свинины, содержащих саркоцисты.

Клиника. Часто инфекция протекает бессимптомно или неспецифично. Различают: кишечный саркоцистоз с развитием диспепсических расстройств; мышечный саркоцистоз, протекающий бессимптомно или в виде миозитов, появления сыпи.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом методе изучают мазки из свежевыделенных фекалий, окрашенные раствором Люголя: спороцисты выявляются через 9 суток после заражения. Возможно и гистологическое изучение биоптатов из очагов поражения.

Лечение. Обычно симптоматическое; при остром течении – фуразолидоном.

Профилактика. Профилактические мероприятия сходны с подходами к профилактике токсоплазмоза.

Изоспоры (род *Isospora*)

Изоспороз – болезнь (инвазия), вызванная кокцидиями (от лат. *cocem* – круглый) рода *Isospora;* поражаются слизистые оболочки тонкой кишки, развивается диарейный синдром.

Таксономия. Возбудители изоспороза человека – *Isospora belli* и *Isospora natalensis* относятся к типу *Apicomplexa,* классу *Sporozoa,* отряду *Eucoccidiida* (собственно кокцидии).

Характеристика возбудителей. Развитие в организме человека включает бесполое (мерогония), половое (гаметогенез) размножение и образование ооцист. Ооцисты выделяются с испражнениями инфицированного человека и месяцами сохраняются в окружающей среде. Попав в кишечник, ооцисты освобождают спорозоиты серповидной формы. Спорозоиты проникают в эпителии тонкой кишки и превращаются в трофозоиты. Трофозоиты размножаются бесполым путем, образуя многочисленные мерозоиты. Мерозоиты проникают в другие эпителиальные клетки, продолжая цикл развития. В отдельных клетках образуются гамонты (половые клетки). После оплодотворения женской клетки формируются незрелые ооцисты, выделяемые с фекалиями. Они окружены двухконтурной оболочкой, имеют овальную форму (размер 20-35 мкм). Созревание ооцист завершается через 2–3 дня: в ооцисте образуются 2 спороцисты, содержащие по 4 серповидных спорозоита

Эпидемиология. Возбудители наиболее распространены в странах тропического и субтропического климата. Заражение происходит от человека человеку *per os* с загрязненной водой и пищей.

Клиника. Инкубационный период 6–10 дней. Заболевание типа колита, энтероколита, сопровождается болями в животе и поносом. Возможно развитие воспаления и эрозий слизистой оболочки тонкой кишки. Часто инфекция протекает бессимптомно.

Микробиологическая диагностика. При микроскопии мазка из испражнений обнаруживают ооцисты, которые выявляются после 10-го дня болезни. Проводится также дифференциация в случае обнаружения случайных, транзиторных ооцист животных и рыб, непатогенных для человека. Учитываются размеры ооцист, количество спороцист, спорозоитов и др. В неокрашенном мазке ооцисты овальные, прозрачные, с оболочкой. По Цилю-Нельсену они красятся в розовый цвет.

Лечение. Применяют сульфаниламидные препараты, пириметамин, бактрим, фансидар и др.

Профилактика. Особое внимание уделяется соблюдению санитарно-гигиенических требований, общих для других кишечных инфекций.

Криптоспоридии (род *Cryptosporidium*)

Криптоспоридиоз – болезнь (инвазия), вызванная простейшими рода *Cryptosporidium,* сопровождающаяся явлениями гастроэнтерита и диареи.

Таксономия. Криптоспоридии (*Cryptosporidium parvum* и др.) относятся к типу *Apicomplexa,* классу *Sporozoa,* отряду *Eucoccidiida.*

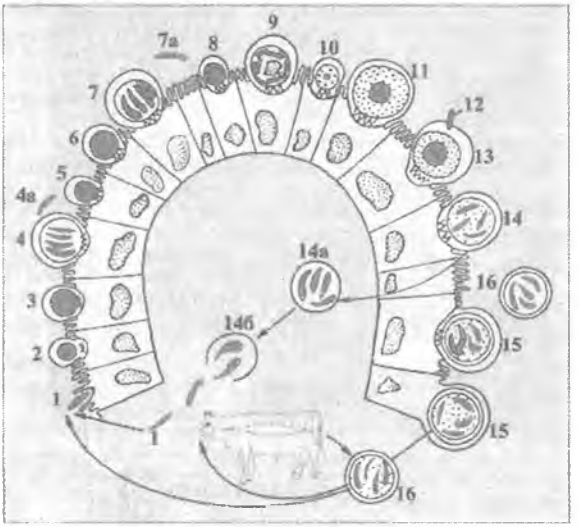


Рис. 20.8. Схема жизненного цикла Cryptosporidium parvum (по Т.В. Бейер): *1.*– спорозоит; *2, 3* – мерогония первой генерации: *4*– сегментированный меронт; «то – мерозоит первой генерации; *5, 6, 7* – мерогония второй генерации; *7а* – мерозоит второй генерации; *8, 9* – микрогаметогенез; *10, 11* – макрогаметогенез; *12* – микрогамета: *13* – оплодотворение; *14* – спорулированная ооциста; *14а* – тонкостенная ооциста, вызывающая аутоинвазию хозяина; *14б* – выход спорозоитов *(1)* из ооцисты; *15*– толстостенные ооцисты; *16* – толстостенная ооциста в просвете кишки или вне организма.

Характеристика возбудителя. Криптоспоридии встречаются у млекопитающих, птиц, рептилий и рыб. Паразит размножается половым (гаметогония) и бесполым (шизогония) путями в желудочно-кишечном тракте животных. В кишечнике хозяина образуются ооцисты (4–6 мкм в диаметре), которые выделяются с фекалиями. После заглатывания ооцист в тонкой кишке из них высвобождаются 4 червеобразных спорозоита, которые контактируют с эпителиоцитами, окружаясь мембранами клеток Затем формируются внутриклеточные трофозоиты. Трофозоиты размножаются путем множественного деления (шизогония, или мерогония) с образованием 8 дочерних клеток (мерозоиты I типа). Затем цикл шизогонии повторяется вплоть до выхода из эпителиальной клетки 4 дочерних клеток (мерозоиты II типа), которые превращаются в половые формы. После оплодотворения образуется зигота, превращающаяся в ооцисту (рис. 20. 8).

Ооцисты имеют толстую клеточную стенку; выживают в окружающей среде и способны заразить нового хозяина. Некоторые ооцисты (20%) имеют тонкую клеточную стенку: из них в просвете кишечника высвобождаются спорозоиты, дающие начало новому циклу развития, в том же хозяине (аутоинвазия).

Резистентность. Ооцисты сохраняются в окружающей среде несколько месяцев и резистентны к дезинфицирующим веществам, хлорированию воды, озону. Они чувствительны к 10% формалину и 5% раствору аммиака.

Эпидемиология. Источником инфекции служат люди или животные (кошки, собаки, ягнята, поросята, телята). Криптоспоридии передаются фекально-оральным механизмом, при контакте, иногда аэрогенным механизмом. Заболевание развивается чаще на фоне иммунодефицита (оппортунистическая инфекция). Человек и животные заглатывают ооцисты с пищей или водой.

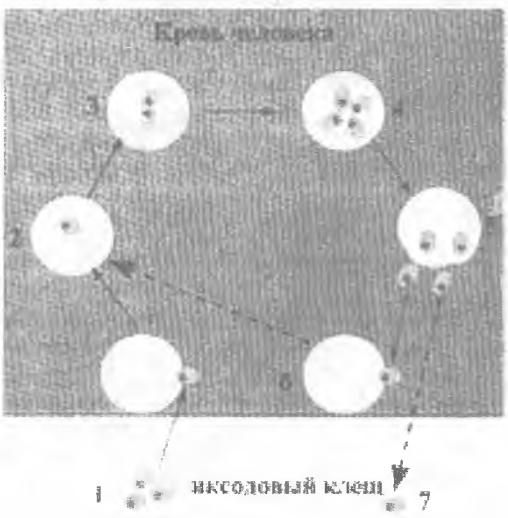


Рис. 20.9. Схема жизненного цикла бабезий: *1* – внедрение мерозоита в эритроцит после укуса клеща; *2* – мерозоит в эритроците; *3* – бинарные бесполые деления паразита; *4* – образование в эритроците тетрад паразита; *5* – лизис эритроцитов и выход мерозоитов; 6 – внедрение мерозоита в эритроцит и повторение цикла развития; 7– передача клещу мерозоитов из крови человека.

Криптоспоридиоз относится к группе диарей путешественников, так как туристы могут поражаться криптоспоридиями, находясь вне дома. Первый случай криптоспоридиоза у человека был описан в 1976 г. у американской девочки с симптомами рвоты и диареи. Это одна из основных причин диарей в детских учреждениях

Клиника. Инкубационный период 2–7 дней. Клиника разнообразна: от острой диареи с тошнотой и болями в животе до хронических поражений ЖКТ. У гомосексуалистов при извращенных контактах возбудитель попадает не только в пищеварительный тракт, но и в дыхательную систему партнера.

Микробиологическая диагностика. Применяют микроскопический метод для выявления ооцист в фекалиях, иногда – в мокроте, биоптатах кишечника и др. Мазки красят в модификации по Цилю–Нельсену (кислотоустойчивые ооцисты красного цвета, а другая микрофлора – синего или зеленого цвета), Романовскому–Гимзе.

Лечение. При криптоспоридиозе проводят симптоматическое лечение. Эффективно применение спирамицина.

Профилактика. Проводят общегигиенические мероприятия. Целесообразна также обработка против ооцист в животноводческих фермах, больницах и детских учреждениях.

Циклоспоры (род *Cyclospord)*

Циклоспоридиоз или циклоспороз, – болезнь (инвазия), вызванная простейшими *Cyclospora cayetanensis,* сопровождающаяся диареей. Эти кокцидии таксономически связаны с изоспорами (род *Isospora)* и *Cryptosporidium parvum.*

Паразит поражает верхние отделы тонкой кишки, обнаруживаясь в вакуолях цитоплазмы эпителиоцитов, вызывая воспаление, атрофию ворсинок и гиперплазию крипт. Патогенность мало изучена. Ооцисты циклоспор имеют сферическую форму, размером

8–10 мкм, что больше ооцист *Cryptosporidium parvum* (4–6 мкм) и меньше ооцист изоспор (20–35 мкм). Ооцисты циклоспор окружены оболочкой и содержат две спороцисты, каждая их которых имеет два спорозоита.

Эпидемиология. Циклоспоры широко распространены, инфицируя рептилий, птиц и млекопитающих. Как и криптоспоридии, они резистентны к хлорированию воды. Инфицирование происходит фекально-оральным механизмом.

Клиника. Заболевание протекает в виде анорексии и диареи. Более длительно и тяжело заболевание протекает у людей с иммунодефицитами (ВИЧ-инфекция).

Микробиологическая диагностика. Диагноз основан на микроскопическом определении ооцист в фекалиях. Изучают нативные мазки или обработанные раствором Люголя. При модифицированной окраске мазка по Цилю–Нельсену ооцисты округлой формы окрашиваются в красный цвет. В люминесцентном микроскопе циклоспоры аутофлюоресцируют синим цветом.

Лечение. Возможно триметоприм сульфаметоксазолом, метронидазолом.

Профилактика. Проводят общегигиенические мероприятия.

Бабезий (род *Babesia)*

Бабезиоз (пироплазмоз) – малариеподобная болезнь (инвазия) с ознобом, лихорадкой и гемолитической анемией, вызванная простейшими рода *Babesia.*

Таксономия. Возбудители бабезиоза *(B. divergens, B. microti* и др.) относятся к типу *Apicomplexa,* классу *Sporozoa,* отряду *Pyroplasmida.*

Характеристика возбудителей. Бабезий являются внутриклеточными паразитами эритроцитов. Внешне похожи на юные кольцевидные формы плазмодий (рис. 20. 9). Чаще размножаются парами (несинхронное почкование) по периферии эритроцита. Имеют округлую, грушевидную форму, размер 2-3 мкм; иногда принимают кольцевидную форму с двумя ядрами, напоминая *Plasmodium falciparum.*

Эпидемиология. Бабезии – паразиты домашних и диких животных, передаются иксодовыми и аргасовыми клещами.

Патогенез. Паразиты могут поражать до 10–15% эритроцитов с развитием гемоглобинурии и летального исхода.

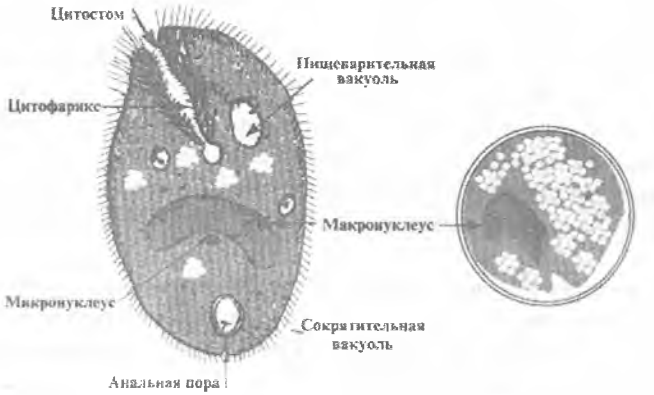


Рис. 20. 10. Схема строения вегетативной формы и цисты Balantidium coli.

Клиника. Заболевание протекает бессимптомно. Наиболее тяжело развивается заболевание у людей с недостаточностью селезенки, спленэктомированных людей. Первый случай болезни у человека был описан в Югославии в 1957 г. У больных появляются озноб, лихорадка, головная и мышечные боли.

Микробиологическая диагностика. В диагностике бабезиоза используют микроскопический метод изучения мазков крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе: цитоплазма бабезий окрашивается в голубой цвет, а ядро – в красный. Характерно расположение паразита в эритроците в виде тетрад из трофозоитов. В серологическом методе (непрямой метод РИФ, ИФА) антитела в диагностических титрах выявляются через 3–8 недель от начала болезни.

Лечение. Применяют комбинацию хинина с клиндамицином.

Профилактика. В профилактику входят мероприятия по борьбе с переносчиками – клещами и защите от них.

Ресничные

Представители ресничных (тип *Ciliophora*) имеют реснички – органоиды движения, покрывающие клетку. Они имеют клеточный рот (цитостом), два ядра (макро- и микронуклеус). Для человека патогенен *Balantidium coli.*

Балантидии (род Balantidium)

Балантидиаз (дизентерия инфузорная) – болезнь (инвазия), характеризующаяся общей интоксикацией и язвенным поражением толстой кишки.

Таксономия. Возбудитель балантидиаза – *Balantidium coli,* относятся к типу *Ciliophora,* классу *Ciliata (Kinetofragminophorea).* Открыт в 1856 г. шведским врачом П. Мальмстеном.

Характеристика возбудителя. Паразит распространен широко, являясь обитателем кишечника свиней, обезьян и грызунов, однако, редко вызывает заболевание. Он имеет вегетативную и цистную стадии развития.

В вегетативной стадии клетка паразита (трофозоит) овальная, крупная (30+100 х х ЗО-г-150 мкм), с ресничками (рис 20.10); на переднем конце имеется щелевидное отверстие – перистом с ротовым отверстием – цитостомом. Задний конец имеет анальную пору – цитопрок. Клетка содержит макронуклеус, микронуклеус и 2 сократительные вакуоли. Размножение – поперечным делением. Клетка может заглатывать микробы и другие клетки, в том числе, форменные элементы крови.

Цисты – округлые, с толстой оболочкой; диаметром 40–60 мкм, одноядерные. Они попадают в окружающую среду с фекалиями и длительно в ней сохраняются. Заражение цистами происходит фекально-оральным механизмом через рот с загрязненной водой и пищей. Патогенез сходен с таковым при амебиазе. Развиваются колит, язвы и абсцессы в толстой кишке.

Микробиологическая диагностика. Проводится микроскопия мазков из свежевыделенных фекалий: каплю фекалий помещают в изотонический раствор хлорида натрия и исследуют препарат «раздавленная капля» под малым увеличением микроскопа, наблюдая активное движение крупных балантидий.

Лечение. Применяют метронидазол и другие препараты, назначаемые при амебиазе.

Профилактика. Соблюдение правил личной гигиены, особенно для работников свиноводства.

Микроспоридии (тип *Microspord)*

Микроспоридии – возбудители микроспоридиоза; вызывают диарею, гнойно-воспалительные заболевания у иммунодефицитных лиц. Вызывают микроспоридиоз в виде хронической диареи, гнойно-воспалительных заболеваний, кератита, диссеминированной инфекции у иммунодефицитных лиц (табл. 20.2). Микроспоридии широко распространены среди животных, которые выделяют резистентные споры с калом и мочой.

