

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ

Учебник

Под ред. В.В. Зверева, А.С. Быкова

*Рекомендовано ГБОУ ВПО Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова в качестве учебника
для студентов образовательных учреждений высшего профессионального
образования, обучающихся по направлениям подготовки
«Лечебное дело», «Педиатрия», «Медико-профилактическое дело»
по дисциплине «Микробиология, вирусология, иммунология»*



Медицинское информационное агентство
Москва
2016

УДК 579.61+578.7+571.27(075.8)

ББК 52.54+52.6я73

М42

Получена положительная рецензия Экспертного совета по рецензированию учебных изданий № ЭСР-757 Первый МГМУ имени И.М. Сеченова ФГАУ «ФИРО» Министерства образования и науки РФ № 428 от 02.09.2015 г.

Рецензенты:

О.В. Бухарин, академик РАН, д-р мед. наук, профессор;

В.Н. Царев, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова Министерства здравоохранения России

М42 Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник / Под ред. В.В. Зверева, А.С. Быкова. — М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2016. — 816 с.

ISBN 978-5-9986-0227-6

Учебник написан коллективом кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова в соответствии с официально утвержденными федеральными государственными стандартами преподавания микробиологии (бактериологии, вирусологии, микологии, протозоологии) и иммунологии для студентов высшего профессионального образования, обучающихся по специальностям 060101.65 «Лечебное дело», 060103.65 «Педиатрия», 060104.65 «Медико-профилактическое дело».

Учебник состоит из девятнадцати глав, в которых последовательно разбираются вопросы общей и частной микробиологии, вирусологии и иммунологии. В настоящем издании учтены новые данные по бактериологии (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., 2001–2012) и вирусологии (данные девятого доклада Международного комитета по таксономии вирусов, 2011), обновлен перечень микробов и диагностических исследований, соответствующий приказу МЗ РФ «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований». Стремительное развитие иммунологии вызвало необходимость пересмотреть основные положения этой важнейшей дисциплины. Оригинальные схемы и рисунки выполнены с учетом современного состояния микробиологии и иммунологии.

Книга рекомендована ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова в качестве учебника для студентов образовательных учреждений высшего профессионального образования.

Для студентов медицинских вузов, медицинских факультетов университетов. Также будет полезна врачам всех специальностей в качестве современного справочника по микроорганизмам и вызываемым ими заболеваниями.

УДК 579.61+578.7+571.27(075.8)

ББК 52.54+52.6я73

ISBN 978-5-9986-0227-6

© Зверев В.В., Быков А.С., 2016

© Коллектив авторов, 2016

© ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, 2016

© Оформление. ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2016

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой-либо форме без письменного разрешения владельцев авторских прав.

Авторский коллектив

- *Сотрудники кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова:*

Зверев Виталий Васильевич — академик РАН, д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой;

Бойченко Марина Николаевна — д-р биол. наук, профессор;

Быков Анатолий Сергеевич — д-р мед. наук, профессор;

Несвижский Юрий Владимирович — д-р мед. наук, профессор;

Пашков Евгений Петрович — д-р мед. наук, профессор;

Свитич Оксана Анатольевна — д-р мед. наук, профессор;

Богданова Екатерина Александровна — канд. мед. наук, доцент;

Буданова Елена Вячеславовна — канд. мед. наук, доцент;

Давыдова Наталья Владимировна — канд. мед. наук, доцент;

Нечаев Дмитрий Николаевич — канд. мед. наук, доцент;

Рыбакова Альбина Михайловна — канд. мед. наук, доцент;

Усатова Галина Николаевна — канд. мед. наук, доцент;

Хорошко Наина Владимировна — канд. мед. наук, доцент.

- *Сотрудники кафедры клинической иммунологии и аллергологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова:*

Караулов Александр Викторович — член-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой;

Быков Сергей Анатольевич — канд. мед. наук, ассистент.

- *Старший научный сотрудник Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемакина и Ю.А. Овчинникова РАН:*

Петрова Людмила Ивановна — канд. биол. наук.

Рисунки выполнены: А.С. Быковым и С.А. Быковым (2.1, 2.3–2.6, 2.12–2.17, 3.6–3.16, 5.1, 5.3, 9.2, 9.3, 9.6–9.8, 9.14–9.17, 9.22–9.31, 10.1, 10.2, 12.1–12.13, 15.1, 16.1–16.22, 17.1–17.5, 18.1–18.10, 19.1); О.А. Свитич (9.1, 9.4, 9.5, 9.9, 9.11, 9.12, 9.13 и 9.18–9.21 в модификации по Bellanti J.A., Immunology IV Clinical Applications in Health and Disease Published by I Care Press Washington 2012).

Оглавление

Предисловие	16
Список сокращений.....	18
Часть I. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ.....	21
Глава 1. Введение в микробиологию и иммунологию (Л.И. Петрова)	23
1.1. Мир микробов.....	23
1.2. Микробиология	24
1.3. Иммунология	25
1.4. История развития микробиологии и иммунологии	26
1.5. Вклад отечественных ученых в развитие микробиологии и иммунологии	32
1.6. Значение микробиологии и иммунологии для врача	34
Глава 2. Морфология и классификация микробов (А.С. Быков)	36
2.1. Систематика и номенклатура микробов	36
2.2. Классификация и морфология бактерий	38
2.2.1. Формы бактерий (А.С. Быков, Е.П. Пашков)	40
2.2.2. Структура бактериальной клетки.....	45
2.3. Строение и классификация грибов.....	56
2.4. Строение и классификация простейших.....	60
2.5. Строение и классификация вирусов.....	62
Тестовые вопросы и задания.....	69
Глава 3. Физиология микробов	71
3.1. Физиология бактерий (М.Н. Бойченко).....	71
3.1.1. Питание бактерий.....	71
3.1.2. Ферменты бактерий.....	76

3.1.3. Энергетический метаболизм.....	76
3.1.4. Отношение бактерий к кислороду.....	82
3.1.5. Конструктивный метаболизм.....	84
3.1.6. Транспорт веществ в бактериальную клетку	85
3.1.7. Транспорт веществ из бактериальной клетки.....	86
3.1.8. Рост и способы размножения бактерий.....	87
3.1.9. Условия культивирования бактерий.....	92
3.2. Особенности физиологии грибов и простейших (А.С. Быков).....	93
3.3. Физиология вирусов (А.С. Быков, А.М. Рыбакова).....	94
3.3.1. Репродукция вирусов.....	94
3.3.2.Abortивный тип взаимодействия вирусов с клеткой.....	104
3.3.3. Интегративный тип взаимодействия вирусов с клеткой (виrogenия)	105
3.4. Культивирование вирусов.....	106
3.5. Бактериофаги.....	111
Тестовые вопросы и задания.....	117
Глава 4. Экология микробов — микроэкология (А.С. Быков).....	119
4.1. Распространение микробов в окружающей среде	119
4.1.1. Микрофлора почвы.....	119
4.1.2. Микрофлора воды.....	120
4.1.3. Микрофлора воздуха.....	121
4.1.4. Микрофлора продуктов питания.....	121
4.1.5. Микрофлора растительного лекарственного сырья, фитопатогенные микробы	123
4.1.6. Микрофлора производственных, бытовых и медицинских объектов	125
4.1.7. Роль микробов в круговороте веществ в природе.....	126
4.2. Микрофлора организма человека.....	127
4.2.1. Значение микрофлоры организма человека	131
4.2.2. Дисбактериоз и дисбиоз.....	132
4.3. Влияние факторов окружающей среды на микробы.....	134
4.4. Уничтожение микробов в окружающей среде	137
4.4.1. Стерилизация.....	137
4.4.2. Дезинфекция	139
4.4.3. Асептика и антисептика	141
4.5. Санитарная микробиология	142
4.5.1. Микробиологический контроль почвы, воды, предметов обихода.....	144
4.5.2. Микробиологический контроль воздуха.....	145
4.5.3. Микробиологический контроль продуктов питания.....	147
4.5.4. Микробиологический контроль лекарственных средств	148
Тестовые вопросы и задания.....	149
Глава 5. Генетика микробов (М.Н. Бойченко).....	151
5.1. Строение генома бактерий.....	151
5.1.1. Бактериальная хромосома.....	151

5.1.2. Плазмиды бактерий	151
5.1.3. Подвижные генетические элементы	153
5.1.4. Интегроны и острова патогенности	155
5.2. Мутации у бактерий	155
5.3. Рекомбинация у бактерий	157
5.4. Передача генетической информации у бактерий	158
5.4.1. Конъюгация	158
5.4.2. Трансдукция	160
5.4.3. Трансформация	161
5.5. Особенности генетики вирусов	162
5.6. Применение генетических методов в диагностике инфекционных болезней	163
5.6.1. Рестрикционный анализ	163
5.6.2. Метод молекулярной гибридизации	163
5.6.3. Полимеразная цепная реакция	164
5.6.4. Риботипирование и опосредованная транскрипцией амплификация рибосомальной РНК	166

Глава 6. Биотехнология. Генетическая инженерия (В.В. Зверев, Л.И. Петрова)..... 167

6.1. Сущность биотехнологии. Цели и задачи	167
6.2. Микроорганизмы и процессы, применяемые в биотехнологии	170
6.3. Генетическая инженерия и область ее применения в биотехнологии	171
Тестовые вопросы и задания к главам 5, 6	174

Глава 7. Химиотерапевтические противомикробные препараты (Н.В. Хорошко, Н.В. Давыдова)..... 175

7.1. Антибиотики	176
7.1.1. Источники и способы получения антибиотиков	177
7.1.2. Классификация антибиотиков по химической структуре	178
7.2. Синтетические противомикробные химиотерапевтические препараты ...	180
7.3. Механизм действия противомикробных химиотерапевтических препаратов	182
7.4. Осложнения при антимикробной химиотерапии	184
7.4.1. Осложнения со стороны макроорганизма	184
7.4.2. Побочное воздействие на микроорганизмы	186
7.5. Лекарственная устойчивость бактерий	186
7.5.1. Генетические основы приобретенной резистентности	187
7.5.2. Реализация приобретенной устойчивости	188
7.6. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам	189
7.7. Основы рациональной антибиотикотерапии	189
7.8. Противовирусные средства	191
Тестовые вопросы и задания	192

Глава 8. Учение об инфекции (Ю.В. Несвижский, Д.Н. Нечаев)	194
8.1. Инфекционный процесс и инфекционная болезнь.....	195
8.1.1. Стадии и уровни инфекционного процесса	196
8.1.2. Понятие об инфекционной болезни.....	198
8.2. Понятие о патогенных, сапрофитных и условно-патогенных микробах.....	198
8.3. Свойства патогенных микробов	199
8.3.1. Факторы патогенности микробов.....	204
8.3.2. Токсины бактерий.....	209
8.3.3. Генетическая регуляция факторов патогенности.....	219
8.4. Влияние факторов окружающей среды на реактивность организма	221
8.4.1. Роль реактивности макроорганизма в развитии инфекционного процесса	221
8.4.2. Влияние биологических и социальных факторов окружающей среды на реактивность макроорганизма.....	225
8.5. Характерные особенности инфекционных болезней.....	228
8.6. Формы инфекционного процесса	232
8.7. Особенности формирования патогенности вирусов.....	235
8.8. Понятие об эпидемическом процессе	240
8.8.1. Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней.....	243
8.8.2. Понятие о конвенционных (карантинных) и особо опасных инфекциях	244
Тестовые вопросы и задания.....	245

Часть II. МЕДИЦИНСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ.....247

Глава 9. Учение об иммунитете. Факторы врожденного и адаптивного иммунитета (В.В. Зверев, А.В. Караулов, О.А. Свитич, С.А. Быков)	249
9.1. Основные понятия иммунологии. Органы иммунной системы	249
9.2. Антигены	254
9.2.1. Антигены микробов.....	259
9.2.2. Антигены человека.....	261
9.3. Виды и формы иммунитета.....	266
9.3.1. Врожденный иммунитет	269
9.3.1.1. Клетки врожденного иммунитета	270
9.3.1.2. Рецепторы врожденного иммунитета.....	277
9.3.1.3. Гуморальные факторы врожденного иммунитета	281
9.3.1.3.1. Антимикробные пептиды: характеристика, структура, функции.....	282
9.3.1.3.2. Цитокины.....	283
9.3.1.3.3. Комплемент.....	288
9.3.1.3.4. Белки острой фазы и теплового шока	291

9.3.2. Адаптивный иммунитет	292
9.3.2.1. Клеточный иммунный ответ. Т-лимфоциты	292
9.3.2.2. Гуморальный иммунный ответ (антителообразование)	301
9.3.2.2.1. Субпопуляции В-лимфоцитов	301
9.3.2.2.2. Иммуноглобулины	303
9.4. Иммунологическая память.....	310
9.5. Иммунологическая толерантность	311
9.6. Аллергия. Типы гиперчувствительности.....	312
Тестовые вопросы и задания.....	320

Глава 10. Особенности иммунитета при различных локализациях и состояниях

10.1. Роль барьерных тканей.....	324
10.2. Особенности противобактериального иммунитета	329
10.3. Особенности противовирусного иммунитета.....	331
10.4. Особенности противогрибкового иммунитета.....	333
10.5. Особенности противопротоzoйного иммунитета.....	333
10.6. Особенности противогельминтного иммунитета	334
10.7. Трансплантационный иммунитет	335
10.8. Противоопухолевый иммунитет	336
10.9. Иммунный статус	336

Глава 11. Патология иммунной системы

11.1. Первичные и вторичные иммунодефициты.....	340
11.2. Аутоиммунные болезни.....	344
11.3. Характеристика некоторых аутоиммунных заболеваний.....	347
Тестовые вопросы и задания к главам 10, 11.....	350

Глава 12. Иммунодиагностические реакции и их применение (А.С. Быков)

12.1. Реакции антиген–антитело	353
12.2. Реакции агглютинации	354
12.3. Реакции преципитации.....	357
12.4. Реакции с участием комплемента.....	360
12.5. Реакция нейтрализации	361
12.6. Реакции с использованием меченых антител или антигенов.....	362
12.6.1. Реакция иммунофлюоресценции – РИФ (метод Кунса)	362
12.6.2. Иммуноферментный метод, или анализ.....	363
12.6.3. Радиоиммунный метод, или анализ	365
12.6.4. Иммуноблоттинг.....	365
12.6.5. Иммунная электронная микроскопия.....	365

12.6.6. Проточная цитометрия.....	366
Тестовые вопросы и задания.....	367
Глава 13. Препараты для иммунопрофилактики, иммунотерапии и диагностики (В.В. Зверев, Л.И. Петрова).....	369
13.1. Сущность и место иммунопрофилактики и иммунотерапии в медицинской практике.....	369
13.2. Вакцины.....	371
13.3. Адьюванты.....	374
13.4. Общая характеристика вакцин; показания и противопоказания к вакцинации.....	375
13.5. Календарь прививок.....	376
13.6. Бактериофаги.....	377
13.7. Пробиотики.....	377
13.8. Иммунобиологические препараты на основе специфических антител.....	378
13.9. Иммуномодуляторы.....	380
13.10. Диагностические препараты.....	382
Тестовые вопросы и задания.....	383
Часть III. ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ.....	385
Глава 14. Микробиологическая диагностика (Е.А. Богданова).....	387
14.1. Методы микробиологической диагностики.....	387
14.1.1. Микроскопический метод.....	387
14.1.2. Культуральный метод.....	389
14.1.3. Биологический метод.....	390
14.1.4. Серологический метод.....	391
14.1.5. Аллергологический метод.....	392
14.1.6. Молекулярно-генетический метод.....	392
14.1.7. Физико-химические методы.....	393
14.2. Организация микробиологической лаборатории.....	393
14.3. Правила работы в микробиологической лаборатории.....	396
Тестовые вопросы и задания.....	397
Глава 15. Частная бактериология.....	398
15.1. Кокки (Е.П. Пашков, О.М. Гринько).....	398
15.1.1. Аэробные грамположительные кокки.....	398
15.1.1.1. Стафилококки (род <i>Staphylococcus</i>).....	399
15.1.1.2. Стрептококки (род <i>Streptococcus</i>).....	404
15.1.1.2.1. Пневмококки (<i>Streptococcus pneumoniae</i>).....	407
15.1.1.3. Энтерококки (род <i>Enterococcus</i>).....	409
15.1.2. Аэробные грамотрицательные кокки. Нейссерии (род <i>Neisseria</i>).....	410
15.1.2.1. Менингококки (<i>Neisseria meningitidis</i>).....	411

15.1.2.2. Гонококки (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>).....	414
15.1.3. Анаэробные грамположительные кокки	416
15.1.4. Анаэробные грамотрицательные кокки.....	417
15.2. Палочки грамотрицательные факультативно-анаэробные.....	417
15.2.1. Энтеробактерии (семейство <i>Enterobacteriaceae</i>) (М.Н. Бойченко).....	417
15.2.1.1. Эшерихии (род <i>Escherichia</i>).....	420
15.2.1.2. Клебсиеллы (род <i>Klebsiella</i>)	424
15.2.1.3. Шигеллы (род <i>Shigella</i>)	426
15.2.1.4. Сальмонеллы (род <i>Salmonella</i>)	429
15.2.1.4.1. Возбудители брюшного тифа и паратифов (<i>S. Typhi</i> , <i>S. Paratyphi B</i> , <i>S. Paratyphi A</i>).....	431
15.2.1.4.2. Возбудители сальмонеллеза (<i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Choleraesuis</i>) ..	434
15.2.1.4.3. Внутрибольничный (нозокомиальный) сальмонеллез.....	435
15.2.1.5. Протей (род <i>Proteus</i>)	436
15.2.1.6. Иерсинии (род <i>Yersinia</i>)	437
15.2.1.6.1. Возбудитель чумы (<i>Y. pestis</i>).....	437
15.2.1.6.2. Энтеропатогенные иерсинии	441
15.2.2. Вибрионы (семейство <i>Vibrionaceae</i>) (М.Н. Бойченко)	445
15.2.2.1. Возбудитель холеры (<i>Vibrio cholerae</i>).....	445
15.2.2.2. Другие вибрионы (род <i>Vibrio</i>)	448
15.2.2.3. Аэромонады (род <i>Aeromonas</i>)	449
15.2.3. Семейство <i>Pasteurellaceae</i> (Е.В. Буданова).....	450
15.2.3.1. Гемофильные бактерии рода <i>Haemophilus</i> (<i>H. influenzae</i> , <i>H. ducreyi</i> и др.).....	450
15.2.3.2. Пастереллы (род <i>Pasteurella</i>)	456
15.3. Палочки грамотрицательные аэробные.....	458
15.3.1. Возбудители коклюша и паракоклюша (<i>B. pertussis</i> и <i>B. parapertussis</i>) (Е.В. Буданова).....	458
15.3.2. Бруцеллы (род <i>Brucella</i>) (М.Н. Бойченко).....	464
15.3.3. Возбудитель туляремии (<i>Francisella tularensis</i>) (М.Н. Бойченко)	466
15.3.4. Легионеллы (род <i>Legionella</i>) (М.Н. Бойченко).....	468
15.3.5. Коксиделлы. Возбудитель лихорадки Ку (<i>Coxiella burnetii</i>) (М.Н. Бойченко)	471
15.3.6. Бартонеллы (род <i>Bartonella</i>) (М.Н. Бойченко).....	472
15.3.7. Аэробные неферментирующие грамотрицательные палочки (Е.В. Буданова).....	474
15.3.7.1. Псевдомонады (род <i>Pseudomonas</i>). <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (синегнойная палочка).....	474
15.3.7.2. Буркгольдерии (род <i>Burkholderia</i>); возбудители сапа и мелниоза	480
15.3.7.2.1. <i>Burkholderia cepacia</i>	480
15.3.7.2.2. Возбудитель сапа — <i>Burkholderia mallei</i>	481
15.3.7.2.3. Возбудитель мелниоза — <i>Burkholderia pseudomallei</i>	483
15.3.7.3. Кингеллы (род <i>Kingella</i>).....	484
15.3.7.4. Моракселлы (род <i>Moraxella</i>).....	484
15.3.7.5. Ацинетобактеры (род <i>Acinetobacter</i>) (Г.Н. Усатова).....	485
15.4. Палочки грамотрицательные анаэробные (Е.П. Пашков, О.М. Гринько).....	486

15.4.1. Бактероиды (род <i>Bacteroides</i>)	487
15.4.2. Порфиромонады (род <i>Porphyromonas</i>)	487
15.4.3. Превотеллы (род <i>Prevotella</i>)	488
15.4.4. Лептотрихии (род <i>Leptotrichia</i>)	488
15.4.5. Фузобактерии (род <i>Fusobacterium</i>)	489
15.4.6. Селеномонады (род <i>Selenomonas</i>)	489
15.5. Палочки спорообразующие грамположительные (Е.П. Пашков, О.М. Гринько)	489
15.5.1. Возбудитель сибирской язвы (<i>Bacillus anthracis</i>)	490
15.5.2. Спорообразующие бактерии рода <i>Clostridium</i>	493
15.5.2.1. Клостридии столбняка (<i>Clostridium tetani</i>)	493
15.5.2.2. Клостридии ботулизма (<i>Clostridium botulinum</i>)	496
15.5.2.3. Клостридии газовой гангрены	499
15.5.2.4. Клостридии диффициле (<i>Clostridium difficile</i>)	504
15.6. Палочки грамположительные правильной формы	505
15.6.1. Лактобациллы (род <i>Lactobacillus</i>) (Е.П. Пашков, О.М. Гринько)	505
15.6.2. Листерии (род <i>Listeria</i>) (М.Н. Бойченко)	505
15.7. Палочки грамположительные неправильной формы, ветвящиеся бактерии	508
15.7.1. Коринебактерии (род <i>Corynebacterium</i>) и коринеформные бактерии (Д.Н. Нечаев)	508
15.7.1.1. Возбудитель дифтерии (<i>Corynebacterium diphtheriae</i>)	509
15.7.2. Микобактерии (сем. <i>Mycobacteriaceae</i>) (Д.Н. Нечаев)	514
15.7.2.1. Возбудители туберкулеза (<i>Mycobacterium tuberculosis</i> и др.)	515
15.7.2.2. Возбудитель лепры (<i>Mycobacterium leprae</i>)	522
15.7.2.3. Нетуберкулезные микобактерии	525
15.7.3. Актиномицеты (род <i>Actinomyces</i>) (Е.А. Богданова)	527
15.7.4. Нокардии (род <i>Nocardia</i>) (Е.А. Богданова)	529
15.7.5. Бифидобактерии, эубактерии, пропионибактерии, гарднереллы, мобилункусы (Е.А. Богданова)	530
15.7.5.1. Бифидобактерии (род <i>Bifidobacterium</i>)	530
15.7.5.2. Эубактерии (род <i>Eubacterium</i>)	531
15.7.5.3. Пропионибактерии (род <i>Propionibacterium</i>)	532
15.7.5.4. Гарднереллы (род <i>Gardnerella</i>)	533
15.7.5.5. Мобилункусы (род <i>Mobiluncus</i>)	535
15.8. Спирохеты и другие спиральные, изогнутые бактерии (М.Н. Бойченко)	535
15.8.1. Трепоне́мы (род <i>Treponema</i>)	536
15.8.1.1. Возбудитель сифилиса (<i>T. pallidum</i>)	537
15.8.1.2. Другие патогенные трепоне́мы	540
15.8.2. Боррелии (род <i>Borrelia</i>)	540
15.8.2.1. Возбудители болезни Лайма (<i>B. burgdorferi</i> , <i>B. garini</i> , <i>B. afzelii</i>)	540
15.8.2.2. Возбудители возвратных тифов (<i>B. recurrentis</i> , <i>B. duttoni</i> , <i>B. persica</i>)	542
15.8.3. Возбудитель лептоспироза (<i>Leptospira interrogans</i>)	544
15.8.4. Кампилобактерии (род <i>Campylobacter</i>) (Ю.В. Несвижский)	546
15.8.5. Хеликобактерии (род <i>Helicobacter</i>) (Ю.В. Несвижский)	547

15.9. Риккетсии (семейство <i>Rickettsiaceae</i>) (Е.П. Лукин).....	550
15.9.1. Риккетсии группы сыпного тифа.....	555
15.9.1.1. Возбудитель эпидемического сыпного тифа и болезни Брилла– Цинссера — <i>R. prowazekii</i>	555
15.9.1.2. Возбудитель эндемического (крысиного) сыпного тифа (<i>R. typhi</i>).....	557
15.9.1.3. Возбудитель тифа кошачьих блох (<i>R. felis</i>)	558
15.9.2. Риккетсии группы клещевых риккетсиозов	558
15.9.2.1. Возбудитель североазиатского риккетсиоза (<i>R. sibirica</i>)	558
15.9.2.2. Возбудитель марсельской лихорадки (<i>R. conorii</i>).....	560
15.9.2.3. Возбудитель везикулярного риккетсиоза (<i>R. akari</i>).....	561
15.9.2.4. Возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых гор (<i>R. rickettsii</i>)	561
15.9.3. Ориенции (возбудители лихорадки цуцугамуши — <i>O. tsutsugamushi</i>)	562
15.10. Анаплазмы, неориккетсии и эрлихии (семейство <i>Anaplasmataceae</i>)	563
15.11. Хламидии (семейство <i>Chlamydiaceae</i>) (Е.В. Буданова).....	567
15.11.1. Возбудители трахомы, конъюнктивита, урогенитального хламидиоза и др. (серовары <i>C. trachomatis</i>)	571
15.11.1.1. Возбудитель трахомы (<i>Chlamydia trachomatis</i>)	571
15.11.1.2. Возбудитель уrogenитального хламидиоза (<i>Chlamydia trachomatis</i>).....	572
15.11.1.3. Возбудитель венерической лимфогранулемы (<i>Chlamydia trachomatis</i>)	575
15.11.2. Возбудитель респираторного хламидиоза (<i>Chlamydophila pneumoniae</i>)	576
15.11.3. Возбудитель орнитоза (<i>Chlamydophila psittaci</i>).....	578
15.12. Микоплазмы (семейство <i>Mycoplasmataceae</i>) (М.Н. Бойченко).....	579
Тестовые вопросы и задания	583
Глава 16. Частная вирусология	589
16.1. РНК-содержащие вирусы	589
16.1.1. Пикорнавирусы (семейство <i>Picornaviridae</i>) (Е.П. Пашков).....	589
16.1.1.1. Энтеровирусы.....	590
16.1.1.1.1. Вирусы полиомиелита	592
16.1.1.1.2. Вирусы Коксаки А и В	594
16.1.1.1.3. Вирусы группы ECHO	595
16.1.1.2. Риновирусы.....	595
16.1.1.3. Вирус гепатита А.....	595
16.1.1.4. Вирус ящура.....	597
16.1.2. Реовирусы (семейство <i>Reoviridae</i>) (А.С. Быков).....	597
16.1.2.1. Ротавирусы (род <i>Rotavirus</i>).....	599
16.1.3. Буньявирусы (семейство <i>Bunyaviridae</i>) (Д.Н. Нечаев).....	601
16.1.3.1. Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго.....	604
16.1.3.2. Вирусы геморрагической лихорадки с почечным синдромом и хантавирусного кардиопульмонального синдрома	606
16.1.4. Тогавирусы (семейство <i>Togaviridae</i>) (Д.Н. Нечаев)	608
16.1.4.1. Вирусы рода <i>Alphavirus</i>	608
16.1.4.2. Вирус краснухи	611

16.1.5. Флавивирусы (семейство <i>Flaviviridae</i>) (Д.Н. Нечаев).....	615
16.1.5.1. Вирус желтой лихорадки.....	618
16.1.5.2. Вирус клещевого энцефалита.....	619
16.1.5.3. Вирус омской геморрагической лихорадки	622
16.1.5.4. Вирус лихорадки денге.....	624
16.1.5.5. Вирус японского энцефалита	626
16.1.5.6. Вирус лихорадки Западного Нила.....	628
16.1.6. Ортомиксовирусы (вирусы гриппа) (Н.В. Хорошко).....	630
16.1.7. Парамиксовирусы (семейство <i>Paramyxoviridae</i>) (В.В. Зверев, А.С. Быков).....	636
16.1.7.1. Вирусы парагриппа	637
16.1.7.2. Вирус эпидемического паротита.....	639
16.1.7.3. Вирус кори и ПСПЭ	640
16.1.7.4. Респираторно-синцитиальный вирус.....	642
16.1.8. Рабдовирусы (семейство <i>Rhabdoviridae</i>) (А.С. Быков).....	644
16.1.8.1. Вирус бешенства	644
16.1.8.2. Вирус везикулярного стоматита.....	648
16.1.9. Филовирусы (семейство <i>Filoviridae</i>) (В.В. Зверев).....	649
16.1.9.1. Вирусы Марбург и Эбола	650
16.1.10. Коронавирусы (семейство <i>Coronaviridae</i>) (В.В. Зверев, Г.Н. Усатова) ...	650
16.1.11. Ретровирусы (семейство <i>Retroviridae</i>). Вирус иммунодефицита человека (В.В. Зверев, М.Н. Бойченко)	652
16.1.12. Аренавирусы (семейство <i>Arenaviridae</i>) (А.С. Быков).....	658
16.1.13. Калицивирусы (семейство <i>Caliciviridae</i>) (А.С. Быков)	660
16.1.14. Вирус гепатита Е (семейство <i>Hepeviridae</i>) (В.В. Зверев).....	661
16.2. ДНК-содержащие вирусы.....	662
16.2.1. Парвовирусы (семейство <i>Parvoviridae</i>) (А.С. Быков).....	662
16.2.2. Папилломавирусы (семейство <i>Papillomaviridae</i>) (А.С. Быков)	664
16.2.3. Полиомавирусы (семейство <i>Polyomaviridae</i>) (А.С. Быков)	666
16.2.4. Аденовирусы (семейство <i>Adenoviridae</i>) (В.В. Зверев).....	666
16.2.5. Гепаднавирусы (семейство <i>Hepadnaviridae</i> , вирус гепатита В) (М.Н. Бойченко)	668
16.2.6. Герпес-вирусы (семейство <i>Herpesviridae</i>) (А.С. Быков).....	672
16.2.6.1. Вирус простого герпеса.....	675
16.2.6.2. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса.....	679
16.2.6.3. Вирус Эпштейна–Барр	680
16.2.6.4. Вирус цитомегалии	682
16.2.6.5. Герпес-вирус человека типа 6, 7 и 8 (ГВЧ-6, ГВЧ-7, ГВЧ-8)	684
16.2.7. Поксвирусы (семейство <i>Poxviridae</i>) (А.С. Быков).....	685
16.2.7.1. Вирус натуральной оспы; семейство <i>Poxviridae</i>	685
16.2.7.2. Другие поксвирусы, поражающие человека	688
16.2.8. Анеелловирусы (семейство <i>Anelloviridae</i>) (А.С. Быков).....	689
16.3. Медленные вирусные инфекции и прионные болезни (В.В. Зверев, А.С. Быков).....	690
16.4. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций (Н.В. Хорошко).....	695
16.5. Возбудители вирусных острых кишечных инфекций (Е.П. Пашков).....	700

16.6. Возбудители парентеральных вирусных гепатитов В, D, С, G (М.Н. Бойченко).....	700
16.7. Онкогенные вирусы (М.Н. Бойченко).....	702
16.7.1. РНК-содержащие онкогенные вирусы	703
16.7.2. ДНК-содержащие онкогенные вирусы	705
Тестовые вопросы и задания.....	707
Глава 17. Частная микология (А.С. Быков, С.А. Быков).....	711
17.1. Возбудители поверхностных микозов	711
17.1.1. Возбудитель разноцветного лишая (<i>Malassezia furfur</i>).....	712
17.1.2. Возбудитель черного лишая (<i>Phaeoanellomyces werneckii</i>).....	712
17.1.3. Возбудитель черной пьеды (<i>Piedraia hortae</i>)	713
17.1.4. Возбудитель белой пьеды (<i>Trichosporon beigeli</i>).....	713
17.2. Возбудители эпидермофитий	713
17.2.1. Возбудители микроспории (род <i>Microsporum</i>).....	717
17.2.2. Возбудители трихофитии (род <i>Trichophyton</i>).....	717
17.2.3. Возбудитель фавуса (<i>Trichophyton schoenleinii</i>)	718
17.2.4. Возбудитель эпидермофитии паховой (<i>Epidermophyton floccosum</i>).....	718
17.2.5. Возбудитель эпидермофитии стоп (<i>Trichophyton interdigitale</i>)	719
17.2.6. Возбудитель руброфитии (<i>Trichophyton rubrum</i>)	719
17.3. Возбудители подкожных, или субкутанных, микозов	719
17.3.1. Возбудитель споротрихоза (<i>Sporothrix schenckii</i>).....	720
17.3.2. Возбудители хромобластомикоза	721
17.3.3. Возбудители феогифомикоза	722
17.3.4. Возбудители мицетомы	723
17.4. Возбудители системных (глубоких) эндемических микозов.....	723
17.4.1. Возбудитель гистоплазмоза (<i>Histoplasma capsulatum</i>).....	724
17.4.2. Возбудитель бластомикоза (<i>Blastomyces dermatitidis</i>).....	725
17.4.3. Возбудитель кокцидиоидоза (<i>Coccidioides immitis</i>).....	726
17.4.4. Возбудитель паракокцидиоидоза (<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>)	727
17.4.5. Возбудитель криптококкоза (<i>Cryptococcus neoformans</i>).....	727
17.5. Возбудители оппортунистических микозов	729
17.5.1. Возбудители кандидоза (род <i>Candida</i>).....	729
17.5.2. Возбудители зигомикоза.....	731
17.5.3. Микроспоридии (тип <i>Microspora</i>).....	733
17.5.4. Возбудители аспергиллеза (род <i>Aspergillus</i>).....	734
17.5.5. Возбудители пенициллииоза (род <i>Penicillium</i>)	736
17.5.6. Возбудители фузариоза (род <i>Fusarium</i>).....	736
17.5.7. Возбудитель пневмоцистоза (<i>Pneumocystis jiroveci</i>)	737
17.6. Возбудители микотоксикозов.....	739
Глава 18. Частная протозоология (А.С. Быков).....	743
18.1. Амебы	744
18.1.1. Возбудитель амебиаза (<i>Entamoeba histolytica</i>).....	744
18.1.2. Свободноживущие патогенные амебы	746

18.2. Жгутиконосцы.....	747
18.2.1. Лейшмании (род <i>Leishmania</i>).....	748
18.2.2. Трипаномы (род <i>Trypanosoma</i>).....	751
18.2.3. Лямблии, или гиардии (род <i>Lambliа</i> , или <i>Giardia</i>)	753
18.2.4. Трихомонады (род <i>Trichomonas</i>).....	754
18.3. Споровики	756
18.3.1. Плазмодии малярии (род <i>Plasmodium</i>)	756
18.3.2. Бабезии (род <i>Babesia</i>).....	760
18.3.3. Токсоплазмы (род <i>Toxoplasma</i>).....	761
18.3.4. Саркоцисты (род <i>Sarcocystis</i>).....	764
18.3.5. Изоспоры (род <i>Isospora</i>).....	765
18.3.6. Криптоспоридии (род <i>Cryptosporidium</i>).....	766
18.3.7. Циклоспоры (род <i>Cyclospora</i>).....	768
18.4. Ресничные. Балантидии (род <i>Balantidium</i>).....	769
18.5. Блостоцисты (род <i>Blastocystis</i>)	770
Тестовые вопросы и задания к главам 17, 18.....	771
Глава 19. Клиническая микробиология (Е.А. Богданова).....	774
19.1. Роль условно-патогенных микробов.....	774
19.2. Диагностика гнойно-воспалительных заболеваний различной локализации.....	781
19.3. Внутрибольничная инфекция.....	789
19.4. Микрофлора полости рта и ее роль в патологии человека (Г.Н. Усатова, И.В. Смирнов)	793
19.4.1. Роль микроорганизмов при заболеваниях челюстно-лицевой области.....	798
Тестовые вопросы и задания.....	802
Ответы к тестам.....	804
Предметный указатель	808

Предисловие

Микробиология и иммунология — базовые дисциплины, знание которых необходимо каждому врачу, каждому медицинскому работнику, так как эти науки решают или способствуют решению важных проблем клинической, медико-профилактической и теоретической медицины.

В наше время без знания микробиологии и иммунологии уже немислимо решение таких важных проблем медицины, как снижение и ликвидация инфекционной заболеваемости людей, искоренение внутрибольничных инфекций, лечение и профилактика аллергических и иммунопатологических проявлений, диагностика и лечение онкологических болезней, решение проблем трансплантации органов и тканей, репродукции в акушерстве и гинекологии, а также многих задач в других клинических дисциплинах, санитарно-гигиенических и экологических вопросов. Следует иметь в виду, что около 70% всех регистрируемых заболеваний инфекционные, а в патогенезе многих неинфекционных болезней (злокачественные новообразования, атеросклероз, психические, нервные, аутоиммунные и др.) непосредственную или косвенную роль играют микробы. Решение проблем вышеуказанных патологий, разумеется, почти невозможно без знания микробиологических аспектов их этиологии, патогенеза, профилактики и терапии.

Поскольку микробиология и иммунология лежат на стыке клинических, медико-профилактических и теоретических дисциплин, преподавание их студентам медицинских вузов ведется на всех факультетах (лечебном, педиатрическом, стоматологическом, медико-профилактическом, фармацевтическом, высшего сестринского образования, медицинской биохимии, медицинской биофизики, биотехнологии). Созданы федеральные государственные образовательные стандарты преподавания микробиологии (бактериологии, вирусологии, микологии, протозологии) и иммунологии. В соответствии с федеральными государственными образовательными стандартами по соответствующим

специальностям разработаны примерные учебные программы по дисциплинам «Микробиология, вирусология» и «Иммунология».

Однако учебники, по которым учатся студенты, не только отличаются по объему и глубине изложения, но и не всегда соответствуют новым стандартам преподавания дисциплин микробиологии и иммунологии. Более того, были существенно пересмотрены знания по бактериологии (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edition, 2001–2012), по вирусологии (данные девятого доклада Международного комитета по таксономии вирусов (2011)), обновился перечень микробов и диагностических исследований, соответствующий приказам МЗ РФ «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований». Кроме того, принципиально изменились основные положения как общей, так и клинической иммунологии.

Поэтому коллектив кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова взял на себя труд по написанию нового учебника по микробиологии и иммунологии, учитывающего официально утвержденные стандарты и запросы по преподаванию этих дисциплин на всех факультетах медицинских вузов. В написании отдельных разделов принимали участие д-р мед. наук, профессор Е.П. Лукин, д-р мед. наук, профессор И.В. Смирнов и канд. мед. наук О.М. Гринько. Мы отчетливо понимали, что создание такого универсального учебника — задача довольно сложная и что, конечно же, он не сможет удовлетворить в полной мере и студентов и преподавателей всех факультетов. Тем не менее мы надеемся, что изложенные в данном учебнике материалы послужат базовыми для студентов, обучающихся на всех факультетах медицинских вузов.

Список сокращений

АДС	— адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин
АДС-М	— адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин с уменьшенным содержанием антигенов
АКДС	— адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина
АПК	— антигенпредставляющая клетка
АТФ	— аденозинтрифосфат
БГКП	— бактерии группы кишечной палочки
ВИЧ	— вирус иммунодефицита человека
ВПГ	— вирус простого герпеса
ВПГЧ	— вирус парагриппа человека
ВЭБ	— вирус Эпштейна–Барр
ГВЧ	— герпес-вирус человека
ГЗТ	— гиперчувствительность замедленного типа
ГЛПС	— геморрагическая лихорадка с почечным синдромом
ГМ-КСФ	— гранулоцит-моноцит-колониестимулирующий фактор
ГНТ	— гиперчувствительность немедленного типа
ГТФ	— гуанозинтрифосфат
ГЦ	— гуанин/цитозин
ЖКТ	— желудочно-кишечный тракт
ИБ	— иммуноблоттинг
ИФА	— иммуноферментный анализ
КОЕ	— колониеобразующая единица
КСФ	— колониестимулирующий фактор
ЛПС	— липополисахарид
МПА	— мясопептонный агар
МПБ	— мясопептонный бульон
НАД	— никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ	— никотинамидадениндинуклеотидфосфат

ОКИ	— острые кишечные инфекции
ОРВИ	— острая респираторная вирусная инфекция
ОРЗ	— острое респираторное заболевание
ПВЧ	— папилломавирус человека
ПСПЭ	— подострый склерозирующий панэнцефалит
ПФ	— пентозофосфат
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
РА	— реакция агглютинации
РБТЛ	— реакция бласттрансформации лимфоцитов
РГА	— реакция гемагглютинации
РИА	— радиоиммунный анализ
РИП	— реакция иммунного прилипания
РИТ	— реакция иммобилизации трепонем
РИФ	— реакция иммунофлюоресценции
РН	— реакция нейтрализации
РНГА	— реакция непрямой гемагглютинации
РНИФ	— реакция непрямой иммунофлюоресценции
РП	— реакция преципитации
РПГА	— реакция пассивной гемагглютинации
РРГ	— реакция радиального гемолиза
РС-вирус	— респираторно-синцитиальный вирус
РСК	— реакция связывания комплемента
РТГА	— реакция торможения гемагглютинации
СПИД	— синдром приобретенного иммунодефицита
ТТСС	— третий тип секреторной системы (секреторная система третьего типа)
ТФР	— трансформирующий фактор роста
ФДФ	— фруктозодифосфат
ФНО	— фактор некроза опухолей
цАМФ	— циклический аденозинмонофосфат
ЦМВ	— цитомегаловирус
ЦНС	— центральная нервная система
ЦПД	— цитопатогенное действие
ЦПЭ	— цитопатический эффект
ЦТЛ	— цитотоксические Т-лимфоциты
ЭГКП	— энтерогеморрагические кишечные палочки
ЭИКП	— энтероинвазивные кишечные палочки
ЭПКП	— энтеропатогенные кишечные палочки
ЭТКП	— энтеротоксигенные кишечные палочки
BCR	— В-клеточный рецептор
CD	— кластеры (группы) дифференцировки (cluster of differentiation)
CR	— рецептор к комплементу (complement receptor)

DAMPs	— опасность-распознающие рецепторы (damage-associated molecular pattern molecules)
IFN (ИФН)	— интерферон
IL	— интерлейкин
MALT	— лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками (mucosa-associated lymphoid tissue)
NK (ЕК)	— естественный киллер (natural killer)
PAMPs	— паттернраспознающие рецепторы (patogen-associated molecular patterns)
SALT	— лимфоидная ткань, ассоциированная с кожей (skin-associated lymphoid tissue)
T _H 1, 2, 17	— Т-хелпер (T-helper) 1-го типа, 2-го типа, 17-го типа
TCR	— Т-клеточный рецептор
T _{Reg}	— регуляторный Т-лимфоцит

The background of the cover is a composite of various microscopic organisms. It includes several rod-shaped bacteria, some with flagella, and several spherical viruses or bacteria with prominent, radiating surface structures. The colors are muted, with a palette of light green, yellow, and grey against a dark, textured background.

Часть I

Общая микробиология

1

Введение в микробиологию и иммунологию

1.1. Мир микробов

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. Размеры представителей микромира колеблются от 0,01–0,4 мкм, или 10–400 нм (вирусы), до 10 мкм и более (бактерии, грибы, простейшие).

Микромир включает бактерии, грибы, простейшие и вирусы. Всех их можно объединить единым термином — **микробы**. Этот термин ввел французский ученый Седдидло в конце XIX в. К микробам относятся одноклеточные и многоклеточные микроорганизмы, имеющие ядро (**эукариоты** — от греч. *karyon* — орех, ядро ореха), т.е. грибы и простейшие; доядерные клеточные микроорганизмы, т.е. бактерии, не имеющие оформленного ядра (**прокариоты**); доклеточные частицы — **вирусы**, представляющие собой комплекс нуклеиновых кислот и белков; инфекционные нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) и инфекционные белки — **прионы**.

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.

Микробы чрезвычайно разнообразны и широко распространены. Они обитают в почве, воде, атмосфере (даже в космосе), а также в организме человека, животных, растений. Общая биомасса микробов даже превышает биомассу растений и животных. В организме каждого человека обитает до 10^{14} микробов, играющих в качестве нормальной микрофлоры большую роль как в обеспече-

нии нормальной жизнедеятельности организма, так и в патологии человека (см. гл. 4).

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. комменсализма. В соответствии с этим это сожительство может носить отрицательный или положительный 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.

1.2. Микробиология

Микробиология — наука о микробах, точнее, наука о строении, жизнедеятельности и экологии микробов — мельчайших форм жизни, не видимых невооруженным глазом. Разнообразие мира микробов обусловило дифференциацию микробиологии на ряд разделов и направлений. Так, выделились **медицинская** микробиология, изучающая микробов (бактерий, грибов, вирусов, простейших), патогенных для человека; **ветеринарная**, изучающая микробов, патогенных для животных; **сельскохозяйственная**, изучающая микробов — вредителей растений; **морская**, 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.).

Медицинская микробиология, как и всякая наука, делится на общую (по методам и уровню исследования) и частную (по объекту исследования). Общая медицинская микробиология подразделяется на **морфологию, физиологию, биохимию, генетику, экологию и эволюцию микробов**, а частная — на **бактериологию, вирусологию, микологию и протозоологию**. Недавно были выделены **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.

Медицинская микробиология изучает биологические свойства возбудителей инфекционных болезней, т.е. их морфологию, физиологию (условия роста

и размножения, обмен веществ, потребности в питании и т.д.), генетику, экологию, а также этиологию и патогенез вызываемых инфекционных болезней. 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 — весьма разветвленная наука, имеющая связи со многими другими биологическими и медицинскими дисциплинами, прежде всего клиническими (инфекционные болезни, хирургия, внутренние болезни, акушерство и гинекология, заболевания мочеполовой системы и др.), медико-профилактическими (эпидемиология, гигиена, экология), а также фундаментальными науками (молекулярная биология, генетика, иммунология, биохимия).

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

1.3. Иммунология

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. Иммунология изучает механизмы и способы защиты организма от генетически чужеродных веществ — **антигенов** (от греч. *anti* — против, *genes* — род) — в целях поддержания и сохранения гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма, а также антигенной индивидуальности каждого организма и вида. Функции иммунной системы выполняет лимфатическая система, ее клетки — Т- и В-лимфоциты и фагоцитирующие клетки, а также ряд факторов иммунитета (антитела, комплемент, интерфероны и др.), которые работают в тесном кооперативном взаимодействии. Основной механизм действия иммунной системы сводится к распознаванию «чужого» и «своего» и уничтожению, 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, не только от антигенов растительного и животного происхождения, но и от своих собственных антигенов. Без иммунологии невозможно решение многих важных медицинских проблем, таких как борьба с инфекционными болезнями, аллергия, 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.

С открытием микробов и установлением их этиологической роли в возникновении инфекционных болезней исследователи начали искать пути предупреждения и лечения болезней, вызываемых ими. Изучались способы уничтожения микробов в окружающей среде (дезинфекция), пресечение путей передачи инфекционного начала, ранней диагностики инфекций, установление роли факторов патогенности и вирулентности микробов 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 противомикробные препараты (химиопрепараты, антибиотики, дезинфектанты), создать многочисленные профилактические и терапевтические иммунобиологические препараты (вакцины, сывороточные препараты, иммуномодуляторы), позволившие снизить инфекционную заболеваемость людей и даже ликвидировать некоторые инфекции.

1.4. История развития микробиологии и иммунологии

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 (эвристика — догадка, домысел) начинается с момента, когда Гиппократ (III–IV в. до н. э.) высказал догадку, предположение 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 плода-

ми деятельности микробов — виноделием, пивоварением, сыроделием, выпечкой хлеба и т.д.

Только в XV–XVI вв. итальянский врач и поэт Джералимо Фракасторо (1476–1553) предположил, что болезни вызывают «живые контагии», передающие их через воздух или через предметы; эти невидимые существа живут в окружающей среде, поэтому необходима изоляция больного, уничтожение контагий, окуливание можжевельником и т.д. Кстати, Д. 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 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 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.), Левенгук 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. Результаты этих наблюдений были изданы в 1695 г. на латинском языке отдельной большой книгой под названием «Тайны природы, открытые Антонием ван Левенгуком при помощи микроскопов». Конечно, наблюдения Левенгука были наивны и примитивны, однако зарисованные им формы микробов 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.

После открытия Левенгука началось победное шествие микробиологии. Открывались все новые бактерии, грибы, простейшие, а в конце XIX в. были открыты вирусы. Однако длительное время неясна 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 bubона 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 (Макс фон Петтенкофер, 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 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 не закончилось 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.

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 30–40 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.), бактерии, вызывающие болезнь легионеров, болезнь Лайма, коронавирусы, 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, ставится задача ликвидации полиомиелита и других инфекций. Тем не менее в будущем человека также ожидает появление новых или измененных возбудителей инфекционных болезней.

Физиологический период начался в XIX в. и продолжается до наших дней. С момента обнаружения микробов возник вопрос не только об их роли в патологии человека, но и об их устройстве, биологических свойствах, процессах

жизнедеятельности, экологии и т.д. 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) анаэробноз; 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 грибов усваиваются лишь определенные стереоизомеры. Таким образом, Л. Пастер стал основоположником стереохимии.

До Л. Пастера господствовала химическая теория брожения Либиха. Л. Пастер сделал замечательное открытие, доказав, что брожение (молочнокислородное, спиртовое, уксусное) — это биологическое явление, которое вызывается микробами, их ферментами, т.е. Пастер стал основоположником биотехнологии. До него 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. Л. Пастер изысканными опытами опроверг это положение. Он показал, что стерильный бульон, оставленный в открытой колбе, прорастал, но после его помещения в колбу, сообщающуюся с воздухом через спирально изогнутую стеклянную трубку, бульон не прорастал, так как бактерии и частицы пыли из воздуха осаждались на изогнутых частях спиральной трубки, не попадая в бульон.

Л. Пастер открыл явление анаэробноза среди микробов. Доказательство роли микробов в ферментативных процессах брожения, гниения, разложения белков и сахаров привело его к разработке способа борьбы с болезнями вина путем прогревания его при 50–60 °С в целях уничтожения бактерий, вызывавших брожение. Этот способ, названный затем пастеризацией, широко используется в пищевой промышленности, а также послужил основанием для разработки принципов асептики и дезинфекции. Наконец, ученый разработал принцип вакцинации и способ получения вакцин, о чем будет сказано ниже.

Значительный вклад в развитие микробиологии внес немецкий бактериолог Роберт Кох (1843–1910), который предложил окраску бактерий, микрофотографию, способ получения чистых культур, а также знаменитую триаду, получившую название триада Генле–Кох, 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 обнаруживал-

ся 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. Триада Генле—Коха имеет относительное значение, так как иногда трудно воспроизвести болезнь у животных (например, при ВИЧ-инфекции); нередко возбудитель обнаруживается у здоровых лиц (носительство).

Иммунологический период 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 назвать основоположниками иммунологии, так как Л. Пастер открыл и разработал принцип вакцинации, И.И. Мечников — фагоцитарную теорию, которая явилась основой клеточной иммунологии, а П. Эрлих высказал гипотезу об антителах и развил гуморальную теорию иммунитета.

Иммунологический период в 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. Он 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. Л. Пастер впервые получил из мозга больных бешенством собак и кроликов живую аттенуированную вакцину против бешенства; проверил профилактические и лечебные свойства вакцины на пациентах, укушенных бешеными 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.

За сделанные великим французом открытия благодарное человечество 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 жертвователей на организацию института были рабочие, банкиры, 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 противотуберкулезную вакцину БЦЖ), А. Лаверан (открыл плазмодия малярии), наш соотечественник А.М. Безредка (предложил метод десенсибилизации), Ж. Борде (иммунохимик), Г. 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 возникает по отношению ко всем чужеродным веществам (бактерии, органические частицы и т.д.). И.И. Мечников интересовался процессами старения, ролью нормальной микрофлоры человека, и его по праву считают родоначальником геронтологии и учения о дисбактериозах. Его теория фагоцитоза заложила краеугольный камень клеточной теории иммунитета и процесса иммуногенеза в целом. За исследования фагоцитоза И.И. Мечникову в 1908 г. присуждена Нобелевская премия. Л. Пастер на своем портрете, подаренном И.И. Мечникову, написал: «На память знаменитому И. Мечникову — творцу фагоцитарной теории».

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.

В 1900 г. Р. Кох открыл такую форму реагирования иммунной системы, как гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ); в 1902–1905 гг. Ш. Рише, Ж. Портье, Г.П. Сахаров описали гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ); обе эти формы реагирования легли в основу учения об аллергии (Пирке К., 1906). В 1950-х годах 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 интерфероны (А. Айзекс и Ж. Линдемэн), интерлейкины и другие иммуномодуляторы.

Иммунология в середине XX в. оформилась как самостоятельная наука, имеющая свои цели и задачи в области медицины, свою структуру и классификацию (см. гл. 9).

Молекулярно-генетический период сопровождался расшифровкой молекулярной структуры многих бактерий и вирусов, строения и состава их генома, структуры антигенов и антител, факторов патогенности бактерий и вирусов, а также факторов иммунной защиты (комплемент, интерфероны, иммуномодуляторы и др.). Большие успехи достигнуты в изучении иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоцитов, фагоцитов), их рецепторов, механизмов взаимодействия между собой и с другими факторами иммунной защиты, явления апоптоза и пироптоза клеток и т.д.

Расшифровка генов бактерий и вирусов, их синтез позволили создавать рекомбинантные ДНК и получать на их основе с помощью генетической инженерии рекомбинантные штаммы бактерий для синтеза разнообразных биологически активных веществ (интерферонов, интерлейкинов, гормонов, антигенов, антител, противоопухолевых и других лекарственных средств, пищевых белков, сахаров, аминокислот и т.д.). Генная инженерия позволила получать вакцинные и диагностические препараты (вакцина против гепатита В, диагностические и лечебные 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 для коррекции иммунного статуса. Разрабатывается иммуногенетика, целью которой является генопрофилактика и генотерапия иммунодефицитов. Широко применяется генодиагностика (полимеразная цепная реакция и др.).

Большие успехи достигнуты в изучении системы гистосовместимости (HLA-системы), что способствовало решению проблемы преодоления иммунологической несовместимости при пересадках органов и тканей, а также проблемы несовместимости матери и плода.

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

1.5. Вклад отечественных ученых в развитие микробиологии и иммунологии

Вклад отечественных ученых в развитие микробиологии и иммунологии трудно переоценить. 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.Н. 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 стал одним из основоположников иммунологии. В лаборатории Луи Пастера работали многие русские микробиологи и иммунологи (И.И. Мечников, А.М. Безредка, Н.Ф. Гамалея, Л.А. Тарасевич и др.); Д. И. Ивановский впервые открыл вирусы и стал основоположником вирусологии; Ф.А. Леш, 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. Н.Г. Габричевского), а в 1892 г. начал читать курс по бактериологии в Московском университете им. М.В. Ломоносова (ныне это кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Московского государственного медицинского университета имени 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 соавт.), аэрозольная вакцина против чумы (В.А. Лебединский, В.Н. Огарков и др.). В нашей стране производится до 1000 иммунобиологических препаратов.

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. 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. Тиماков — известный своими трудами по L-формам бактерий, длительное время возглавлявший президиум Академии медицинских наук СССР; М.П. Чумаков — иммунобиотехнолог и вирусолог, организатор Института полиомиелита и вирус-

ных 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; А.А. Воробьев — иммунобиотехнолог, один из основоположников отечественной вакцинологии и многие другие ученые. В настоящее время продуктивно работают над решением проблем микробиологии и иммунологии крупные ученые нашей страны: академики РАН Р.В. Петров, В.А. Черешнев, Р.М. Хаитов, В.И. Покровский, В.В. Зверев, Д.К. Львов, С.Г. Дроздов, С.М. Клименко, В.А. Лашкевич, А.Л. Гинзбург и др.

1.6. Значение микробиологии и иммунологии для врача

Микробиология и иммунология проникают буквально во все медицинские дисциплины. 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, уметь 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 даже в 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, 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, аутоиммунные болезни и иммунопатологические состояния, 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 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 имунотрансплантологии и пути преодоления иммунологической несовместимости.

В-седьмых, климатические, социальные, профессиональные и другие явления воздействуют не только на организм человека, но и на микрофлору, распространенную как в природе, так и населяющую организм человека. Значит, 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.

Таким образом, знание микробиологии (бактериология, вирусология, микология, протозоология) и иммунологии необходимо каждому врачу, каждому медицинскому работнику независимо от профиля его работы.

2

Морфология и классификация микробов

2.1. 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* (табл. 2.1) 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).

Таблица 2.1

Таксономические категории, применяемые при классификации микробов

Таксономические категории	Пример для бактерий	Пример для грибов	Пример для простейших	Пример для вирусов
Домен (Domain)	<i>Bacteria</i>	<i>Eukarya</i>	<i>Eukarya</i>	—
Царство (Kingdom)		<i>Fungi (Eumycota)</i>	<i>Protozoa</i>	<i>Virae</i>
Тип* (Phylum)	<i>Proteobacteria</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Sporozoa</i>	—
Класс (Class)	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Archiascomycetes</i>	<i>Coccidea</i>	—
Порядок (Order)	<i>Thiotrichales</i>	<i>Pneumocystidales</i>	<i>Haemosporida</i>	<i>Mononegavirales</i>

Таксономические категории	Пример для бактерий	Пример для грибов	Пример для простейших	Пример для вирусов
Семейство (Family)	<i>Francisellaceae</i>	—	—	<i>Rhabdoviridae</i>
Род (Genus)	<i>Francisella</i>	<i>Pneumocystis</i>	<i>Plasmodium</i>	<i>Lyssavirus</i>
Вид (Species)	<i>Francisella tularensis</i>	<i>Pneumocystis jiroveci</i>	<i>Plasmodium vivax</i>	<i>Rabies virus</i> (вирус бешенства)
Подвид (Subspecies)	<i>F. tularensis</i> subsp. <i>tularensis</i>	—	—	—

* Для таксонов высшего ранга предпочтительно название «Тип» (Phylum), а не «Отдел» (Division).

Микроорганизмы представлены доклеточными формами (вирусы — царство *Virae*) и клеточными формами (бактерии, архебактерии, грибы и простейшие).

По новому высшему уровню в иерархии классификации клеточных форм жизни различают царства микроорганизмов, объединенные в три домена (или «империи»), — *Bacteria*, *Archaea* и *Eukarya*:

- **домен *Bacteria*** — прокариоты, представленные настоящими бактериями (эубактериями);
- **домен *Archaea*** — прокариоты, представленные археями, или 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 царства ***Protozoa*** (простейшие), ***Eumycota*** (настоящие грибы) и ***Chromista*** (хромовики). Царство *Chromista* (*Stramenopila*) — новое, образованное в результате реклассификации некоторых простейших и грибов из более раннего устаревшего таксона — царства грибов (*Fungi*, *Mycota*).

Одной из основных таксономических категорий является **вид** (*species*) — 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.

2.2. Классификация и морфология бактерий

Классификация бактерий. Решением Международного кодекса для бактерий рекомендованы следующие таксономические категории: класс, отдел, порядок, семейство, род, вид. Название вида бактерий 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.).

Согласно Руководству Берджи последних изданий (2001–2011 гг.), бактерии делят на два домена: ***Bacteria*** и ***Archaea*** (табл. 2.2).

Таблица 2.2

Характеристика доменов *Bacteria* и *Archaea*

Домен <i>Bacteria</i> (эубактерии)	Домен <i>Archaea</i> (археи, или археобактерии)
В домене <i>Bacteria</i> можно выделить следующие бактерии: 1) с тонкой клеточной стенкой, грам-отрицательные*; 2) с толстой клеточной стенкой, грам-положительные; 3) без клеточной стенки (класс <i>Mollicutes</i> — микоплазмы)	<i>Археи</i> — одна из древних форм жизни, на что указывает приставка «архе». Они могут расти при высокой температуре, повышенной концентрации соли, высоком давлении. Часть из них — метаногены, облигатные анаэробы; не содержат пептидогликан в клеточной стенке. Имеют особые рибосомы и рибосомные РНК (рРНК). Среди них нет возбудителей инфекций

* Большинство грамотрицательных бактерий объединены в тип **протеобактерии**, основанный на сходстве по рибосомной РНК (*Proteobacteria* — от греческого бога Протеуса, принимавшего разнообразные формы).