Таксономия. Микроспоридии принадлежат к типу *Microspore/,* отряду *Microsporidia.* Описано 143 рода и более 1200 видов микроспоридий. Патогенные для человека виды представлены 8 родами *(Enterocytozoon, Encephalitozoon, Nosema, Pleistophora, Vittaforma, Microspoidium, Brachiola, Trachipleistophora)* и неклассифицированными микроспоридиями.

Характеристика возбудителей. Микроспоридии – мелкие (0,5–2,5 мкм) округлые примитивные простейшие. Являются облигатными внутриклеточными паразитами. Обычно инфицирование происходит в результате заглатывания спор, которые проходят в двенадцатиперстную кишку. Спора содержит спороплазму с ядром и выталкивающим аппаратом, который состоит из трубчатой нити с ядерным диском. При контакте с клеткой нить выбрасывается и спороплазма попадает внутрь клетки. Внутриклеточное размножение паразита происходит путем повторных делений надвое (мерогония) и спорообразованием (спорогония). Паразиты размножаются при прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина (например, *E. bieneusi)* или внутри паразитоформной вакуоли (например, *E. intestinalis).* В обоих случаях, в результате спорогонии созревают споры. Вокруг споры формируется плотная стенка, обеспечивающая устойчивость к окружающей среде. Споры, заполнившие клетки, разрушают клетку и выходят из нее. Созревшие споры вновь инфицируют новые клетки, повторяя цикл развития. Развивается локальное воспаление. После спорогонии зрелые споры (грамположительные, кислотоустойчивые), содержащие спороплазму, выделяются в окружающую среду. Споры имеют размеры: от 0.8 до 1,4 мкм у *E. bieneusi* и от 1,5 до 4 мкм у *Enterocytozoon spp.*

Эпидемиология. Микроспоридии широко распространены среди беспозвоночных и позвоночных животных, выделяясь в виде спор с калом и мочой. Возбудители передаются фекально-оральным механизмом. Возможно инфицирование через респираторный тракт и контактным путем (при конъюнктивитах).

Таблица 20. 2.

Поражения, вызываемые микроспоридиями

Виды микроспоридий	Клинические проявления
Enterocytozoon bieneusi	Диарея, бескаменный холецистит
Enterocytozoon intestinalis (син, Septata intestinalis)	Диарея, диссеминированная инфекция глаз, урогенитального и респираторного трактов
Enterocytozoon heljem. Enterocytozoon cuniculi	Кератоконъюнктивит, инфекция респираторного и урогенитального трактов, диссеминированная инфекция
Vittaforma corneae (син. Nosema corneum). Nosema spp. (N. connori, N. ocularum)	Инфекция глаз

Клиника. Микроспоридии *Enterocytozoon bieneusi* и *Enterocytozoon intestinalis* (ранее *Septaia intestinalis*) вызывают хроническую диарею у больных СПИДом и гнойно-воспалительные процессы (синусит, бронхит, пневмонию, нефрит, уретрит, цистит и др.) у людей с иммунодефицитами. *Encephalitozoon hellem, Nosema ocularum* и *Vittaforma corneae* (ранее *Nosema corneum*) вызывают кератит, диссеминированные инфекции. Диссеминированные инфекции, вызванные *Encephalitozoon hellem, Nosema connori, Encephalitozoon cuniculi* и *Pleistophora species,* а также миозит, вызванный Nosema-подобными и другими микроспоридиями, описаны у иммунодефицитных лиц.

Микробиологическая диагностика. Проводится путем микроскопического изучения биоптата кишечника, мочевого пузыря или мазка из цереброспинальной жидкости, бронхоальвеолярной жидкости, осадка мочи. Споры (диаметр 1 –2 мкм) выявляют при окраске по Граму (грамположительные) или по Гудпасчеру – окраска карболфуксином с последующим обесцвечиванием 37% формальдегидом и докраской пикриновой кислотой.

Лечение. Проводят метронидазолом.

Профилактика. Неспецифическая, сходная с мероприятиями при криптоспоридиозе.

Бластоцисты (род *Blastocystis*)

Бластоцисты *(Blastocystis hominis)* характеризуются бессимптомным носительством или вызывают бластоцистоз. Их обнаруживают в фекалиях при диарее.

Бластоцисты относят к простейшим (ранее предполагали, что они являются дрожжами). Бластоцисты близки к амебам, могут образовывать псевдоподии; как и все простейшие, не имеют клеточной стенки. Питаются бактериями. Размножаются бинарным делением или споруляцией.

Патогенность не изучена. Бластоцисты отличаются полиморфизмом. В фекалиях имеют сферическую форму, размер 5–30 мкм. Цитоплазма и ядро клетки паразита оттеснены на периферию вакуолеподобным телом.

Диагностика. Основана на микроскопии мазка из фекалий.

Лечение. Проводят метронидазолом.

ГЛАВА 21. КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

По данным мировой литературы, внутрибольничные инфекции регистрируются у 4,5-18% всех госпитализированных больных. В СНГ у 4-7% умерших в стационарах основной причиной смерти являются внутрибольничные инфекции. При различных нозологических формах внутрибольничной инфекции летальность колеблется от 3,5 до 60%.

Понятие о внутрибольничной инфекции

Внутрибольничная **(госпитальная, нозокомиальная) инфекция** – это инфекция, заражение которой происходит в больничных учреждениях; наслаиваясь на основное заболевание, она утяжеляет клиническое течение болезни, затрудняет диагностику и лечение, ухудшает прогноз и исход заболевания, нередко приводя к смерти больного.

Внутрибольничная инфекция (ВБИ) является одной из форм ятрогенных, т.е. связанных с медицинскими вмешательствами, заболеваний. Возбудителями ВБИ могут быть патогенные микробы, например, в случаях госпитализации инфекционного больного в соматические отделения, неправильной или несовершенной изоляции больных в инфекционных отделениях, заноса возбудителей в больницы посетителями во время эпидемий. Однако, в настоящее время ВБИ, в основном, встречаются в соматических больницах, т.е. в неинфекционных клиниках, и вызываются УПМ.

Если учесть тот факт, что в СНГ ежегодно госпитализируется до 80 млн человек, то понятно, почему госпитальная инфекция становится важнейшей проблемой клинической медицины. Уровень заболеваемости, по данным разных авторов, колеблется от 5 до 500 на 10 тыс. госпитализированных.

Главной задачей коллективов больничных учреждений является более полное и быстрое восстановление здоровья госпитализированных больных и создание для последних безопасных и комфортных условий пребывания. Эти задачи решаются клиницистами (терапевтами, хирургами и т.п.) совместно с гигиенистами, экологами, эпидемиологами, специалистами в области санитарной и клинической микробиологии.

Специфические микробиологические проблемы в неинфекционных клиниках существуют давно, но понятие о клинической микробиологии, как самостоятельном разделе медицинской микробиологии (отличном от разделов инфекционной, санитарной микробиологии), ее задачах и методах формируется только в последние десятилетия. Выделение этого раздела обусловлено, главным образом, тем, что в результате эволюции микробов, темпы которой резко усилились во второй половине XX в., произошло резкое увеличение удельного веса и абсолютного количества ГВЗ, вызванных УПМ. Большинство таких больных, госпитализируется в неинфекционные стационары. Биологические особенности УПМ, широкое и часто нерациональное применение антибиотиков, расширение спектра и утяжеление оперативных вмешательств, широкое внедрение в практику здравоохранения диагностических и лечебных процедур, ведущих к нарушению целостности покровов и ряд других факторов привели к возникновению в больничных стационарах ряда сложных проблем практического и научного порядка, таких, как циркуляция множественно-устойчивых и больничных вариантов бактерий, нарастание внутрибольничных, хронических, смешанных, вторичных инфекций и сепсиса и др. Решение микробиологических аспектов ВБИ и является задачей клинической микробиологии.

Понятие о клинической микробиологии

Клиническая микробиология – это раздел медицинской микробиологии, изучающий взаимоотношения, складывающиеся между макро- и микроорганизмами в норме, при патологии, в динамике воспалительного процесса, с учетом проводимой терапии до констатации клиницистом состояния клинического или полного выздоровления.

Задачи клинической микробиологии близки к тем задачам, которые стоят перед медицинской микробиологией. Их специфика определяется лишь тем, что клиническая микробиология исследует одну группу микробов – УП М, одну группу заболеваний – оппортунистические инфекции и одну антропогенную экосистему – больничные учреждения.

Исходя из этого, задачами клинической микробиологии являются:

1. Изучение биологии и роли УПМ в этиологии и патогенезе ГВЗ человека.

2. Разработка и использование методов микробиологической диагностики, специфической терапии и профилактики микробных заболеваний, встречающихся в неинфекционных стационарах.

3. Исследование микробиологических аспектов проблем ВБИ, дисбактериоза, лекарственной устойчивости микробов.

4. Микробиологическое обоснование и контроль за антимикробными мероприятиями в больничных стационарах.

Этиология ВБИ

ВБИ вызываются УПМ. УПМ – это большая и разнородная в систематическом отношении группа микробов, которые вызывают у человека болезни при определенных условиях. Их представители встречаются среди бактерий, грибов, простейших. По многим признакам близки к УПМ некоторые виды вирусов (?-герпесвирусы 1 и 2, ?-герпесвирус, паповавирусы, отдельные варианты аденовирусов, вирусов Коксаки и ECHO).

УПМ вступают с организмом человека, в одних случаях, в отношения симбиоза, комменсализма и (или) нейтрализма, в других – в конкурентные отношения, нередко, приводящие к развитию заболевания. Поэтому, они получили название «условно-патогенные» микробы (син. «потенциально-патогенные»), т.е., обладая низкой степенью патогенности для человека, они проявляют свои патогенные свойства только при определенных условиях, например, при снижении иммунного статуса организма. Грань между патогенными и УПМ весьма относительна. Поскольку УПМ в литературе часто называют «микробами-оппортунистами» (от английского выражения «to take opportunity»), вызываемые ими заболевания получили название «оппортунистических инфекций».

ВБИ могут вызываться более, чем сотней видов УПМ. Чаще всего в их этиологии играют роль представители следующих родов: *Staphylococcus, Streptococcus, Peptostreptococcus, Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Citrobacter, Serratia, Proteus, Hafnia, Providencia, Pseudomonas, Haemophilus, Branhamella, Acinetobacter, Moraxella, Alcaligenes, Flavobacterium, Vibrio, Propionibacterium, Bacteroides, Fusobacterium, Bacillus, Mycobacterium, Eikenella, Mycoplasma, Actinomyces, Candida, Cryptococcus, Pneumocysta.*

В экологическом отношении УПМ неоднородны. Среди них имеется группа свободноживущих видов, главной средой обитания которых являются различные биоорганические субстраты (пищевые продукты, вода, почва, органические отходы деятельности человека, растворы и аэрозоли лекарственных препаратов). Большинство этих видов, способны обитать также в организме человека и при определенных условиях вызывать у него

болезни (сапронозы), но для сохранения и продолжения вида живая среда им необязательна. В больничных стационарах из этой группы микробов обитают ацинетобактерии, псевдомонады, серрации, протеи, клебсиеллы. Некоторые виды паразитов животных, например, сальмонеллы, также должны быть отнесены к УПМ.

Основная часть УПМ относится к постоянным, «нормальным» обитателям многих органов (биотопов) организма человека и находятся с ним обычно в симбиотических отношениях. При определенных условиях они могут вступать с хозяином в конкурентные отношения и вызывать у него болезни, но это явление не дает им биологических преимуществ, и более того, иногда ведет к потере хозяина.

Факторы патогенности. В отличие от большинства патогенных микробов, которые имеют четко обозначенные «входные ворота» для проникновения во внутреннюю среду организма, УПМ способны вызывать инфекцию при попадании любым путем в любые органы и ткани, что является одной из причин многоорганности оппортунистических инфекций. Для развития инфекции необходим пассивный занос УПМ во внутреннюю среду организма и дефицит элиминирующих механизмов иммунной системы.

Повреждение клеток и тканей организма хозяина УПМ вызывают с помощью эндотоксина и ферментов агрессии. Эндотоксин грамотрицательных бактерий является универсальным фактором патогенности УПМ. Мишенью для него, являются поверхности клеток почти всех органов человека, что определяет многогранность и идентичность или близость вызванных ими поражений. Поскольку активность эндотоксина относительно невелика, то только высокие концентрации его могут вызвать клинически выявляемые поражения, которые образуются при одновременной гибели и лизисе больших количеств бактерий. Ряд УПМ, помимо эндотоксина, содержит и выделяет во внешнюю среду пока плохо идентифицированные вещества, оказывающие цитотоксическое и цитолитическое действие.

УПМ выделяют большое количество ферментов агрессии (гиалуронидаза, эластаза, коагулаза, фибринолизин, нейраминидаза, лецитиназа, нуклеазы, дезаминазы, декарбоксилазы и др.), оказывающие деполимеризующее или конформационное действие на свободные или входящие в состав клеток и волокон молекулы. Повреждающее действие ферментов агрессии обусловлено не только разрушением структур клеток, тканей и органов, но и токсическим действием продуктов ферментативного распада (мочевина, сероводород, амины и др.).

УПМ обладают почти тем же набором факторов патогенности, что и большинство патогенных микробов. Однако, в отличие от патогенных микробов, у которых набор факторов патогенности специфичен и универсален для вида, у УПМ он в значительной степени вариабелен и малоспецифичен.

Популяции. У УПМ гетерогенность популяций выражена в большей степени, чем у патогенных микробов. Гетерогенность популяций УПМ проявляется почти по всем признакам, особенно она выражена в устойчивости к антибиотикам, антисептикам, дезинфектантам, физическим факторам, бактериофагам и бактериоцинам. Хорошо известна высокая гетерогенность антигенной структуры большинства УПМ, которая создает большие сложности в идентификации выделенных культур.

Микробиоценозы УПМ. Микробиоценозы здоровых (нормальных) биотопов людей, находящихся в больничных стационарах, отличаются от таковых людей вне стационара колонизацией госпитальными эковарами УПМ. Частота колонизации выше у категории иммунодефицитных лиц, в ряде отделений и специальностей, она высока у медицинских работников. Микробиоценозы патологически измененных биотопов стационарных больных отличаются сниженной способностью к аутостабилизации, усилением конкурентных

взаимоотношений между членами микробиоценоза и отдельными его представителями с организмом хозяина и к увеличенной частоте внутри- и межпопуляционного генетического обмена, которые ведут к появлению в биотопе нетипичных для него видов, особенно, их госпитальных эковаров, исчезновению или резкому снижению численности аутохтонных видов.

Эпидемиология ВБИ

Эпидемиология ВБИ сложна и недостаточно изучена.

Источником инфекции чаще всего является человек – больной, особенно со стертой формой заболевания или же носитель. Наибольшую опасность в эпидемиологическом плане представляет медперсонал больничных учреждений, который может быть носителем госпитальных штаммов УПМ, например стафилококков. В соответствии с Международной классификацией, различают постоянных носителей, у которых при посеве из полости носа всегда обнаруживается стафилококк (возможно и различных фаготипов) и перемежающихся носителей – стафилококк (чаще тот же штамм) у них выделяется время от времени. В литературе описано носительство коагулазонегативных стафилококков на слизистой влагалища у медперсонала отделений реанимации, трансплантологии и других и связанные с этим вспышки госпитальной стафилококковой инфекции. Источником инфекции могут служить и животные, например, больные маститом коровы при стафилококковых токсикоинфекциях и энтероколитах. Иногда источником инфекции служат объекты окружающей больничной среды, обильно обсемененные свободноживущими видами УПМ, например, псевдомонадами, ацинетобактериями (сапронозы). Таким образом, оппортунистические инфекции в большинстве случаев, представляют собой антропонозы, редко, антропозоонозы, иногда сапронозы.

Поскольку у УПМ отсутствует органный тропизм и они способны поражать любые органы и ткани организма человека, то они могут передаваться различными механизмами и путями.

В связи с очень низкой патогенностью и вирулентностью УПМ, восприимчивость к ним крайне низка у лиц с нормальным иммунным статусом и повышена у иммунокомпромиссных хозяев.

Патогенез ВБИ

На развитие и течение ВБИ влияет несколько факторов, зависящих от свойств микроба, состояния организма и условий их взаимодействия (величина инфицирующей дозы, наличие у микроба определенного набора факторов патогенности, гетерогенность и изменчивость популяций и микробиоценозов), способа проникновения микроба во внутреннюю среду организма, нарушения целостности покровов, снижения резистентности организма, недостаточная способность к развитию приобретенного противоинфекционного иммунитета; наличия факторов эффективной передачи возбудителя от инфицированного человека неинфицированному и т.д.

Все оппортунистические инфекции развиваются на фоне снижения показателей иммунного статуса организма, что наблюдается у онкологических больных, больных хроническими инфекционными заболеваниями, лиц, перенесших обширные оперативные вмешательства, у лиц преклонного возраста, недоношенных младенцев, больных сердечно-сосудистыми заболеваниями с регионарными нарушениями кровообращения (ишемия и некрозы тканей), при ожирении и сахарном диабете, у больных, получающих иммуно-

депрессивную лекарственную терапию (кортикостероидные гормоны, цитостатики, ряд антибиотиков и многие другие препараты) и т.п.

Так как, УПМ являются преобладающими представителями нормальной микрофлоры организма человека, то подавляющее большинство оппортунистических инфекций носит *эндогенный характер*. При целом ряде патологических состояний, ведущих к снижению иммунореактивности организма, УПМ нормофлоры приобретают способность преодолевать тканевые барьеры, в норме для них непреодолимые и транслоцироваться во внутреннюю стерильную среду организма. Попадание условно-патогенных микробов во внутреннюю среду организма влечет за собой колонизацию ими различных органов и систем организма, что клинически проявляется в виде гнойно-септического процесса различной локализации и степени тяжести.

Клиника ВБИ

Для оппортунистических инфекций характерны следующие особенности:

1. Возбудители не имеют строго выраженного органного тропизма: один и тот же вид может быть причиной развития различных нозологических форм (бронхитов, пневмоний, эмпием, синуситов, отитов, менингитов, остеомиелитов, холециститов, пиелонефритов, конъюнктивитов, инфекции травматических, послеоперационных и ожоговых ран и др.).

2. Полиэтиологичность нозологических форм, т.е. одна и та же нозологическая форма может быть обусловлена любым УПМ.

3. Клиническая картина в большей мере зависит от пораженного органа, чем от возбудителя заболевания. Например, пиелонефриты, вызванные псевдомонадами, кишечной палочкой, энтеробактером, энтерококком, клебсиеллами, стафилококками, неразличим по клинической картине, хотя антибактериальная терапия этих форм должна иметь особенности, в зависимости от свойств возбудителя.

4. Часто протекают как смешанные микстинфекции, т.е. вызываются несколькими видами УПМ.

5. Хроническое течение. У одних лиц болезнь с самого начала приобретает медленное, торпидное, хроническое течение, у других – острая фаза болезни переходит в хроническую. Хронизации оппортунистических инфекций способствуют предшествующая заболеванию недостаточность иммунной системы, усугубление или вторичное развитие иммунодефицита в процессе болезни, пожилой или старческий возраст пациента; слабая иммуногенность антигенов УПМ, недостаточное количество возбудителя, чтобы вызвать активный иммунный процесс, например, в случаях поверхностной локализации патологического процесса или небольшого по территории очага поражения; неправильная терапия и неадекватное состоянию поведение больного.

6. Выраженная тенденция к генерализации, к осложнению септикопиемией.

7. С трудом поддаются терапевтическим мероприятиям, что обусловлено широким распространением множественно-устойчивых к антимикробным химиотерапевтическим препаратам штаммов, гетерогенностью и изменчивостью популяций и биоценозов возбудителей, недостаточной активностью факторов естественной резистентности и сниженной способностью к развитию эффективного иммунного ответа на антигены возбудителей.

8. Отличаются от инфекций, вызванных патогенными микробами, широким распространением в больничных стационарах, частой связью с оказанием медицинской помощи, частыми случаями эндогенной инфекции, множественностью источников инфекции, частой массивной контаминацией объектов внешней среды возбудителями, способностью ряда возбудителей размножаться в объектах внешней, в том числе больничной, среды,

избирательностью поражения населения (группы риска – иммунокомпромиссные хозяева), низкой контагиозностью больных и носителей, низкой восприимчивостью здоровых людей.

9. Множественность механизмов, путей и факторов передачи, так как УПМ не имеют органного тропизма и способны поражать любые органы и ткани организма человека.

Таким образом, оппортунистические инфекции могут вызываться практически всеми УПМ и клинически протекают в форме гнойно-воспалительных процессов различной локализации и степени тяжести. Поскольку установить клинически этиологический диагноз заболевания не представляется возможным, то основное значение в постановке такого диагноза приобретают методы лабораторной микробиологической диагностики.

Микробиологическая диагностика ВБИ

Микробиологические методы имеют решающее значение в постановке этиологического диагноза оппортунистических инфекций, в выработке рациональной схемы терапии и в предупреждении развития вторичных случаев заболевания.

Микробиологические исследования при заболеваниях, вызванных УПМ, направлены на выделение не одного, а нескольких основных микробов, находящихся в исследуемом материале, а не на индикацию одного специфического патогена, как это принято при заболеваниях, вызванных патогенными микробами.

Основным методом микробиологической диагностики оппортунистических инфекций является *культуральный метод,* заключающийся в посеве на искусственные питательные среды материала от больного для выделения и идентификации чистых культур возбудителей.

При использовании этого метода следует учитывать:

• в материале от больного, как правило, присутствует ассоциация микробов, в которую входят как возбудители заболевания, так и заносные из других органов и внешней среды виды, а также микробы, которые могут попасть в материал при его заборе и доставке;

• количественный и видовой состав микрофлоры варьирует у разных больных и меняется в процессе болезни, особенно, при использовании антибактериальных препаратов.

Достоверность бактериологического исследования зависит от: правильного забора материала от больного; применения эффективного набора дифференциально-диагностических и селективных питательных сред; использования количественного посева материала; этапности идентификации выделенных чистых культур (семейство, род, вид и, в необходимых случаях, вариант); определения свойств, указывающих на патогенность культур и их принадлежность к госпитальным штаммам.

Обязательным должно быть определение чувствительности культур к антибиотикам и другим антимикробным химиотерапевтическим препаратам, а также свойств культур, необходимых для эпидемиологического анализа (эпидемиологических меток) – фаговара, серовара, резистенвара и др.

С целью определения смены возбудителей и изменения их свойств, исследования материала следует проводить через каждые 5–7 дней.

Микроскопический метод позволяет выявлять в мазках патологического материала бактерии только в случае их массивного содержания (105 и более КОЕ/мл) и из-за близости морфологии бактерий дает возможность только ориентировочно судить о возбудителе, относя его к крупным таксонам (палочки, кокки, спирохеты, грамположительные или грамотрицательные и т.п.). Результаты микроскопии могут быть использованы при выбо-

ре питательных сред для дальнейшего выделения возбудителя. В редких случаях, микроскопически удается определить род или даже вид возбудителя, если он имеет характерную морфологию (клостридии, фузобактерии). В идентификации грибов и простейших возможности микроскопического метода несколько шире. Введение в практику иммунофлюоресцентного метода расширяет возможности микроскопического метода, но и в этом случае, он не может заменить бактериологический метод, поскольку не позволяет определить чувствительность возбудителя к химиотерапевтическим препаратам и ряд других, необходимых для практики свойств.

Серологический метод имеет вспомогательное значение. С помощью его не удается установить спектр и уровень активности антимикробных препаратов по отношению к возбудителю болезни и провести внутривидовое типирование. Возможности серологического метода ограничивает выраженная мозаичность антигенной структуры многих УПМ, наличие к ним антител у здоровых людей и слабая выраженность иммунного ответа на антигены УПМ. Тем не менее, при затяжных и хронических формах болезни серологический метод иногда позволяет установить этиологию болезни. Серологические реакции ставятся с парными сыворотками крови больного и аутокультурой; результат оценивается по сероконверсии в 4 раза и более. Перспективны серологические методы количественного выявления видовых и типовых антигенов возбудителя в очаге поражения, а также в биологических жидкостях – крови, слюне, моче. Однако, техника постановки таких реакций и критерии этиологического диагноза пока не отработаны. На сегодняшний день слабо разработаны диагностические препараты, основанные на иммунных реакциях (иммуноферментный анализ, иммунофлюоресцентные диагностикумы, моноклональные антитела) к микробамоппортунистам.

Биологический метод обычно не используется из-за неспецифичности клинической картины, вызываемой УПМ у лабораторных животных, и содержания в патологическом материале микробных ассоциаций, которые при заражении животных претерпевают изменения.

Аллергологический метод, в связи с отсутствием сенсибилизации или ее малой специфичностью, не используется.

Правила забора, хранения и транспортировки материала

Результаты микробиологической диагностики зависят от правильного выбора материла и соблюдения условий его забора, доставки, хранения и обработки.

1. Вид материала определяется клинической картиной заболевания, т.е. он должен соответствовать локализации предполагаемого возбудителя с учетом патогенеза болезни. Например, при бронхолегочных заболеваниях для исследования берут мокроту, при заболеваниях мочевыделительной системы – мочу, в случае отсутствия или неясности локальных очагов – кровь.

2. Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования и его повторения в случае необходимости. Например, при исследовании крови берут 5–10 мл крови.

3. Материал берут, по возможности, в начальном периоде болезни, так как именно в этот период возбудители выделяются чаще, их больше, они имеют более типичную локализацию. Ранний этиологический диагноз предполагает более раннее и, следовательно, более эффективное лечение и профилактику новых случаев болезни.

4. Забор материала должен осуществляться до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени после ее назначения, необходимый для выведе-

ния препарата из организма (большинство антибиотиков практически через 8–10 ч после введения, уже выводится из организма). Если антибактериальная химиотерапия начата, то ее при необходимости и без ущерба для больного надо прервать на 1–2 дня, а потом производить забор материала. Так же поступают при повторных исследованиях.

5. Материал необходимо брать непосредственно из очага инфекции или исследовать соответствующее отделяемое (гной из фистулы, мочу, желчь и пр.).

6. Забор материала проводить во время наибольшего содержания в нем возбудителей болезни: например, кровь для выделения гемокультуры в начале озноба, при повышении температуры и т.п.

7. Необходимо предупредить возможную контаминацию материала нормальной микрофлорой больного и микробами окружающей среды. Для этого, забор материала должен проводиться в асептических условиях, в процедурном кабинете, в перевязочной или малой операционной стерильным инструментарием в стерильную посуду. Пути, через которые выделяется или берется материал, должны быть максимально освобождены от нормальной микрофлоры. Для избежания контаминации материала нормофлорой при взятии материала на исследование из полостей тела и полых органов адекватный для забора материала, доступ к этим органам осуществляется путем пункции их через кожные покровы.

8. Следует предупредить возможность попадания в материал антимикробных препаратов (дезинфектантов, асептиков, антибиотиков), исключить контакт с металлами, обладающими олигодинамическим действием, с ватой, содержащей свободные жирные кислоты.

9. Любой клинический материал должен рассматриваться как потенциально опасный для человека. Поэтому, при его заборе, хранении, доставке, обработке во избежание заражения должны соблюдаться такие же меры техники безопасности, как в бактериологической лаборатории.

10. Транспортировку клинического образца в лабораторию следует производить в максимально короткие сроки.

При длительном хранении материала происходит гибель наиболее требовательных к питательным веществам видов микробов, начинают размножаться менее требовательные и быстрорастущие виды, что приводит к нарушению количественного соотношения видов и дезориентирует врача-микробиолога при интерпретации полученных результатов. Если материал нельзя немедленно отправить в лабораторию, хранить его следует в холодильнике или использовать специальные транспортные среды. Клинические образцы для культивирования облигатных анаэробов следует транспортировать в лабораторию, максимально защищая их от воздействия кислорода воздуха.

11. К клиническому образцу, направляемому в лабораторию, прилагают сопроводительный документ, содержащий основные сведения, необходимые для проведения микробиологического исследования (характер материала, Ф.И.О. больного, название учреждения или отделения, номер истории болезни, предположительный диагноз заболевания, предшествующая антимикробная терапия, дата и время взятия материала, подпись врача, направляющего материал на исследование).

12. В процессе транспортировки материал следует оберегать от действия света, тепла, холода, механических повреждений. Лучше всего, материал доставлять в специальных металлических контейнерах, которые удобно очищать и обеззараживать. Нельзя отправлять материал в лабораторию с больными или случайными людьми.

13. После исследования остатки материала подлежат уничтожению (автоклавированию или сжиганию), а посуда, контейнеры, инструменты – обеззараживанию.

Обобщенная (типовая) схема выделения возбудителей оппортунистических инфекций

1-й день

1. Забор и доставка материала в лабораторию

2. Обработка материала с целью его гомогенезации и концентрации (в необходимых случаях).

3. Приготовление и окраска мазка по Граму. В необходимых случаях, например, при подозрении на присутствие в материале простейших, грибов, хламидий, микобактерий и т.п., дополнительно применяют специальные методы окраски.

4. Приготовление разведений патологического материала от 10^1 до 10^6 в теплом растворе хлорида натрия 0,5% с 0,01% желатина (для предупреждения осмотического шока бактерий).

5. Высев 0,1 мл материала из разведений на чашки Петри с питательной средой газоном (на три чашки из каждого разведения). В стандартный набор питательных сред желательно включить желточно-солевой агар (для стафилококков), среду Эндо или эозинметиловый агар (для энтеробактерий), кровяной агар (для стрептококков и ряда других требовательных к питательным средам видов), среду Сабуро (для грибов), среду для контроля стерильности или другие среды для анаэробов. В случаях, когда имеются указания на вероятный возбудитель (клиническая симптоматика, вид патологического материала, результаты микроскопии), должны быть использованы более селективные среды.

2-й день

1. Определение характера роста на питательных средах.

2. Подсчет количества колоний каждого типа на чашках с посевом разведений патологического материала и расчет бактериальной обсемененности материала по формуле

$$X\ КОЕ = N \times ПД \times СР,$$

где N – число колоний; ПД – посевная доза; СР – степень разведения. Микроскопия мазков по Граму из всех выросших типов колоний.

3. Отсев на среду накопления с колоний различных типов. Для повышения достоверности исследования желательно отсевать 2–3 колонии одного типа. Эта мера вызвана гетерогенностью популяции: она удорожает исследование, но зато, резко повышает его достоверность.

4. Ускоренная идентификация (при наличии методов и возможностей).

3-й день

1. Установление «чистоты» культуры на средах накопления, путем просмотра характера роста под бинокулярной лупой и микроскопией мазка.

2. Идентификация чистых культур. Тесты идентификации зависят от предполагаемого вида или рода выделенной культуры. Она проводится с помощью общепринятых методик или автоматизированных систем.

3. Определение чувствительности выделенных культур к антибиотикам и, в необходимых случаях, к антисептикам.

4–5-й день

1.Учет результатов тестов, использованных для идентификации.

2. Оформление заключения (семейство, род, вид выделенных культур; обсемененность материала КОЕ/мл или КОЕ/г; антибиотикограмма; этиологическая значимость выделенных культур и состав их популяций).

3. По клиническим и эпидемиологическим показателям определяют факторы патогенности и эпидемиологические маркеры (фаго-, серо-, резистенс-, бактерио-циновары и др.) у этиологически значимых культур.

Критерии этиологической значимости выделенной чистой культуры

Для установления этиологической роли патогенных микробов, достаточно выделения микроба из материала от больного (независимо от количества), обнаружения в сыворотке крови специфических антител в диагностическом титре или сероконверсии в ходе болезни в 4 раза и более, наличия корреляции между выделенным микробом и клинической картиной болезни. Вспомогательное значение имеют результаты биопробы и аллергологического метода диагностики.

Критерии этиологической роли УПМ более сложны и менее надежны. К ним относятся:

1. Выделение возбудителя из исследуемого материала. Этот критерий имеет решающее значение при выделении микроба из крови и спинномозговой жидкости. При остальных нозологических формах он самостоятельного значения не имеет, если даже выделена монокультура. Отрицательный результат исследования не является основанием для отрицания инфекционной природы болезни, так как он может быть обусловлен методическими причинами. В этом случае, инфекционная природа болезни устанавливается на основании клинических данных с повторным микробиологическим исследованием.

2. Численность популяции обнаруженного микроба в пораженном органе, так называемое критическое число, которое рассчитывают на 1 мл исследуемого материала. Обычно за такое «критическое число» для бактерий принимают дозу 10^5 КОЕ/мл, для грибов и простейших она меньше – 10^3-10^4. Этому критерию придают решающее значение. Следует иметь в виду, что инфицирующая доза является производной от степени патогенности микроба и уровня восприимчивости организма. Она может быть и значительно меньше, и значительно больше этой величины, так как численность популяции возбудителя в процессе болезни меняется: при переходе в хроническую форму, в период выздоровления и ремиссии, в процессе химиотерапии, в присутствии конкурента она существенно снижается. В случае выделения из патологического материала нескольких видов или вариантов микробов, в оценке этиологической роли важное значение имеет установление количественных соотношений ассоциантов: за ведущего возбудителя, в этом случае, принимают доминирующую популяцию.