В домен ***Bacteria*** входят 30 типов бактерий, из которых имеют медицинское значение следующие (по Берджи 2001–2011 гг.).

Тип <i>Proteobacteria</i> Класс <i>Alphaproteobacteria</i>. Роды: <i>Rickettsia, Orientia, Anaplasma, Ehrlichia, Neorickettsia, Bartonella, Brucella</i> Класс <i>Betaproteobacteria</i>. Роды: <i>Burkholderia, Bordetella, Neisseria, Kingella, Alcaligenes, Spirillum</i> Класс <i>Gammaproteobacteria</i>. Роды: <i>Francisella, Legionella, Coxiella, Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Vibrio, Enterobacter, Callimotobacterium, Citrobacter, Edwardsiella, Erwinia, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Salmonella, Serratia, Shigella, Yersinia, Pasteurella</i> Класс <i>Deltaproteobacteria</i>. Род: <i>Bilophila</i> Класс <i>Epsilonproteobacteria</i>. Роды: <i>Campylobacter, Helicobacter, Wolinella</i>
Тип <i>Firmicutes</i> (главным образом грамположительные) Класс <i>Bacilli</i>. Роды: <i>Bacillus, Listeria, Staphylococcus, Streptococcus, Gemella, Lactobacillus, Pediococcus, Aerococcus, Leuconostoc, Lactococcus, Sporosarcina</i>, Класс <i>Clostridia</i>. Роды: <i>Clostridium, Eubacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Sarcina, Ruminococcus, Veillonella</i> (грамотрицательные)
Тип <i>Tenericutes</i> Класс <i>Mollicutes</i>. Роды: <i>Mycoplasma, Ureaplasma</i>
Тип <i>Actinobacteria</i> Класс <i>Actinobacteria</i>. Роды: <i>Actinomyces, Arcanodacterium, Mobiluncus, Micrococcus, Rothia, Stomatococcus, Corynebacterium, Mycobacterium, Nocardia, Propionibacterium, Bifidobacterium, Gardnerella</i>
Тип <i>Chlamydiae</i> Класс <i>Chlamydiae</i>. Роды: <i>Chlamydia, Chlamydophila</i>
Тип <i>Spirochaetes</i> Класс <i>Spirochaetes</i>. Роды: <i>Spirochaeta, Borrelia, Treponema, Leptospira</i>
Тип <i>Bacteroidetes</i> Класс <i>Bacteroidetes</i>. Роды: <i>Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella</i> Класс <i>Flavobacteria</i>. Род: <i>Flavobacterium</i>
Тип <i>Fusobacteria</i> Класс <i>Fusobacteria</i>. Род: <i>Fusobacterium</i>

Подразделение бактерий (в домене *Bacteria*) по особенностям строения клеточной стенки связано с возможной вариабельностью их окраски в тот или иной цвет по методу Грама. По этому методу, предложенному в 1884 г. датским ученым Х. Грамом, 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 имеют грамотрицательную окраску. Поэтому для таксономии бактерий бóльшую значимость, чем окраска по Граму, имеют особенности строения и химического состава клеточных стенок.

Грамотрицательные бактерии имеют тонкую клеточную стенку (рис. 2.1). К ним относятся *сферические* формы (кокки — гонококки, менингококки, вейлонеллы), *извитые* — спирохеты и спириллы, а также *палочковидные* формы и наиболее мелкие бактерии (риккетсии и хламидии — *облигатные внутриклеточные* паразиты).

Для **грамположительных бактерий** характерна толстая клеточная стенка. К ним относятся *сферические формы* (кокки — стафилококки, стрептококки, пневмококки), *палочковидные* формы и *ветвящиеся, нитевидные* формы (актиномицеты).

2.2.1. Формы бактерий

Основные формы бактерий (кокки, палочки, спирохеты и др.) представлены на рис. 2.1.

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. *diploos* — двойной) 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 (см. рис. 2.1).
- **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.

* Размеры бактерий измеряются в микрометрах (мкм), а размеры их отдельных компонентов — в нанометрах (нм). Один микрометр равен 1000 нм.

Грамотрицательные бактерии (красного цвета по Граму) с тонкой клеточной стенкой	Грамположительные бактерии (сине-фиолетового цвета по Граму) с толстой клеточной стенкой
Гонококки	Стафилококки
Менингококки	Стрептококки
Вейлонеллы	Пневмококки
Палочки (<i>Escherichia coli</i> и др.)	Палочки
Вибрионы	Бациллы
Кампилобактерии Хеликобактерии	Клюстридии
Спириллы	Коринебактерии
Спирохеты	Микобактерии
Риккетсии	Бифидобактерии
Хламидии	Актиномицеты

Рис. 2.1. Формы грамотрицательных и грамположительных бактерий. Некоторые бактерии образуют споры, располагающиеся центрально (1), субтерминально (2) или терминально (3)

- **Сарцины** (от лат. *sarcina* — связка, тюк) располагаются в виде пакетов из восьми 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. Палочки могут быть правильной (кишечная палочка) и неправильной (коринебактерии) формы, в том числе ветвящиеся, например у актиномицетов. К наиболее мелким палочковидным бактериям относятся риккетсии.

Длина клеток варьирует от 1,0 до 10 мкм, толщина — от 0,5 до 2,0 мкм. 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, к которым относятся *спириллы*, *кампилобактерии*, *хеликобактерии* и *спирохеты*.

Спириллы имеют вид штопорообразно извитых клеток. К патогенным спириллам относится возбудитель содоку (болезнь укуса крыс). **Кампилобактерии** и **хеликобактерии** имеют изгибы как у крыла летящей чайки.

Спирохеты — тонкие, длинные, извитые (спиралевидной формы) бактерии, отличающиеся от спирилл подвижностью, обусловленной сгибаемыми изменениями клеток. Они имеют тонкую наружную мембрану клеточной стенки, окружающую протоплазматический цилиндр с цитоплазматической мембраной и периплазматические фибриллы (жгутики), которые как бы закручиваются вокруг протоплазматического цилиндра спирохеты, придавая ей винтообразную форму (первичные завитки спирохет). Периплазматические фибриллы — аналоги обычных жгутиков бактерий и представляют собой сократительный белок флагеллин.



Рис. 2.2. Электронограмма фрагмента клетки *Treponema pallidum* (негативное контрастирование) (по Н.М. Овчинникову и В.В. Делекторскому)

Они 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, сгибаемое 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.

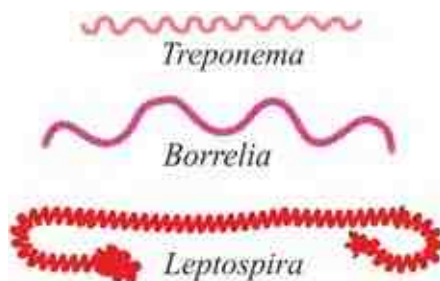


Рис. 2.3. Морфология спирохет

Спирохеты представлены тремя родами, патогенными для человека: *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira* (рис. 2.3).

- **Трепоне́мы** (род *Treponema*) имеют вид тонких штопорообразно закрученных нитей с 8–12 равномерными мелкими завитками. 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 имеют по 3–8 крупных завитков. 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*. Патогенный представитель *L. interrogans* вызывает лептоспироз при попадании в организм с водой или пищей, приводя к развитию кровоизлияний и желтухи.

Ветвящиеся, нитевидные формы и палочки неправильной формы представлены актиномицетами и родственными с ними бактериями (нокардиями, микобактериями, коринебактериями 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 делить-

ся путем фрагментации мицелия на палочковидные и кокковидные формы. На воздушных гифах некоторых представителей типа *Actinobacteria*, куда входят актиномицеты, образуются экзогенные споры, служащие для размножения. Эти споры 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. Ноккардиоподобные 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–Нильсену они имеют красный цвет, а неокислотоустойчивые бактерии и элементы ткани, мокроты — синий цвет).

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

Риккетсии — мелкие грамотрицательные палочковидные бактерии ((0,3–0,5) × (0,8–2,0) 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 риккетсий 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 являются облигатными внутриклеточными кокковидными грамотрицательными (иногда грамвариабельными) бактериями.

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. В пептидогликане клеточной стенки хламидий отсутствует N-ацетилмурамовая кислота.

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 и вступают в новый цикл, инфицируя другие клетки (см. рис. 16.1). У человека хламидии вызывают поражения глаз (трахома, конъюнктивит), урогенитального тракта, легких и др.

Микоплазмы — мелкие бактерии (0,3–0,8 мкм), не имеющие клеточной стенки; окружены только цитоплазматической мембраной, содержащей стеролы. Они относятся к типу *Tenericutes* классу *Mollicutes* (от лат. *mollis* — мягкий, или гибкий; *cutis* — кожа).

Из-за отсутствия клеточной стенки микоплазмы осмотически чувствительны. Имеют кокковидную, нитевидную или колбовидную форму, сходны с L-формами бактерий (выявляют при фазово-контрастной микроскопии). На плотной питательной среде микоплазмы образуют мелкие колонии, напоминающие яичницу-глазунью: центральная непрозрачная часть, погруженная в среду, и просвечивающая периферия в виде круга. Они вызывают у человека атипичную пневмонию (*Mycoplasma pneumoniae*) и поражают мочеполовой тракт (*M. hominis* и др.). Микоплазмы могут поражать не только животных, но и растения. Широко распространены и непатогенные представители.

2.2.2. 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, жгутики, пили (рис. 2.4). 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. 2.5 и 2.7). Так, если толщина клеточной стенки грамотрицательных бактерий около 15–20 нм, то у грамположительных она может достигать 50 нм и более.

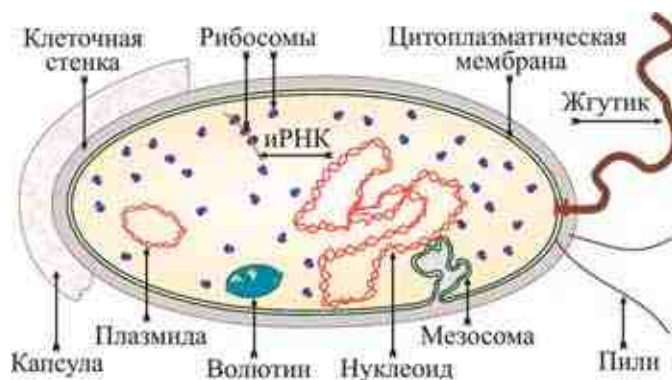


Рис. 2.4. Строение бактериальной клетки

В **клеточной стенке грамположительных бактерий** 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 грамположительных бактерий ковалентно связаны **тейхоевые кислоты** (от греч. *teichos* — стенка), являющиеся полимерами глицеролфосфата и рибитолфосфата. Имеются также **липотейхоевые кислоты**, которые гидрофобно связаны с цитоплазматической мембраной (см. рис. 2.5). Тейхоевые и липотейхоевые кислоты имеют высокую плотность отрицательного заряда. Эти полимеры участвуют в делении клетки, в регуляции синтеза и распада клеточной стенки, в адгезии на клетках организма при инфицировании. Форму и прочность бактериям придает 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 (рис. 2.6), 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,

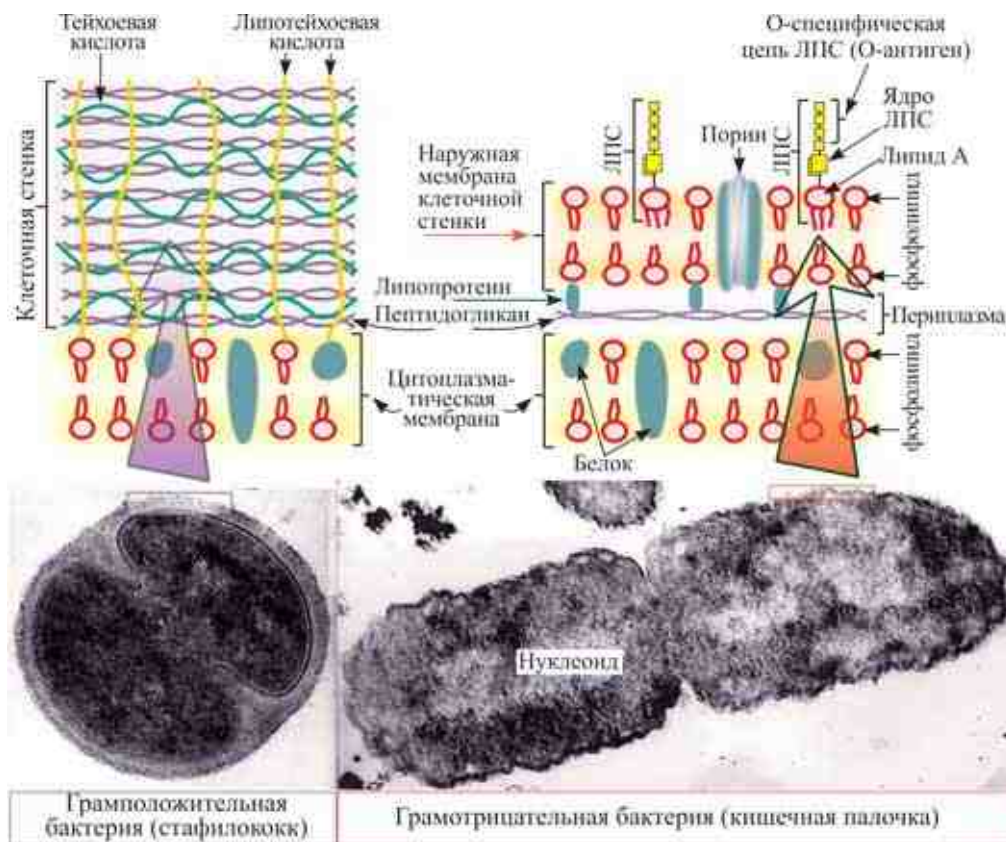


Рис. 2.5. Схема строения оболочек (клеточной стенки и цитоплазматической мембраны) грамположительных и грамотрицательных бактерий. Внизу — электронограммы ультратонких срезов стафилококка и кишечной палочки в стадии деления

например L-аланин — D-глутаминовая кислота — мезодиаминопимелиновая кислота — D-аланин. У *E. coli* (грамотрицательная бактерия) пептидные цепи соединены друг с другом через D-аланин одной цепи и мезодиаминопимелиновую кислоту — другой (см. рис. 2.6). 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 пяти остатков глицина (пентаглицина). Вместо мезодиаминопимелиновой кислоты они часто содержат лизин.

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

При окраске по Граму многослойный пептидогликан грамположительных бактерий после обработки мазка спиртом удерживает комплекс генцианового фиолетового с йодом, чем обусловлена сине-фиолетовая окраска клеток. Грам-отрицательные бактерии, наоборот, после воздействия спиртом утрачивают краситель, что обусловлено меньшим количеством пептидогликана (5–10% массы клеточной стенки); они обесцвечиваются спиртом и после обработки фуксином или сафранином приобретают красный цвет.



Рис. 2.6. Пептидогликан состоит из пептида и гликана. При разрушении пептидогликана лизоцимом образуется **мурамилдипептид** — мощный иммуномодулятор

В *состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий* входит *наружная мембрана*, связанная посредством липопroteина с подлежащим слоем пептидогликана (см. рис. 2.5, 2.8). 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 двойной слой липидов.

Наружная мембрана — мозаичная структура, состоящая из липополисахаридов, фосфолипидов и белков. Внутренний слой ее представлен фосфолипидами, а в наружном слое расположен **липополисахарид (ЛПС)**. Таким образом, наружная мембрана асимметрична. ЛПС наружной мембраны состоит из трех фрагментов:

- *липид А* — консервативной структуры, практически одинаковой у грамотрицательных бактерий;
- *ядра*, или *стержневой, коровой части* (от лат. *core* — ядро), относительно консервативного олигосахарида;
- 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 эндоток-

сина, что может вызвать у больного эндотоксический шок. От *липид* А отходит ядро, или стержневая часть ЛПС. Наиболее постоянной частью ядра ЛПС является кетодезоксиоктоновая кислота (3-деокси-D-манно-2-октулозоновая кислота). О-специфическая цепь, отходящая от стержневой части молекулы ЛПС, обуславливает 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. Бактерии с полноценным ЛПС образуют гладкие с блестящей поверхностью колонии, получившие название **S-форм** (Smooth — гладкий). Генетические изменения могут привести к дефектам, «укорочению» ЛПС бактерий и к появлению в результате этого «шероховатых» колоний **R-форм** (Rough — шероховатый).

Белки матрикса наружной мембраны пронизывают ее таким образом, что молекулы белка, называемые *пори*нами, 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, β -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 лишённые 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 (нестабильные) 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 (два темных слоя толщиной по 2,5 нм каждый разделены светлым — промежуточным). По структуре (см. рис. 2.4 и 2.7) она похожа на плазмалемму клеток животных и состоит из двойного слоя липидов, главным образом фосфолипидов, с внедренными поверх-

ностными, а также интегральными белками, как бы пронизывающими насквозь структуру мембраны. Некоторые из них являются пермеазами, участвующими в транспорте веществ.

Цитоплазматическая мембрана — динамическая структура 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 объем 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 16S-рРНК считается основой геносистематики и позволяет оценить степень родства организмов.

В цитоплазме имеются различные включения в виде гранул гликогена, полисахаридов, β -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 метакхроматических 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 волутина 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 (у *Borrelia burgdorferi* — линейная ДНК). При нарушении деления в бактерии может находиться 4 и более хромосомы. 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 (рис. 2.7 и 2.8).



Рис. 2.7. Электронограмма ультратонкого среза клетки грамположительной бактерии *Listeria monocytogenes* (по А.А. Авакян, Л.Н. Кац, И.Б. Павловой)

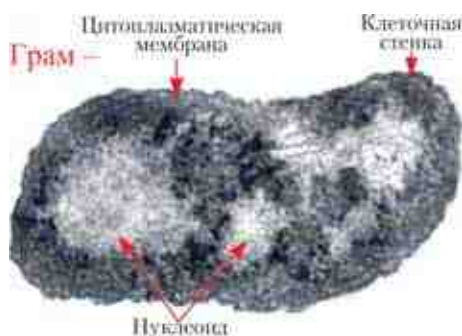


Рис. 2.8. Электронограмма ультратонкого среза клетки грамотрицательной бактерии *Brucella melitensis* (по А.А. Авакян, Л.Н. Кац, И.Б. Павловой)

Кроме нуклеоида, представленного одной хромосомой, в бактериальной клетке имеются внехромосомные факторы наследственности — **плазмиды**, представляющие собой ковалентно замкнутые кольца ДНК. Плазмиды придают бактериям дополнительные свойства: устойчивость к антибиотикам (R-плазмиды), способность к передаче генетического материала при конъюгации (F-плазмиды), продукция бактериоцинов, в частности колицинов, подавляющих рост других бактерий (Col-плазмиды), и другие свойства.

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 (рис. 2.9). 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).

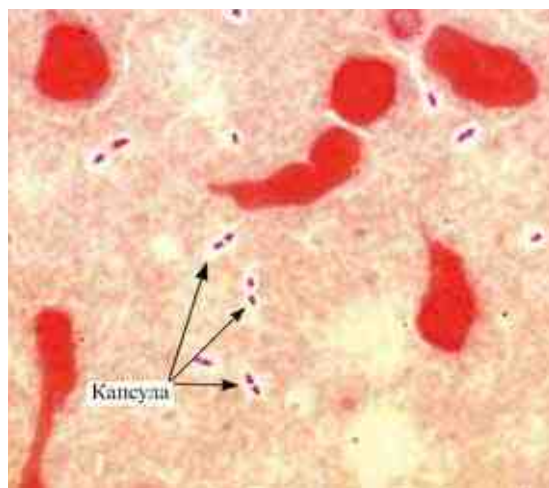


Рис. 2.9. Мазок из клинического материала: капсулы пневмококка (*Streptococcus pneumoniae*) контрастируются окружающей тканью, окраска по Граму

Многие бактерии образуют **микрокапсулу** — слизистое образование толщиной менее 0,2 мкм, выявляемое лишь при электронной микроскопии. От капсу-

лы 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 (прилипанию 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, будучи гидрофильными, хорошо связывают воду, препятствуют действию защитных факторов макроорганизма и бактериофагов.

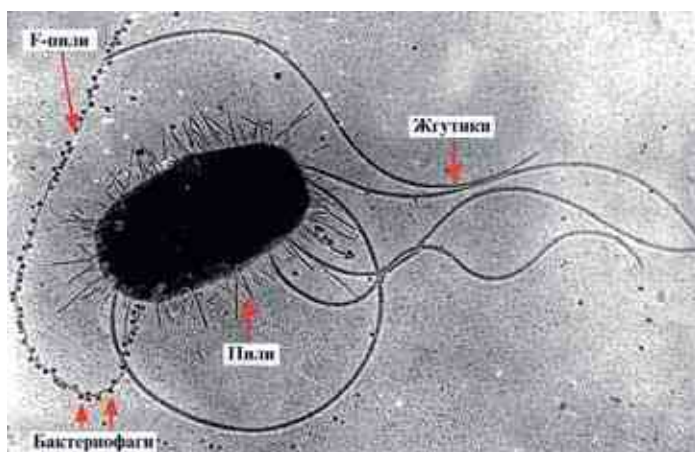


Рис. 2.10. Электронограмма кишечной палочки. Видны: жгутики; многочисленные, расположенные вокруг клетки тонкие ворсинки (пили); половая ворсинка (F-пили), на которой адсорбированы «мужские» сферические бактериофаги (по В.С. Тюрину)

Жгутики бактерий определяют подвижность бактериальной клетки. Они представляют собой тонкие нити, берущие начало от цитоплазматической мембраны, имеют большую длину, чем сама клетка (рис. 2.10). Толщина жгутиков 12–20 нм, длина 3–15 мкм. Они состоят из трех частей: спиралевидной нити, крюка и базального тельца, содержащего стержень со специальными дисками (одна пара дисков — у грамположительных и две 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, протей и др. *Лофотрихи* имеют пучок жгутиков на одном из концов клетки. *Амфитрихи* — 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).

Пили (фимбрии, ворсинки) — нитевидные образования (см. рис. 2.10), более тонкие и короткие (3–10 нм × 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. Одни из самых тонких пилей (толщина 1–2 нм), называемые «кудряшками», способны сваливаться, агрегируя клетки. Они участвуют в адгезии, коагрегации, формировании биологической пленки и, что показано для гибких пилей IV типа, в движении клетки. Пили I типа — ригидные гибкие нити с адгезивными концами.

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 взаимодействие с особыми «мужскими» сферическими бактериофагами, которые интенсивно адсорбируются на половых пилиях (см. рис. 2.10).

Споры — своеобразная форма покоящихся бактерий с грамположительным типом строения клеточной стенки (рис. 2.11).

Споры образуются при неблагоприятных условиях существования бактерий (высушивание, УФ-облучение, 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 *кloстридиями*, например бактерии рода *Clostridium* (от лат. *clostridium* — веретено). Споры кислотоустойчивы, поэтому окрашиваются по методу Ауески или по методу Циля—Нельсена в красный, а вегетативная клетка — в синий.

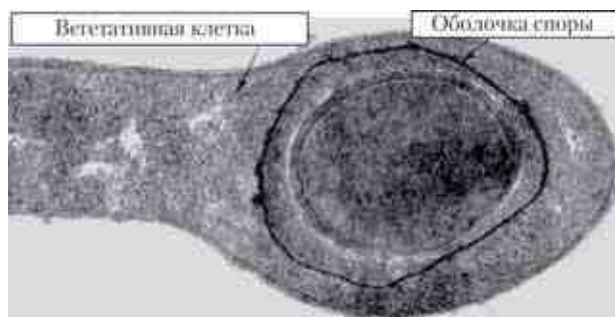


Рис. 2.11. Электронограмма ультратонкого среза столбнячной палочки (*Clostridium tetani*) в процессе спорообразования. В вегетативной клетке столбнячной палочки формируется терминальная спора с многослойной оболочкой (по А.А. Авакян, Л.Н. Кац, И.Б. Павловой)

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 растущей цитоплазматической мембраной, — образуется протоспора. Протоспору 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 протоспор, а затем и формирующейся оболочкой споры дипикколиновой кислоты и ионов кальция. Спора приобретает **термоустойчивость**, которую связывают с наличием в ней дипикколината кальция.

Спора долго может сохраняться из-за наличия многослойной оболочки, дипикколината кальция, низкого содержания воды и вялых процессов метаболизма. В почве, например споры возбудителей 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.

2.3. Строение и классификация грибов

Грибы — многоклеточные или одноклеточные нефотосинтезирующие (бесхлорофильные) эукариотические микроорганизмы с толстой клеточной стенкой. Они относятся к домену *Eukarya* царству *Eumycota*.

Ранее грибы относили к царству *Fungi* (*Mycota*, *Mycetes*). Некоторые микроорганизмы, ранее считавшиеся грибами или простейшими, были перемещены в новое царство *Chromista* (хромовики), а большинство грибов составили новое царство настоящих грибов — *Eumycota*. Они 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, липидов 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*. Грибы широко распространены в природе, особенно в почве.

Различают два основных типа грибов: гифальный и дрожжевой.

Гифальные (плесневые) грибы образуют ветвящиеся тонкие нити (гифы), сплетающиеся в грибницу, или мицелий (плесень). Толщина гифов 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 *нижних грибов* не имеют перегородок. Они представлены многоядерными клетками и называются ценоцитными (от греч. *koinos* — единый, общий). Гифы *высших грибов* разделены перегородками, или септами, с отверстиями.

Дрожжевые грибы (дрожжи) в основном имеют вид отдельных овальных клеток. Дрожжи — одноклеточные грибы. Они имеют половое и бесполое размножение. При бесполом размножении дрожжи образуют почки или делятся, что приводит к одноклеточному росту. Могут образовывать псевдогифы и ложный мицелий (псевдомицелий), состоящие из цепочек удлинённых 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 гифов и бесполыми спорами. Эндогенные споры (**спорангиоспоры**) созревают внутри округлой структуры — спорангия (рис. 2.12). Экзогенные споры (**конидии**) формируются на кончиках плодоносящих гифов, так называемых «конидиеносцах» (рис. 2.13).

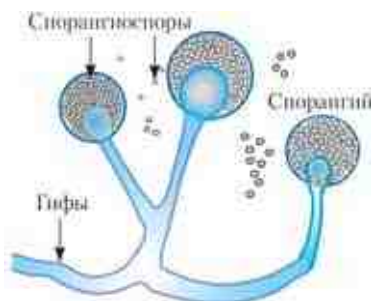


Рис. 2.12. Грибы рода *Mucor*

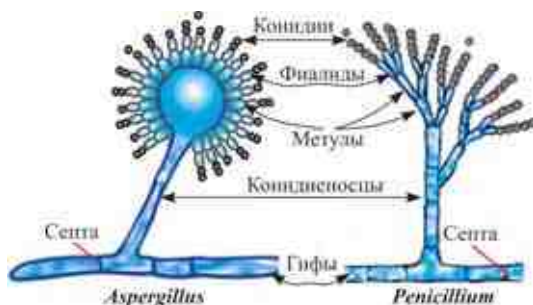


Рис. 2.13. Грибы рода *Penicillium* и *Aspergillus*

Основные типы конидий — **артроконидии** (артроспоры), или **таллоконидии** (старое название — оидии, таллоспоры), — образуются путем равномерного септирования и расчленения гифов; **бластоконидии** образуются в результате почкования. Одноклеточные небольшие конидии называются **микроконидиями**. Многоклеточные большие конидии — **макроконидиями**. К бесполом 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.

Царство настоящих грибов *Eumycota* включает четыре типа (*Phylum*) грибов, имеющих медицинское значение (табл. 2.3): зигомицеты (*Zygomycota*), аскомицеты (*Ascomycota*) базидиомицеты (*Basidiomycota*) и дейтеромицеты (*Deiteromycota* — формальный условный тип/группа грибов). Различают совершенные и несовершенные грибы. **Совершенные грибы** имеют половой способ размножения; к ним относят зигомицеты, аскомицеты и базидиомицеты. **Несовершенные грибы** имеют только бесполой способ размножения; к ним относят дейтеромицеты.

Таблица 2.3

Основные группы грибов, имеющих медицинское значение*

Таксоны	Основные роды	Болезни людей
Зигомицеты (тип <i>Zygomycota</i>)	<i>Rhizopus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizomucor</i> , <i>Absidia</i> , <i>Cunninghamella</i> , <i>Sacsenaea</i> <i>Basidiobolus</i> , <i>Conidiobolus</i>	Зигомикоз
Аскомицеты (тип <i>Ascomycota</i>)	Дрожжи: <i>Saccharomyces</i> , <i>Pichia</i> (телеоморфы некоторых <i>Candida</i> spp.)	Многочисленные микозы
	<i>Arthroderma</i> (телеоморфы видов <i>Trichophyton</i> и <i>Microsporum</i>)	Дерматомикозы
	Телеоморфы некоторых <i>Aspergillus</i> и <i>Penicillium</i> spp.	Аспергиллез, пенициллез
	<i>Nectria</i> , <i>Gibberella</i> (телеоморфы многих видов грибов рода <i>Fusarium</i>)	Кератоз, гиагогифомикоз
	<i>Pneumocystis (carinii) jiroveci</i>	Пневмония
Базидиомицеты (тип <i>Basidiomycota</i>)	<i>Amanita</i> , <i>Agaricus</i>	Отравление ядовитыми грибами
	Дрожжи: <i>Filobasidiella</i> (телеоморфы <i>Cryptococcus neoformans</i>)	Криптококкоз
Дейтеромицеты (формальная группа <i>Deiteromycota</i>)	Несовершенные дрожжи: <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Trichosporon</i> , <i>Malassezia</i>	Многочисленные микозы
	<i>Epidermophyton</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Paracoccidioides</i> , <i>Sporothrix</i> , <i>Aspergillus</i>	Многочисленные микозы
	<i>Phialophora</i> , <i>Fonsecaea</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Wangiella</i> , <i>Cladophialophora</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohilum</i> , <i>Phoma</i>	Хромобластомикоз, мицетомы, 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 *Chromista (Stramenopila)* типу *Oomycota*.