3. В сомнительных случаях, например, при подозрении на микробную контаминацию исследуемого материала, внести ясность может повторное, в течение 12–24 ч, исследование этого же материала: выделение того же вида и варианта и в этот раз подтверждает вывод о его этиологической роли.

4. Принадлежность выделенной культуры к больничному штамму или эковару.

5. Обнаружение у выделенной культуры факторов патогенности. Ценность этого критерия повышается при выявлении нескольких факторов патогенности и, особенно, в достаточно высокой дозе или активности. К сожалению, методы выявления факторов патогенности и оценки их активности отсутствуют или сложны и долговременны, что снижает возможность использования этого важного критерия. Кроме того, отсутствие специальных факторов патогенности не является основанием для отрицания этиологической роли выделенной культуры, поскольку патогенное действие может быть обусловлено эндотоксином, который содержится у большинства УПМ.

6. Сероконверсия в сыворотке больного к аутокультуре в 4 раза и более.

7. Выявление прямой корреляции между чувствительностью культуры к антимикробным химиотерапевтическим препаратам и эффективностью терапии.

8. Выделение идентичных культур от группы больных в случае вспышки заболевания.

9. Наличие прямой корреляции между клиническим улучшением и уменьшением массивности или полной элиминацией микробной популяции.

Основное значение в установлении этиологии заболевания имеют первые два критерия, остальные – только дополнительное; их наличие указывает на этиологическую роль культуры, отсутствие – не позволяет исключить ее роль в возникновении болезни.

Лечение

Лечение оппортунистических инфекций представляет собой сложную задачу и должно проводиться комплексно. Комплексное лечение включает в себя адекватное хирургическое вмешательство, проведение рациональной антимикробной химиотерапии и иммунотерапии.

Поскольку при оппортунистической инфекции нередко образуются гнойные очаги (абсцессы, флегмоны и т.п.), необходима санация этих гнойных очагов.

Учитывая широкое распространение среди УПМ множественной лекарственной устойчивости к антибиотикам, назначать эти препараты больным необходимо с учетом результатов определения антибиотикограммы выделенных от больного возбудителей.

Так как, результаты антибиотикограммы приходят в стационар из микробиологической лаборатории через 3–5, а иногда и более суток с момента госпитализации больного, то начинать антибиотикотерапию пациента врачу приходится эмпирически. При невозможности направленной антибиотикотерапии, следует отдать предпочтение препаратам широкого спектра действия. Поскольку многие виды УПМ продуцируют фермент (?-лактамазу, разрушающую ?-лактамное кольцо пенициллинов и цефалоспоринов, то хороший терапевтический эффект может быть получен при применении комбинированных препаратов, содержащих блокаторы (?-лактамазы, например, аугментин (амоксиклав) – амоксациллин в комбинации с клавилановой кислотой (блокатор ?-лактамазы). Весьма эффективны при лечении гнойно-воспалительных заболеваний фторхинолоны, обладающие широким спектром действия. При получении результатов определения чувствительности микрофлоры к антибиотикам, проводимая больному химиотерапия должна быть скорректирована в соответствии с этими результатами.

Комплексное лечение оппортунистических инфекций, включает в себя и иммунотерапию, если против УПМ, вызвавшего данное заболевание, разработаны соответствующие лечебные иммунобиологические препараты направленного действия. К подавляющему большинству УПМ лечебные иммунобиологические препараты пока не созданы. Однако, оппортунистические инфекции развиваются у лиц с пониженным иммунным статусом; при наличии соответствующих клинических показаний и при обязательном контроле параметров иммунного статуса, таким больным показано проведение иммунокоррекции с применением иммуномодуляторов.

Профилактика

Профилактика оппортунистических инфекций проводится в трех направлениях: выявление источника инфекции; определение механизмов, путей и факторов передачи; состояние восприимчивого коллектива.

Мероприятия первой группы предусматривают изоляцию и лечение больных, а также выявление и санацию носителей.

С этой целью, в хирургических стационарах различного профиля соблюдается принцип разобщения «чистых» и «гнойных» больных, которые не должны контактировать друг с другом. В больничных учреждениях имеются «чистые» и «гнойные» хирургические отделения и операционные. Если стационар располагает только одной операционной, то операционный день начинается с выполнения «чистых» плановых операций, а по их завершении начинают оперировать плановых «гнойных» больных. После их окончания операционная тщательно дезинфецируются.

Так как распространение госпитальных штаммов часто связано с носителями, особенно, из числа медперсонала больничных учреждений, необходимо выявлять и санировать этих носителей. Для этого, требуется проводить ежедневный осмотр медперсонала (особенно хирургических и родильных отделений) перед началом работы с целью выявления и отстранения от работы лиц с гнойно-воспалительными процессами (гнойничковые поражения кожи рук, катаральные явления в носоглотке и т.п.), а также периодически проводить бактериологическое обследование медперсонала на носительство. Выявленных носителей отстраняют от работы и подвергают санации.

Мероприятия второй группы направлены на разрыв механизмов и путей передачи инфекции, предусматривают организацию и строгое соблюдение санитарно-гигиенического режима в больничных учреждениях, неукоснительное соблюдение медперсоналом правил асептики, антисептики, дезинфекции и стерилизации.

Мероприятия третьей группы направлены на повышение коллективной резистентности людей путем улучшения социально-бытовых условий, применение иммуномодуляторов, адаптогенов или других иммунобиологических препаратов. При наличии дисбиозов целесообразно назначать пробиотики.

Диагностика бактериемии и сепсиса

Микробиологическое исследование крови производят при заболеваниях, связанных с проникновением микробов в ток крови. В норме кровь человека стерильна. В ток крови микробы попадают в результате осложнения при различных манипуляциях, когда развиваются *сепсис, бактериемия, бактериальный шок.* Исследование крови на содержание микробов следует проводить у больных с длительной неясной лихорадкой, особенно, у людей с пониженной иммунореактивностью.

Септицемия и бактериемия могут быть вызваны практически всеми видами микробов – патогенными и УПМ. Наиболее значимые в возникновении бактериемии и фунгиемии бактерии и грибы представлены в табл. 21. 1.

Кровь для исследования следует брать до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени (8–10 ч) после введения лекарственного препарата, необходимый для выведения последнего из организма. Если посев крови производят во время антибактериальной терапии, рекомендуется добавлять в питательную среду вещества, нейтрализующие действие лекарственных препаратов. При пенициллинотерапии, с этой целью можно использовать пенициллиназу, при применении цефалоспоринов – цефалоспориназу, тетрациклинов – ионы магния, являющиеся антагонистами тетрациклина.

Таблица 21. 1.

Наиболее значимые в возникновении бактериемии и фунгиемии бактерии и грибы

Грамотрицательные	Грамположительные
Escherichia coli	Staphylococcus aureus
Klebsiella spp.	Staphylococcus epidermidis
Enterobacter spp.	Streptococcus pneunoniae
Proteus spp.	Enterococcus spp. (группа D)
Salmonella typhi	Streptococcus pyogenes (группа A)
Salmonella spp., отличные от S. typhi	Streptococcus agalactiae (группа B)
Pseudomonas aemginosa	Listeria monocytogenes
Neisseria meningitidis	Clostridium perfrindgens
Haemophylus influenzae	Peptococcus niger
Bacteroides fragilis	Peptostreptococcus spp.
Brucella spp.	Candida albicans и другие дрожжеподобные грибы
Pseudomonas pseudomallei (в отдельных районах)	

Кровь берут в начале озноба при подъеме температуры.

Кровь для посева берут из вены, строго соблюдая правила асептики, и непосредственно у постели больного засевают в питательную среду либо помещают в стерильную посуду, содержащую вещества, препятствующие свертыванию крови (0,3% раствор цитрата натрия, 0,1% раствор оксалата натрия, 1 мл гепарина и др.). Материал быстро транспортируют в лабораторию, где производят дальнейшее исследование. Хранить кровь в холодильнике можно не более 1–2 ч, при более длительном хранении возможен лизис бактерий. Наиболее рациональным является посев крови непосредственно у постели больного в специальные флаконы для выделения гемокультуры возбудителя. Для этой цели, обычно, используют одноразовую систему для забора крови и два флакона с питательной средой (один для выделения аэробов, другой – анаэробов). Такой флакон содержит жидкую питательную среду с добавлением антикоагулянтов и веществ, подавляющих бактерицидные свойства крови (может использоваться двухфазная среда) и бескислородную газовую атмосферу (для выделения анаэробов).

Клиническая картина разных этиологических форм сепсиса идентична или близка. Поэтому, в диагностике сепсиса, и особенно, в определении тактики химиотерапии решающая роль принадлежит микробиологическому исследованию.

Бактериоскопический метод не применяется. Лишь в отдельных случаях, используется микроскопия толстой капли крови, например, при менингококковом сепсисе.

Бактериологический метод является основным методом диагностики. Он проводится путем выделения возбудителя из крови (гемокультура), а при септикопиемии вспомогательное значение для постановки диагноза имеет выделение культуры из первичных и вторичных локальных инфекционных очагов.

Производят посев 5–10 мл крови на 50–100 мл жидкой питательной среды: 1% сахарный бульон, двухфазную среду, а также жидкие и полужидкие среды для культивирования анаэробов. При подозрении на брюшной тиф и другие инфекционные заболевания, применяют специальные питательные среды. Для количественного определения массивности обсеменения крови делают посев нескольких капель крови из шприца на поверхность

чашки Петри с 5% кровяным агаром. Посевы инкубируют в термостате в течение 10 дней. Просмотр посевов производят ежедневно. При наличии роста на питательных средах делают высевы на чашки с 5% кровяным агаром, которые инкубируют в аэробных и анаэробных условиях. Из колоний, выросших на чашках с кровяным агаром, выделяют чистую культуру, идентифицируют и определяют чувствительность к антибиотикам. Посевы крови на двухфазной среде просматривают, наклоняя флакон и таким образом, увлажняя поверхность скошенного агара бульоном с кровью. При этом, исключается необходимость в высевах на плотные среды и снижается возможность загрязнения посевов.

Однократный посев крови, не всегда приводит к выделению гемокультуры. Более информативным является трехкратный посев крови с интервалами между посевами в одни сутки. У леченных больных кровь для посева следует брать 5–6 раз.

Выделение из крови как патогенных микробов, так и УПМ, независимо от их количества, расценивается как бактериемия или сепсис. Заключение становится более надежным, в случаях, повторного выделения аналогичной культуры, а также изоляции ее из локальных очагов воспаления. Выделенные культуры обязательно испытывают на чувствительность к антибактериальным препаратам.

Серодиагностика может быть использована как вспомогательный метод и проводится путем постановки реакции агглютинации с аутогемокультурой. При отдельных этиологических формах сепсиса с помощью серологических реакций могут быть обнаружены циркулирующие в крови видовые антигены.

При постановке диагноза сепсис, а также дифференциации бактериемии и сепсиса при отрицательных данных лабораторного исследования, необходимо опираться на клинические данные и результаты других анализов.

Наряду с установлением возбудителя сепсиса, следует обязательно исследовать иммунный статус больного, так как исход сепсиса зависит не только от рациональной химиотерапии, но и от применения средств, нормализующих функцию иммунной системы организма.

21. 11. Диагностика инфекций мочевыводящих путей

Микробиологическое исследование мочи производят при воспалительных заболеваниях мочевыводящих путей.

Оппортунистические инфекции мочевыводящих путей различной этиологии протекают в виде гломерулонефрита, пиелонефрита, пиелита, околопочечных абсцессов, осложненной инфекцией почечнокаменной болезни, цистита, простатита, уретрита, послеоперационных инфекций, в том числе, связанных с пересадкой почек. Течение перечисленных локальных инфекций нередко осложняется уретральной лихорадкой, уросепсисом и иногда, бактериальным шоком. Длительное выделение с мочой больших количеств бактерий при отсутствии клинических проявлений обозначается как бессимптомная бактериурия.

В моче наиболее часто встречаются *Escherichia coli*, другие грамотрицательные палочки, энтерококки, *Staphylococcus saprophyticus*; часто – *Pseudomonas aeruginosa* и другие неферментирующие грамотрицательные бактерии, а также стафилококки; реже – *Candida albicans*.

В норме микрофлора колонизирует дистальные отделы уретры. В вышерасположенные участки мочеполового тракта УПМ проникают гематогенным путем, при травмах органов мочеполовой системы, при их контакте с инфицированными органами малого таза и восходящим путем через уретру. Последний путь является главным. Он может быть результатом медицинских вмешательств (катетеризация, цистоскопия, бужирование, лоб-

ковая пункция и промывание мочевого пузыря) или происходит самопроизвольно, например, при поражении спинного мозга. Судьба проникших в мочеполовую систему УПМ зависит от их инфицирующей дозы и состояния иммунитета. Категориями риска развития инфекции мочевыводящих путей являются больные с врожденными пороками развития мочеполовой системы, почечнокаменной болезнью, нарушениями проводимости спинного мозга, гнойно-воспалительными заболеваниями органов малого таза, хирургическими вмешательствами на мочеполовой системе, в том числе с пересаженной почкой, при инструментальных исследованиях мочеполовой системы, диабете и других общих заболеваниях, сопровождающихся иммунодефицитом или иммунодепрессивной терапией.

Микробиологический диагноз инфекции мочевыводящих путей, так же как бессимптомной бактериурии, устанавливают выделением культуры возбудителя (урокультуры). Ориентировочные данные о возбудителе могут быть получены микроскопией осадка мочи, дополнительные данные – с помощью серодиагностики с аутокультурами этиологически значимых видов. Микробиологическое исследование мочи нужно проводить до начала антибактериальной терапии.

После тщательного туалета наружных половых органов, в стерильную посуду собирают среднюю порцию свободно выпущенной мочи в количестве 3–5 мл.

Взятие мочи с помощью катетера связано с риском инфицирования мочевых путей, поэтому его желательно избегать. Катетеризацию проводят только в случаях необходимости, если больной не способен мочиться, для разграничения воспалительного процесса в почках и мочевом пузыре. С этой целью мочевой пузырь опорожняют и вводят в него 50 мл раствора, содержащего 40 мг неомицина и 20 мг полимиксина. Через 10 мин берут пробы мочи для исследования. При локализации процесса в мочевом пузыре моча остается стерильной, при инфекции в почках отмечается бактериурия. Мочу можно получить от больного путем надлобковой пункции мочевого пузыря. Этот метод взятия мочи дает наиболее достоверные результаты исследования, однако имеется опасность инфицирования больного.

Таблица 21. 2.

Определение степени бактериурии методом секторных посевов

Сектор А	Количество бактерий в секторах			Количество бактерий в 1 мл мочи
	I	II	III	
1-6	-	-	-	>1 тыс.
8-20	-	-	-	3тыс.
20-30	-	-	-	5 тыс.
30-60	-	-	-	10 тыс.
70-80	-	-	-	50 тыс.
100-150	5-10	-	-	100 тыс.
Не сосчитывается	20-30	-	-	500 тыс.
Тоже	40-60	-	-	1 млн
«	40-60	100-140	10-20	5 млн
«	Не сосчитывается	30-40	-	10 млн
«	Тоже	60-80	Единичные колонии	100 млн

Микробиологическое исследование мочи надо проводить как можно быстрее, после ее получения от больного, с тем, чтобы избежать размножения находящихся в ней микробов. Размножение микробов в моче до начала анализа приводит к ложным результатам при количественном определении бактериурии и может дезориентировать в отношении возбудителя заболевания. Если немедленное исследование мочи невозможно, то ее следует хранить в холодильнике при 4 °С не более суток.

Для *микроскопического исследования* 5 мл мочи центрифугируют при 8–10 тыс. об/мин 10–15 мин, надосадочную жидкость сливают, из осадка делают мазки и окрашивают водным фуксином и по Граму; при подозрении на туберкулез – по Цилю–Нельсену, на кандидоз – раствором Люголя. При микроскопии получают ориентировочное представление о присутствующих микробах и их приблизительном количестве в 1 мл (число бактерий в поле зрения умножают на разрешающий фактор – 100 тыс. и делят на объем взятой для исследования мочи).