Зигомицеты относятся к низшим грибам. Они включают виды родов *Mucor*, *Rhizopus* и др. Распространены в почве, воздухе и способны вызывать зигомикоз (мукомикоз) легких, головного мозга и других органов человека и животных. Половое размножение у зигомицетов осуществляется путем образо-

вания зигоспор. При бесполом размножении этих грибов на плодоносящей гифе, **спорангиеносце**, образуется спорангий с многочисленными **спорангиоспорами** (см. рис. 2.12).

Недавно к зигомицетам отнесли **микроспоридии** — условно-патогенные грибы класса *Microsporidia*. Это многочисленные виды маленьких облигатных внутриклеточных паразитов, вызывающих у ослабленных людей диарею и поражения различных органов. Они имеют особые споры с инфекционным материалом — спороплазмой.

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 бесполом путем, и должны быть отнесены по этому признаку к несовершенным грибам. Они отличаются особенностями формирования плодоносящих гифов (см. рис. 2.13). У грибов рода *Aspergillus* (леечная плесень) на концах плодоносящих гифов, конидиеносцах, имеются утолщения — **стеригмы**, **фиалиды**, на которых образуются цепочки спор — конидии. Некоторые виды аспергилл могут вызывать аспергиллезы и афлатоксикозы (см. разд. 17.5.4). 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 (см. разд. 17.5.5).

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 съедобные и ядовитые 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. 2.14), диаметр 2–5 мкм, делятся почкованием, образуют псевдогифы (псевдомицелий) в виде цепочек из удлинённых клеток и септированных гиф. Эти грибы называются дрожжеподобными в отличие от истинных дрожжей, которые относятся к аскомицетам, образующим аскоспоры. Для *Candida albicans* характерно образование хламидоспор.

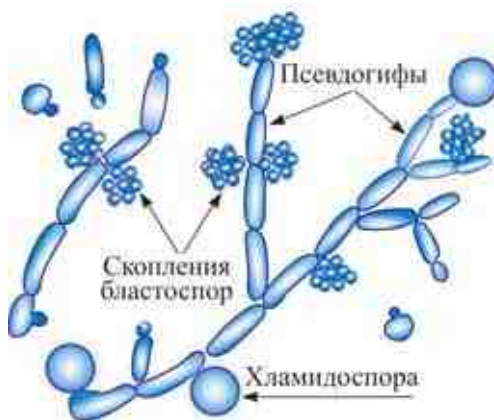


Рис. 2.14. Грибы *Candida albicans*

2.4. Строение и классификация простейших

Простейшие — эукариотические одноклеточные микроорганизмы, составляющие **царство Protozoa** (от греч. *protos* — первый, *zoon* — животное) в домене *Eukarya*. Недавно выделено новое царство — **Chromista** (хромовики), в которое вошли некоторые простейшие и грибы (бластоцисты, оомицеты, *Rhinosporidium seeberi* и др.).

Простейшие имеют ядро с ядерной оболочкой и ядрышком, их цитоплазма состоит из эндоплазматического ретикулума, митохондрий, лизосом, многочисленных рибосом и др.

Размеры простейших колеблются 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. У некоторых простейших есть опорные фибриллы. Питание простейших происходит путем фагоцитоза или образования особых структур, а размножение — бесполом путем (двойное деление или множественное деление — **шизогония**) или 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.

Царство Protozoa включает амёбы, жгутиконосцы, споровики и реснитчатые (рис. 2.15).

- **Амёбы** представлены *Entamoeba histolytica* — возбудителем амёбиаза человека (амёбной дизентерии), а также свободно живущими и непатогенными амёбами (кишечной амёбой и др.). Они размножаются бесполом путем (бинарно). Жизненный цикл амёб состоит из двух стадий: трофозои́та (растущая, подвижная клетка, малоустойчивая) и цисты. Трофозоиты передвигаются путем образования псевдоподий, с помощью которых происходят захват и погружение в цитоплазму клеток питательных веществ. Из трофозои́та образуется циста, устойчивая к внешним факторам. Циста, попадая в кишечник, превращается в трофозоит.
- **Жгутиконосцы** включают жгутиконосцев крови и других тканей:
 - жгутиконосцы крови и тканей (лейшмании — возбудители *лейшманиоза*; трипаномы — возбудители африканского *трипаномоза*, или сонной болезни, и *болезни Шагаса*);
 - жгутиконосцы кишечника (лямблия — возбудитель *лямблиоза*);
 - жгутиконосцы мочеполового тракта (трихомонада влагалищная — возбудитель *трихомоноза*).

Эти простейшие характеризуются наличием жгутиков, например у лейшманий — один жгутик, у трихомонад — четыре свободных жгутика и один жгутик, соединенный с короткой ундулирующей мембраной.

- **Споровики** представлены кровяными, кишечными и тканевыми паразитами:
 - к кровяным паразитам относятся плазмодии малярии и бабезии — возбудители *пироплазмоза*;
 - к кишечным и тканевым паразитам относятся токсоплазма — возбудитель *токсоплазмоза*, криптоспоридии — возбудители *криптоспоридиоза*, саркоцисты — возбудители *саркоцистоза*, изоспоры — возбудители *изоспороза*, циклоспоры — возбудители *циклоспоридиоза*.

Паразиты имеют апикальный комплекс, который позволяет им проникнуть в клетку хозяина для последующего внутриклеточного паразитизма. Каждый из этих простейших 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 печени и эритроцитах человека, где они размножаются множественным делением).

- **Реснитчатые** представлены балантидиями, которые поражают толстую кишку человека (*балантидиазная дизентерия*). Балантидии имеют стадию трофозоида и цисты. Трофозоит подвижен, обладает многочисленными ресничками, более тонкими и короткими, чем жгутики.

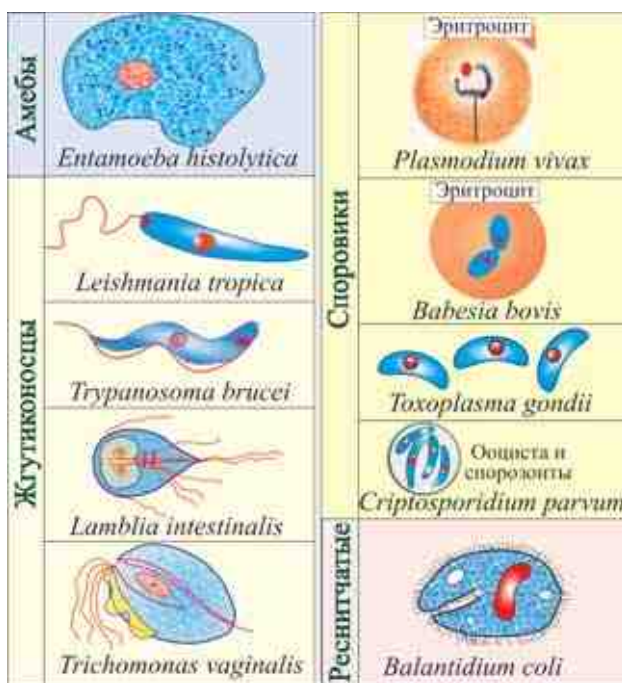


Рис. 2.15. Морфология основных представителей простейших

2.5. Строение и классификация вирусов

Вирусы относятся к **царству Virae** (от лат. *virus* — яд). Это мельчайшие микробы («фильтрующиеся агенты»), не имеющие клеточного строения, белоксинтезирующей системы, содержащие один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК).

Вирусы как облигатные внутриклеточные паразиты 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. 2.16): 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 мелкие — парвовирусы (18 нм) и вирус полиомиелита (около 20 нм), наиболее крупный — 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, одонитевыми, линейными, кольцевыми, фрагментированными.

Среди одонитевых РНК-содержащих вирусов различают вирусы с плюс-нитью РНК и минус-нитью РНК (полярность РНК). **Плюс-нить РНК** (позитивная нить) выполняет наследственную (геномную) функцию и функцию матричной, или информационной РНК (иРНК), являясь матрицей для белкового синтеза на рибосомах инфицированной клетки. Плюс-нить РНК является инфекционной: при введении в чувствительные клетки она способна вызвать инфекционный процесс. **Минус-нить** (негативная нить) выполняет только наследственную функцию; для синтеза белка на минус-нити РНК синтезируется комплементарная ей нить. У некоторых вирусов РНК-геном является **амби-полярным** (*ambisense* — двойная комплементарность, «двусмысловая»: плюс- и минус-нити РНК), т.е. содержит плюс- и минус-сегменты РНК.

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

Различают простые (например, вирусы полиомиелита, гепатита А) и сложные вирусы (например, вирусы кори, гриппа, герпеса, коронавируса).

Простые, или безоболочечные, вирусы (рис. 2.17) имеют только нуклеиновую кислоту, связанную с белковой структурой, называемой капсидом (от лат. *capsa* — футляр). Протеины, связанные с нуклеиновой кислотой, известны как нуклеопротеины, а ассоциация вирусных протеинов капсида вируса с вирусной

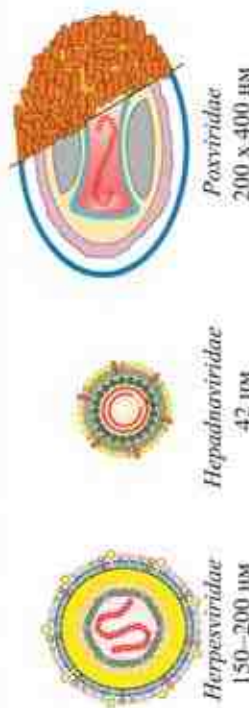
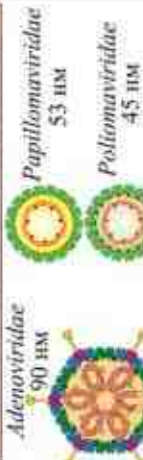
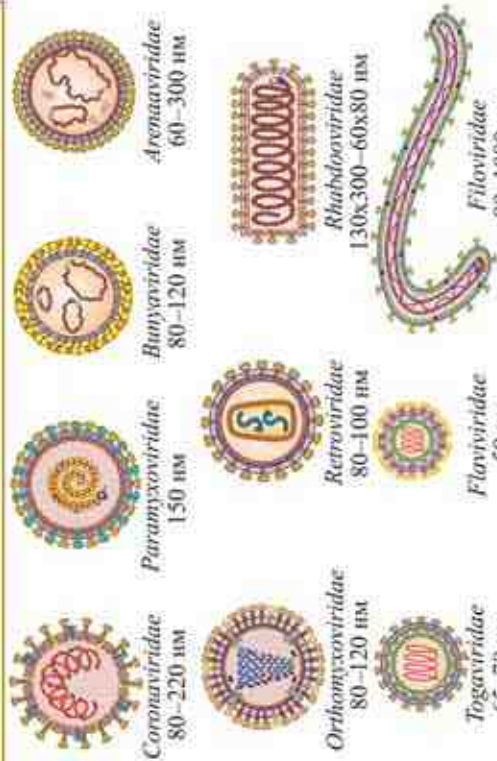
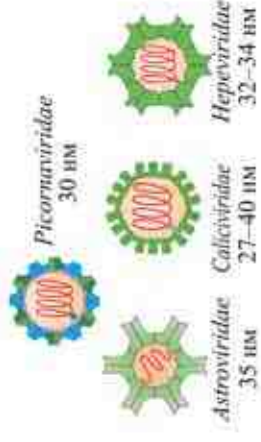
ВИРУСЫ С ОБОЛОЧКОЙ	ВИРУСЫ БЕЗ ОБОЛОЧКИ
ДНК - ДВУНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ  <i>Herpesviridae</i> 150–200 нм <i>Herpadnaviridae</i> 42 нм <i>Poxviridae</i> 200 x 400 нм	ДНК - ДВУНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ  <i>Adenoviridae</i> 90 нм <i>Papillomaviridae</i> 53 нм <i>Poliomaviridae</i> 45 нм ДНК - ОДНОНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ  <i>Parvoviridae</i> 18 x 26 нм <i>Anelloviridae</i> 30 x 32 нм
РНК - ОДНОНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ  <i>Coronaviridae</i> 80–220 нм <i>Orthomyxoviridae</i> 80–120 нм <i>Togaviridae</i> 65–70 нм <i>Paramyxoviridae</i> 150 нм <i>Bunyaviridae</i> 80–120 нм <i>Arenaviridae</i> 60–300 нм <i>Rhabdoviridae</i> 130x300–60x80 нм <i>Flaviviridae</i> 50 нм <i>Filoviridae</i> 80–1000 нм	РНК - ДВУНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ  <i>Rotavirus (ссем, Reoviridae)</i> 80 нм РНК - ОДНОНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ  <i>Picornaviridae</i> 30 нм <i>Astroviridae</i> 35 нм <i>Caliciviridae</i> 27–40 нм <i>Heperviridae</i> 32–34 нм

Рис. 2.16. Классификация и морфология вирусов

нуклеиновой кислотой названа нуклеокапсидом. Некоторые простые вирусы могут формировать кристаллы (например, вирус ящура).

Капсид включает повторяющиеся морфологические субъединицы — капсомеры, скомпонованные из нескольких полипептидов. Капсид защищает нуклеиновую кислоту от деградации. У простых вирусов капсид участвует в прикреплении (адсорбции) к клетке хозяина. Простые вирусы выходят из клетки в результате ее разрушения (лизиса).

Сложные, или оболочечные, вирусы (см. рис. 2.17) кроме капсида имеют мембранную двойную липопротеиновую **оболочку** (син.: суперкапсид, или пеплос), которая приобретается путем почкования вириона через мембрану клетки, например через плазматическую мембрану, мембрану ядра или эндоплазматического ретикулума. На оболочке вируса расположены гликопротеиновые «шипы», или «шипики», пепломеры. Разрушение оболочки эфиром и другими растворителями инактивирует сложные вирусы. Под оболочкой некоторых вирусов находится матриксный белок (М-белок).

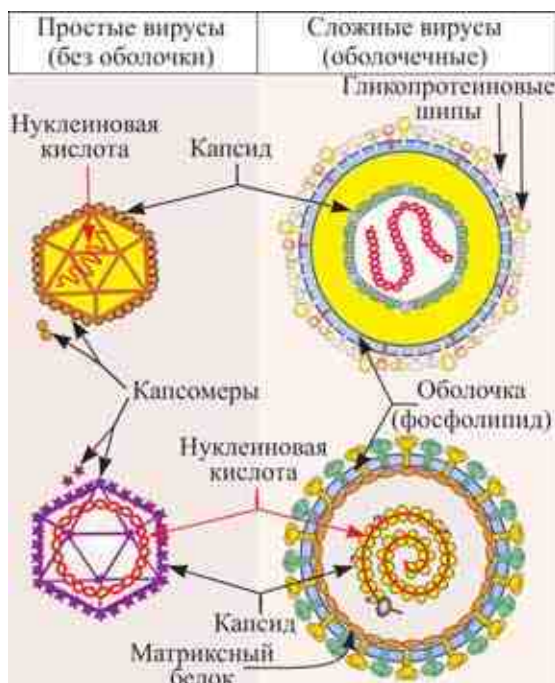


Рис. 2.17. Строение простых и сложных вирусов с икосаэдрическим капсидом.
Внизу справа — сложный вирус со спиральным капсидом

Таким образом, простые вирусы состоят из нуклеиновой кислоты и капсида, а сложные — из нуклеиновой кислоты, капсида и липопротеиновой оболочки.

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

Вирусы имеют структурные и неструктурные белки. Неструктурные белки участвуют в репродукции вирусов, а структурные белки обуславливают строение вирусов. Кроме вирусоспецифических белков, вирусы, репродуцируясь в клетке хозяина, захватывают клеточные белки. Липиды и полисахариды имеют в своем составе сложные вирусы.

Классификация вирусов. Вирусы классифицируют по типу нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК), количеству и свойствам ее нитей: двунитевые или одонитевые нуклеиновые кислоты; позитивная (+), негативная (–) полярность нуклеиновой кислоты или смешанная полярность нуклеиновой кислоты — амбиполярная; линейная или циркулярная нуклеиновая кислота; фрагментированная или нефрагментированная нуклеиновая кислота (табл. 2.4). Учитывают также размер и морфологию вирионов, количество капсомеров и тип симметрии нуклеокапсида, наличие оболочки (суперкапсида), чувствительность к эфиру и дезоксихолату, место размножения в клетке, антигенные свойства и др.

Таблица 2.4

Геномное разнообразие вирусов

Свойство нуклеиновой кислоты	Параметры нуклеиновой кислоты
Форма	Линейная Циркулярная Сегментированная
Нить нуклеиновой кислоты	Одонитевая Двунитевая
Полярность нуклеиновой кислоты	Позитивная полярность (+) Негативная полярность (–) Амбисенс (+/–)

Лауреат Нобелевской премии Д. Балтимор предложил систему Балтиморской классификации из семи групп вирусов (табл. 2.5), основанную на механиз-

ме синтеза иРНК. В классификации вирусов используют такие таксономические категории, как семейство (название оканчивается на *-viridae*), подсемейство (название оканчивается на *-virinae*), род (название оканчивается на *-virus*). Вид вируса не получил биномиального названия, как у бактерий.

Таблица 2.5

Основные вирусы человека и животных

Семейство	Основные представители	Вызываемые болезни
Группа I: ДНК-вирусы (двунитевые)		
<i>Poxviridae</i>	Вирус натуральной оспы	Натуральная оспа
<i>Herpesviridae</i>	Вирусы простого герпеса	Герпес, энцефалит и др.
	Вирус ветряной оспы— опоясывающего герпеса	Ветряная оспа, опоясывающий герпес
	Цитомегаловирус	Цитомегалия
	Вирус Эпштейна—Барр и др.	Инфекционный мононуклеоз
<i>Adenoviridae</i>	Аденовирусы человека	Острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ) и др.
<i>Polyomaviridae</i>	Полиомавирусы человека (JC, BK)	Лейкоэнцефалопатия
<i>Papillomaviridae</i>	Папилломавирусы человека	Бородавки (папилломы), рак
Группа II: ДНК-вирусы (однонитевые)		
<i>Parvoviridae</i>	Парвовирус человека B19	Инфекционная эритема и др.
<i>Anelloviridae</i>	ТТ-вирус, SEN virus, TLMV	Гепатит? Аутоиммунные болезни?
Группа III: РНК-вирусы (двунитевые)		
<i>Reoviridae</i>	Вирус Кемерово Ротавирусы человека	Кемеровская лихорадка Гастроэнтерит
Группа IV: РНК-вирусы (плюс-однонитевые)		
<i>Picornaviridae</i>	Вирусы: полиомиелита, вирус гепатита А и др.	Полиомиелит Гепатит А
<i>Caliciviridae</i>	Норовирусы; вирусы гастроэнтерита	Гастроэнтерит
<i>Hepeviridae</i>	Вирус гепатита Е	Гепатит Е
<i>Astroviridae</i>	Астровирус человека 1	Гастроэнтерит
<i>Coronaviridae</i>	Коронавирус человека, SARS Торовирусы	ОРВИ Диарея
<i>Flaviviridae</i>	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

Продолжение ➤

Окончание табл. 2.5

Семейство	Основные представители	Вызываемые болезни
<i>Togaviridae</i>	Вирус краснухи и др.	Краснуха
Группа V: РНК-вирусы (минус-однонитевые)		
<i>Bornaviridae</i>	Вирус болезни Борна	Болезнь Борна
<i>Filoviridae</i>	Вирусы Марбург, Эбола	Африканские геморрагические лихорадки
<i>Paramyxoviridae</i>	Вирус кори	Корь, подострый склерозирующий панэнцефалит (ПСПЭ)
	Вирус парагриппа	Парагрипп
	Вирусы эпидемического паротита	Эпидемический паротит
	Респираторно-синцитиальный вирус	ОРВИ
<i>Rhabdoviridae</i>	Вирусы бешенства и др.	Бешенство
<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Influenzavirus</i> типы А, В, С	Грипп
<i>Bunyviridae</i>	Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом и др.	Крым-Конго геморрагическая лихорадка Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом
<i>Deltavirus</i>	Вирус гепатита D	Гепатит D
<i>Arenaviridae</i>	Вирус лимфоцитарного хориоменингита и др.	Лимфоцитарный хориоменингит
Группа VI: РНК-вирусы (обратно транскрибирующиеся)		
<i>Retroviridae</i>	ВИЧ	ВИЧ-инфекция (СПИД)
Группа VII: ДНК-вирусы (обратно транскрибирующиеся)		
<i>Hepadnaviridae</i>	Вирус гепатита В	Гепатит В

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 — прионы и вириды.

Прионы — инфекционные белковые частицы, вызывающие конформационные болезни в результате изменения структуры нормального клеточного прионового протеина (PrP^c), который имеется в организме животных и человека и выполняет ряд регуляторных функций. Его кодирует нормальный прионовый ген (PrP-ген), расположенный в коротком плече 20-й хромосомы человека. Изменения данного гена, кодирующего PrP^c, или контакт PrP^c с измененным инфекционным прионом приводят к воспроизводству инфекционного прио-

на с измененной третичной или четвертичной структурой. Он накапливается в нейронах, придавая клетке губкообразный вид, что приводит к неврологическим нарушениям и смертельному исходу (см. разд. 17.3). Прионные болезни протекают по типу трансмиссивных губкообразных энцефалопатий (болезнь Крейтцфельда—Якоба, куру и др.).

Другими необычными инфекционными агентами, близкими к вирусам, являются **вириоды** — небольшие молекулы кольцевой суперспирализованной РНК, не содержащие белка и вызывающие заболевания растений.

Тестовые вопросы и задания

А. Не имеют клеточного строения:

- 1) вирусы;
- 2) бактерии;
- 3) прионы;
- 4) простейшие;
- 5) грибы.

Б. ЛПС входит в состав клеточной стенки:

- 1) вибрионов;
- 2) клостридий;
- 3) нейссерий;
- 4) стафилококков;
- 5) актиномицет.

В. Окраску по Цилю—Нильсену применяют для выявления:

- 1) спирохет;
- 2) микобактерий туберкулеза;
- 3) стафилококков;
- 4) кислотоустойчивых бактерий.

Г. облигатными внутриклеточными паразитами являются:

- 1) хламидии;
- 2) актиномицеты;
- 3) риккетсии;
- 4) спирохеты.

Д. Представители домена ***Bacteria*** отличаются:

- 1) наличием митохондрий;
- 2) наличием пептидогликана;
- 3) наличием рибосом 70S;
- 4) наличием хитина.

Е. В состав пептидогликана входят:

- 1) тейхоевые кислоты;
- 2) N-ацетилглюкозамин;

3) липополисахарид;

4) тетрапептид.

Ж. Споры бактерий:

1) обеспечивают сохранение вида;

2) являются формой размножения;

3) являются термоустойчивыми;

4) образуются при благоприятных условиях для бактерий.

З. Спирохеты:

1) являются грамотрицательными бактериями;

2) имеют периплазматические жгутики;

3) имеют спиральную форму;

4) окрашиваются обычно по Циллю–Нильсену.

И. К грибам относятся:

1) микроспоридии;

2) аскомицеты;

3) дрожжи;

4) актиномицеты.

К. Для вирусов характерно:

1) наличие капсида;

2) наличие одного типа нуклеиновой кислоты;

3) отсутствие клеточного строения;

4) наличие капсулы.

З

Физиология микробов

3.1. Физиология бактерий

Физиология бактерий изучает жизнедеятельность, метаболизм, питание, энергию роста и размножение бактерий, а также их взаимодействие с окружающей средой. Метаболизм бактерий лежит в основе изучения и разработки методов их культивирования, получения чистых культур и их идентификации. Выяснение физиологии патогенных и условно-патогенных бактерий важно для анализа патогенеза вызываемых ими инфекционных болезней, для микробиологической диагностики, проведения лечения и профилактики инфекционных заболеваний, регуляции взаимоотношения человека с окружающей средой, а также для использования бактерий в биотехнологических процессах в целях получения биологически активных веществ.

3.1.1. Питание бактерий

Химический состав бактериальной клетки. Бактериальная клетка на 80–90% состоит из воды, и только 10% приходится на долю сухого вещества. Вода в клетке находится в свободном или связанном состоянии. Она выполняет механическую роль в обеспечении тургора, участвует в гидролитических реакциях. Удаление воды из клетки путем высушивания приводит к приостановке процессов метаболизма, прекращению размножения. Высушивание микроорганизмов в вакууме из замороженного состояния (лиофилизация) прекращает размножение микробов и способствует длительному их сохранению.

Состав сухого вещества распределен следующим образом: 52% составляют белки, 17% — углеводы, 9% — липиды, 16% — РНК, 3% — ДНК и 3% — минеральные вещества.

Белки являются ферментами, а также составной частью клетки, входят в состав цитоплазматической мембраны и ее производных, клеточной стенки, жгутиков, спор и некоторых капсул. Некоторые бактериальные белки служат

антигенами и токсинами бактерий. В состав бактерий входят отсутствующие у человека D-аминокислоты, а также диаминопимелиновая кислота.

Углеводы представлены в бактериальной клетке в виде моно-, ди-, олигосахаров и полисахаридов, а также входят в состав комплексных соединений с белками, липидами и другими соединениями. Полисахариды находятся в составе некоторых капсул, клеточной стенки; крахмал и гликоген являются запасными питательными веществами. Некоторые полисахариды принимают участие в формировании антигенов.

Липиды или жиры входят в состав цитоплазматической мембраны и ее производных, клеточной стенки грамотрицательных бактерий, а также служат запасными веществами, входят в состав эндотоксина грамотрицательных бактерий, в составе ЛПС формируют антигены. В бактериальных жирах преобладают длинноцепочечные (C14–C18) насыщенные жирные кислоты и ненасыщенные жирные кислоты, содержащие одну двойную связь. Сложные липиды представлены фосфатидилинозитом, фосфатидилглицерином и фосфатидилэтаноламином. У некоторых бактерий в клетке находятся воски, эфиры миколовой кислоты. Микоплазмы — единственные представители прокариот, имеющие в составе цитоплазматической мембраны стеролы.

Нуклеиновые кислоты. В бактериальной клетке присутствуют все типы РНК: иРНК, тРНК, рРНК. Пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды — это те строительные блоки, из которых синтезируются нуклеиновые кислоты. Кроме того, пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды входят в состав многих коферментов и служат для активации и переноса аминокислот, моносахаров, органических кислот.

ДНК выполняет в бактериальной клетке наследственную функцию. Молекула ДНК построена из двух полинуклеотидных цепочек. Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара дезоксирибозы и фосфатной группы (рис. 3.1, *а*). Азотистые основания представлены пуринами (аденин, гуанин) и пиримидинами (тимин, цитозин). Каждый нуклеотид обладает полярностью. У него имеется дезоксирибозный 3'-конец и фосфатный 5'-конец. Нуклеотиды соединяются в полинуклеотидную цепочку посредством фосфодиэфирных связей между 5'-концом одного нуклеотида и 3'-концом другого (см. рис. 3.1, *б*). Сцепление между двумя цепями обеспечивается водородными связями между комплементарными азотистыми основаниями: аденина с тимином, гуанина с цитозином. Нуклеотидные цепи антипараллельны: на каждом из концов линейной молекулы ДНК расположен 5'-конец одной цепи и 3'-конец другой цепи. Процентное содержание количества гуанин/цитозин (ГЦ)-пар в ДНК определяет степень родства между бактериями и используется при определении таксономического положения бактерий.

Другие вещества. Минеральные вещества обнаруживаются в золе, полученной после сжигания клеток. В большом количестве представлены N, S, P, Ca, K, Mg, Fe, Mn, а также микроэлементы Zn, Cu, Co, Ba.

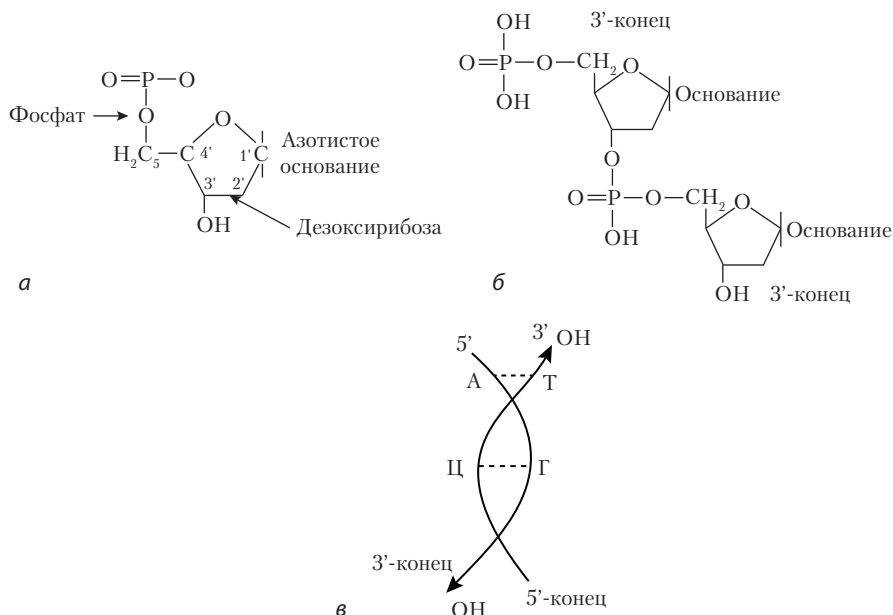


Рис. 3.1. Строение ДНК и ее элементов:

а — строение нуклеотида; б — соединение нуклеотидов в полинуклеотидную цепь; в — двунитевая ДНК

Азот входит в состав белков, нуклеотидов, коферментов. Сера входит в виде сульфгидрильных групп в структуру белков. Фосфор в виде фосфатов представлен в нуклеиновых кислотах, АТФ, коферментах. В качестве активаторов ферментов используются ионы Mg, Fe, Mn. Ионы K и Mg необходимы для активации рибосом. У многих бактерий имеются *сидерохромы*, которые обеспечивают транспортировку ионов Fe внутрь клетки в виде растворимых комплексных соединений.

Классификация бактерий по типам питания и способам получения энергии. Поскольку основными компонентами бактерий являются органические соединения, белки, углеводы, нуклеиновые кислоты и липиды, остов которых построен из атомов углерода, то для их роста требуется постоянный приток атомов углерода.

В зависимости от источника усвояемого углерода бактерии подразделяют на:

- **аутотрофы** (от греч. *autos* — сам, *trophe* — питание), использующие для построения своих клеток неорганический углерод в виде CO_2 ;
- **гетеротрофы** (от греч. *heteros* — другой), использующие органический углерод, легкоусвояемыми источниками которого являются гексозы, многоатомные спирты и аминокислоты.

Белки, жиры, углеводы и нуклеиновые кислоты — крупные полимерные молекулы, которые синтезируются из мономеров в реакциях поликонденсации, протекающих с поглощением энергии. Поэтому для восполнения своей биомас-

сы бактериям помимо источника углерода требуется источник энергии. Энергия запасается бактериальной клеткой в форме молекул АТФ.

Организмы, для которых источником энергии является свет, называются **фототрофами**. Те организмы, которые получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций, называются **хемотрофами**.

Среди хемотрофов выделяют **литотрофы** (от греч. *lithos* — камень), способные использовать неорганические доноры электронов (H_2 , NH_3 , H_2S , Fe^{2+} и др.), и **органотрофы**, которые используют в качестве доноров электронов органические соединения.

Бактерии, изучаемые медицинской микробиологией, являются **гетерохемотрганотрофами**. Отличительная особенность этой группы в том, что углерод у них служит источником энергии. Учитывая разнообразие микромира и типов метаболизма, далее изложение материала ограничено рассмотрением метаболизма у гетерохемотрганотрофов.

Степень гетеротрофности у различных бактерий неодинакова. Среди них выделяют **сапрофиты** (от греч. *sapros* — гнилой, *phyton* — растение), питающиеся мертвым органическим материалом и независимы от других организмов; **паразиты** (от греч. *parasitos* — нахлебник) — гетеротрофные микроорганизмы, зависящие в получении питательных веществ от макроорганизма. Различают облигатные и факультативные паразиты. Облигатные паразиты полностью лишены возможности жить вне клеток. К ним относятся представители родов *Rickettsia*, *Coxiella*, *Ehrlichia* и *Chlamydia*, размножающиеся только внутри клеток макроорганизма. Факультативные паразиты могут жить и без хозяина и размножаться, так же как и сапрофиты, на питательных средах *in vitro*, т.е. вне организма.

Культивирование бактерий в системах *in vitro* осуществляется на **питательных средах**. Искусственные питательные среды должны отвечать следующим требованиям.

1. Питательная среда должна содержать воду, так как все процессы жизнедеятельности бактерий протекают в воде.

2. Для культивирования гетерохемотрганотрофных бактерий в среде должен содержаться органический источник углерода и энергии (углеводы, аминокислоты, органические кислоты, липиды). Наибольшим энергетическим потенциалом обладает глюкоза, так как она непосредственно подвергается расщеплению с образованием АТФ и ингредиентов для биосинтетических путей. Часто используется в этих целях **пептон** — продукт неполного гидролиза белков, состоящий из поли-, олиго- и дипептидов. Пептон также поставляет аминокислоты для построения бактериальных белков.

3. Для синтеза белков, нуклеотидов, АТФ и коферментов бактериям требуются источники азота, серы, фосфаты и другие минеральные вещества, в том числе микроэлементы. Источником азота могут служить пептон и соли аммо-

ния. Серу и фосфор бактерии способны утилизировать в виде неорганических солей: сульфатов и фосфатов. Для нормального функционирования ферментов бактериям требуются ионы Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , которые добавляют в питательную среду в виде солей, чаще всего фосфатов.

4. Решающее значение для роста микроорганизмов имеет pH среды для предотвращения гибели от ими же образованных продуктов обмена. С этой целью питательную среду забуферивают, чаще всего используя фосфатный буфер. При сильном выделении бактериями кислот как продуктов обмена добавляют к питательной среде карбонат кальция CaCl_2 .

5. Среда должна обладать определенным осмотическим давлением. Большинство бактерий способны расти на изотоничных средах, что достигается добавлением NaCl в концентрации 0,87%. Бактерии, не способные расти на средах с концентрацией соли ниже 1%, называются **галофильными**.

Так как устойчивость к осмотическому давлению определяется наличием у бактерий клеточной стенки, бактерии, лишенные клеточной стенки, микоплазмы и L-формы, могут расти на питательных средах, содержащих гипертонический раствор, обычно сахарозы.

При необходимости к питательной среде добавляют факторы роста, ингибиторы роста определенных бактерий, субстраты для действия ферментов, индикаторы.

6. Питательные среды должны быть стерильными.

В зависимости от консистенции питательные среды могут быть жидкими, полужидкими и плотными. Плотность среды достигается добавлением агара.

Агар — полисахарид, получаемый из водорослей. Он плавится при температуре $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, но при охлаждении остывает при температуре $45\text{--}50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Агар добавляют в концентрации 0,5% — для полужидких сред и 1,5–2% — для создания плотных сред.

В зависимости от состава и цели применения различают простые, сложные, элективные, минимальные, дифференциально-диагностические и комбинированные среды. К **простым средам** относятся пептонная вода, питательный бульон, мясопептонный агар. На основе этих простых сред готовят **сложные**, например сахарный и сывороточный бульоны, кровяной агар.

Под **элективными** понимают среды, на которых лучше растет какой-то определенный микроорганизм. Например, щелочной агар, имеющий pH 9, служит для выделения холерного вибриона. Другие бактерии, в частности кишечная палочка, из-за высокого pH на этой среде не растут.

Среды обогащения стимулируют рост какого-то определенного микроорганизма, ингибируя рост других. Например, среда, содержащая селенит натрия, стимулирует рост бактерий рода *Salmonella*, ингибируя рост кишечной палочки.

Дифференциально-диагностические среды служат для изучения ферментативной активности бактерий. Они состоят из простой питательной среды с добавлением субстрата, на который должен подействовать фермент, и инди-

катора, меняющего свой цвет в результате ферментативного превращения субстрата. Примером служат среды Гисса, используемые для изучения способности бактерий ферментировать сахара.

Комбинированные питательные среды сочетают в себе селективную среду, подавляющую рост сопутствующей флоры, и дифференциальную среду, диагностирующую ферментативную активность выделяемого микроба. Примером служат среда Плоскирева и висмут-сульфитный агар, используемые при выделении патогенных кишечных бактерий. Обе эти среды ингибируют рост кишечной палочки.

3.1.2. Ферменты бактерий

В основе метаболических реакций в бактериальной клетке лежит деятельность ферментов, которые принадлежат к шести классам: оксиредуктазы, трансферазы, гидролазы, лигазы, лиазы, изомеразы. Ферменты могут локализоваться как внутри бактерии — **эндоферменты**, так и выделяться в окружающую среду — **экзоферменты**. Экзоферменты играют большую роль в обеспечении бактерий доступными для проникновения внутрь источниками углерода и энергии. Большинство гидролаз — экзоферменты, которые, выделяясь в окружающую среду, расщепляют крупные молекулы пептидов, полисахаридов, липидов до мономеров и димеров, способных проникнуть внутрь бактерии. Ряд экзоферментов, например гиалуронидаза, коллагеназа и др., являются ферментами агрессии. Некоторые ферменты локализованы в периплазме бактериальной клетки. Они участвуют в процессах переноса веществ в бактериальную клетку. Ферментативный спектр — это таксономический признак, характерный для семейства, рода и в некоторых случаях для видов. Поэтому определением спектра ферментативной активности пользуются при установлении таксономического положения бактерий. Наличие экзоферментов можно определить при помощи дифференциально-диагностических сред.

3.1.3. Энергетический метаболизм

Энергия в бактериальной клетке накапливается в форме молекул АТФ. У хемотротрофных бактерий реакции, связанные с получением энергии в форме АТФ, — окислительно-восстановительные, сопряженные с реакциями фосфорилирования. Окисленный в этих реакциях углерод выделяется клеткой в виде CO_2 . Для удаления отщепившегося в этих реакциях водорода, который находится в форме восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАД), разные бактерии используют различные возможности в зависимости от конечного акцептора водорода (или электронов, протонов, что считается эквивалентным понятием). В зависимости от способа получения энергии у бактерий имеется несколько типов метаболизма: **окислительный**, или дыхание; **бродильный**,

или ферментативный; **смешанный**. Тип метаболизма определяет не только реакции, в результате которых образуется АТФ, но также конечные продукты этих реакций, которые используются при идентификации бактерий, и условия культивирования бактерий.

При использовании в качестве источника углерода и энергии глюкозы или других гексоз начальные этапы окисления глюкозы общие как при окислительном, так и при бродильном метаболизме. К ним относятся пути превращения глюкозы в пируват (при использовании в качестве источника энергии отличных от глюкозы гексоз, или дисахаридов, они в результате химических превращений вступают в цепь реакций, превращающих глюкозу в пируват).

Расщепление глюкозы до пирувата у бактерий может происходить тремя путями:

- 1) через образование фруктозо-1,6-дифосфата (**ФДФ-путем**, или гликолитическим путем, или по имени изучавших его исследователей — путем Эмбдена—Мейергофа—Парнаса);
- 2) через пентозофосфатный путь (**ПФ-путь**), значение которого заключается в подготовке промежуточных веществ, необходимых для синтеза нуклеиновых кислот, аминокислот, а также синтеза восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ); как единственный путь расщепления глюкозы встречается у бактерий, у которых отсутствуют основные ферменты ФДФ-пути, — у *Lactobacillus brevis*;
- 3) **КДФГ-путь** (2-кето-3-дезоксиглюконовая кислота; путь Этнера—Дудорова), специфичный только для бактерий, лишенных фосфофруктокиназы (род *Pseudomonas*).

Глюкоза в бактериальной клетке сначала фосфорилируется до глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф), который служит исходным соединением для любого из трех указанных путей. Пируват, образовавшийся при расщеплении глюкозы, превращается при участии кофакторов в «активированную» уксусную кислоту или ацетилкоэнзим А. Последний в цикле трикарбоновых кислот окисляется в CO_2 с отщеплением водорода.

Цикл трикарбоновых кислот выполняет не только функцию конечного окисления питательных веществ, но и обеспечивает процессы биосинтеза многочисленными предшественниками: пируват α -кетоглutarовая, щавелевая и янтарные кислоты — для синтеза аминокислот; щавелевоуксусная — для синтеза пиримидиновых нуклеотидов, малонат — для синтеза аминокислот, пиримидиновых нуклеотидов и жиров (рис. 3.2).

Окислительный метаболизм. Бактерии, обладающие окислительным метаболизмом, энергию получают путем *дыхания*.

Дыхание — процесс получения энергии в реакциях окисления-восстановления, сопряженных с реакциями окислительного фосфорилирования, при котором донорами электронов могут быть органические (у органотро-

хромов различают цитохромы b, c, a, a₃. Конечным этапом переноса электронов (протонов) по дыхательной цепи служит восстановление цитохромов a + a₃ (цитохромоксидазы). Цитохромоксидаза — конечная оксидаза, передающая электроны на кислород. В процессе переноса электронов по цитохромам меняется валентность входящего в состав железопорфирированной группы железа. Завершается перенос электронов реакцией $O_2 + 4F^{2+} \rightarrow 2O^{2-} + 4F^{3+}$. Образующиеся при окислении ФАД или хинонов протоны связываются ионами O^{2-} с образованием воды.

Образование АТФ в дыхательной цепи связывают с хеомосмотическим процессом. Особая ориентация переносчиков в цитоплазматической мембране приводит к тому, что передача водорода происходит с внутренней поверхности мембраны на внешнюю, в результате чего создается градиент атомов водорода, проявляющийся в наличии мембранного потенциала. Энергия мембранного потенциала используется для синтеза АТФ.

В то время как у эукариотов ферменты дыхательной цепи имеют относительно постоянный состав, у бактерий встречаются вариации в составе дыхательной цепи. Так, у многих бактерий вместо убихинонов имеются нафтохиноны, состав цитохромов может зависеть от условий роста бактерий. У некоторых бактерий цитохромы отсутствуют, и при контакте с кислородом происходит непосредственный перенос водорода на кислород с помощью флавопротеидов, конечным продуктом при этом оказывается перекись водорода.

Помимо углеводов прокариоты способны использовать другие органические соединения в качестве источника энергии, в частности белки, окисляя их полностью до CO_2 и H_2O (рис. 3.3).

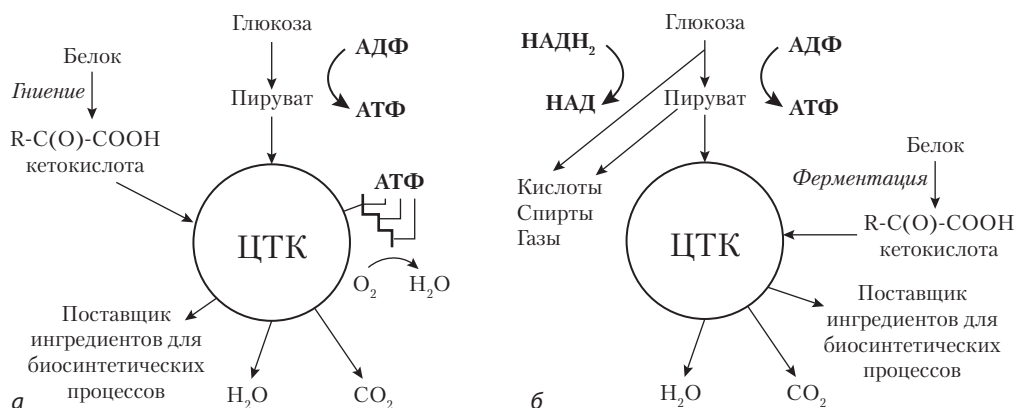
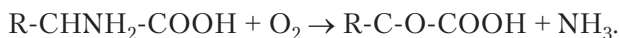


Рис. 3.3. Схема окислительного (а) и броидильного (б) метаболизма у бактерий

Белки вначале вне клетки расщепляются протеолитическими ферментами на пептиды, которые поглощаются клеткой и расщепляются внутриклеточными пептидазами до аминокислот. Аминокислоты могут использоваться в кон-

структивном метаболизме, а могут у аммонифицирующих бактерий служить основным материалом в энергетических процессах при **окислительном дезаминировании**, в результате которого происходит выделение аммиака и превращение аминокислоты в кетокислоту, которая через цикл трикарбоновых кислот вступает в конструктивный метаболизм:



Процесс аммонификации известен как **гниение**, при этом происходит накопление продуктов, обладающих неприятным специфическим запахом образующихся при этом первичных аминов. Гнилостные бактерии осуществляют минерализацию белка, разлагая его до CO_2 , NH_3 и H_2S . К гнилостным бактериям относятся *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus cereus* и др.

Бродильный (ферментативный) метаболизм. Кислород в процессе брожения участия не принимает.

Ферментация, или брожение, — процесс получения энергии, при котором отщепленный от субстрата водород переносится на органические соединения.

Ферментироваться могут углеводы, аминокислоты (за исключением ароматических), пурины, пиримидины, многоатомные спирты. Не способны сбраживаться ароматические углеводороды, стероиды, каротиноиды, жирные кислоты. Эти вещества разлагаются и окисляются только в кислородной среде, в анаэробных условиях они стабильны. Продуктами брожения являются кислоты, газы, спирты.

При ферментации гексоз (глюкозы) пируват лишь частично окисляется в цикле трикарбоновых кислот, который выполняет только функцию поставщика предшественников для биосинтетических процессов. Энергия в форме двух молекул АТФ образуется в результате субстратного фосфорилирования, протекающего при окислении триозофосфата в пируват. Отщепившийся от субстрата водород, находящийся в форме восстановленного НАД, переносится на пируват, превращая его в цепи реакций в этанол, кислоты, газы (см. рис. 3.3). Исходя из природы конечных продуктов, различают несколько типов ферментации углеводов.

Спиртовое брожение встречается в основном у дрожжей. Конечными продуктами являются этанол и CO_2 . Сбраживание глюкозы происходит по ФДФ-пути в анаэробных условиях. При доступе кислорода процесс брожения ослабевает, на смену ему приходит дыхание. Подавление спиртового брожения кислородом называется эффектом Пастера.

Спиртовое брожение используется в пищевой промышленности: хлебопекарной, виноделии.

Молочнокислое брожение подразделяется на два типа: гомоферментативное и гетероферментативное. При **гомоферментативном** типе расщепление

глюкозы проходит по ФДФ-пути. Водород от восстановленного НАД передается на пируват при помощи лактатдегидрогеназы, при этом образуется молочная кислота. Гомоферментативное молочнокислое брожение происходит у стрептококков (*S. pyogenes*, *E. faecalis*, *S. salivarius*), у некоторых видов рода *Lactobacillus*: *L. vulgaricus*, *L. lactis*. **Гетероферментативным** молочнокислым брожением обладают бактерии, у которых отсутствует ряд ферментов ФДФ-пути. Расщепление глюкозы происходит по ПФ-пути с образованием фосфоглицеринового альдегида, который превращается далее в пируват по ФДФ-пути. Дополнительными продуктами этого типа брожения являются также этанол, уксусная кислота. Гетероферментативное молочнокислое брожение встречается у представителей бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*.

Продукты молочнокислого брожения играют большую роль в формировании колонизационной резистентности бактериями родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, составляющих облигатную флору кишечника. Молочнокислые бактерии широко используются в молочной промышленности для получения молочнокислых продуктов, а также в создании пробиотиков.

Муравьинокислое (смешанное) брожение встречается у представителей семейств *Enterobacteriaceae* и *Vibrionaceae*. Глюкоза расщепляется по ФДФ-пути, а глюконат — по КДФГ-пути. В зависимости от продуктов брожения, выделяющихся в анаэробных условиях, различают два процесса:

- 1) происходит расщепление пирувата с образованием ацетилкофермента А и муравьиной кислоты, которая, в свою очередь, может расщепляться на двуокись углерода и молекулярный водород (другими продуктами брожения являются этанол, янтарная и молочная кислоты*);
- 2) при другом процессе брожения образуется целый ряд кислот, однако главным продуктом брожения являются ацетоин и 2,3-бутандиол. При последующем восстановлении ацетоина образуется 2,3-бутандиол. Эти вещества при взаимодействии с нафтолом в щелочной среде вызывают образование окраски бурого цвета, что выявляется **реакцией Фогеса — Проскауэра**, используемой при идентификации бактерий.

Маслянокислое брожение. Масляная кислота, бутанол, ацетон, изопропанол и ряд других органических кислот, в частности уксусная, капроновая, валерьяновая, пальмитиновая, являются продуктами сбраживания углеводов сахаролитическими строгими анаэробами. Спектр этих кислот, определяемый при помощи газожидкостной хроматографии, используется как экспресс-метод при идентификации анаэробов.

Ферментация белков. Если для бактерий с бродильным метаболизмом источником энергии служат белки, то такие бактерии называются **пептолитическими**. Пептолитическими являются некоторые клостридии, в частности

* Сильное кислотообразование можно выявить реакцией с индикатором *метил-рот*, который меняет окраску в сильно кислой среде.

C. histolyticum, *C. botulinum*. Пептолитические бактерии гидролизуют белки и сбрасывают аминокислоты.

Некислородное дыхание. Некоторые бактерии обладают способностью использовать в анаэробных условиях нитрат как конечный акцептор водорода (**нитратное дыхание**). Восстановление нитрата может происходить двумя путями:

- 1) **аммонификацией**, при которой нитрат превращается в аммиак;
- 2) **денитрофикацией**, при которой происходит восстановление нитрата до молекулярного азота или закиси азота; этот процесс связан с деятельностью фермента нитратредуктазы.

Использовать сульфат как конечный акцептор водорода при анаэробном дыхании (**сульфатное дыхание**) способна лишь небольшая группа бактерий (представители родов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*), которые являются строгими анаэробами, литотрофами, обитающими в сероводородном иле. Они способны использовать в качестве донора электронов молекулярный водород, поэтому их относят к хемолитотрофам. Этим бактериям принадлежит ведущая роль в образовании сероводорода в природе. Некоторые представители *Desulfovibrio* обнаружены в полости рта и в кале.

3.1.4. Отношение бактерий к кислороду

В клетках кислород находится в связанном состоянии в составе воды и органических соединений. В атмосфере он присутствует в свободном состоянии в виде молекулярной формы, объемная доля которой составляет 21%. По отношению к кислороду, а также по использованию его в процессах получения энергии микроорганизмы подразделяются на три группы: облигатные аэробы, облигатные анаэробы, факультативные анаэробы.

Облигатные аэробы растут и размножаются только в кислородной среде, используя его для получения энергии путем кислородного дыхания.

Энергию они 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.

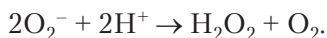
Тип метаболизма у них — бродильный, за исключением метаболизма бактерий родов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*, которые относятся к хемолитотрофам и обладают сульфатным дыханием. облигатные анаэробы подразделяются на две группы: строгие анаэробы и аэротолерантные. **Строгие анаэробы** характеризуются 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*) и бактериоиды. **Аэротолерантные анаэробы** не используют кислород для получения энергии, но могут существовать в его атмосфере. К ним относятся молочнокислые бактерии, получающие энергию гетероферментативным молочнокислым брожением.

Факультативные анаэробы способны расти и размножаться как при наличии кислорода, так и в его отсутствии.

Они обладают смешанным типом метаболизма. Процесс получения энергии у них может происходить кислородным дыханием при наличии кислорода, а в его отсутствие переключаться на брожение. Для этой группы бактерий характерно наличие неокислородного нитратного дыхания.

Различное 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_2O_2) и закисный радикал кислорода (O_2^-), имеющий 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 O_2^- препятствует фермент **супероксиддисмутаза**, расщепляющая закисный радикал на перекись водорода и молекулярный кислород:



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



Аэротолерантные микроорганизмы не имеют супероксиддисмутазы, и ее функцию выполняет 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.

Строгие анаэробы не имеют ни каталазу, ни пероксидазу. Однако супероксид-дисмутаза 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 ряд представителей 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.

3.1.5. Конструктивный метаболизм

Основные органические компоненты бактериальной клетки синтезируются в реакциях полимеризации из строительных блоков: аминокислот, фосфатов сахаров, пуриновых и пиримидиновых оснований, органических кислот. Поставщиками этих строительных блоков являются промежуточные продукты основных путей энергетического метаболизма (см. рис. 3.2). Среди бактерий выделяется группа **прототрофов**, способная синтезировать все компоненты клетки из одного источника углерода и энергии. Если бактерии теряют способность к синтезу какого-нибудь фермента, участвующего в биосинтетических процессах, то для их роста и размножения требуется наличие недостающего вещества, которое называется **фактором роста**, а такие бактерии — **ауксотрофами**. Факторами роста могут служить аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, витамины, которые входят в состав простетических групп коферментов.

Биосинтез аминокислот. Большинство бактерий обладают способностью синтезировать все 20 аминокислот, из которых состоят белки. Углеродные скелеты аминокислот образуются из промежуточных продуктов обмена. Исходным материалом служат промежуточные продукты фруктозодифосфатного (ФДФ) и пентозофосфатного (ПФ) путей, цикла трикарбоновых кислот: пируват, кетоглутаровая кислота, оксалоацетат, фумарат, эритрозо-4-фосфат, рибозо-4-фосфат. Аминогруппы вводятся в результате непосредственного аминирования или переаминирования. Перевод неорганического азота в органические соединения происходит всегда через аммиак. Нитраты, нитриты и молекулярный азот предварительно восстанавливаются в аммиак и только лишь после этого включаются в состав органических соединений.

После синтеза на рибосомах молекул белков большинство из них приобретают нужную форму (третичную структуру) с помощью специальных белков **шаперонов**, которые обеспечивают правильное складывание белков. Шапероны необходимы для поддержания нормальной жизнедеятельности клетки как эу- так и прокариот. Количество шаперонов резко возрастает, когда клетка подвергается стрессорному воздействию различных факторов окружающей среды (температуры — тепловой шок, токсинов, нарушающих метаболические реакции, и др.). При этом шапероны

защищают многие белки, включая ДНК-полимеразы, от разрушения. Шапероны также участвуют в транспорте белков через мембраны.

Биосинтез нуклеотидов. Пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды — это строительные блоки, из которых синтезируются нуклеиновые кислоты. Кроме того, пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды входят в состав многих коферментов и служат для активации и переноса аминокислот, сахаров, липидов в реакциях полимеризации.

Исходным соединением для образования пентозной части нуклеотидов служит рибозо-5-фосфат, образующийся в ПФ-пути. Углеродный скелет пиримидинов происходит из аспартата, который образуется в цикле трикарбоновых кислот. Атомы азота и аминогруппы пуринов и аминокислот пиримидинов происходят из аспартата и глутамина.

Биосинтез жиров. Ключевым промежуточным продуктом для синтеза жирных кислот является ацетилкоэнзим А, а для синтеза фосфолипидов — продукт ФДФ-пути: диоксиацетилфосфат, восстанавливающийся в глицерол-3-фосфат, который соединяется с остатками жирных кислот.

Биосинтез углеводов. Синтез глюкозы происходит из пирувата, за счет обратных реакций, путей распада глюкозы. Для обхода реакций, идущих только в одном направлении, имеются обходные пути, например глиоксилатный цикл.

3.1.6. Транспорт веществ в бактериальную клетку

Для того чтобы питательные вещества могли подвергнуться превращениям в цитоплазме клетки, они должны проникнуть в клетку через пограничные слои, отделяющие клетку от окружающей среды. Ответственность за поступление в клетку питательных веществ лежит на цитоплазматической мембране.

Существует два типа переноса веществ в бактериальную клетку: пассивный и активный.

При **пассивном переносе** вещество проникает в клетку только по градиенту концентрации. Затрат энергии при этом не происходит. Различают две разновидности пассивного переноса: простую и облегченную диффузию. **Простая диффузия** — неспецифическое проникновение веществ в клетку, при этом решающее значение имеет величина молекул и липофильность. Скорость переноса незначительна. **Облегченная диффузия** протекает с участием белка-переносчика. Скорость этого способа переноса зависит от концентрации вещества в наружном слое.

При **активном переносе** вещество проникает в клетку против градиента концентрации при помощи белка-переносчика — пермеазы. При этом происходят затраты энергии. Имеется два типа активного транспорта. При первом небольшие молекулы (аминокислоты, некоторые сахара) «накачиваются» в клетку и создают концентрацию, которая может в 100–1000 раз превышать концентрацию этого вещества снаружи клетки. Второй тип, получивший назва-

ние **транслокация радикалов**, обеспечивает включение в клетку некоторых сахаров (например, глюкозы, фруктозы), которые в процессе переноса фосфорилируются, т.е. химически модифицируются. Для осуществления этих процессов в бактериальной клетке локализуется специальная фосфотрансферная система.

Поступив в клетку, органический источник углерода и энергии вступает в цепь биохимических реакций, в результате которых образуются АТФ и ингредиенты для биосинтетических процессов. Биосинтетические (конструктивные) и энергетические процессы протекают в клетке одновременно. Они тесно связаны между собой через общие промежуточные продукты, которые называются **амфиболитами**.

3.1.7. Транспорт веществ из бактериальной клетки

В процессе жизнедеятельности бактериям требуется выделять в окружающую среду различные белки и ферменты. Секретируемые белки необходимы для жизнедеятельности бактерий. Они участвуют в построении клеточных оболочек, жгутиков, пилей, расщепляют крупные полимерные молекулы, используемые в качестве питательных веществ, до способных проходить через цитоплазматическую мембрану; осуществляют взаимодействие с системами макроорганизма. У грамположительных бактерий белки секретируются непосредственно во внешнюю среду. А у грамотрицательных бактерий они должны пересечь наружную мембрану. Наличие наружной мембраны привело к формированию у грамотрицательных бактерий различных по структуре и функциям шести типов секреции. Все они протекают с поглощением энергии. В одних случаях, например при I и III типах, секреция протекает одноэтапно и не требует преобразования секретируемого белка в периплазматическом пространстве. При II и V типах секретируемые белки проходят через внутреннюю и наружную мембрану отдельными этапами при участии специальных мелких белков-переносчиков. В периплазматическом пространстве происходит протеолиз переносимого белка, а его взаимодействие с шаперонами переводит секретируемый белок в активное функциональное состояние с формированием четвертичной структуры. Зрелый белок проходит через пору в наружной мембране в окружающую среду. II тип основной для секреции внеклеточных гидролитических ферментов у грамотрицательных бактерий (по этому же пути выделяется холерный токсин).

Особый интерес для медицинской микробиологии представляет III путь секреции, возникший эволюционно у грамотрицательных бактерий для транспорта из клетки компонентов жгутиков. Он используется также для направленной доставки в клетку эукариот бактериальных белков. В результате действия последних в клетке возникают нарушения клеточных функций, приводящие в конечном итоге к возникновению у человека заболеваний.

IV тип секреции обеспечивает транспорт белка, ДНК и нуклеопротеинов через клеточную стенку как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий. Он является заметным фактором в развитии бактериального разнообразия и ответственен за горизонтальную передачу резистентности к антимикробным препаратам и факторов патогенности.

Выделение молекул из клетки также осуществляется с помощью белков-переносчиков и фосфотрансферазным путем. Фосфотрансферазный путь широко используется при выведении молекул, необходимых для построения различных структур бактерий, расположенных снаружи от цитоплазматической мембраны, в частности клеточной стенки, капсулы и др. Некоторые из стадий подобного транспорта подавляются антибиотиками. Например, транспорт через мембрану N-ацетилглюкозамина — компонента пептидогликана, блокируется гликопептидным антибиотиком ванкомицином.

Регуляция метаболизма у прокариот. Поскольку все реакции, протекающие в клетке, катализируются ферментами, регуляция метаболизма сводится к регуляции интенсивности ферментативных реакций. Скорость последних может корректироваться путем изменения количества ферментов или их активности.

Биосинтетические пути, опосредованные конститутивными ферментами, регулируются аллостерическим ингибированием активности первого фермента, а индуцибельными ферментами — путем репрессии их синтеза конечным продуктом.

Катаболические пути, опосредованные индуцибельными ферментами, регулируются индукцией синтеза ферментов и катаболической репрессией, а конститутивными ферментами — посредством аллостерических воздействий на их активность. АТФ в этом случае является отрицательным эффектором, а АДФ — положительным.