При *бактериологическом исследовании* определяют степень бактериурии, т.е. количество колониеобразующих единиц в 1 мл мочи (КОЕ/мл), методом секторных посевов мочи.

Платиновой петлей диаметром 2 мм (вместимость 0,005 мл) производят посев мочи – 40 штрихов на сектор чашки Петри с простым агаром (рис. 20.1). После этого, петлю прожигают и производят 4 штриховых посева из сектора А в сектор I и аналогичным образом из сектора I в сектор И и из сектора II в сектор III (каждый раз прожигая петлю). Чашки инкубируют при 37 °С 18–24 ч, после чего, подсчитывают число колоний, выросших на разных секторах. Определение степени бактериурии по количеству выделенных колоний проводят согласно табл. 21. 2.

Колонии, выросшие на плотной питательной среде, отсевают на чашки Петри или в пробирки со скошенным агаром, выделенную чистую культуру идентифицируют и определяют ее чувствительность к антибактериальным препаратам.

Ускоренные методы определения степени бактериурии, основаны на определении продуктов метаболизма, образующихся при размножении микробов в моче. Они дают менее точные результаты, чем метод секторных посевов, и используются преимущественно при массовых профилактических обследованиях больших контингентов людей или для экспресс-диагностики. При положительном результате, полученном ускоренными методами, необходимо дальнейшее исследование с помощью более точного бактериологического метода. Для ускоренной диагностики используются нитратный и ТТХ-тест.

Ускоренные методы позволяют получить немедленный ответ. При использовании бактериологических методов лаборатория дает предварительный ответ через день после по-

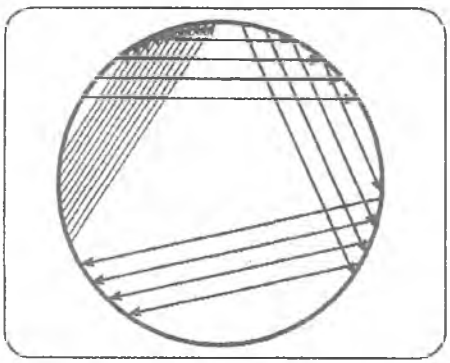


Рис. 21.1. Посев по Голду

лучения результатов определения степени бактериурии и окончательный – через 3–4 дня после выделения микробов, их идентификации и определения чувствительности к антибактериальным препаратам. В окончательном ответе указывают степень бактериурии, вид выделенных культур, их антибиотикограмму.

Основная задача при интерпретации полученных данных заключается в доказательстве этиологической роли микробов, выделенных из мочи. Учитывают комплекс тестов: степень бактериурии, вид выделенных культур, повторность их выделения в процессе заболевания, присутствие в моче монокультуры или ассоциации микробов. Степень бактериурии позволяет дифференцировать инфекционный процесс в мочевых путях от контаминации мочи нормальной микрофлорой.

Оценку производят на основании следующих критериев:

1. Степень бактериурии, не превышающая 10^3 КОЕ/мл мочи, свидетельствует об отсутствии воспалительного процесса и обычно является результатом контаминации мочи.

2. Степень бактериурии, равная 10^4 КОЕ/мл, расценивается как сомнительный результат. Исследование следует повторить.

3. Степень бактериурии, равная и выше 10^5 КОЕ/мл мочи, указывает на наличие воспалительного процесса.

Изменение степени бактериурии в процессе заболевания можно использовать для контроля за течением процесса и эффективностью терапии. Уменьшение степени бактериурии свидетельствует о благоприятном течении заболевания и эффективности использования лекарственных препаратов. В некоторых случаях у больных, получающих антибактериальную терапию при плохом оттоке мочи, при ее низкой относительной плотности, pH ниже 5,0, может наблюдаться низкая степень бактериурии при имеющемся заболевании. Поэтому, помимо степени бактериурии, следует учитывать вид выделенных из мочи микробов. Повторное выделение из мочи культуры одного вида, типа, варианта свидетельствует об инфекционном процессе. Монокультура чаще выделяется при острых воспалительных процессах и коррелирует с высокой степенью бактериурии. Ассоциации микробов чаще встречаются при хронических процессах.

При окончательной оценке результатов микробиологического исследования мочи необходимо учитывать данные клиники и другие лабораторные анализы.

Диагноз бессимптомной бактериурии ставится в тех случаях, когда при отсутствии симптомов поражения мочеполовых путей из мочи повторно выделяют большое число бактерий (10^5 и более).

Диагностика инфекций нижних дыхательных путей

Оппортунистические инфекции бронхов и легких протекают в виде бронхита, пневмонии, абсцесса и гангрены легкого, эмпиемы плевры. Ведущее место в этой группе заболеваний занимают хронический и острый бронхит.

Заражение возбудителями оппортунистических инфекций происходит, главным образом, воздушно-капельным путем из внешней среды или верхних дыхательных путей самого больного. Но возбудители нередко проникают также из крови (при сепсисе), при оперативных вмешательствах, эндоскопических процедурах, при интратрахеальном введении контаминированных микробами аэрозолей и растворов.

Занос УПМ в дыхательные пути не обязательно влечет за собой развитие инфекции. У здоровых людей бронхи обладают выраженной способностью к самоочищению от микробов и чужеродных частиц, которое осуществляется кооперативным действием системы мукоцилиарного клиренса, альвеолярными и бронхиальными макрофагами, лизоцимом,

секреторным IgA, комплементом, лимфоидным аппаратом слизистых оболочек и перибронхиальных лимфатических узлов. Кроме того, слизистая оболочка дыхательных путей обладает выраженными барьерными свойствами против УПМ. Поэтому для возникновения инфекции, необходимо попадание тем или иным путем высокой инфицирующей дозы возбудителя, нарушение целостности слизистой оболочки и снижение самоочищающей функции дыхательных путей. Повышают риск развития инфекций иммунодефицитные состояния.

Возбудителями воспалительных процессов нижних дыхательных путей могут быть бактерии, микоплазмы, вирусы, грибы и простейшие. Среди патогенов высокого уровня приоритетности, наиболее часто при заболеваниях нижних дыхательных путей встречаются – *Mycobacterium tuberculosis, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae;* к патогенам среднего уровня приоритетности следует отнести энтеробактерии, *Candida albicans, Branchamella catarrhalis.* Аспирационные пневмонии часто вызываются неспорообразующими анаэробами.

Материалом для исследования служат мокрота, содержимое бронхов, полученное при бронхоскопии, плевральная жидкость, аспираты и пунктаты из трахеи, легочная ткань, полученная при пункции и биопсии легкого. Наиболее информативно исследование пунктатов из легких и трахеи. Однако, применение методов связано с определенным риском, в связи с чем, их следует использовать лишь при тяжелых заболеваниях и при отсутствии мокроты или отрицательном результате ее исследования. Мокроту для микробиологического исследования следует брать до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени после введения препарата, необходимый для выведения последнего из организма больного. Исследуют утреннюю порцию мокроты.

Перед сбором мокроты больной должен прополоскать рот кипяченой водой или слабым раствором антисептика, почистить зубы. Мокроту собирают в стерильную посуду – плевательницу, чашки Петри и пр. Наиболее информативно исследование мокроты, полученной при бронхоскопии, так как она практически не загрязнена микрофлорой верхних дыхательных путей и полости носа, полости рта. Хранить мокроту до исследования следует в холодильнике при 4 °С не более 2–3 ч. При более длительном хранении погибают требовательные виды микробов, развиваются процессы брожения и гниения, искажающие результаты исследования.

Для лабораторной диагностики используют *микроскопический, бактериологический* и *серологический методы.*

Микроскопический метод применяют для ориентировочной экспресс-диагностики, а также для выбора основного направления бактериологического исследования. Чувствительность и специфичность этого метода повышается при использовании РИФ и ИФА.

Исследуют гнойные комочки мокроты, которые максимально освобождают от микрофлоры верхних дыхательных путей, путем промывания их в чашке Петри, содержащей изотонический раствор хлорида натрия. Готовят мазки, растирая комочек мокроты между стеклами, окрашивают их по Граму и Цилю– Нельсену (для обнаружения в мокроте микобактерий). При бактериоскопии мазков, можно ориентировочно судить о характере и количестве микрофлоры в мокроте. Микроскопия мазка позволяет также выявить трудно культивируемые микробы.

Серологический метод используют чаще при затяжных и хронических формах. В связи с полиэтиологичностью заболевания и выраженной мозаичностью возбудителей, в качестве диагностикума используют количественно доминирующие аутокультуры. Поскольку, последние нередко являются представителями нормальной микрофлоры, к которым в организме обычно имеются антитела, реакции ставят в динамике.

Ведущий метод диагностики – *бактериологический*. Главной его особенностью является определение количества микробов в материале.

Посев отмытых гнойных комочков мокроты производят на ряд питательных сред: 5% кровяной агар, среду Эндо, среду Левинталя, среду для анаэробов. Посев производят шпателем, равномерно растирая комочек мокроты по поверхности питательной среды. На поверхность питательной среды, засеянную исследуемым материалом, можно положить диски с сапонином, чтобы создать селективные условия для роста *H. influenzae*. Среды с посевами инкубируют 18–24 ч. Из выросших колоний выделяют чистые культуры, идентифицируют и определяют антибиотикограмму. При обнаружении в микроскопическом препарате грибов делают посев на среду Сабуро или другие среды для выращивания грибов. При подозрении на туберкулез или микоплазменную инфекцию делают посевы на соответствующие среды. Чтобы различить контаминацию мокроты микрофлорой верхних дыхательных путей и полости рта, используют количественные методы исследования.

Мокроту для количественного исследования собирают в стерильную банку с бусами для гомогенизации материала или в обычную посуду, но перед посевом растирают тщательно в ступках. В стерильную банку с бусами помещают 1 мл мокроты, добавляют туда 9 мл 2% пептонной воды или бульона. Смесь встряхивают в течение нескольких минут, из полученной гомогенизированной мокроты готовят десятикратные разведения, добавляя к 0,1 мл мокроты 0,9 мл изотонического раствора хлорида натрия. Затем по 0,1 мл полученных разведений засевают на чашки с 5% кровяным агаром, растирая материал шпателем по поверхности среды. Через сутки инкубации при температуре 37 °С учитывают результаты: подсчитывают однотипные по внешнему виду колонии, их число умножают на 10, так как производят посев 0,1 мл мокроты, и на степень разведения материала. Из колоний готовят мазки, выделяют чистые культуры, идентифицируют, определяют чувствительность к антибактериальным препаратам.

Для выделения пневмококка можно внутрибрюшинно заразить белых мышей 0,5 мл взвеси первичного материала в бульоне или частью осадка после центрифугирования материала. Через 6–8 ч у зараженной мыши берут экссудат из брюшной полости, делают посев на чашки с 5% кровяным агаром, из остатка экссудата готовят мазки, которые окрашивают по Граму. Можно также забить зараженное животное и сделать посев крови из сердца на сывороточный бульон и чашки с кровяным агаром и мазки-отпечатки из селезенки на предметном стекле для окраски по Граму. При наличии пневмококка в исследуемом материале, на питательных средах вырастет чистая культура.

Наиболее сложно определить этиологическую роль содержащихся в мокроте микробов, контаминирующих ее при прохождении через верхние дыхательные пути и ротовую полость. Для дифференциации этой микрофлоры от микрофлоры нижних дыхательных путей используют ряд тестов. С помощью количественного метода определяют содержание в мокроте определенного вида микробов, исходя из того, что возбудитель находится в мокроте в значительно большем количестве, чем микробы-контаминанты. Критическое число составляет 10^6–10^7. Рост микробов в меньших разведениях расценивают как контаминацию мокроты микрофлорой верхних дыхательных путей. Следует учитывать, что при проведении антибактериальной терапии количественное обсеменение мокроты возбудителем может уменьшиться.

Определенное значение имеет вид выделенных микробов. Представителей нормальной микрофлоры носоглотки как возбудителей заболевания следует учитывать только в случаях, когда их количество превышает обычное. Другие виды микробов, находящихся в мокроте в разведениях, превышающих 10^6, следует учитывать и изучать их чувствительность к антибиотикам.

Диагностика инфекций верхних дыхательных путей

Микрофлору верхних дыхательных путей изучают при заболеваниях носа и зева, а также у больных пневмонией, не отделяющих мокроту и при обследовании на бактерионосительство.

Отделяемое из носа берут стерильным ватным тампоном, который вводят в глубь подслизистой носа. Материал из носоглотки берут стерильным задненосоглоточным тампоном, из зева – увлажненным ватным тампоном. Тампоны помещают в стерильные пробирки и доставляют в лабораторию в максимально короткие сроки. Хранить тампоны с материалом следует в холодильнике не более 2–3 ч. Посев тампоном производят на чашки Петри с 5% кровяным агаром, которые инкубируют 18–24 ч при температуре 37 °С. Просматривают выросшие колонии, выделяют чистые культуры, идентифицируют их, определяют чувствительность к антибиотикам. Из материала, оставшегося на тампоне, делают мазки, которые окрашивают по Граму и Нейссеру.

При оценке результатов исследования, следует учитывать видовой и количественный состав нормальной микрофлоры, содержащейся в клиническом образце: обнаружение микробов, не относящихся к нормальной микрофлоре верхних дыхательных путей или необычно большое количество микробов какого-либо вида указывает на их этиологическую значимость в заболевании.

Диагностика менингитов

Микробиологическое исследование ликвора необходимо в случаях, подозрительных на менингит, а также при коматозных состояниях и неврологических симптомах неясного генеза.

Гнойный менингит – гнойное воспаление мозговых оболочек. Встречаются первичный менингит, вызванный менингококками и вторичный, возбудителями которого являются все прочие УПМ. Возбудители заносятся в субарахноидальное пространство при воспалительных процессах в других органах гематогенным, лимфогенным, контактным путями, а также при травмах.

Ликвор в норме стерилен, поэтому положительный результат микробиологического исследования – это всегда расшифровка этиологического диагноза, своевременность постановки которого может в ряде случаев, предотвратить смертельный исход заболевания.

Этиология менингитов очень разнообразна. Наиболее часто из ликвора выделяют следующие микробы:

при гнойных менингитах – *Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Streptococcus* group A, B, D; *Haemophilus influenzae, E. coli, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Acinetobacter, Listeria monocytogenes,*

при асептических менингитах – *Mycobacterium tuberculosis, Leptospira, Cryptococcus neoformans, Toxoplasma gondii,* вирусы.

Взятие проб ликвора должно проводиться при строжайшем соблюдении правил асептики, исключающих его контаминацию.

Первые капли ликвора (до 1 мл) собирают в пробирку и направляют на цитологическое исследование. Для посева используют следующую порцию жидкости, которую собирают в стерильную пробирку в количестве 2–5 мл. При подозрении на туберкулезную или грибковую этиологию менингита следует брать не менее 10 мл ликвора. Учитывая, что один из ведущих возбудителей менингита – *Neisseria meningitidis* – чрезвычайно чувствителен к охлаждению, взятые пробы должны быть доставлены в лабораторию как можно скорее, а до этого сохраняться строго при 37 °С.

Во всех случаях, подозрительных на менингит, для микробиологического исследования кроме ликвора берут материал из предполагаемого первичного очага инфекции: мазки из носоглотки, среднего уха, ран после нейрохирургических и других оперативных вмешательств, кровь.

В лаборатории ликвор центрифугируют при 2500–3000 об/мин 10 мин. Надосадочную жидкость отсасывают стерильной пипеткой в пробирку и используют для биохимического и серологического исследований. Оставшийся осадок и около 0,5 мл жидкости используют для приготовления мазков и посева. Гнойный ликвор можно использовать для исследования без предварительного центрифугирования. До конца подготовительных операций ликвор хранят при 37 °С. Из осадка делают два тонких мазка на стекле, окрашивая по Граму и метиленовым синим, и немедленно микроскопируют. Нередко, особенно при нелеченых случаях менингита, по типичной морфологии могут быть выявлены такие возбудители как *N. meningitidis, S. pneumoniae, H. influenzae.* Обнаружение в мазках неспоровых четко грамположительных коротких толстых палочек, заставляет заподозрить *Listeria monocytogenes* в качестве возбудителя менингита. Результаты первичной микроскопии служат основанием для предварительной диагностики, которая немедленно сообщается лечащем врачу и определяет ход дальнейшего исследования.

Посев ликвора производят на следующие питательные среды: сывороточный агар (инкубация в нормальной атмосфере), 5% кровяной агар (инкубация в анаэробных условиях и в атмосфере, обогащенной 10% CO_2), шоколадный агар, среды для анаэробов.