3.1.8. Рост и способы размножения бактерий

Под ростом бактериальной клетки понимают согласованное увеличение количества всех ее компонентов. После достижения критических размеров клетка подвергается делению. Большинство бактерий делится поперечным делением надвое.

Деление бактериальной клетки начинается спустя некоторое время после завершения цикла репликации хромосомы, которая у бактерий протекает по полуконсервативному механизму: каждая из двух нитей ДНК хромосомы служит матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепи ДНК. В репликации бактериальной хромосомы участвует более 20 ферментов. Так как нативная бактериальная ДНК двуспиральная, перед репликацией цепи родительской молекулы 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 одноцепочечной ДНК, предотвращая повторное ее скручивание в двойную спираль. В результате образуется репликативная вилка (рис. 3.4). Синтез новых цепей ДНК осуществляется ферментом **ДНК-полимеразой**. Особенностью функционирования ДНК-полимеразы яв-

ляется 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 (от англ. *primer* — запал). Праймер представляет собой короткую нуклеотидную цепочку РНК, комплементарную матричной цепи, со свободным 3'-концом. Дотраивание 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 фермент ДНК-праймаза, способная инициировать синтез РНК по одноцепочечной ДНК-матрице 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 ДНК-лигазами в одну ковалентно связанную непрерывную цепь ДНК.

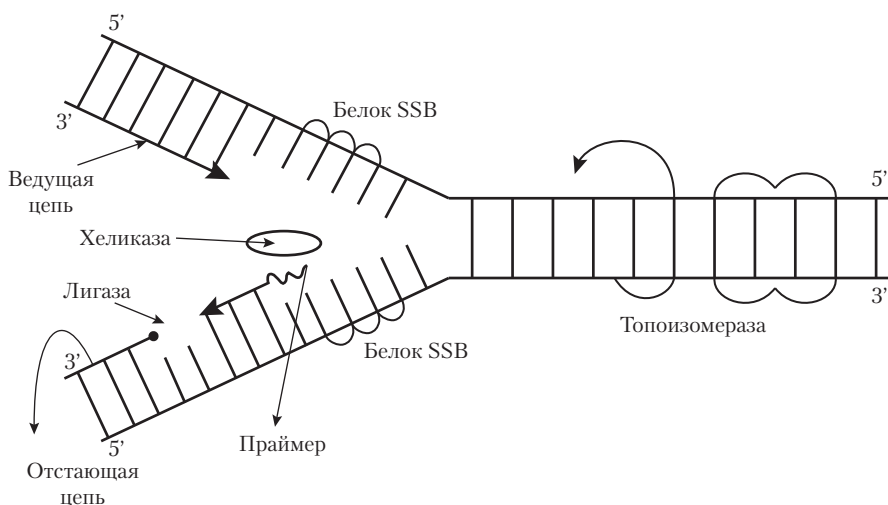


Рис. 3.4. Полимеризация ДНК в репликативной вилке

Процесс репликации ДНК бактерии продолжается до тех пор, пока не удвоится вся ДНК. Репликация начинается в одной избранной области, называемой **origin** (от англ. — начало), на которой могут возникать одна или две репликативные вилки. Последовательность нуклеотидов на origin-участке способствует расплетанию двойной спирали ДНК 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 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 (периодическую) бактериальную культуру**, ведущую 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**.

На **кривой роста бактерий в жидкой питательной среде** можно выделить нескольких фаз (рис. 3.5), сменяющих друг друга в определенной последовательности (лаг-фаза, экспоненциальная, стационарная и фаза отмирания).

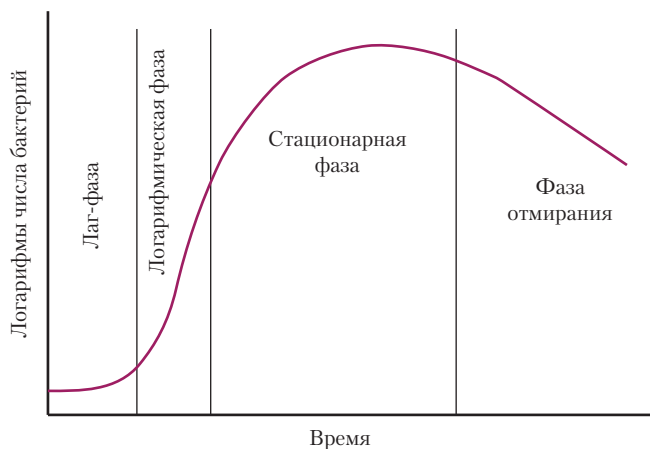


Рис. 3.5. Фазы размножения бактерий

1. **Лag-фаза** (от англ. *lag* — отставать) — начальная фаза, которая охватывает промежуток времени между посевом бактерий и началом размножения. Ее продолжительность составляет в среднем 2–5 ч и зависит от состава питательной среды и возраста засеваемой культуры. Во время лаг-фазы бактерии адаптируются к новым условиям культивирования, идет синтез индуцибельных ферментов.

2. **Экспоненциальная (логарифмическая) фаза** характеризуется постоянной максимальной скоростью деления клеток, которая зависит от вида бактерий и питательной среды. Период 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 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.

Постоянное нахождение бактериальной популяции в логарифмической фазе роста наблюдается в **непрерывной культуре**, что достигается постепенным дозированием поступления питательных веществ, контролем плотности бактериальной суспензии и удалением 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 активизирующих рост добавок и др.). На жидких питательных средах рост и размножение бактерий проявляются в виде диффузного помутнения, образования придонного осадка или поверхностной пленки. Особенность размножения бактерий рода *Leptospira* на жидких средах — отсутствие видимых проявлений роста.

На плотных питательных средах бактерии образуют скопление клеток — **колонии**, которые принято считать потомками одной клетки. Колонии различаются формой, размерами, поверхностью, прозрачностью, консистенцией и окраской. Колонии с гладкой блестящей поверхностью принято называть колониями в **S-форме** (от англ. *smooth* — гладкий). Колонии с матовой шероховатой поверхностью называют **R-формами** (от англ. *rough* — шероховатый). Окраска колоний определяется способностью бактерий синтезировать пигменты.

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

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

- пирроловые — к ним относится спирторастворимый пигмент продигио-зан, встречающийся у *Serratia marcescens*;
- фенозиновые — к этой группе относится водорастворимый пигмент *Pseudomonas aeruginosa* пиоцианин, который, выделяясь в питательную среду, окрашивает ее;
- меланины — нерастворимые пигменты черного и коричневого цветов (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 прокариот имеют иные способы размножения: актиномицеты могут размножаться путем фрагментации гифов; представители семейства *Streptomycetaceae* — спорами. Микоплазмы являются полиморфными бактериями, что обусловлено особенностями их размножения. Помимо поперечного деления микоплазмы могут размножаться почкованием. В этом случае основной морфологической репродуцирующей единицей служат элементарные тельца сферической или овоидной формы, размножающиеся фрагментацией и почкованием. Хламидии 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 (покоящееся) 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 состояние обеспечивает сохранение патогенных бактерий в межэпидемические и межэпизоотические периоды. Выявить наличие бактерий, находящихся в некультивируемой форме, можно с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) или применением кра-

сителей, 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.

3.1.9. Условия культивирования бактерий

Для культивирования бактерий необходимо соблюдать ряд условий.

1. **Наличие полноценной питательной среды.** Питательная среда независимо от сложности состава и цели применения должна обладать водной основой, органическим источником углерода и энергии, определенными рН и осмотическим давлением.

2. **Температура культивирования.** По этому показателю бактерии делятся на мезофилы, термофилы и психрофилы:

- **мезофилы** размножаются в диапазоне температур 20–40 °С (к мезофилам относится большинство болезнетворных для человека бактерий);
- **термофилы** растут при температуре 40–60 °С (например, 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 в 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, которое осуществляется на специальных аппаратах — встряхивателях.

Для культивирования *факультативных анаэробов* используют те же методы, так как при наличии кислорода у них преобладает оксидативный метаболизм над ферментацией как наиболее энергетически выгодный.

Микроаэрофилы размножаются при пониженном парциальном давлении кислорода. Этого можно достичь повышением в атмосфере культивирования парциального давления CO_2 до концентрации 1–5% против 0,03% CO_2 в атмосфере воздуха. Для этих же целей используют специальные CO_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);
- путем кипячения (освобождение от кислорода воздуха) жидких питательных сред с последующим плотным закупориванием резиновыми пробками сосудов со средами;

- использование поглотителей кислорода (щелочного пирогаллола и др.), 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 анаэроостаты и анаэробные боксы).

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, что используется при их идентификации.

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

В промышленных условиях биомассу бактерий или грибов (для получения антибиотиков, вакцин, диагностических препаратов и пробиотиков) получают культивированием в ферментерах при строгом соблюдении оптимальных параметров роста и размножения культур.

3.2. 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 бесполой 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 также использовать лабораторных животных.

Некоторые грибы обладают **диморфизмом**, т.е. способностью принимать 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 автотрофами. Размножаются бесполым и половым путями. Некоторые простейшие имеют сложный жизненный цикл, сопровождающийся сменой форм развития, полового и бесполого размножения, образуют цисты.

Многие простейшие (дизентерийная амeba, 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.

3.3. Физиология вирусов

Вирусы — облигатные внутриклеточные паразиты, способные только к внутриклеточному размножению. В вирусинфицированной клетке возможно пребывание вирусов в различных состояниях, что приводит к следующим эффектам:

- 1) разрушение клетки в результате **некроза** или **апоптоза** (по типу запрограммированной клеточной гибели) в результате чего наблюдается «цитопатический эффект» — клетки округляются, отделяются от соседних клеток, образуются многоядерные гигантские клетки, вакуоли и включения;
- 2) разрушение клеток не самим вирусом, а иммунными реакциями организма;
- 3) вирус, находясь внутри клетки, не разрушает ее (латентная инфекция) или трансформирует клетку организма в раковую клетку.

Различают следующие типы взаимодействия вируса с клеткой.

1. **Продуктивный тип** взаимодействия завершается воспроизводством вирусного потомства — многочисленных вирионов — и гибелью зараженных клеток (*цитотоксическое* «взрывное» действие, вызванное простыми вирусами). Сложные вирусы выходят из клеток почкованием, не разрушая их (*нецитотоксическое* действие).

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

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

4. Пребывание в клетке вирусных кольцевых нуклеиновых кислот, напоминающих плазмиды бактерий.

3.3.1. Репродукция вирусов

Продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой, т.е. **репродукция** вируса (от лат. *re* — повторение, *productio* — производство), проходит в несколько стадий:

- 1) адсорбция вириона на клеточной мембране;
- 2) проникновение вириона в клетку, «раздевание» и высвобождение вирусного генома (депротеинизация вируса);
- 3) синтез вирусных компонентов;
- 4) формирование вирионов (сборка реплицированной нуклеиновой кислоты и новых капсидных белков);
- 5) выход вирионов из клетки.

У различных вирусов эти стадии отличаются (рис. 3.6–3.9).

Адсорбция вирусов. Первая стадия репродукции вирусов — адсорбция, т.е. прикрепление вириона к поверхности клетки. Она протекает в две фазы. Первая фаза — неспецифическая, вызванная ионным притяжением между вирусом и клеткой, включая и другие механизмы. Вторая стадия — 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** (в основном это гликопротеины в составе липопротеиновой оболочки).

Специфические рецепторы клеток имеют различную природу, являясь белками, липидами, углеводными компонентами белков, липидов и др. Так, рецептором для вируса гриппа служит сиаловая кислота в составе гликопротеинов 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** (от 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 происходит рецепторзависимым эндоцитозом или в результате слияния оболочки вируса с клеточной мембраной (см. рис. 3.6). Возможно сочетание этих механизмов.

Эндоцитоз происходит в результате захватывания и поглощения вириона клеткой: клеточная мембрана с прикрепленным вирионом впячивается с образованием эндосомы (внутриклеточной вакуоли). Эндоцитоз вирусов осуществляется с помощью везикул, покрытых клатрином («ямки, окаймленные клатрином»), — **клатринопосредованный эндоцитоз**. Содержимое эндосомы закисляется, что приводит к слиянию липопротеиновой оболочки сложного вируса с мембраной эндосомы и выходу вирусного нуклеокапсида в цитозоль клетки. Эндосомы объединяются с лизосомами, которые разрушают оставшиеся

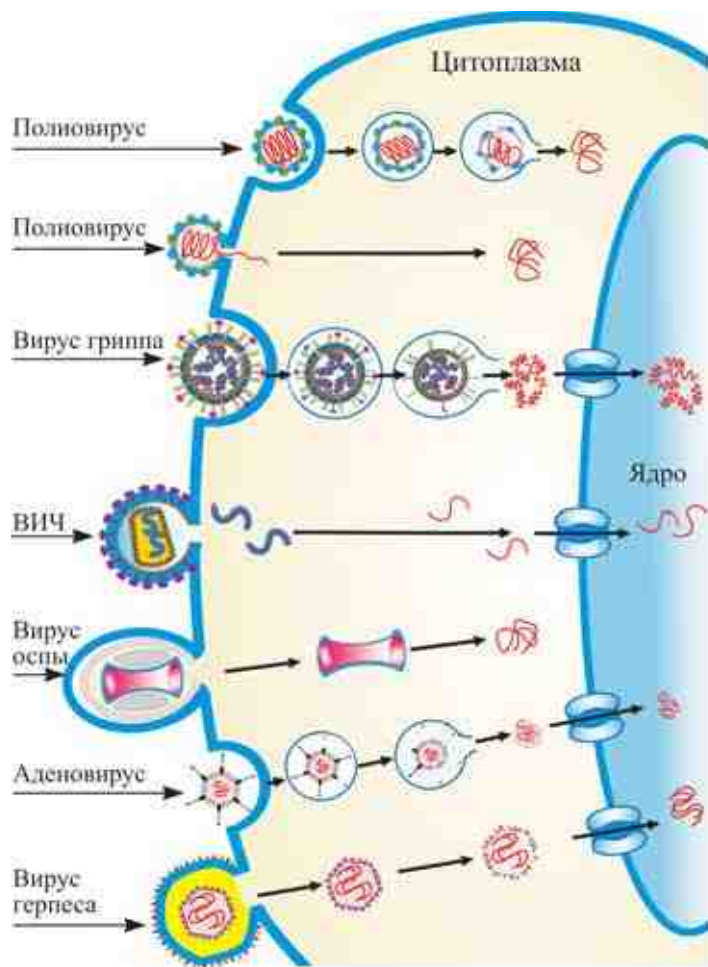


Рис. 3.6. Механизм проникновения вирусов в клетку. Простые (безоболочечные) вирусы, например полиовирусы или аденовирусы, проникают в клетку эндоцитозом, окружаясь цитоплазматической мембраной. Полиовирус кроме эндоцитоза может также ввести РНК в клетку через пору в цитоплазматической мембране, сформированную капсидным протеином VP1. Оболочечные вирусы, в составе которых имеются белки слияния (герпес-вирусы, парамиксовирусы, ВИЧ, вирус оспы), попадают в клетку слиянием с цитоплазматической мембраной или эндоцитозом (вирус гриппа). Некоторые вирусные геномы переносятся в ядро через ядерные поры, где они реплицируются

вирусные компоненты. Другим путем попадания вируса может быть **кавеоло-опосредованный эндоцитоз**. Он начинается с формирования различных везикул, включая **кавеолы** (кавеолярный эндоцитоз), представляющих собой бутылкообразные структуры размером от 50 до 100 нм, направленные внутрь клетки. В результате проникновение вируса в цитозоль может происходить на

уровне плазматической мембраны, эндосомы, кавеосомы и эндоплазматического ретикулума. Также стали известны новые альтернативные пути соединения вируса с эндосомами. Одним из них может быть **макропиноцитоз** с образованием крупной вакуоли, окруженной плазматической мембраной, наполненной по большей части жидкостью.

Слияние вириона с клеточной мембраной характерно только для некоторых оболочечных вирусов (герпес-вирусов, парамиксовирусов, ретровирусов), в составе которых имеются **белки слияния**. В результате взаимодействия этих белков с липидами клеточной мембраны вирусная липопротеиновая оболочка интегрируется с клеточной мембраной, а внутренний компонент вируса попадает в цитозоль клетки.

Простые (безоболочечные) вирусы могут проникать в клетку тремя способами:

- 1) **мембранный прокол** (вирион образует пору в мембране, через которую геном попадает в цитозоль, а капсид в него не попадает);
- 2) **перфорация** (капсид переносится через мембрану без основного лизиса мембраны);
- 3) **лизис** (вирионы индуцируют поломку мембраны цитоплазматических органелл, что способствует проникновению вируса и его компонентов в цитозоль).

Выход простых вирусов из эндосомы в цитозоль изучен недостаточно.

«Раздевание» (депротеинизация) вирусов. В результате депро-теинизации удаляются поверхностные структуры вируса и высвобождается его внутренний компонент, способный вызывать инфекционный процесс. Первые этапы депро-теинизации вируса начинаются в процессе его проникновения в клетку путем слияния вирусных и клеточных мембран или же при выходе вируса из эндосомы в цитозоль. Последующие этапы «раздевания» вируса тесно взаимосвязаны с их внутриклеточным транспортом к местам депро-теинизации. Для разных вирусов существуют свои специализированные участки «раздевания» в клетке: для пикорнавирусов — в цитоплазме с участием лизосом, аппарата Гольджи; для герпес-вирусов — окооядерное 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 сердцевинки, которые не только не препятствуют экспрессии вирусного генома, но, более того, защищают его от клеточных протеаз и регулируют последующие биосинтетические процессы.

Следующая стадия репродукции — синтез вирусных компонентов (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 нуклеотидную 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.

- **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, герпес-вирусы) 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 иРНК; он распознается и транслируется рибосомами. Синтез белков у этих вирусов осуществляется без акта транскрипции по схеме: **геномная РНК вируса → трансляция белка вируса**.
- **Минус-однонитевые РНК-содержащие вирусы** (ортомиксовирусы, парамиксовирусы, рабдовирусы) имеют геном, выполняющий роль матрицы, с которой транскрибируется иРНК 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 диплоидный геном, состоящий из двух идентичных молекул РНК. В составе ретровирусов есть особый вирусоспецифический фермент — обратная транскриптаза, или ревертаза, с помощью которой осуществляется процесс обратной транскрипции, т.е. на матри-

це геномной РНК синтезируется комплементарная однонитевая ДНК (кДНК). Комплементарная нить ДНК копируется с образованием двунитовой комплементарной ДНК, которая интегрируется в клеточный геном и в его составе транскрибируется в иРНК с помощью клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы. Синтез белков для этих обратнотранскрибирующихся 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) двунитовую ДНК; 2) однонитевую ДНК; 3) плюс-однонитевую РНК; 4) минус-однонитевую РНК; 5) двунитовую 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. В репликации вирусных геномов участвуют вирусные ДНК-зависимые ДНК-полимеразы (у аденовирусов, герпес-вирусов и поксвирусов) или клеточные ДНК-зависимые ДНК-полимеразы (у папилломавирусов, полиомавирусов и анелловирусов). У этих вирусов, кроме поксвирусов, транскрипция вирусного генома происходит в ядре.

Уникальный механизм репликации характерен для гепаднавирусов (вируса гепатита В), геном которого представлен неполной двунитовой кольцевой ДНК, одна нить которой короче (неполная плюс-нить) другой — минус-нити (см. рис. 3.7).

2. **Однонитевые ДНК-вирусы.** Единственными представителями однонитевых ДНК-вирусов являются парвовирусы, которые 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** включают пикорнавирусы, флавивирусы и тогавирусы (см. рис. 3.8), у которых геномная плюс-нить РНК выполняет функцию иРНК — матрицы для синтеза белка. Вирусная РНК-полимераза транскрибирует геномную плюс-нить РНК в минус-нить РНК, на матрице которой синтезируется геномная плюс-нить РНК.

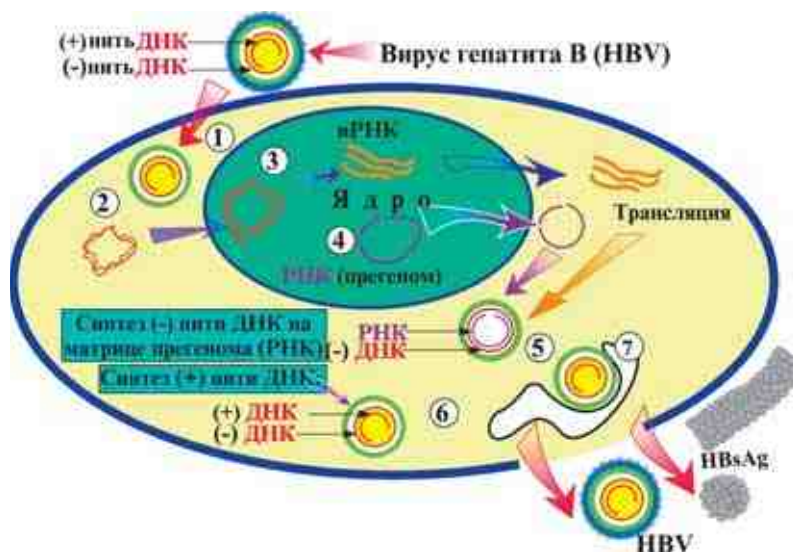


Рис. 3.7. Схема репродукции вируса гепатита В. После проникновения сердцевинки вируса (1) в клетку неполная нить ДНК-генома достраивается; формируется полная двунитевая кольцевая ДНК (2) и созревающий геном (3) попадает в ядро клетки. Здесь клеточная ДНК-зависимая РНК-полимераза синтезирует разные иРНК (для синтеза вирусных белков) и РНК-прегеном (4) — матрицу для репликации генома вируса. Далее иРНК перемещаются в цитоплазму и транслируются с образованием белков вируса. Белки сердцевинки вируса собираются вокруг прегенома. Под действием РНК-зависимой ДНК-полимеразы вируса на матрице прегенома синтезируется минус-нить ДНК (5), на которой синтезируется плюс-нить ДНК (6). Оболочка вириона образуется на HBs-содержащих мембранах эндоплазматической сети или аппарата Гольджи (7). Вирион выходит из клетки экзоцитозом

4. **Минус-однонитевые РНК-вирусы** (аренавирусы, борнавирусы, рабдовирусы, парамиксовирусы, ортомиксовирусы, филовирусы) имеют геномную минус-нить РНК, которая трансформируется вирионной РНК-зависимой РНК-полимеразой в неполные и полные плюс-нити РНК. Полные копии являются матрицей (промежуточная стадия) для синтеза минус-нитей геномной РНК потомства (см. рис. 3.9).

5. **Двунитевые РНК-вирусы** (реовирусы и ротавирусы) сходны по репликации с минус-однонитевыми РНК-вирусами. Образовавшиеся в процессе транскрипции плюс-нити функционируют не только как иРНК, но и участвуют в репликации: они служат матрицами для синтеза минус-нитей РНК. Последнее в комплексе с плюс-нитеями РНК образуют геномные двунитевые РНК вирионов. Репликация вирусных нуклеиновых кислот этих вирусов происходит в цитоплазме клеток.

6. **Вирусы с обратной транскрипцией** (ретровирусы и гепаднавирусы). Ретровирусы, частности ВИЧ, являются плюс-нитевыми диплоидными

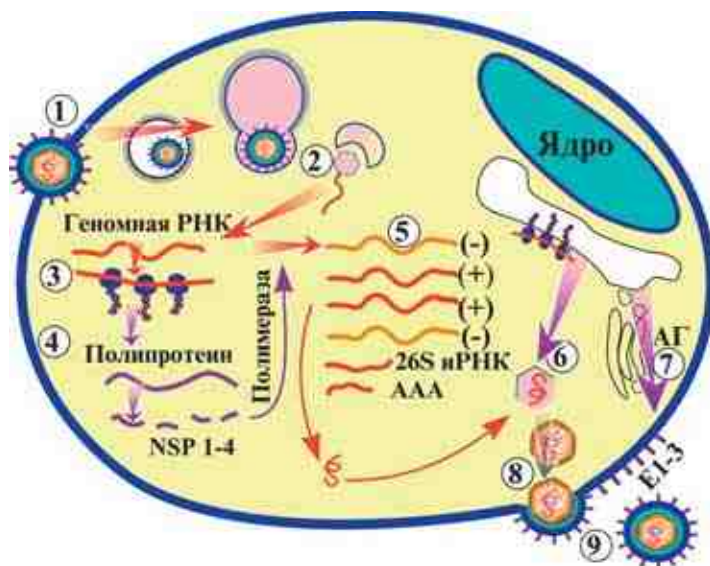


Рис. 3.8. Схема репродукции плюс-однонитевых РНК-содержащих вирусов (представитель тогавирусов). Вирус (1) после рецепторопосредованного эндоцитоза освобождает (2) геномную плюс-РНК, которая, как иРНК, связывается с рибосомами (3): транслируется полипротеин (4), расщепляющийся на четыре структурных белка (NSP 1–4), включая РНК-зависимую РНК-полимеразу. Эта полимеразы транскрибирует геномную плюс-РНК в минус-нить РНК (матрицу), на которой (5) синтезируются копии РНК: полная плюс-нить 49S геномной РНК и неполная минус-нить 26S иРНК, кодирующая С-белок капсида (6) и гликопротеины оболочки E1–3. Гликопротеины синтезируются на рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума, затем включаются в мембрану и гликозилируются. Дополнительно гликозилируясь в аппарате Гольджи (7), они встраиваются в плазмалемму. С-белок образует с геномной РНК нуклеокапсид, который взаимодействует с модифицированной плазмалеммой (8). Вирусы выходят из клетки почкованием (9)

РНК-содержащими вирусами. Вирионная 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 (рис. 3.10). 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. Другой пример обратнотранскрибирующегося вируса — вирус гепатита В (см. рис. 3.7).

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.

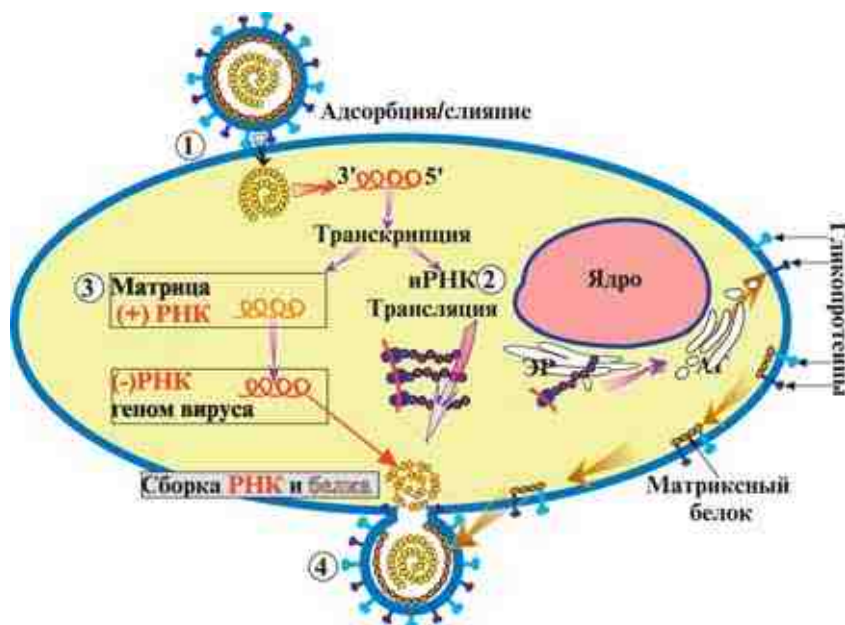


Рис. 3.9. Схема репродукции минус-однонитевых РНК-содержащих вирусов (парамиксовирусов). Вирус связывается гликопротеинами оболочки с поверхностью клетки и сливается с плазмолеммой (1). С геномной минус-нити РНК вируса транскрибируются неполные плюс-нити РНК, являющиеся иРНК (2) для отдельных белков, и полная плюс-нить РНК — матрица (3) для синтеза минус-геномной РНК вируса. Нуклеокапсид связывается с матриксным М-белком и гликопротеинмодифицированной плазмолеммой. Выход вирионов — почкованием (4)

Существуют следующие общие принципы сборки вирусов.

- Формирование вирусов — многоступенчатый процесс с образованием промежуточных форм, отличающихся от зрелых вирионов по составу полипептидов.
- Сборка простых вирусов заключается во взаимодействии вирусных нуклеиновых кислот с капсидными белками и в образовании нуклеокапсидов.
- У сложных 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 сложных минус-нитевых РНК-вирусов (ортомиксовирусов, парамиксовирусов) в сборку вовлекается так называемый матриксный белок

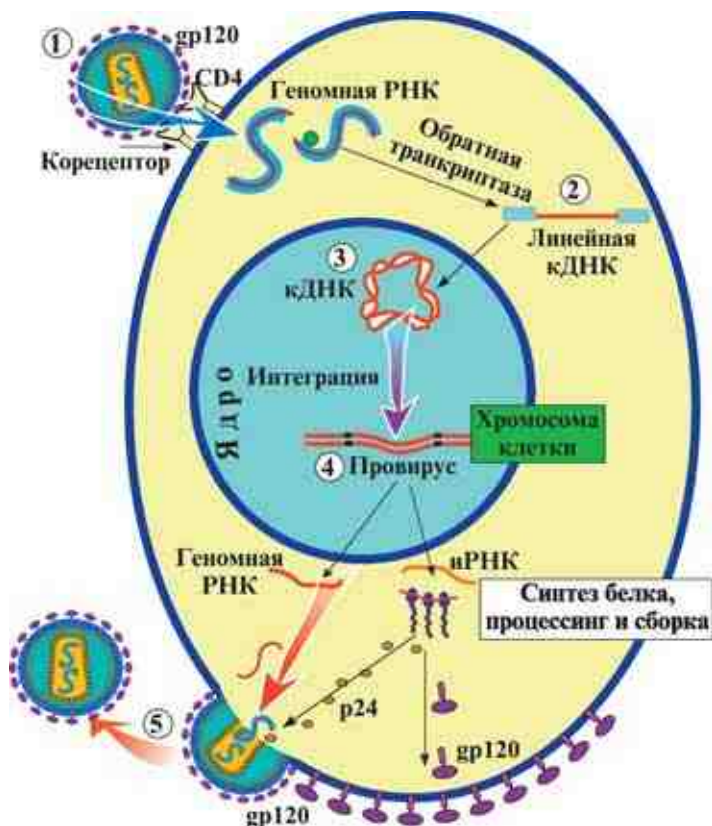


Рис. 3.10. Схема репродукции вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Вирус (1) связывается гликопротеином gp120 с рецептором CD4 Т-хелперов, макрофагов, дендритных и микроглиальных клеток. Участвуют и другие корецепторы клеток. После слияния оболочки ВИЧ с плазмолеммой клетки в цитоплазме освобождается 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), которая 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 клетки почкованием (5): сердцевина вируса «одевается» в модифицированную плазмолемму

(М-белок), который расположен под модифицированной клеточной мембраной. Обладая гидрофобными свойствами, он выполняет роль посредника между нуклеокапсидом и вирусной липопротеиновой оболочкой.

- Сложные 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 (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 простые вирусы, не имеющие липопротеиновой оболочки.
- **Почкование, экзоцитоз** присущи вирусам с липопротеиновой оболочкой, которая является производной от клеточных мембран. Сначала образовавшийся нуклеокапсид или сердцевина вириона транспортируются 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 сложного вируса. При этом клетка способна длительно сохранять жизнеспособность и продуцировать вирусное потомство.

Почкование вирусов, формирующихся в цитоплазме, может происходить либо через плазматическую мембрану (например, тогавирусы, парамиксовирусы — см. рис. 3.8, 3.9), либо через мембраны эндоплазматической сети с последующим их выходом на поверхность клетки (буньявирусы).

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

3.3.2. 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 при наличии вируса гепатита В).
- **Дефектные вирионы** обычно лишены части генетического материала и могут накапливаться в популяции многих вирусов при множественном заражении клеток.
- **Дефектные интерферирующие частицы** (ДИ-частицы) интерферируют с репродукцией стандартного вируса и подавляют воспроизводство вирусного потомства.

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 иРНК; 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 рН в очаге воспаления, введение в организм противовирусных препаратов и др. При устранении неразрешающих условий абортивный тип переходит в продуктивный тип взаимодействия вирусов с клеткой.

3.3.3. Интегративный тип взаимодействия вирусов с клеткой (виrogenия)

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- (например, вирус гепатита В), так и РНК-содержащих (например, вирус 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 (ВИЧ) 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 (см. рис. 3.10). 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 виrogenии 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 виrogenии сообщает клетке новые свойства, что может быть причиной онкогенной трансфор-

мации 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 лежат в основе персистенции (от лат. *persistentia* — упорство, постоянство) вирусов в организме и развития латентных (скрытых) вирусных инфекций.

Латентная инфекция поддерживается в инфицированной клетке в виде вирусной ДНК, интегрированной в геном клетки, или в виде множественных копий ковалентно замкнутой циркулярной ДНК вируса. Например, герпес-вирусы обычно вызывают латентные инфекции, при которых вирусный геном поддерживается как циркулярная эписома в ядре, экспрессируя только несколько вирусных генов и не образуя инфекционного вируса. В эукариотической клетке вирусная ДНК связана с гистонами этой клетки, которые играют стабилизирующую роль в латенции.

3.4. Культивирование вирусов

Культивирование вирусов человека и животных проводят в целях 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.

Лабораторных животных (взрослых или новорожденных белых мышей, хомячков, 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 способ-

ности 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 вирусосодержащей 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 в. 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 питательных сред (среда 199, Игла), содержащих минеральные соли, аминокислоты, витамины, глюкозу, сыворотку крови животных или человека и буферные растворы, стабилизирующие pH;
- 4) добавление антибиотиков к питательной среде для подавления роста посторонних микробов;
- 5) соблюдение оптимальной температуры (36–38,5 °C) 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 клеток 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 (стабильные) культуры клеток способны размножаться в лабораторных условиях неопределенно длительный срок (десятки лет), т.е. выдерживают многочисленные пассажи. Их получают главным образом 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 высококаче-

ственные вакцинные и диагностические препараты, проводить вирусологические исследования в стандартных условиях.

О репродукции вирусов в культуре клеток, зараженных вирусосодержащим материалом, можно судить на основании следующих феноменов: цитопатогенного действия вирусов, или цитопатического эффекта, образования внутриклеточных включений; образования «бляшек»; реакций гемадсорбции и гемагглютинации; «цветной» реакции.

Цитопатогенное действие (ЦПД) — патологические изменения морфологии клеток, вплоть до их гибели, возникающие в результате репродукции вирусов и наблюдаемые под микроскопом (рис. 3.11). 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.

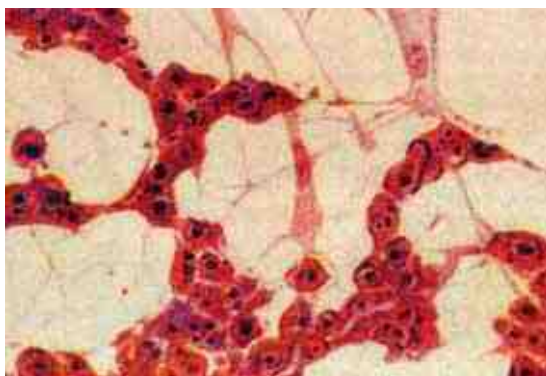


Рис. 3.11. Однослойная культура клеток, зараженная вирусом, — ЦПД вируса

Некоторые вирусы можно обнаружить и идентифицировать по внутриклеточным **включениям**, которые образуются в ядре или цитоплазме зараженных клеток (рис. 3.12). 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.

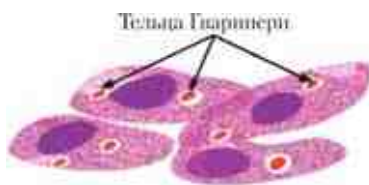


Рис. 3.12. Цитоплазматические включения — тельца Гварниери

«Бляшки», или **«негативные колонии»**, — ограниченные участки разрушенных вирусами клеток в сплошном монослое культуры клеток, культивируемых на питательной среде под агаровым покрытием. Они видны невооруженным глазом в виде светлых пятен на фоне окрашенного монослоя живых клеток (рис. 3.13). 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 данный метод используют для дифференциации вирусов, а также для селекции штаммов и получения чистых линий вирусов.

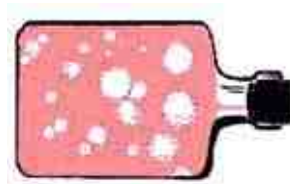


Рис. 3.13. «Бляшки» («негативные» колонии) вирусов в культуре клеток

Реакция гемадсорбции основана на способности 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 без выраженного 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.

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 рН среды и соответственно цвет индикатора. При репродукции вирусов нормальный метаболизм клеток нарушается (клетки гибнут), и среда сохраняет первоначальный цвет индикатора.

3.5. Бактериофаги

Бактериофаги (от греч. *phagos* — пожирающий — и бактерия), или фаги, — вирусы бактерий, специфически проникающие в бактерии и 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'Эрель (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'Эрель 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». Ф. Д'Эрель 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* T2). 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 (рис. 3.14): нитевидные;

мелкие кубические (некоторые из них имеют аналоги отростков); фаги сперматозоидной формы, т.е. с кубической головкой и хвостовым отростком, имеющие сокращающийся или несокращающийся чехол отростка. Размеры фагов колеблются от 20 до 800 нм (нитевидный тип).

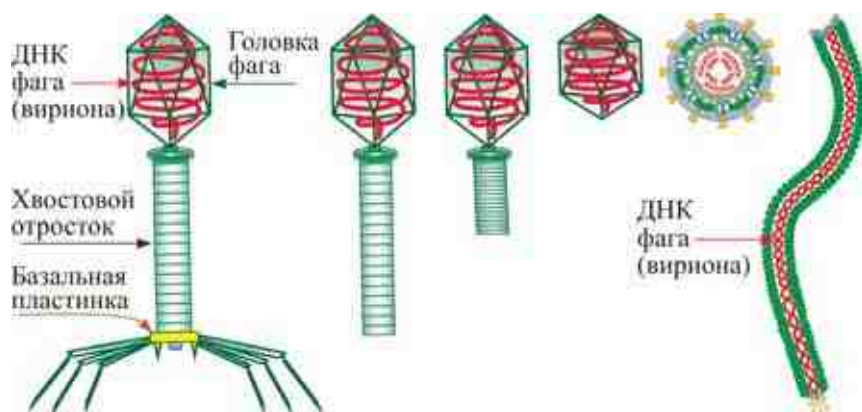


Рис. 3.14. Морфологические типы фагов

Наиболее изучены крупные бактериофаги, имеющие форму сперматозоида и сокращающийся чехол отростка, например колифаги T2, T4, T6. Они состоят из головки икосаэдрического типа размером 65–100 нм и хвостового отростка длиной более 100 нм (рис. 3.15). 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 шипами, от которых отходят нитевидные структуры — **фибриллы** (нити). 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, T2) в дистальной части отростка содержится фермент лизоцим.

Антигенные свойства. Бактериофаги содержат группоспецифические и типоспецифические антигены, обладают иммуногенными свойствами. 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 специфичности 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. Для внедрения в бактерию они адсорбируются на специфических рецепторах клетки, в том числе на липополисахаридах, липопротеинах, тейхоевых кислотах, протеинах или даже на пилих (см. рис. 2.10). Проникнув в бактерию, они репродуцируются с образованием 200–300 новых фаговых частиц и вызывают лизис бактерий.

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. 3.15). 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 пилих, 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

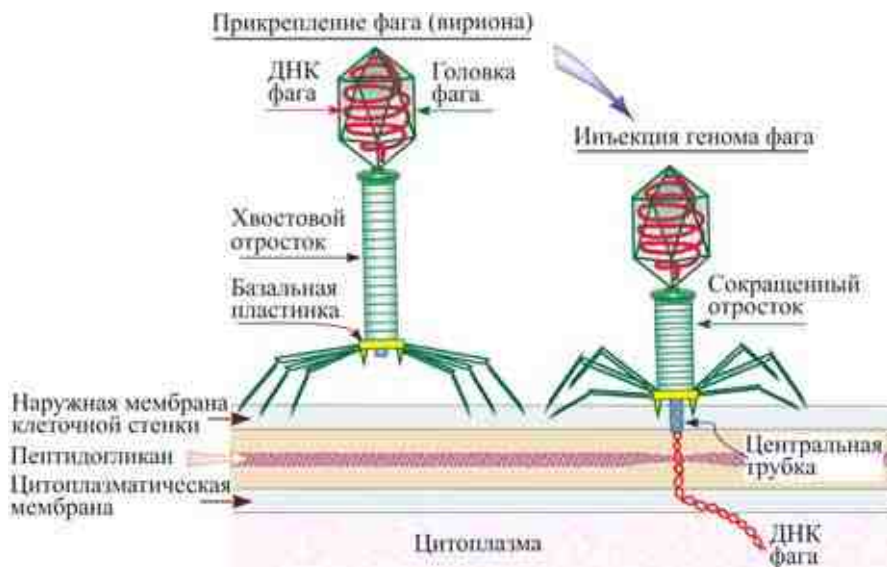


Рис. 3.15. Взаимодействие бактериофага с клеточной стенкой бактерии

и белки фага. Эти процессы схожи с репродукцией вирусов человека. После образования компонентов фага происходит самосборка частиц: сначала пустотельные 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. 3.16). 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. *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 всег-

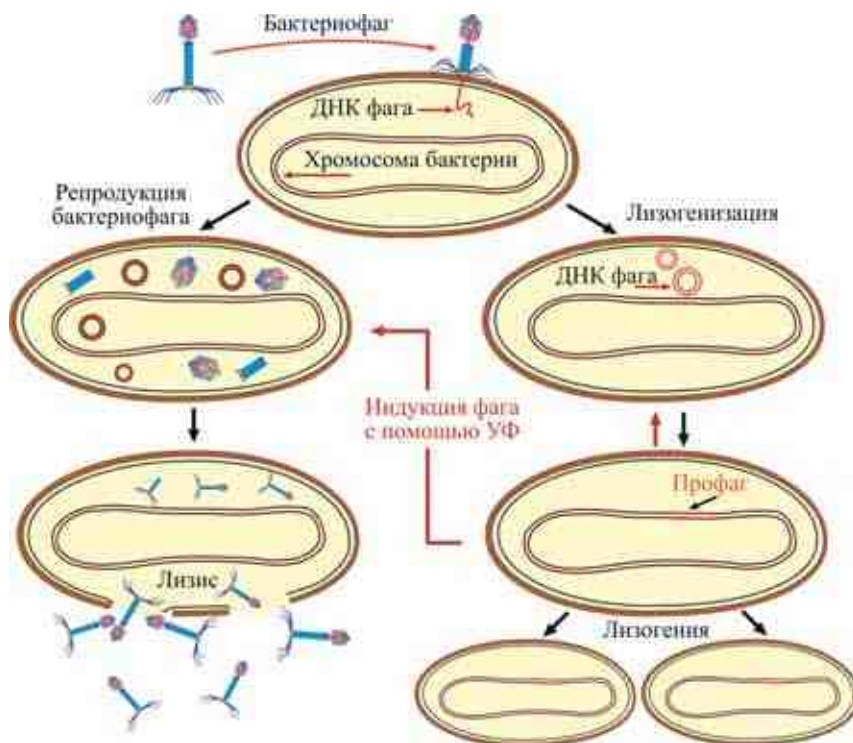


Рис. 3.16. Пути развития умеренного фага лямбда

да 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 детерминирован 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 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 инаktivации 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. *conversio* — превращение). Конвертироваться могут морфологические, культуральные, биохимические, антигенные и другие свойства бактерий. Например, наличие профага в дифтерийной палочке обуславливает 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. 3.17). Фаговар бактерии определяется тем типом фага, который вызвал ее



Рис. 3.17. Фаготипирование и титрование стафилококковых бактериофагов

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.

Тестовые вопросы и задания

А. Конечными продуктами дыхания являются:

- 1) CO_2 ;
- 2) спирты;
- 3) вода;
- 4) кислоты.

Б. Конечные продукты брожения:

- 1) газы;
- 2) спирты;
- 3) кислоты;
- 4) вода.

В. Анаэробы применяют для культивирования:

- 1) ауксотрофов;
- 2) аэробов;
- 3) прототрофов;
- 4) строгих анаэробов.

Г. Бактерии в стационарной фазе роста характеризуются:

- 1) постоянной максимальной скоростью деления клеток;
- 2) прекращением размножения клеток;
- 3) непрерывным процессом увеличения количества клеток;
- 4) прекращением процесса увеличения количества клеток.

Д. В результате интегративного типа взаимодействия вируса с клеткой происходит:

- 1) вирусоносительство;
- 2) образование новых вирионов;
- 3) трансформация клетки;
- 4) гибель клетки.

Е. Практическое применение бактериофагов:

- 1) фагоцитоз;
- 2) фаготипирование;
- 3) фаготерапия;
- 4) фагопрофилактика;
- 5) фагодиагностика.

Ж. Для культивирования вирусов используют:

- 1) культуры клеток;
- 2) питательные среды, содержащие нативные белки;
- 3) куриные эмбрионы;
- 4) лабораторных животных;
- 5) питательные среды, содержащие факторы роста.

З. Особенности взаимодействия вирусов с клеткой:

- 1) продуктивный тип взаимодействия;
- 2) abortивный тип взаимодействия;
- 3) интегративный тип взаимодействия;
- 4) наличие дисъюнктивного способа размножения.

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. Они — 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

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.

4.1.1. 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, видов растительности, температуры, влажности и т.д. Большинство почвенных микроорганизмов развиваются при нейтральном pH, высокой относительной влажности, температуре от 25 до 45 °C.

В почве живут **азотфиксирующие бактерии**, способные усваивать молекулярный азот (*Azotobacter*, *Azomonas*, *Mycobacterium* и др.). Азотфиксирующие разновидности цианобактерий, или сине-зеленых водорослей, применяют для повышения плодородия рисовых полей. Почва служит 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 бактерий группы кишечной палочки (колиформных бактерий) в значительных количествах служит показателем загрязнения почвы фекалиями человека и животных и свидетельствует об ее санитарно-эпидемиологическом неблагополучии из-за возможности передачи возбудителей кишечных инфекций.

Многочисленные грибы почвы участвуют в почвообразовательных процессах, превращениях соединений азота, выделяют биологически активные вещества, в том числе антибиотики и токсины. Токсинообразующие грибы, попадая в продукты питания человека, вызывают интоксикации — микотоксикозы.

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.

4.1.2. Микрофлора воды

Микрофлора воды отражает микробный пейзаж почвы. В воде формируются биоценозы с преобладанием микроорганизмов, адаптировавшихся к условиям местонахождения.

Вода пресных водоемов содержит различные бактерии: палочковидные (псевдомонады, аэромонады и др.), кокковидные (микрококки), извитые

и нитевидные (актиномицеты). Загрязнение воды органическими веществами сопровождается увеличением числа 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, тальными и сточными водами в озера и реки попадают представители нормальной микрофлоры человека и животных (индикаторы фекального загрязнения — 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).

В микрофлоре воды океанов и морей также представлены различные микроорганизмы, в том числе археобактерии, 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.

4.1.3. Микрофлора воздуха

Микрофлора воздуха взаимосвязана с микрофлорой почвы, воды, человека и животных. С воздухом разносятся 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. Состав и численность микроорганизмов воздуха закрытых помещений зависят от условий уборки помещения, уровня освещенности, количества людей в помещении, частоты проветривания и др.

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

4.1.4. 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, протеом, 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 стать причиной заболеваний, связанных с размножившимися в них сальмонеллами, шигеллами, диареегенными кишечными палочками, протеом, энтеротоксигенными штаммами стафилококков, энтерококками, *Clostridium 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 parahaemolyticus* — возбудителями пищевых токсикоинфекций. Эти заболевания наблюдаются и при употреблении рыбных продуктов, загрязненных большим количеством сальмонелл, протей, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*.

Овощи и фрукты, как правило, загрязняются и обсеменяются шигеллами, диареегенными кишечными палочками, протеом, энтеропатогенными штамма-

ми стафилококков. Соленые огурцы могут быть причиной токсикоинфекции, вызванной *V. parahaemolyticus*.

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

4.1.5. 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 *Pantoea agglomerans*. Они являются антагонистами возбудителя мягкой гнили овощей. Обнаруживают в норме и другие бактерии — *Pseudomonas fluorescens*, реже *Bacillus mesentericus* и небольшое количество грибов.

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

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. грибо-корнем (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 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* (новое название *Pectodacterium 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 неспорообразующих палочек неправильной формы (*Curtobacterium flaccumfaciens*, *Clavibacter michiganensis* 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 волосистой, 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. **Вироиды** (кольцевые молекулы РНК, не имеющие белка) поражают растения в виде карликовости, кустистости, хлоротичной пятнистостью листьев и нарушением цветения.

Грибы, поражающие растения, могут в случае приготовления из пораженного зерна продуктов питания вызывать пищевые отравления — микотоксикозы. Примером микотоксикоза служит 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*, *Aspergillus* 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.

4.1.6. 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 микроорганизмами являются выделения человека. Некоторые возбудители (легионеллы, аэромонады, псевдомонады, клебсиеллы, протей) размножаются в увлажненных участках (душевые, ванны, водосточные трубы, раковины и др.).

4.1.7. 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 CO_2 в процессе фотосинтеза, а также микроорганизмы, разлагающие органические вещества отмерших растений и животных с выделением CO_2 . При аэробном разложении органических веществ образуются CO_2 и вода, а при анаэробном брожении — кислоты, спирты, CO_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 связывают клубеньковые бактерии и свободноживущие микроорганизмы почвы. Органические соединения растительных, животных и микробных остатков подвергаются в почве минерализации микроорганизмами, превращаясь 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* и др., 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

Человек заселен (колонизирован) примерно 1000 видами микробов, составляющими его нормальную микрофлору, в виде сообщества (микробиоценоза) массой около 2 кг, содержащего 10^{14} особей (наше тело содержит только $\sim 10^{13}$ клеток!), причем преобладают облигатные анаэробы. Микробы находятся в состоянии равновесия (*эубиоза*) друг с другом и организмом человека. Большинство из них являются **комменсалами**, не причиняющими вреда человеку. Организм человека проявляет **пероральную (оральную, региональную) толерантность** к собственной нормальной микрофлоре. Эта толерантность обусловлена блокадой активации сигнальных рецепторов (TLR и др.) к компонентам микрофлоры человека и активностью регуляторных Т-лимфоцитов (T_{Reg}). Срыв оральной толерантности влечет развитие патологии (хронического гастрита, болезни Крона, неспецифического язвенного колита и др.). Микрофлора колонизирует поверхность тела и полости, сообщающиеся с окружающей средой. В норме микробы отсутствуют в легких, матке и внутренних органах. Различают постоянную и транзиторную микрофлору. **Постоянная микрофлора** (резидентная, индигенная, или автохтонная) представлена микробами, постоянно присутствующими в организме. **Транзиторная микрофлора** (непостоянная, или аллохтонная) не способна к длительному существованию в организме. Постоянную микрофлору можно разделить на облигатную и факультативную. **Облигатная микрофлора** (бифидобактерии, лактобактерии, бактероиды, кишечные палочки и др.) является основой микробиоценоза, а **факультативная микрофлора** (стафилококки, стрептококки, клебсиеллы, клостридии, некоторые грибы и др.) включает меньшую часть микробиоценоза.

Представители нормальной микрофлоры слизистых оболочек заключены в высокогидратированный экзополисахаридно-муциновый матрикс, образуя **биологическую пленку**, устойчивую к различным воздействиям. Плотность

популяции микробов и их взаимоотношения определяются понятием Quorum Sensing (QS), или «ощущение кворума» (чувство локтя).

Кожа. На коже и в ее более глубоких слоях (волосных мешочках, протоках сальных и потовых желез) анаэробов в 2–10 раз больше, чем аэробов.

Кожу колонизируют* грамположительные бактерии (пропионибактерии, коринеформные бактерии, эпидермальные стафилококки и другие коагулазо-отрицательные стафилококки, микрококки, стрептококки, пептострептококки, *Dermabacter hominis*), а также некоторые грамотрицательные бактерии (рода *Acinetobacter* и др.) и дрожжеподобные грибы рода *Malassezia*. Реже встречается транзитная микрофлора: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* и др. При ослаблении организма на коже возрастает количество бактерий, появляются вирусы простого герпеса, папилломавирусы и грибы.

Конъюнктивы содержат небольшое количество коринеформных бактерий и стафилококков из-за действия лизоцима и других бактерицидных факторов слезной жидкости.

Верхние дыхательные пути содержат бактериоиды, коринеформные бактерии, гемофильные палочки, лактобактерии, стафилококки, стрептококки, нейссерии, пептококки, пептострептококки и др. Трахея, бронхи и альвеолы обычно стерильны.

Рот. Ассоцианты нормальной микрофлоры и продукты их жизнедеятельности образуют зубной налет (бляшки). В 1 мл слюны обитает до 10^8 бактерий, чему способствуют остатки пищи во рту, благоприятная температура (37°C) и щелочная реакция среды. Анаэробов больше, чем аэробов, в 10 и более раз. Преобладают бактерии: бактериоиды, превотеллы, порфиромонады, бифидобактерии, эубактерии, фузобактерии, лактобактерии, актиномицеты, гемофильные палочки, лептотрихии, нейссерии, стрептококки, стафилококки, пептококки, пептострептококки, вейлонеллы, спирохеты и др. Обнаруживаются также грибы рода *Candida* и простейшие (*Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*). Бактерии имеют определенное топографическое распространение, в том числе и в зубной бляшке. В развитии зубной бляшки сначала участвуют стрептококки (*S. gordonii*, *S. mitis*, *S. oralis* и *S. sanguinis*), связывающиеся со слюнными рецепторами (муцин, пролин-богатый протеин, α -амилаза, слюнной агглютинин) на пелликуле, покрывающей зубную поверхность. Позднее связываются и коагрегируют другие бактерии (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella denticola*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*, *Capnocytophaga* spp., *Actinomyces* spp., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и др.). Актиномицеты присутствуют в больших количествах на языке, десневых карманах, в зубной бляшке и слюне.

* Различные участки кожи (сальные, влажные в складках кожи и сухие) отличаются составом представителей типов бактерий: *Actinobacteria* (семейства *Corynebacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Propionibacteriaceae* и др.), *Bacteroidetes*, *Firmicutes* (*Staphylococcaceae*, *Streptococcus* и др.), *Proteobacteria* и *Cyanobacteria*.

Состав микрофлоры рта регулируется механическим действием слюны и языка; микробы смываются слюной со слизистой оболочки и зубов. Антимикробные пептиды и антитела (секреторный IgA) подавляют адгезию посторонних микробов к эпителиоцитам. С другой стороны, бактерии образуют полисахариды: *S. sanguinis* и *S. mutans* преобразуют сахарозу во внеклеточный полисахарид (гликаны, декстраны), участвующий в адгезии к поверхности зубов. Колонизации постоянной частью микрофлоры способствует фибронектин, покрывающий эпителиоциты и обладающий сродством к грамположительным бактериям.

Пищевод практически не содержит микроорганизмы.

В **желудке** имеются лактобациллы, дрожжи, единичные кокки и грамотрицательные бактерии. Концентрация бактерий меньше 10^3 клеток на 1 мл, так как желудочный сок имеет низкое значение pH, неблагоприятное для многих микробов. Желудок в норме это своеобразная стерилизационная камера (соляная кислота, пепсиноген — предшественник пепсина и др.), подавляющая патогенные микробы. При гастритах, язвенной болезни желудка обнаруживаются изогнутые бактерии рода *Helicobacter*, которые являются этиологическими факторами многих патологических процессов (гастрит, язвы, опухоли).

Тонкая кишка содержит 10^4 – 10^7 микробов на 1 мл содержимого. Здесь обнаруживаются бифидобактерии, лактобактерии, клостридии, эубактерии, энтерококки, анаэробные кокки, порфиромонады, превотеллы.

Толстая кишка содержит больше бактерий (10^{10} – 10^{12} на 1 г фекалий), чем тонкая кишка. Около 95% всех видов микробов составляют анаэробные бактерии.

Основными представителями микрофлоры толстой кишки являются:

- анаэробные грамположительные палочки (бифидобактерии, лактобациллы, эубактерии); грамположительные спорообразующие анаэробные палочки (*Clostridium perfringens* и др.); энтерококки;
- анаэробные грамположительные (руминококки, пептострептококки, пептококки, гемеллы) и грамотрицательные (аккермансии) кокки;
- анаэробные грамотрицательные палочки (бактероиды, превотеллы, порфиромонады);
- факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки (кишечные палочки и сходные с ними бактерии семейства *Enterobacteriaceae* — цитробактер, энтеробактер, клебсиеллы, протей и др.);
- метанокки и другие метанопродуцирующие археи (архебактерии);
- на эпителии успешно растут спирохеты.

В меньших количествах обнаруживаются фузобактерии, порфиромонады, пропионибактерии, вейллонеллы, стафилококки, синегнойная палочка и грибы рода *Candida* (*C. glabrata*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*). Количество простейших (*Blastocystis hominis*, *Chilomastix mesnili*, *Endolimax nana*, *coli*, *hartmanni*, *Entamoeba polecki*, *Enteromonas hominis*, *Iodamoeba butschlii*, *Retortamonas intestinalis* и *Trichomonas hominis*) колеблется в норме, в зависимости от диеты и действия факторов окружающей среды.

Рост посторонней микрофлоры задерживается в результате антагонистических свойств нормальной микрофлоры и блокирующего действия секреторного IgA и антимикробных пептидов. У младенцев угнетающим действием также обладает лактоферрин, поступающий с грудным молоком матери.

Специализированные эпителиальные клетки (бокаловидные клетки) выделяют **муцин**, собирающийся в гелеподобном слое, который простирается вплоть до 150 мкм от поверхности кишечной эпителиальной клетки. Формируются два структурно четких слоя муцина: **внутренний слой муцина** формирует защищенную зону в апикальной поверхности эпителиоцита, тогда как **внешний слой муцина** содержит большие количества бактерий. Внутренний слой стойкий к бактериальному проникновению, ограничивает прямой контакт бактерий с эпителиоцитами (см. рис. 10.1).

Микрофлора ЖКТ новорожденных. ЖКТ новорожденного стерилен, но уже через сутки он заселяется микроорганизмами, попадающими в организм ребенка от матери, медицинского персонала и окружающей среды. Через 48 ч после рождения общее количество бактерий достигает 10^9 клеток и более в 1 г фекалий: происходит заселение кишечника лактобактериями, энтеробактериями, стафилококками, энтерококками, вслед за которыми появляются анаэробы (бифидобактерии и бактероиды). На 9–10-е сутки жизни в кишечнике начинают преобладать бифидобактерии, составляющие впоследствии основу микробного пейзажа.

Микрофлора детей первого года жизни содержит (наряду с бифидобактериями, энтерококками, непатогенными эшерихиями и некоторыми другими, вместе формирующими состояние зубиоза) и бактерии, которые могут нарушить это состояние и привести к развитию эндогенной инфекции. Такими группами бактерий являются коагулазопозитивные стафилококки, лецитиназопозитивные клостридии, грибы рода *Candida*, цитратассимилирующие энтеробактерии и эшерихии с низкой биохимической активностью, а также со способностью к продукции гемолизина. К концу первого года жизни происходит частичная или полная элиминация этих бактерий.

Мочеполовой тракт. Почки, мочеточники, мочевого пузырь, матка, простата обычно стерильны. Микрофлора наружных гениталий представлена эпидермальными стафилококками, коринеформными бактериями, зелеными стрептококками, сапрофитическими микобактериями (*Mycobacterium smegmatis*), кандидами и энтеробактериями. На слизистой оболочке передней уретры встречаются в норме стафилококки, непатогенные нейссерии, коринеформные бактерии, сапрофитные трепонемы и др.

Влагалище включает лактобактерии, бифидобактерии, бактероиды, пропониобактерии, порфириномонады, превотеллы, пептострептококки, коринеформные бактерии и др. Преобладают анаэробы: соотношение анаэробы/аэробы составляет 10:1. В репродуктивный период жизни преобладают грамположительные бактерии, а в период менопаузы она заменяется грамотрицательными бактериями. Примерно у 5–60% здоровых женщин выявляются

Gardnerella vaginalis; у 15–30% — *Mycoplasma hominis*; у 5% — бактерии рода *Mobiluncus*.