Проверку роста проводят после ночной инкубации и в дальнейшем ежедневно до появления роста. При отсутствии роста в течение 7 дней выдается отрицательный результат. При появлении роста на какой-либо из сред делают мазки, окрашивают по Граму, проводят посевы на плотные питательные среды для выделения культур и их идентификации.

В большинстве случаев, выделение микробов из ликвора свидетельствует об их этиологической роли. В редких случаях, выделение УПМ может быть связано с контаминацией ликвора при его взятии. В таких случаях, чтобы избежать диагностической ошибки, следует повторить исследование. В случаях менингита, вызванного УПМ, лечебные мероприятия не оказывают столь быстрого стерилизующего эффекта, как при патогенных возбудителях. Кроме того, должны быть проведены количественные исследования микрофлоры. Отсутствие микрофлоры в первичных мазках ликвора и отсутствие роста (или рост единичных колоний) на плотных питательных средах или наличие роста в жидких питательных средах могут свидетельствовать о нарушении правил асептики при взятии ликвора.

Диагностика воспалительных заболеваний женских половых органов

Воспалительные заболевания половых органов могут быть вызваны микрофлорой, присутствующей в норме в этих органах, а также при восходящем, гематогенном, лимфогенном распространении микробов из других органов и тканей.

Взятие материала на исследование проводит врач акушер-гинеколог из различных отделов женского полового тракта.

Вульва, преддверие влагалища. Отделяемое берут стерильным ватным тампоном. При воспалении большой железы преддверия (бартолиновой железы) производят ее пункцию или при вскрытии абсцесса железы гной берут стерильным ватным тампоном.

Влагалище. После введения зеркала и подъемника материал для исследования берут стерильным ватным тампоном из заднего свода или с патологически измененных участков слизистой. Материал для исследования должен быть взят до проведения мануального исследования.

Шейка матки. После обнажения шейки матки в зеркалах влагалищную часть ее тщательно обрабатывают ватным тампоном, смоченным стерильным изотоническим раствором натрия хлорида или водой. После этого, тонкий ватный тампон вводят в шеечный канал (не касаясь стенок влагалища) и берут материал для исследования.

Матка. Правильное взятие материала из матки может быть выполнено только при использовании специальных инструментов типа шприца-аспиратора, имеющего на зонде наружное покрытие. После прохождения зондом цервикального канала в полости матки раскрывают его наружную оболочку и аспирируют содержимое. После этого, закрывают наружную оболочку и выводят зонд из матки.

Придатки матки. При воспалительном процессе в придатках матки получение материала из очага инфекции возможно только при оперативном вмешательстве (гной, экссудат, кусочки органов) или при проведении диагностической пункции опухолевидных образований в малом тазу, проводимой через влагалищные своды (при этом, следует учитывать возможность контаминации пробы вагинальной микрофлорой). В некоторых случаях, если очаг инфекции в придатках матки сообщается с полостью матки, могут оказаться полезными повторные исследования отделяемого цервикального канала при однотипных результатах исследования.

Материал должен быть доставлен в лабораторию в ближайшие 1–2 ч. При подозрении на анаэробную инфекцию посев должен быть выполнен сразу же после взятия материала.

Готовят мазки для *микроскопии.*

Материал равномерно распределяют на стекле мягкими движениями, не применяя грубого втирания и резких штриховых движений инструментом. Такая техника выполнения мазков позволяет клеткам распределяться слоями, не повреждает их, сохраняет истинное распределение и количественное соотношение компонентов исследуемого материала. После высушивания при комнатной температуре мазки покрывают чистым предметным стеклом (или помещают в чашку Петри) и отправляют в лабораторию. Хранение влажного мазка, сдавленного между двумя стеклами, недопустимо.

В лаборатории микроскопируют первичные мазки после окраски их по Граму, метиленовым синим, по Романовскому–Гимзе (влагалищные мазки).

Материал, взятый на тампон, засевают штрихами на кровяной и шоколадный агар. Материал, доставленный в пробирках (гной, содержимое тубоовариальных образований), засевают по 0,1 мл, растирая шпателем по поверхности кровяного и шоколадного агара. Производят также посевы в сахарный бульон и среды для выделения анаэробов. Из оставшегося материала готовят мазки для микроскопии. Кусочки тканей размельчают, соблюдая стерильность, в микроизмельчителе тканей или в ступке с песком и засевают полученную взвесь на несколько чашек с плотными средами (кровяной агар, молочно-солевой агар, среду Эндо), а также в сахарный бульон и среды для выделения анаэробов. Посевы инкубируют при температуре 37 °С аэробно и в анаэростате. При появлении роста на плотных питательных средах проводят подсчет числа колоний, количественно оценивая соотношение видов в данной микробной ассоциации. При помутнении сахарного бульона делают мазок на стекле и окрашивают по Граму высевы на плотные питательные среды (кровяной агар, молочно-солевой агар, среда Эндо).

Оценка результатов микробиологического исследования половой системы представляет определенные трудности, так как чаще всего регистрируют рост нескольких УПМ. В каждом конкретном случае, следует учитывать совокупность признаков: данные микроскопии первичных мазков исследуемого материла, результаты посева на плотные среды (количественная оценка роста различных видов), а также клинические проявления заболевания и анамнез больной. Исследование материала из закрытых полостей (пунктаты

опухолевидных образований в малом тазу, околоплодные воды), а также органов в норме стерильных (содержимое полости матки, кусочки органов и тканей, удаляемых при полостных операциях) рост микробов сходной морфологии в первичных мазках с определенностью свидетельствует об их этиологической роли в воспалительном процессе.

При исследовании материала из мест, в норме имеющих разнообразную микрофлору; большое значение придается количественной оценке различных видов бактерий, выросших при первичном посеве на плотные среды, однотипности результатов при повторных исследованиях, а также клиническим данным. Для ориентировочной оценки количественного соотношения в микробных ассоциациях можно использовать следующие критерии при штриховом посеве тампоном на половину чашки Петри с кровяным агаром:

• I – очень скудный рост – на плотных средах роста нет, он имеется в жидкой питательной среде;

• II – небольшое количество – на агаре до 10 колоний микробов определенного вида;

• III – умеренное количество – на агаре от 11 до 100 колоний;

• IV – большое количество – на агаре более 100 колоний.

Рост I–II степени чаще всего свидетельствует о контаминации, III–IV степени – об этиологической роли данного микроба.

Диагностика острых кишечных инфекций и пищевых отравлений

Острые кишечные инфекции (ОКИ) вызываются: *Escherichia coli, Citrobacter freundii, Klebsiella pneumoniae, K. oxytoca, Enterobacter cloaceae, Serratiamarcescens, Hafniaalvei, Arizona, Proteus mirabilis, Morganella morgani, Providenca rettgeri, Pseudomonas aeruginosa, Campylobacter jejuni, Plesiomonas shigelloides, Vibrio hemolyticus, Staphylococcus fureus, Enterococcus faecalis, E.faecium, Clostridium perfringens, C. difficile, Bacillus cereus.*

Заболевания, вызванные указанными видами, чаще протекают по типу пищевой токсикоинфекции, реже – микробной интоксикации (стафилококковая, клостридиальная) и инфекционного заболевания (эшерихиозы, кампилобактериозы). Холецистит, панкреатит, аппендицит, перитонит, паропроктит относят к другой группе оппортунистических инфекций – гнойно-воспалительным.

Заражение ОКИ происходит в результате приема контаминированной микробами пищи, в которую они попадают от людей – больных и носителей, реже – от животных. В пищевых продуктах указанные виды бактерий способны к размножению в условиях комнатной температуры, а псевдомонады и клебсиеллы – при температуре бытового холодильника. При размножении стафилококка и клостридий в пищевых продуктах накапливается экзотоксин.

Кроме алиментарного, возможна передача возбудителей контактно-бытовым и водным путями, хотя эти пути в большинстве случаев, не могут обеспечить попадание в организм достаточной инфицирующей дозы.

Инкубационный период – короткий. Прием пищи, содержащей стафилококковый энтеротоксин и клостридиальные экзотоксины, приводит к развитию заболевания уже через 2–3 ч и даже полчаса. При заражении протеем, клебсиеллами, энтерококком инкубационный период составляет 5–24 ч. При попадании малой дозы возбудителя инкубационный период может удлиняться до 2–3 дней. При кампилобактериозе и эшерихиозе он может доходить до 5–7 дней.

В развитии заболевания, кроме попадания высокой инфицирующей дозы, патогенности возбудителя, большое значение имеют условия, способствующие быстрому и массово-

му размножению возбудителя в тонком кишечнике или желудке. У стафилококка и клостридий главным фактором патогенности является экзотоксин, у остальных микробов – эндотоксин, который выделяется в больших количествах при массовом распаде попавших в кишечник бактерий и оказывает местное цитотоксическое действие, действие на интрамуральный нервный аппарат кишечника, периферические сосуды и клетки других органов. Некоторые варианты эшерихий, клебсиелл, псевдомонад дополнительно продуцируют экзотоксин, капсульную субстанцию, ферменты-токсины, которые также оказывают прямое или косвенное повреждающее действие.

Начало болезни, как правило, острое, а нередко и бурное. В клиническом течении выделяют три синдрома: общетоксический, энтеральный и более редкий – септический. В одних случаях, заболевание начинается с общетоксического синдрома (озноб, лихорадка, головная и мышечная боли, слабость, головокружение и др.), в других – с энтерального (тошнота, рвота, понос, боли в животе), к которым присоединяется энтеральный или общетоксический синдром. Эти синдромы могут проявляться и одновременно.

Клиника заболевания проявляется в виде гастрита, энтерита, гастроэнтерита, колита, энтероколита и гастроэнтероколита. Любой из названных выше микробов может вызвать любую форму заболеваний, но при обобщенном анализе выявляется некоторая специфика. ОКИ стафилококковой этиологии чаще протекают как гастрит и гастроэнтерит. По типу гастрита и гастроэнтерита протекают также ОКИ, вызванные цитробактером, протеем, клебсиеллами. Кишечная палочка вызывает колит, энтерит или энтероколит. Большинство возбудителей вызывает легкие или средней тяжести заболевания. Кишечная палочка может вызывать тяжелые формы, сопровождающиеся обезвоживанием организма или осложниться сепсисом. Клостридиальная инфекция может протекать по типу выраженной интоксикации, сепсиса, некротического энтерита, обезвоживающего организм энтерита.

ОКИ обычно заканчиваются клиническим выздоровлением через 5–6 дней или даже раньше, воспалительные явления в кишечнике могут наблюдаться 7–10 дней, период освобождения организма от возбудителя может затягиваться на длительное время.

Переход в затяжное или хроническое течение наблюдается при клостридиальной и псевдомонадной инфекциях. Септические формы болезни могут иметь летальный исход.

Для постановки этиологического диагноза ОКИ используют *бактериологический метод*. При хронических и затяжных формах в сыворотке крови больного нередко выявляют нарастание антител к доминирующей ауто-культуре.

Материалом для исследования служат испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, пищевые продукты и сырье, с которыми связывают развитие болезни. Материал должен быть исследован в первые часы после его забора; при отсутствии такой возможности материал помещают в консервант (фосфатно-глицериновую смесь или другие).

Исследование на УПМ часто производят после того, как из материала не удается выделить патогенных возбудителей. Однако, целесообразно, а при остром токсико-энтеральном начале обязательно, провести параллельное исследование на УПМ. Для этого материал засевают на дифференциально-диагностические среды, позволяющие наряду с патогенными микробами выделить УПМ.

Испражнения, рвотные массы, продукты в количестве около 1 г суспендируют в 10 мл 0,5% раствора хлорида натрия, встряхивают, отстаивают 15 мин и надосадочную жидкость засевают на дифференциально-диагностические среды. Материал засевают на чашки со средами Левина (Эндо) – для выделения энтеробактерий, желточно-солевой – для стафилококков, МПА с фурагином – для выделения псевдомонад, щелочной агар – для виб-

рионов. МПА – для бацилл, среду Китта–Тароцци – для клостридий. Выделяют чистые культуры, проводят их идентификацию, определяют чувствительность к антибиотикам, определяют факторы патогенности.

Оценка этиологической роли выделенных культур проводится на основании соответствия перечисленным выше критериям. Главным из них является количественный. Этиологически значимой для отсутствующих или присутствующих в небольшом количестве в кишечнике здоровых людей видов является величина 10^6 КОЕ/г (мл) материала и больше.

При выделении кишечной палочки, которая в кишечнике у здоровых людей находится в очень больших количествах, нужны дополнительные критерии. При заболеваниях, протекающих по типу пищевого отравления, диагноз становится более достоверным при обнаружении такой же культуры в пищевом продукте и у группы лиц, его принимавших. В случаях выделения УПМ в этиологически значимых количествах, наряду с патогенными следует думать о сопутствующем дисбактериозе или вторичной оппортунистической инфекции, осложнившей течение основного заболевания.

Диагностика раневой инфекции

Все УПМ могут вести к развитию раневой инфекции, особенно на фоне иммунокомпрометированного организма. В настоящее время, ведущая роль в этиологии раневой инфекции принадлежит стафилококкам, энтеробактериям и неферментирующим грамотрицательным палочкам (псевдомонады и др.), увеличивается значение неспорообразующих анаэробных бактерий, грибов.

Раневое отделяемое берут стерильными ватными тампонами из глубины раны до обработки ее антисептическими растворами. Тампоны срочно направляют в бактериологическую лабораторию. При наличии в ране дренажа отделяемое берут стерильным шприцем, из которого оно переносится с соблюдением правил асептики в стерильную пробирку или анаэробный транспортный флакон. Удаляемые при обработке раны кусочки тканей отправляют в лабораторию в стерильных чашках Петри.

Посев раневого отделяемого с тампона производят на питательные среды в следующем порядке: кровяной агар; сахарный бульон; среда для анаэробов.

Жидкие пробы засевают на плотную среду петлей. Предпочтительнее производить посев по 0,1 мл разведенной до 10^1 и неразведенной пробы, растирая материал по поверхности питательной среды шпателем. В жидкие питательные среды посев производят пастеровской пипеткой. При посеве на анаэробы пипетку с исследуемым материалом опускают на дно пробирки, не допуская попадания пузырьков воздуха в среду.

Кусочки тканей режут стерильными ножницами, взвешивают в стерильной чашке Петри и измельчают в стерильной ступке с бульоном из расчета 1 мл бульона на 1 г ткани. Затем готовят десятикратные разведения взвеси до 10^3. По 0,1 мл каждого разведения засевают на кровяной агар.

Подсчет КОЕ/г ткани производят с учетом числа выросших колоний и сделанных разведений.

Посевы инкубируют аэробно и анаэробно при температуре 37 °С и ежедневно просматривают. При появлении роста на плотной среде изучают культуральные свойства. Делается количественная оценка роста. В случае выявления колоний различного вида, подсчитывают число колоний каждого вида. При этом, выявляют ведущий вид в ассоциации. По 2–3 колонии каждого типа отсевают на соответствующие питательные среды для дальнейшей идентификации.

При проявлении роста в жидких питательных средах готовят мазки для окраски по Граму: с сахарного бульона производят высев на кровяной агар, среду Эндо, молочно-солевой агар. Отрицательный результат исследования выдают через 7 суток при отсутствии роста на всех питательных средах.

Для приготовления мазков отделяемого ран используют тампоны, которыми забирают и переносят материал на стекло. Мазки окрашивают по Граму. При микроскопии мазков отмечают морфологию и количество микробов. Выделяемые при этом особенности могут внести коррекцию в ход исследования – использование дополнительных питательных сред.

Экссудат берут, соблюдая правила асептики, пункцией полостей и отсасывают содержимое с помощью шприца. Из шприца материал переносят у пламени газовой горелки в стерильный анаэробный транспортный флакон и отправляют в лабораторию.

В лаборатории прозрачную жидкость центрифугируют 15–20 мин при 3000 об/мин и осадок используют для посева и при приготовлении мазков. При гнойном характере экссудата готовят тонкие мазки для микроскопии без предварительного центрифугирования. Посев проб производят на кровяной агар, сахарный бульон, среду для анаэробов. Кроме того, используют специальные питательные среды в зависимости от особенностей источника выпота. Плевральный выпот чаще всего наблюдается у больных с туберкулезом легких, поэтому после центрифугирования осадок дополнительно засевают на среды для культивирования туберкулезной палочки или заражают патологическим материалом морскую свинку. При эмпиемах частым возбудителем может быть пневмококк, стрептококк группы А, стафилококк, анаэробы, а следовательно, необходимо сделать посев на соответствующие элективные питательные среды. При исследовании синовиальной жидкости следует использовать питательные среды для выделения гонококков.

Интерпретация полученных данных обычно не представляет трудности, так как при условии соблюдения правил асептики во время взятия материала из закрытых полостей и из глубины гнойных ран выделенные микробы являются возбудителями данного гнойно-воспалительного процесса.

При выделении ассоциаций микробов из раневого отделяемого ведущее значение в течении раневого процесса следует отдавать видам, количественно преобладающим в данном микробиоценозе. Уровень обсемененности тканей в ране, равный 10^5 КОЕ/г, является критическим. Превышение этого уровня указывает на большую вероятность развития гнойной инфекции и возможность генерализации процесса. При обсемененности менее 10^5 КОЕ/г ткани раны заживают без явлений нагноения.

Диагностика воспалений глаз и ушей

Воспалительные заболевания глаза чаще всего локализуются на конъюнктиве, слизистой оболочке век, слезном мешке, реже затрагивают роговицу. Воспаление внутренних сред глазного яблока может развиться в результате гематогенного заноса при сепсисе или после операций на глазном яблоке, особенно, у ослабленных больных после длительных курсов антибиотико- и гормонотерапии.

Взятие материала для микробиологического исследования производят до местного применения антибиотиков и других лекарственных средств. Его выполняет врач-окулист в присутствии лаборанта-микробиолога, который сразу производит посев взятого материала на питательные среды. При наличии гнойного отделяемого используют стерильные ватные тампоны, которыми забирают гной с внутренней поверхности нижнего века к внутреннему углу глазной щели. Необходимо следить, чтобы ресницы при морганию не

касались тампона. При отсутствии видимого гноя следует пользоваться тампонами, смоченными стерильным изотоническим раствором хлорида натрия, чтобы собрать на тампон как можно больше скудного отделяемого. Секрет из слезного мешка берут стерильным ватным тампоном после осторожного массажа. Материал с роговицы берут платиновой петлей после местного обезболивания. Соскобы с конъюнктивы и роговицы для выявления эозинофилов и телец включения производят инструментом, с которого материал переносят на предметные стекла.

При скудном отделяемом используют только жидкие питательные среды, такие как среды накопления – сахарный бульон и среда для анаэробов. При обильном отделяемом необходимо использовать кровяной агар, сывороточный агар, шоколадный агар. При подозрении на гонококковую или дифтерийную этиологию конъюнктивита, используют соответствующие среды.

При выявлении в первичных мазках толстых коротких грамположительных диплобацилл, особенно, в случаях хронического или катарального конъюнктивита, наиболее выраженного в наружных углах глаз, следует использовать среду Леффлера для выделения моракселл.

Все питательные среды после посева на них отделяемого инкубируют при температуре 37 °С 24–28 ч. Часто рост появляется только через 48 ч. При появлении роста делают мазки на предметных стеклах, которые окрашивают по Граму, и производят высевы с жидких питательных сред на плотные среды: кровяной агар, среду Эндо, молочно-солевой агар, агар Сабуро. Другие питательные среды используют при соответствующих показаниях.

Выделение из исследуемого материала патогенных микробов, свидетельствует об их этиологической роли в развитии воспалительного процесса. Обнаружение УПМ при условии соблюдения правил асептики в момент взятия материала, свидетельствует об их участии в воспалительном процессе тканей глаза или является показателем высокого риска развития воспалительного процесса в ближайшем будущем, особенно в случаях, когда больным предстоят оперативные вмешательства на органе зрения.

Взятие материала для микробиологического исследования при среднем гнойном отите проводит врач-отоларинголог, используя стерильные инструменты. Отделяемое берут стерильным ватным тампоном. Наиболее достоверные результаты исследования получают при пункции среднего уха через не прорвавшуюся барабанную перепонку. При наружном отите следует обработать кожу прилегающих областей раствором антисептика, чтобы при взятии материала не было контаминации тампона.

Материал засевают на кровяной агар, шоколадный агар, а также сахарный бульон и среду для анаэробов. Готовят мазки из отделяемого для окраски по Граму. Инкубацию посевов на жидких средах проводят в аэробных условиях при температуре 37 °С, чашки с кровяным агаром инкубируют в атмосфере, обогащенной 5% CO_2. Посевы просматривают ежедневно. Отрицательный результат исследования выдается при отсутствии роста в течение 7 суток. При появлении роста на плотных средах проводят его количественную оценку и отсевают 2–3 колонии каждого типа для последующей идентификации. С жидких сред готовят мазки для окраски по Граму и производят высевы на кровяной агар, молочно-солевой агар, среду Эндо.

Микрофлора полости рта и ее роль в патологии человека

Микрофлора полости рта. Полость рта является благоприятной средой обитания для многих видов микроорганизмов. В ней имеется достаточное количество питательных веществ, стабильная оптимальная температура, слабощелочная реакция, постоянная влажность, что создает условия для адгезии, колонизации и размножения микроорганизмов. Микрофлора полости рта – это сложный динамичный биоценоз постоянных и изменяющихся популяций, который сложился эволюционно в результате взаимодействия множества эндогенных и экзогенных факторов, обусловленных влиянием внешней среды и состоянием макроорганизма.

У новорожденного в полости рта встречаются микроорганизмы, которые попали туда из родовых путей матери. В первые недели жизни полость рта у детей заселяют разные микробы, поступающие из окружающей среды и пищевых продуктов; среди них преобладают лактобактерии, грибы рода *Candida*, нейссерии, стрептококки. Появление зубов, создавая условия для размножения анаэробов в промежутках между зубами и у шейки зубов, приводит к смене качественного и количественного состава микрофлоры полости рта. Далее этот состав меняется по мере развития организма, изменений в эндокринной, иммунной системах, ввиду особенностей питания. В полости рта взрослого человека обнаруживают, примерно, 160 видов микроорганизмов. В основном, они находятся на зубах, слизистой оболочке, в межзубных промежутках, в слюне, кариозных полостях, у шейки зубов, на спинке языка и в других участках полости рта, малодоступных обмыванию слюной (в слюне – до 10^9 микроорганизмов в 1 мл, в десневых карманах – в 100 раз больше). Среди них различают *аутохтонные (индигенные)*, специфичные для полости рта постоянные виды, и *аллохтонные*, которые попадают из других частей организма и окружающей среды вместе с пищей, водой и воздухом.

Существенное влияние на состав микрофлоры полости рта оказывают: состояние защитных сил организма, взаимодействия внутри микробиоценозов, действие ряда факторов внешней и внутренней среды (антибиотиков, гормонов, токсических веществ и пр.). Многие микроорганизмы погибают под действием неспецифических и специфических факторов антиинфекционной защиты -лизоцима, секреторных иммуноглобулинов А, содержащихся в слюне и мокроте, фагоцитоза и др. Нередко, сочетание неблагоприятных факторов приводит к развитию дисбактериоза (дисмикробиоза) – изменению относительно стабильного количественного и качественного состава микробиоценоза этого биотопа организма. При ослаблении защитных сил организма представители нормальной микрофлоры (особенно факультативной) способны вызывать эндогенную инфекцию, которая в случае глубокого иммунодефицита может иметь летальный исход. Многие представители аутохтонной микрофлоры полости рта имеют морфологическое сходство с возбудителями сифилиса, дифтерии, менингококковой инфекции, пневмоний и др., что затрудняет микробиологическую диагностику соответствующих заболеваний.

Видовой состав микрофлоры полости рта представлен аэробными и анаэробными микроорганизмами.

Основную массу микроорганизмов ротовой полости составляют грамположительные и грамотрицательные бактерии, аэробные и анаэробные, кокки и аспорогенные палочки, актиномицеты, спирохеты, микоплазмы. Большую часть грамположительных кокков составляют *стрептококки*, грамположительных палочек – *лактобактерии*, грамотрицательных палочек – строгие анаэробы *(бактероиды, превотеллы, порфиромонады)*, нитевидные *лептотрихии* и веретенообразные *фузобактерии* (из факультативных анаэробов – *гемофилы*). Отмечается наличие актиномицетов, спирохет (непатогенные трепонемы, леп-

госпиры и боррелии), а также простейших. Многие из них обладают патогенным потенциалом и могут принимать участие в развитии заболеваний полости рта.

Кокки в ротовой полости, в основном, представлены зеленящими стрептококками (*Streptococcus salivarius, S. sanguis, S. mutans, S. milleri, S. mitis*). Это группа условно-патогенных и непатогенных кокков, которые расщепляют разные углеводы с образованием молочной и других органических кислот. Стрептококки вида *S. salivarius*, которые постоянно присутствуют в полости рта, вырабатывают из глюкозы нерастворимый в воде биополимер (декстрин), который способствует прикреплению бактерий к поверхности зуба и образованию зубных бляшек. *S. mitis* преимущественно накапливается в щелях между деснами и поверхностью зуба, а *E.faecalis* – в десневых бороздках.

В полости рта находятся также пептострептококки (*Peptostreptococcus asaccharolyticus* и др.), которые обнаруживаются преимущественно при разных местных патологических процессах, в ассоциациях с фузобактериями и спирохетами; особенно много их в десневых бороздках. Эти бактерии активно разлагают пептоны и аминокислоты и слабо действуют на углеводы.

Грамотрицательные анаэробные кокки из рода *Veillonella* постоянно обитают в полости рта. Они принимают участие в образовании зубного налета, но могут оказывать и противокариозное действие. Это обусловлено способностью вейлонелл расщеплять лактат, пируват ацетат и другие продукты обмена углеводов до углекислого газа и воды, что уменьшает закисленность среды и, следовательно, препятствует деминерализации тканей зуба.

Палочковидные грамположительные и грамотрицательные бактерии, в основном, представлены родами *Lactobacillus, Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium.*

Лактобактерии (*L. acidophilus, L. brevis, L.fermentum*) участвуют в обеспечении колонизационной резистентности, оказывают антагонистическое действие на различные патогенные микроорганизмы, блокируя рецепторы эпителиоцитов. Однако,ё при расщеплении углеводов лактобактерии образуют большое количество молочной кислоты, которая способствует развитию кариеса зубов.

Бактероиды (*B. fragilis*), превотеллы (*P. melaninogenica*), порфиромонады (*P. gingivalis*) – строгие анаэробы, они расщепляют глюкозу с образованием смеси кислот, продуцируют коллагеназу, фибринолизин, гиалуронидазу и другие протеолитические ферменты. *P. melaninogenica* постоянно присутствует в десневых карманах у взрослых, вызывает заболевания пародонта.

Фузобактерии (*F.periodonticum, F. nucleatum*) являются представителями аутохтонной (постоянной) микрофлоры полости рта. Они могут образовывать из пептона и глюкозы молочную кислоту. Часто обнаруживаются вместе со спирохетами.

Из спирохет в полости рта больше всего трепонем (*T. denticola, T. vincentii* и др.), они обнаруживаются в десневых карманах. В ассоциации с фузобактериями и некоторыми бактероидами они могут вызывать язвенно-некротический гингивостоматит Венсана.

Актиномицеты (*Actinomyces viscosus, Actinomyces israelii*) и актинобациллы (*Actinobacillus spp.*) постоянно присутствуют на слизистой оболочке полости рта, принимают участие в образовании зубного налета и зубного камня. Вместе с другими микроорганизмами могут обуславливать развитие кариеса зубов и заболевания пародонта.

В составе микрофлоры полости рта также присутствуют лептотрихии, пропионибактерии, коринебактерии, микоплазмы, простейшие и другие микроорганизмы, количество которых увеличивается при различных заболеваниях зубов и пародонта.

Зубной налет. В биохимических процессах, которые происходят в эмали, особенно важное значение имеет структура мягкого зубного налета – пелликулы. В норме зубной налет имеет около 80% воды, связанной с белком, 20% гликопротеидов, 1- 2% декстрина,

кальций, фосфор, калий, натрий, фтор, фосфатазы, протеазы, коллагеназы, гиалуронидазу и другие ферменты, в основном, бактериального происхождения. Колонии разных видов микроорганизмов, которые составляют основную массу пелликулы заключены в органический матрикс, состоящий из гликопротеидов слюны, белков и из внеклеточных микробных полисахаридов. Самое большое число микробных видов регистрируется спустя сутки после образования налета. В первые часы образования налета, в нем обнаруживаются преимущественно аэробные виды микроорганизмов, затем – аэробные и анаэробные виды: различные виды стрептококков, лактобактерии, стафилококки, грибы, дифтероиды, пептострептококки, вейлонеллы, нейссерии.

Зубные бляшки – это органический матрикс, состоящий из скопления бактерий, полисахаридов и белков, который прочно прикреплен к поверхности зуба. Первой стадией образования зубной бляшки считают формирование пелликулы. Процесс адгезии разных микроорганизмов (кокки, палочковидные, спирохеты) происходит в течение нескольких часов, количество бактериальных клеток быстро увеличивается, они образуют скопления – «кукурузные початки». В первой стадии образования зубной бляшки превалируют аэробные микроорганизмы (стрептококки, коринебактерии, актиномицеты), которые создают условия для развития строгих анаэробов.

При минерализации зубной бляшки образуется зубной камень. При этом уменьшается число аэробных представителей, исчезают лактобактерии.

Таким образом, образование зубного налета и зубных бляшек – сложный динамичный процесс, в котором микроорганизмы играют ведущую роль.

Роль микроорганизмов при заболеваниях челюстно-лицевой области

Этиологическое и патогенетическое значение микробов ротовой полости достаточно велико. Их участие в развитии ряда заболеваний челюстно-лицевой области подтверждено многочисленными фактами, оно может быть прямым или косвенным. Как правило, в развитии этих заболеваний принимают участие ассоциации из трех и более микробных видов (табл. 21. 3).

Помимо указанных заболеваний, имеют место также специфические (классические) инфекции с клиническими проявлениями в челюстно-лицевой области. К ним относят дифтерию, туберкулез, сифилис, актиномикоз, гонококковую инфекцию и др. В полости рта проявляются и различные вирусные инфекции – везикулярный стоматит и другие герпетические инфекции, герпангина, ящур, ВИЧ- инфекция.

Кариес зубов – патологический процесс деминерализации и размягчения твердых тканей зуба, который приводит к образованию дефекта в виде полости, и на поздних стадиях сопровождается воспалительными явлениями. Этиология этого заболевания окончательно не выяснена. Наиболее вероятной причиной кариеса является сочетание трех факторов: кариесогенной диеты (с высоким содержанием углеводов), предрасположенности организма и деятельности микроорганизмов полости рта. Избыточное содержание в пище углеводов (сахарозы) сопровождается образованием большого количества молочной, масляной и уксусной кислот, которые приводят к деминерализации зуба. Бактериальные полисахариды препятствуют реминерализации тканей зуба, когда pH среды сдвигается в щелочную сторону. Кроме того, протеазы микробов расщепляют органический субстрат тканей зуба. Наибольшее значение в патогенезе кариеса имеют бактерии двух групп: кислотообразователи – стрептококки (ведущая роль принадлежит *S. mutans*), лактобактерии; протеолитические бактерии (пептострептококки, бактероиды и другие аспорогенные анаэробы).

Таблица 21. 3.

Роль микроорганизмов в возникновении и развитии заболеваний челюстно-лицевой области

Характер заболевания	Поражаемая ткань	Заболевание
Невоспалительные одонтогенные инфекции	Кариес	Твердые ткани зуба
Воспалительные одонтогенные инфекции	Пульпа зуба Периодонт Надкостница Костная ткань Мягкие ткани лица и шеи Верхнечелюстная пазуха Лимфоузлы Генерализованная инфекция	Пульпит Периодонтит Периостит Остеомиелит Абсцесс, флегмона Синусит Лимфаденит Сепсис
Воспалительные пародонтальные инфекции	Пародонт Ткани десны	Пародонтопатии Гингивит, перикоронарит
Воспалительные неодонтогенные инфекции	Слизистая оболочка Большие слюнные железы - Кожа и подкожная клетчатка	Стоматит Паротит Фурункул, карбункул, лимфаденит, рожистое воспаление, абсцесс, флегмона

При несоблюдении правил гигиены полости рта зубной налет утолщается за счет размножения постоянно обитающих в полости рта микробов и присоединения новых бактерий. Представители нормофлоры размножаются в пелликуле, которая растворяется и бактерии по эмалевым ходам проникают в дентин. Поврежденная эмаль растворяется ферментами бактерий и образуется кариозная полость.

Кариозный процесс в дентине распространяется быстрее, чем в эмали. Это объясняется тем, что в дентине меньше неорганических веществ (солей кальция). В канальцах дентина заложены отростки одонтобластов, содержащие мало обызвествленное основное вещество дентина, служащее благоприятной средой для размножения микробов, которые проникают по ходу дентинных канальцев в направлении пульпы. В результате действия кислот происходит декальцинация основного вещества дентина, появляются трещины (щели), которые заполняются микробной массой и детритом.

Микробы, проникшие к пульпе, повреждают клетки одонтобластов, способствуя их атрофии. Медленное формирование кариеса корней зуба объясняется тем, что в омертвевшей пульпе замедляется размножение и продвижение микроорганизмов ввиду нарастания гнилостных процессов, сопровождающихся сдвигом pH в щелочную сторону.

В возникновении и развитии кариеса основную роль отводят стрептококкам (виды *S. mutans, S. sanguis*). Их активность зависит от состава среды, в которой они живут. Если в пище мало сахарозы, в зубном налете стрептококков, соответственно, меньше, а при увеличении концентрации сахарозы они быстро размножаются и накапливаются. По мере углубления кариозной полости в процесс постепенно вовлекаются почти все представители микрофлоры полости рта. При этом, наиболее многочисленны группы строгих анаэро-

бов, энтерококков и лактобактерий. По количеству лактобактерий принято судить о степени развития кариеса и прогнозировать его течение.

Профилактика состоит из мероприятий общей и местной направленности. Она включает рациональное (сбалансированное) питание, т.е. потребление с пищей достаточного количества белков, жиров, минеральных солей и витаминов. Большое значение имеют соли кальция, фосфора, витамины (ретинол, аскорбиновая кислота, тиамин, эргокальциферол). УФ-облучение, особенно для женщин в период беременности (для нормального развития и формирования организма ребенка и его зубочелюстной системы). В качестве противокариозного мероприятия рекомендуют использование препаратов фтора при его низком содержании в питьевой воде (пасты, лак). Применяют жевательные резинки с ферментами (лактатдегидрогеназа и инвертаза), которые растворяют зубной налет гладкой поверхности зубов. Чистка зубов щеткой со специальными пастами в сочетании с другими механическими способами (полоскание) обеспечивает освобождение зубов от бактерий.

Ведутся исследования по созданию вакцины против кариеса, которая будет обеспечивать специфическую защиту. Образующиеся при этом антитела предотвращают прикрепление микроорганизмов к поверхности зубов и формирование налета.

Пульпит – воспаление мягких тканей (пульпы) зуба, как правило, вследствие кариозного процесса. Микрофлора обычно соответствует характеру пульпита: при *серозном* воспалении чаще обнаруживают стрептококки, лактобациллы, бактероиды, при *гнойном* – гемолитический стрептококк и *Staphylococcus aureus;* при *гнилостном* – пептострептококки, бактероиды, вейлонеллы, протеи, клостридии.

Периодонтит – воспаление мягких и твердых тканей, окружающих зуб, которое вызывает нарушение прикрепления к нему коллагеновых волокон. Основная роль в этом процессе принадлежит микроорганизмам, которые попадают в периодонт по каналу зуба из воспаленной пульпы. Реже они проникают между стенкой альвеолы и корнем зуба (при пародонтопатиях) или в результате гематогенного заноса инфекции.

Микроорганизмы, вызывающие это заболевание, продуцируют ферменты, разрушающие отдельные компоненты соединительной ткани (гиалуронидаза, нейраминидаза, коллагеназа) и индуцируют воспалительный процесс.

Микроорганизмы выделяются, как правило, в ассоциациях – преобладают стрептококки и стафилококки, лактобактерии, коринебактерии, дрожжеподобные грибы, а также вейлонеллы, бактероиды с ярко выраженными признаками в очагах воспаления соединительной ткани, что ведет к повреждению ткани периодонта.

При остром периодонтите часто выделяются стрептококки и спирохеты, по мере хронизации ведущее значение приобретают анаэробы. У взрослых при периодонтите преобладают грамотрицательные анаэробы (*Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus, Prevotella melaninogenica*), факультативные анаэробы (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) и трепонемы (*T. denticola*). У подростков, чаще причиной являются грамотрицательные факультативно-анаэробные палочки (*A. actinomycetemcomitans* и *Capnocytophaga spp.*). При прогрессирующем течении часто обнаруживают *B. forsythus* и *Campylobacterrectus*. В случае заболевания на фоне болезни крови (лейкопения, нейтропения) помимо указанных микроорганизмов могут обнаруживаться и другие, например, коринебактерии (*C. micros*) или фузобактерии. Особенно тяжелое течение (иногда с летальным исходом) приобретает периодонтит у людей пожилого возраста, имеющих хронические и соматические заболевания. При снижении защитных сил организма периодонтит может осложняться периоститом и остеомиелитом челюсти.

Периостит и остеомиелит челюсти – воспаление, соответственно, надкостницы и костной ткани; может быть одонтогенным или неодонтогенным (травматическим, гема-

тогенным). Этиологическим моментом данного заболевания являются *S. aureus*, часто – стрептококки, однако превалирует анаэробная микрофлора: пептококки (*P. niger*), пептострептококки, бактероиды. При травматическом остеомиелите чаще обнаруживают энтеробактерии. *S. aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Флегмона лица – воспаление мягких тканей челюстно-лицевой области, не имеющее четких границ в пределах фасциального пространства. Может иметь одонтогенное или неодонтогенное (травматическое и др.) происхождение. Причиной неодонтогенных абсцессов и флегмон (после мелких ранений, например) чаще являются *S. aureus* и *Streptococcus pyogenes*. При одонтогенных абсцессах и флегмонах микрофлора более разнообразна: пептострептококки, бактероиды, актиномицеты, стрептококки, фузобактерии. При гнилостно-некротической флегмоне дна полости рта обнаруживают микробные ассоциации, включающие *Fusobacterium nucleatum*, бактероидов, актиномицетов, стрептококков и пептострептококков, а у ослабленных больных, при сахарном диабете или алкоголизме – также энтеробактерий и *S. aureus*.

Лечение, в первую очередь, включает антимикробную терапию (применяют пенициллины, цефалоспорины, метронидазол, ванкомицин, линкомицин, аминогликозиды).

Одонтогенный гайморит – воспаление мягких тканей верхнечелюстной пазухи вследствие распространения микроорганизмов из тканей, окружающих пораженные зубы верхней челюсти. Возбудителями этого синусита являются грамотрицательные анаэробы (пептострептококки, бактероиды), а также гемофильная палочка, пневмококк, реже – пиогенный стрептококк, *Staphylococcus epidermidis, Branchamella catarrhalis*.

Лечение проводят чаще амоксициллином в сочетании с клавулановой кислотой (ингибитором микробных ?-лактамаз), а в качестве альтернативы применяют ципрофлоксацин, хлорамфеникол и др.

Заболевания пародонта – воспалительно-дистрофические процессы, происходящие в тканях, окружающих зуб, сопровождающиеся разрушением коллагена, рассасыванием костной ткани лунок альвеолярного отростка, гингивитом, выпадением зубов. Основными проявлениями пародонтопатий являются гингивит и альвеолярное гноетечение. Образование зубных бляшек служит пусковым моментом воспаления тканей, окружающих зубы. Большая роль отводится иммунопатологическим процессам. При пародонтальной инфекции наиболее часто обнаруживают пять возбудителей: *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Eikenella corrodens, Fusobacterium nucleatum* и *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Велика роль стрептококков, стафилококков, бактероидов. Микроорганизмы, выделяемые при заболеваниях пародонта, обладают ярко выраженными признаками патогенности, а также антибиотикорезистентностью.

Усилению пародонтопатий может способствовать хронический одонтогенный воспалительный процесс, который обуславливает постоянное всасывание продуктов жизнедеятельности бактерий, локализующихся в десневых карманах, развитие воспаления регионарных лимфатических узлов, состояние аллергии. Хронический периодонтит и пародонтоз представляют собой скрытые очаги инфекционного процесса, источники постоянного инфицирования и интоксикации организма больного. Они обуславливают состояние хронического сепсиса и поддерживают течение ревматизма, септического эндокардита, заболеваний почек и других органов.

Гингивит – воспаление слизистой оболочки и подлежащей ткани десен; может быть травматическим, инфекционным, аллергическим. Инфекционный гингивит часто вызывают микроорганизмы из состава зубного налета, в том числе, спирохеты, *Prevotella intermedia, Prevotella oralis*. В возникновении язвенно-некротического гингивостоматита Венсана принимают участие фузобактерии, спирохеты (*F. nucleatum, T. vinsentii*), а так-

же *P. intermedia, P. melaninogenica* и *P. gingivalis,* которые обуславливают острый воспалительный процесс, сопровождающийся резкой гиперемней десен и образованием участков некроза. В этиологии гингивитов определенную роль могут играть стафилококки, стрептококки, пептококки, вейлонеллы, актиномицеты, бактероиды.

Стоматит – воспаление слизистой оболочки ротовой полости. Различают катаральный (поверхностный) и язвенно-гангренозный (глубокий) стоматит. В развитии катарального стоматита как вторичные этиологические факторы принимают участие и микроорганизмы. В очаге воспаления при поверхностном стоматите выявляются стафилококки, нейссерии, гемофильные бактерии, условно-патогенные коринебактерии, а при глубоком – фузобактерии и трепонемы Венсана, бактероиды, пептострептококки, вейлонеллы, актиномицеты (преобладает анаэробная микрофлора).

ЛИТЕРАТУРА

1. **Букринская А.Г.** Вирусология. –М.: 1986 г.
2. **Воробьев А.А.** и др. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. - М.: 2003.
3. **Воробьев А.А.** и др. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Учебник. – М.: 2004.
4. **Воробьев А.А.** Микробиология. –М.: 1998 г.
5. **Даминов Т.А.** и др. Инфекционные болезни. Учебник. –Т.: 2007.
6. **Дуцка И.А., Вассер С.П.** Грибы: Справочник миколога и грибника. Киев, 1987 г.
7. **Дьяков Ю.Т.** Грибы и их значения в жизни природы и человека. Образовательный журнал Соросовский, 1997 г., №3
8. **Земсков А.М.** и др. Клиническая иммунология. –М.: 2006.
9. **Игнатов П.Е.** Иммунитет и инфекция. –М.: 2002.
10. **Караулов А.В.** Клиническая иммунология. –М.: 1999 г.
11. **Королюк А.М.** Медицинская микробиология. Санкт Петербург, 1999 г.
12. **Лолорамлащшего Г.** и др. Клиническая иммунология и аллергология. –М.: 2000.
13. **Мухамедов И.М.** Микробиология важнейших биотопов тела человека. –Т.: 2007 г.
14. **Мухамедов И.М.** Микробиология, вирусология ва иммунология. (Дарслик). –Т.: 2003, 2007 г.
15. **Мюмер Э., Лефлер В.** Микология. –М.: 1995 г.
16. **Покровский В.И.** Медицинская микробиология. –М.: 2008 г.
17. **Ройт А.** Основы иммунологии (перевод с английского). М.: 1991 г.
18. **Хаитов Р.М.** Иммунология. –М.: 1996 г.
19. **Шлегель Г.** Общая микробиология (перевод с немецкого). М.: 1987 г.
20. Определитель бактерий Берджи. М.: 2001 г.
21. **Шувалова Е.П.** Инфекционные болезни. М.: 1999 г.
22. **Королюк А.М.** Медицинская вирусология. Санкт Петербург. 2002 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

1. CD – Cluster definition (мембранные маркеры)
2. CNF – цитотоксический некротический фактор
3. Dcl – абсолютно смертельная доза (100%)
4. Dlm – наименьшая летальная доза (99%)
5. F – фактор плодовитости (Fertillis)
6. Hly – гемолизин
7. ID – инфекционная доза
8. Ig – иммуноглобулин
9. LD – летальная доза
10. LD_{50} – 50% летальная доза
11. LT – термолабильный
12. MHC – Main Hystocompatibility Complex (антигены гистосовместимости)
13. ST – термостабильный
14. TSST – токсин синдрома токсического шока
15. АПК – антиген представляющие клетки
16. АТФ – аденозинтрифосфат
17. БГКП – бактерии группы кишечных палочек
18. БЦЖ – бацилла Кальмет и Герена
19. ВБИ – внутрибольничные инфекции
20. ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
21. ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
22. ГВ – гарднерелла вагиналис
23. ГВЗ – гнойно-воспалительные заболевания
24. ГЖХ – газово-жидкостная хромотография
25. ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа
26. ГНТ – гиперчувствительность немедленного типа
27. ГТФ – гликозилтрансферазная активность
28. ГТФ – гуанозинтрифосфат
29. ГЦНК – гидразид изоникотиновой кислоты
30. ГЭБ – гематоэнцефалитический барьер
31. ДГИ – диссеминированная гонорейная инфекция
32. ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
33. ДНТ – дермонекротический токсин
34. ИД – иммунодефициты
35. ИК – инфракрасные лучи
36. ИО – иммунный ответ
37. ИС – иммунная система
38. ИФА – иммунофлюоресцентный анализ
39. ИФК – интерферон
40. КОЕ – колония образующие единицы
41. КТ – коклюшный токсин
42. КФ – контраст фазовый
43. ЛПС – липополисахарид
44. М – мукозная флора
45. МАФАМ – мезофильные и факультативные анаэробные микроорганизмы
46. МБП – мясопептонный бульон
47. МЗ – Минздрав
48. МИ – менингококковая инфекция
49. МИБП – медицинские иммунобиологические препараты
50. МИК – минимальная ингибирующая концентрация
51. МПА – мясопептонный агар
52. НСТ – нитросини тетразолии (тест)
53. ОРЗ – острые респираторные заболевания
54. ОЦК – общая циркулирующая кровь
55. П – полиомиелит
56. П – полостная флора
57. ПЦР – полимеразная цепная реакция
58. ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия
59. РАМН – Российская академия медицинских наук
60. РАН – Российская академия наук
61. РКЭ – развивающийся куриный эмбрион
62. РНГА – реакция непрямой гемагглютинации
63. РНК – рибонуклеиновая кислота
64. РС – разрешающая способность
65. РТ – ретикулярные тельца
66. РФ – Российская Федерация
67. РЭМ – растровая электронная микроскопия
68. СРБ – С – реактивный белок
69. США – Соединенные Штаты Америки
70. ТБ – туберкулезные бактерии
71. УПМ – условно патогенные микробы
72. УФ – ультрафиолетовые лучи
73. ФНО – фактор некроза опухолей
74. ЦМ – цитоплазматическая мембрана
75. ЭАКП – энтероагрегативные кишечные палочки
76. ЭГКП – энтерогеморагические кишечные палочки
77. ЭИКП – энтероинвазивные кишечные палочки
78. ЭК – эндотелиальные клетки
79. ЭЛ – электронные линзы
80. ЭПКП – энтеропатогенные кишечные палочки
81. ЭТ – элементарные тельца
82. ЭТКП – энтеротоксигенные кишечные палочки

Учебное издание

**МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ,
ВИРУСОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ**

**Под редакцией
профессора И.М. МУХАМЕДОВА**

УЧЕБНИК

Редактор
Дилором ТУХТАСИНОВА

Корректор
Гавхар МИРЗАЕВА

Технический редактор
Вера ДЕМЧЕНКО

Компьютерная верстка
Феруза БАТЫРОВА

Подписано в печать 20.04.2011 г.
Формат бумаги 70x100 1\16.
Печ.л.55,55.+вкл. 05.Усл.печ.л. 72,24. +вкл. 0,32.
Гарнитура «LexTimes Cyr+Uzb». Бумага офсетная.
Тираж 1000. Заказ №125.
Цена договорная.

Подготовлено в печать в ИЦ «Янги аср авлоди».

Лицензия: AI № 081
Отпечатано в типографии «Ёшлар матбуоти».
100113 г.Ташкент, м.Чилонзар-8, ул.Катартал, 60.

Телефоны для справок:
Издательский отдел – 278-36-89;
Отдел маркетинга – 128-78-43
факс — 273-00-14.



Мухамедов Иламан Мухамедович
Доктор медицинских наук, профессор, академик РАМТН.



Миронов Андрей Юрьевич
Доктор медицинских наук, профессор, академик РАМТН.



Рахмонова Санобар Собировна
Кандидат медицинских наук, доцент



Зокиров Мирмухсин Мухтарович
Кандидат медицинских наук, доцент



Баженова Светлана Семеновна
Старший преподаватель



Даминова Шахноза Бадриддиновна
Кандидат медицинских наук, докторант



Алиев Шавкат Рузиматович
Кандидат медицинских наук, доцент

ЛИГИ АСР АВЛОДИ

ISBN 978-9943-08-721-7

9 789943 087217