Состав микрофлоры зависит от многих факторов: менструального цикла, беременности и др. В клетках влагалищного эпителия накапливается гликоген (способствуют эндогенные эстрогены), расщепляемый лактобактериями с образованием молочной кислоты. Образующиеся органические кислоты подкисляют среду до pH 4–4,6. Подкисление лактобактериями вагинального секрета, продукция ими перекиси водорода и бактериоцинов ведет к подавлению роста посторонней микрофлоры.

4.2.1. Значение микрофлоры организма человека

Нормальная микрофлора — важный **фактор врожденного иммунитета**. Она обладает антагонистическими свойствами против патогенной и гнилостной микрофлоры, так как продуцирует молочную, уксусную кислоты, антибиотики, микробный лизоцим, бактериоцины; конкурирует с посторонней микрофлорой за счет более высокого биологического потенциала.

Антигены микрофлоры стимулируют иммунную систему. Естественным стимулятором является мурамилдипептид (см. рис. 2.6), образующийся из пептидогликана бактерий под влиянием лизоцима и других антимикробных пептидов кишечника. Компоненты микробов (например, лактобактерий), взаимодействуя с макрофагами барьерных тканей, индуцируют продукцию IL-12, который способствует дифференцировке T_H0 в T_H1 и подавляет продукцию IgE. Бактериальные короткоцепочечные жирные кислоты усиливают местный иммунитет и синтез нейромедиаторов. Животные гнотобионты, живущие в среде, свободной от микроорганизмов, отличаются слаборазвитой лимфоидной тканью и повышенной чувствительностью к инфекциям.

Микрофлора участвует в **колонизационной резистентности**, которая является совокупностью защитных факторов организма и конкурентных, антагонистических и других свойств нормальной микрофлоры (в основном анаэробов) кишечника, придающих стабильность микрофлоре и предотвращающих колонизацию организма посторонними микробами. При снижении колонизационной резистентности увеличивается количество и спектр аэробных условно-патогенных микробов. Их транслокация через слизистые оболочки может привести к развитию эндогенного гнойно-воспалительного процесса. Для нормализации колонизационной резистентности проводят **селективную деконтаминацию** — избирательное удаление из пищеварительного тракта аэробных бактерий и грибов. Ее осуществляют путем приема внутрь малоадсорбируемых химиопрепаратов, подавляющих аэробную часть микрофлоры и не влияющих на анаэробы, например комплексное назначение ванкомицина, гентамицина и нистатина.

Нормальная микрофлора участвует в водно-солевом обмене, регуляции газового состава и перистальтики кишечника, обмене белков, углеводов, жирных

кислот, холестерина, нуклеиновых кислот, а также в продукции биологически активных соединений: антибиотиков, витаминов (К, группы В и др.), токсинов и др.

Нормальная микрофлора участвует в переваривании и детоксикации экзогенных и эндогенных субстратов и метаболитов, что сравнимо с функцией печени; недавно описанные виды родов *Bacteroides*, *Roseburia*, *Ruminococcus*, а также *Bifidobacterium adolescentis* расщепляют целлюлозу и другие полисахариды, поддерживая высокие плотности бактерий в толстой кишке.

Нормальная микрофлора участвует в рециркуляции стероидных гормонов и желчных солей в результате экскреции метаболитов из печени в кишечник и последующего возврата в нее. Она выполняет морфокинетическую роль в развитии различных органов и систем организма, участвует в физиологическом воспалении слизистой оболочки и смене эпителия, а также тепловом обеспечении организма.

Нормальная микрофлора выполняет антимуtagenную функцию, разрушая канцерогенные вещества в кишечнике. В то же время некоторые бактерии могут продуцировать сильные мутагены. Ферменты бактерий кишечника преобразуют искусственный подсластитель цикломат в активный канцероген (циклогексамин) для мочевого пузыря.

Экзополисахариды (гликокаликс) микробов, входящие в состав биологической пленки, защищают их от разнообразных физико-химических воздействий. Слизистая оболочка кишечника также находится под защитой биологической пленки.

При снижении сопротивляемости организма микробы-комменсалы вызывают гнойно-воспалительные процессы (аутоинфекция, или эндогенная инфекция). Оказываясь при транслокации в непривычных местах обитания, они могут вызывать различные нарушения.

В результате действия микробных декарбоксилаз и ЛПС высвобождается дополнительное количество гистамина, что может вызывать аллергические состояния.

Нормальная микрофлора — хранилище и источник хромосомных и плазмидных генов, в частности генов лекарственной устойчивости к антибиотикам.

Отдельных представителей нормальной микрофлоры используют в качестве *санитарно-показательных микроорганизмов*, свидетельствующих о загрязнении окружающей среды (воды, почвы, воздуха, продуктов питания и др.) выделениями человека и, следовательно, об их эпидемиологической опасности.

4.2.2. Дисбактериоз и дисбиоз

Дисбактериоз и дисбиоз — состояния, развивающиеся в результате утраты нормальных функций микрофлоры. Эти нарушения определяются как клини-

ко-лабораторный синдром. Они происходят под влиянием внешних факторов, стрессовых воздействий, бесконтрольного применения антимикробных препаратов, лучевой терапии и химиотерапии, нерационального питания, оперативных вмешательств и т.д. При **дисбактериозе** происходят количественные и качественные изменения бактерий, входящих в состав нормальной микрофлоры. При **дисбиозе** изменения происходят и среди других групп микроорганизмов (вирусов, грибов и др.). Дисбиозы классифицируют по этиологии (грибковый, стафилококковый, протейный и др.) и по локализации (дисбиоз рта, кишки, влагалища и т.д.). Различают дисбиоз тонкой (синдром избыточного роста бактерий — СИБР, Bacterial overgrowth syndrome) и толстой кишки. Изменения нормальной микрофлоры сопровождаются различными нарушениями: развитием инфекций, диареи, запора, синдрома мальабсорбции, гастрита, колита, язвенной болезни, злокачественных новообразований, аллергии, мочекаменной болезни, гипо- и гиперхолестеринемии, гипо- и гипертензии, кариеса, артрита, поражений печени и др.

Диагностика нарушений микробиоценоза проводится с помощью бактериологического метода, ПЦР-диагностики, хроматомасс-спектрометрии и исследования метаболитов. Перспективен метод газожидкостной хроматографии, основанный на определении короткоцепочечных жирных кислот — метаболитов, в основном анаэробов.

Определение видового и количественного состава представителей микробиоценоза некоторого биотопа (кишки, рта, влагалища, кожи и т.д.) проводится путем посева из разведений исследуемого материала или путем отпечатков, смыва на соответствующие питательные среды (среда Блаурокка — для бифидобактерий; среда МРС-2 — для лактобактерий; анаэробный кровяной агар — для бактероидов; среда Левина или Эндо — для энтеробактерий; желчно-кровоной агар — для энтерококков; кровяной агар — для стрептококков и гемофилов; мясопептонный агар с фурагином — для синегнойной палочки, среда Сабуро — для грибов и др.).

Возможно определение в исследуемом материале микробных метаболитов — маркеров дисбиоза (жирных кислот, гидроксигирных кислот, жирнокислотных альдегидов, ферментов и др.). Например, обнаружение в фекалиях β -аспартил-глицина и β -аспартил-лизина свидетельствует о нарушении кишечного микробиоценоза, так как в норме эти дипептиды метаболизируются кишечной анаэробной микрофлорой.

Для восстановления нормальной микрофлоры проводят селективную деконтаминацию и назначают *per os* различные препараты:

- **пребиотики** — вещества немикробного происхождения или компоненты микробов, стимулирующие рост нормальной микрофлоры человека; обычно основой пребиотика служат низкомолекулярные углеводы (олигосахариды, фруктоолигосахариды), содержащиеся в грудном молоке и в некоторых пищевых продуктах;

- **пробиотики** (эубиотики) — препараты, содержащие живые бактерии, представителей нормальной микрофлоры кишечника, оказывающие нормализующее действие на организм человека и его микрофлору: бифидобактерии (бифидумбактерин), кишечные палочки (колибактерин), лактобактерии (лактобактерин) и др. Другая группа пробиотиков — самоэлиминирующиеся антагонистические микроорганизмы, в норме не обитающие в организме человека (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *Saccharomyces boulardii*);
- **синбиотики** — комбинированные препараты, состоящие из пробиотиков и пребиотиков;
- **энтеросорбенты** — препараты, удаляющие из кишечника токсичные метаболиты и условно-патогенные бактерии (активированный уголь, энтеросгель и др.).

4.3. 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.

Влияние температуры. Представители различных групп микроорганизмов развиваются в определенных диапазонах температур. Бактерии, растущие при низкой температуре, называют психрофилами; при средней (около 37 °С) — мезофилами; при высокой — термофилами.

Психрофилы 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 0 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.

Термофилы существуют 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 устойчивы микроорганизмы, защищенные слизью мокроты. Так, бактерии туберкулеза в мокроте выдерживают высушивание до 90 дней. Устойчивы к высушиванию некоторые капсуло- и слизееобразующие 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 иммунологические 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 ионизирующего излучения, например *Micrococcus radiodurans* был выделен из ядерного реактора.

Неионизирующее излучение — ультрафиолетовые и инфракрасные лучи солнечного света, а также ионизирующее излучение — γ -излучение радиоактивных веществ и электроны высоких энергий губительно действуют на микроорганизмы уже через короткий промежуток времени.

Ультрафиолетовые (УФ) 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.

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 (см. разд. 7.7).

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 служат лишайники — симбиоз гриба и сине-зеленой водоросли. 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. 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 источники 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).

4.4. Уничтожение микробов в окружающей среде

Посторонние микробы, содержащиеся на различных предметах и в материалах, уничтожают с помощью стерилизации и дезинфекции.

4.4.1. Стерилизация

Стерилизация (от лат. *sterilis* — бесплодный) — полное уничтожение микробов или полное их удаление (элиминация) из объекта. Различают тепловую, химическую, лучевую стерилизацию и стерилизацию фильтрованием.

Тепловая стерилизация основана на чувствительности микробов к высокой температуре. При 60 °С вегетативные формы микробов погибают, а споры, содержащие воду 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 производят в воздушных стерилизаторах (сухожаровых шкафах, или печах Пастера) при 180 °С — 60 мин; 160 °С — 150 мин. Сухим жаром стерилизуют лабораторную посуду, инструменты, силиконовую резину и другие объекты, которые не теряют своих качеств при высокой температуре. Возможны и другие режимы: 180 °С — 40 мин, 200 °С — 30 мин. Предметы, не выдерживающие подобной обработки, обеззараживают в паровых стерилизаторах.

Стерилизацию паром проводят в паровых стерилизаторах (автоклавах) под давлением (121 °С, 15 мин; 134 °С, 3–5 мин). Повышенное атмосферное давление приводит к увеличению температуры кипения (табл. 4.1). Под дей-

ствием высокой температуры и пара споры погибают уже при 121 °С в течение 15–20 мин (они могут выдерживать температуру 100 °С до 5 ч).

Гипертермофильные формы архебактерий размножаются при температуре 100 °С и выше, поэтому они могут выдерживать автоклавирование при 121 °С в течение одного часа. Эти экстремальные жизненные формы, наряду с прионами, не поддаются стандартной стерилизации. Для инактивации прионов требуется иной режим, например автоклавирование при 121 °С в течение 4 ч или при 134 °С в течение 30 минут.

В паровом стерилизаторе стерилизуют перевязочный материал, металлические инструменты, питательные среды, растворы, инфекционный материал, белье и т.д.

Таблица 4.1

Зависимость температуры воды от атмосферного давления

Атмосферное давление, атм	Температура воды, °С
0,5	80
1	100
2	121
3	136

Дробная стерилизация (тиндализация) проводится нагреванием объектов при 70–80 °С в течение 30–60 мин для уничтожения вегетативных форм микробов. Процедуру повторяют три дня подряд, причем после каждого прогревания объект выдерживают в термостате для прорастания спор. Метод применяют для обработки материалов, не выдерживающих температуру выше 100 °С, например питательных сред с углеводами.

Химическая стерилизация основана на использовании токсичных газов: оксида этилена, смеси ОБ (смеси оксида этилена и бромистого метила) и формальдегида. Эти вещества являются алкилирующими агентами, инактивирующими активные группы в ферментах, других белках, а также нуклеиновые кислоты, что приводит к гибели микроорганизмов.

Стерилизация осуществляется паром при температуре от 20 до 60 °С в специальных камерах. Газ обладает высокой проникаемостью. В больницах используют формальдегид, в промышленных условиях оксид этилена и смесь ОБ. Химическую стерилизацию используют для объектов, которые могут быть повреждены нагреванием (например, оптические приборы, электронная аппаратура, предметы из нетермостойких полимеров, питательные среды с белком и т.п.).

Для стерилизации изделий из термолабильных материалов, снабженных оптическими устройствами, например эндоскопов, применяют обезвреживание с помощью химических растворов (стериллянтов). Простерилизованный

и отмытый от стерилизующего раствора объект высушивают и помещают в стерильную емкость, соблюдая асептические условия. Стерилизованные объекты хранят не более 3 суток. Формальдегид (НСНО) — основной альдегид, используемый в специальной аппаратуре для стерилизации. Другой альдегид — глутаральдегид. Их используют также как основу фиксаторов и консервантов.

Лучевая стерилизация позволяет обрабатывать сразу большое количество предметов (например, одноразовых шприцев, инструментов, систем для переливания крови и т.д.). Она основана на использовании γ -излучения (источник — радиоактивные изотопы) или ускоренных электронов. Гибель микробов под действием γ -лучей и ускоренных электронов происходит в результате повреждения нуклеиновых кислот.

Стерилизация фильтрованием осуществляется с помощью различных фильтров (нитроцеллюлозных, керамических, асбестовых, стеклянных). Она позволяет освободить жидкости (питательные среды, сыворотку крови, лекарства) от микробов. Лучшими из всех известных типов являются мембранные фильтры.

В настоящее время все более широкое применение находят современные методы стерилизации, созданные на основе новых технологий, с использованием ионизированной плазмы, озона и др.

Контроль стерилизации проводится:

- микробиологическим методом путем посева части объекта стерилизации на среды для аэробных и анаэробных бактерий, а также грибов (в повседневной практике не производится);
- по изменению окраски химических индикаторов (либо индикаторных бумажек, либо порошков, жидкостей — бензойной кислоты, мочевины, запаханных в ампулы), которые помещают на поверхности и в глубине стерилизуемого объекта;
- с помощью биотестов, например из термоустойчивых штаммов спорообразующих бацилл (*Bac. stearothermophilus*, *Bac. licheniformis*), помещаемых внутрь стерилизуемых предметов;
- путем технического контроля аппаратуры соответствующей службой.

4.4.2. Дезинфекция

Дезинфекция (от франц. приставки *des* и позднелат. *infectio* — заражение) — уничтожение и удаление возбудителей инфекции (патогенов) из объектов окружающей среды. При дезинфекции погибает большая часть микробов (в том числе все патогенные), но споры бактерий и некоторые резистентные микробы могут остаться в жизнеспособном состоянии. Различают *профилактическую дезинфекцию* в эпидемическом очаге для предупреждения распространения различных болезней; *текущую дезинфекцию* при возникновении эпидемического очага; *заключительную дезинфекцию* (после окончания эпидемиологической вспышки).

Существуют три основных метода дезинфекции: тепловой, химический и УФ-облучение, выбор которых зависит от дезинфицируемого материала.

Тепловая дезинфекция. Эффективно действие горячей воды и насыщенного пара. Примером тепловой дезинфекции служит применение автоматических моечных машин (промыывание в холодной, а затем в теплой воде с детергентом, с последующим отмыыванием и дезинфекцией в дистиллированной воде при 90 °С). Обычная стирка белья, приготовление пищи и кипячение питьевой воды — примеры использования дезинфекции в быту.

Температура 100 °С убивает вегетативные формы бактерий и вирусы в течение 5 мин. Уничтожению спор способствует добавление в воду 2% натрия гидрокарбоната (NaHCO_3).

Для дезинфекции применяют также сухое тепло, например **прокаливание**.

Разновидностью тепловой дезинфекции является **пастеризация** — метод, созданный Л. Пастером и используемый для обработки в основном молока, а также соков, вина и пива:

- низкотемпературная пастеризация: 61,5 °С, 30 мин; 71 °С, 15 с;
- высокотемпературная пастеризация: кратковременная (секунды) при 80–85 °С;
- ультравысокотемпературная пастеризация: при 130–150 °С в течение нескольких секунд.

Ультрафиолетовое облучение (УФ-лучи с длиной волны 250–280 нм) осуществляется с помощью специальных бактерицидных ламп для обеззараживания воздуха, различных поверхностей в операционных, перевязочных, микробиологических лабораториях, предприятиях пищевой промышленности и т.д. УФ-лучи разрушают ДНК микробов в результате образования тиминовых димеров.

Химическая дезинфекция проводится с помощью различных дезинфицирующих веществ, которые растворяют липиды мембран (детергенты) или разрушают белки и нуклеиновые кислоты (денатуранты, оксиданты) микробов. Химической дезинфекции подвергаются поверхность операционного стола, стены процедурного кабинета, кожа, отработанный патологический материал, вода (хлорирование воды), некоторые инструменты, которые невозможно обработать теплом. Дезинфекцию стремятся проводить в герметичных условиях. Наиболее распространенные дезинфицирующие средства: хлорсодержащие, фенольные, четвертичные аммониевые и перекисные соединения. К неорганическим хлорсодержащим соединениям относят хлорную известь, белильную известь, гипохлорид кальция, гипохлорит натрия. В группу органических хлорсодержащих соединений входят хлорамин Б, дезам, дихлор-1, сульфохлорантин, хлорцин, хлордезин. Фенольными соединениями являются лизол и хлор-β-нафтол, гексахлорофен и др. Перспективную группу дезинфицирующих соединений составляют поверхностно-активные вещества, относящиеся к четвертичным аммониевым соединениям и амфолитам, обладающие бактерицид-

ными, 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.

Перечисленные химические вещества можно разделить по механизму действия на следующие основные группы:

- 1) деструктивный механизм с литическим или денатурирующим эффектом;
- 2) окислительный механизм (перекись водорода, перманганат калия, галогены);
- 3) мембраноатакующий механизм (например, детергенты, нарушающие проницаемость мембран);
- 4) антиферментный механизм (например, соли тяжелых металлов, 8-окси-хинолины и др.).

4.4.3. Асептика и антисептика

Асептика — предотвращение контаминации (загрязнения) объектов или ран микробами. Основоположителем асептики является Д. Листер (1867). Асептика направлена на предупреждение попадания возбудителя инфекции в рану, органы больного при операциях, лечебных и диагностических процедурах. Методы асептики находят также применение на микробиологических производствах, на предприятиях пищевой промышленности и др.

Асептика предусматривает меры защиты от микробов путем сохранения стерильности перевязочного материала, операционного белья, перчаток, инструментов, материала для обработки раны, а также дезинфекцию рук врача, операционного поля, аппаратуры, операционной и других помещений, применение масок и специальной одежды. К системе асептических мероприятий относится также планировка лечебных учреждений операционных («боксирование», вентиляция, кондиционирование воздуха и т.п.).

Антисептика — мероприятия, направленные на уничтожение микробов в патологическом очаге, ране или в другом объекте. Антисептика включает различные методы или комплекс этих методов: механические (удаление инфицированных некротизированных тканей, инородных тел и т.д.); физические (дренирование ран, введение тампонов, наложение гигроскопических повязок); биологические (применение ферментов для лизиса нежизнеспособных клеток, бактериофагов и антибиотиков); химические, основанные на применении антимикробных веществ — антисептиков, которые резко снижают численность микробов в ране, на поверхности организма. По химическому составу различа-

ют следующие **антисептики**: *галогены* — препараты йода (спиртовой раствор йода, раствор Люголя, йодоформ, йодиол, йодопирин), хлора (хлорамины, хлориты); *окислители* (перекись водорода, калия перманганат, обладающие, как и галогены, окислительными свойствами); *кислоты и их соли* (уксусная, борная, салициловая, тетраборат натрия), щелочи (аммиак и его соли, бура); *спирты* (70–80° этанол и др.); *альдегиды* (формальдегид, гексаметилен-тетрамин, β-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 фенолов* (резорцин, трикрезол, фенил-резорцин, фенилсалицилат), дегги (деготь березовый, ихтиол и др.); *красители* (бриллиантовый зеленый, метиленовый синий, этакридина лактат); *соединения тяжелых металлов* (дихлорид и оксицианид ртути, нитрат серебра, колларгол, протаргол, сульфат цинка, сульфат меди, окись цинка).

Для предотвращения роста микроорганизмов в лекарственных средствах применяют консерванты: *альдегиды* (формальдегид, ронгалит); *гуанидина производные* (хлоргексидина диацетат, хлоргексидина дигидрохлорид); *кислоты неорганические и их соли* (борная кислота, натрия метабисульфат); *кислоты органические и их натриевые соли* (бензойная кислота, дегидроацетовая кислота); *ртути органические соединения* (мертиолят/тимеросал, фенилртуть азотнокислая, фенилртуть борнокислая, фенилртуть уксуснокислая).

4.5. 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 обеззараживания 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) — колиформные палочки (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 золотистые стафилококки и гемолитические стрептококки.

Санитарно-показательные микроорганизмы должны отвечать следующим основным требованиям:

- обитают только в организме людей или животных и постоянно обнаруживаются 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 равны или превышают таковые у патогенных микробов;
- их свойства типичны и легко выявляемые для их дифференциации;
- методы их обнаружения и идентификации просты, методически и экономически доступны;
- встречаются в окружающей среде в значительно больших количествах, чем патогенные микроорганизмы;
- в окружающей среде не должно быть близкородственных обитателей — микроорганизмов.

Кроме выявления 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 массе исследуемого материала (вода, почва, продукты питания, лекарственная форма и др.). В частности, определяют МАФАМ — мезофильные аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы, выросшие в виде видимых колоний на плотной питательной среде после инкубации при 37 °С в течение 24 ч.

4.5.1. 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 санитарно-показательных бактерий вычисляются их *индекс* (число бактерий в 1 л воды), *перфрингенс-титр*, *титр энтерококка* и т.д. Так, например, титр энтерококка воды — это наименьшее количество воды, в котором определяется энтерококк.

Важным санитарно-показательным индикатором фекального загрязнения воды является определение **общих колиформных бактерий (колиформных палочек)**, к которым относят грамотрицательные, оксидазаотрицательные палочки, ферментирующие лактозу с образованием кислоты и газа при температуре 37 °С в течение 24–48 ч. Вместо последнего термина предлагалось 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 ч.

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 ч и не растущие на цитратной среде. Общие колиформные бактерии и термотолерантные колиформные бактерии определяют с помощью мембранных фильтров или титрационным методом. О свежем фекальном загрязнении свидетельствует также выявление *энтерококка*. На давнее фекальное загрязнение указывают отсутствие колиформных бактерий и наличие определенного количества **клостридий 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 питьевой воды** не должно превышать 50 колониеобразующих единиц в 1 мл исследуемой воды;
- 2) **общие колиформные бактерии** должны отсутствовать в 100 мл исследуемой воды;

- 3) **термотолерантные колиформные бактерии** должны отсутствовать 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.). Возможно определение возбудителей сибирской язвы, ботулизма, а также легионелл и др.

Оценка фекального загрязнения почвы и его давности проводится по индексу колиформных бактерий (количество 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 мясопептонном агаре при 60 °С в течение 24 ч.

Существуют следующие **критерии оценки степени загрязнения почвы**:

- 1) **титр БГКП** и **перфрингенс-титр** для сильнозагрязненных почв — 0,009 и ниже, 0,00009 и ниже соответственно; 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 сильнозагрязненных — 100 000–400 000 колониеобразующих единиц (КОЕ).

Оценка объектов общественного питания, аптек, лечебных и детских учреждений осуществляется исследованием смывов или отпечатков с рук персонала, посуды, поверхности столов, оборудования и др. Смывы высевают на различные питательные среды для определения микробной обсемененности, наличия БГКП, патогенных энтеробактерий, золотистого стафилококка, энтерококка, грибов рода *Candida*. Метод отпечатков заключается в контакте поверхности питательной среды с исследуемой поверхностью. Для этого применяют специальные контактные чашки Петри «Бактотест» и др. Отдельно можно проводить исследование на энтеровирусы.

4.5.2. Микробиологический контроль воздуха

Микробиологический контроль воздуха осуществляется 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 посевом 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°C , 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 нормативных документов (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Допустимые уровни бактериальной обсемененности воздуха в некоторых отделениях стационаров

Место отбора проб	Условия работы	Общее количество КОЕ в 1 м^3 воздуха	Количество золотистого стафилококка в 1 м^3 воздуха	Количество грамотрицательных бактерий в 1 м^3 воздуха
Операционные (обеспеченные 10–20-кратным и более воздухообменом)	Подготовка 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	

4.5.3. Микробиологический контроль продуктов питания

Санитарно-микробиологическое исследование продуктов питания проводится в плановом порядке и по эпидемиологическим показаниям. В **плановом порядке** оцениваются следующие показатели:

- 1) **общее микробное число (обсеменение)** — определяют МАФАМ — мезофильные аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы, выросшие в виде видимых колоний на плотной питательной среде после инкубации при 37 °С в течение 24 ч;
- 2) **обнаружение санитарно-показательных бактерий** в продуктах питания — *кишечной палочки, колиформных бактерий, энтерококка, золотистого стафилококка, протей, 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.

Общую микробную обсемененность не определяют в кисломолочных продуктах — твороге, сметане, кефире и др., 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.) указывает 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. 4.3.

Таблица 4.3

Ориентировочные микробиологические показатели некоторых продуктов

Продукт	Общее микробное число	Наличие БГКП (коли-титр)
Молоко, сливки, пахта	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

Консервированные продукты питания не должны содержать кишечную палочку, протей и патогенные микробы. При исследовании таких пищевых продуктов, как консервы овощные, рыбные, мясные, предусмотрено обнаружение:

- 1) аэробных микроорганизмов;
- 2) анаэробных микроорганизмов;
- 3) ботулинических экзотоксинов.

4.5.4. 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 с помощью мембранной фильтрации: фильтр после фильтрации исследуемого препарата делят на части и вносят для подраживания задержанных микроорганизмов в жидкие питательные среды. При отсутствии роста препарат считается стерильным.

Лекарственные средства, не требующие стерилизации, обычно содержат микроорганизмы. Поэтому их испытывают на микробиологическую чистоту: 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 обсе-

мененность 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 *Enterobacteriaceae*, плесневые грибы и грибы рода *Candida*; микробное число должно быть не более 100 КОЕ/г.

Тестовые вопросы и задания

А. Представители нормальной микрофлоры кожи:

- 1) коринеформные бактерии;
- 2) эпидермальный стафилококк;
- 3) грибы рода *Malassezia*;
- 4) кишечная палочка.

Б. Представители нормальной микрофлоры кишечника:

- 1) порфиромонады;
- 2) клостридии;
- 3) бактериоды;
- 4) бифидобактерии;
- 5) превотеллы;
- 6) руминококки.

В. Микробы, участвующие в обеспечении колонизационной резистентности:

- 1) бифидобактерии;
- 2) стафилококки;
- 3) лактобактерии;
- 4) стрептококки;
- 5) кандиды.

Г. Для восстановления нормальной микрофлоры применяют:

- 1) пребиотики;
- 2) пробиотики;
- 3) синбиотики;
- 4) энтеросорбенты.

Д. К пробиотикам относятся:

- 1) колибактерин;
- 2) колифаг;
- 3) бифидобактерин;
- 4) колицин.

Е. Процессы, используемые при стерилизации:

- 1) автоклавирование;
- 2) пастеризация;
- 3) обработка сухим жаром;
- 4) обработка γ -излучением.

Ж. Вещества, применяемые при дезинфекции:

- 1) смесь оксида этилена с метилбромидом;
- 2) четвертичные аммонийные соединения;
- 3) хлорная известь;
- 4) спиртовой раствор йода.

З. Санитарно-показательными микробами фекального загрязнения воды и продуктов питания являются:

- 1) общие колиформные бактерии;
- 2) термотолерантные колиформные бактерии;
- 3) колифаги;
- 4) стафилококки;
- 5) стрептококки.

И. Санитарно-показательными микробами загрязненности воздуха являются:

- 1) *Staphylococcus aureus*;
- 2) энтерококки;
- 3) гемолитические стрептококки;
- 4) *Echerichia coli*;
- 5) грибы рода *Candida*.

К. Общее количество микроорганизмов воздуха (общее микробное число) операционной не должно превышать:

- 1) 100 КОЕ/мл;
- 2) 1000 КОЕ/мл;
- 3) 50 КОЕ/мл.

Л. Общее микробное число питьевой воды не должно превышать:

- 1) 10 КОЕ/мл;
- 2) 20 КОЕ/мл;
- 3) 50 КОЕ/мл;
- 4) 100 КОЕ/мл.

М. Санитарно-показательными микробами загрязненности продуктов питания являются:

- 1) колиформные бактерии;
- 2) энтерококк;
- 3) золотистый стафилококк;
- 4) протеи;
- 5) клостридии (сульфит-восстановители).

5

Генетика микробов

5.1. Строение генома бактерий

Бактериальный геном состоит из генетических элементов, способных к самостоятельной репликации (воспроизведению), т.е. репликонов. **Репликонами** являются бактериальная хромосома и плазмиды. Наследственная информация у бактерий хранится в форме последовательности нуклеотидов ДНК (см. рис. 3.1), которые определяют последовательность аминокислот в белке. Каждому белку соответствует свой ген, т.е. дискретный участок на ДНК, отличающийся числом и специфичностью последовательности нуклеотидов.

5.1.1. Бактериальная хромосома

Бактериальная хромосома состоит из одной двухцепочечной молекулы ДНК, которая может быть как кольцевой (*E. coli*), так и линейной формы (*B. burgdorferi*). Некоторые бактерии, в частности бруцеллы, *V. cholerae* имеют по две хромосомы. Размеры бактериальной хромосомы у различных представителей прокариот варьируют от 3×10^8 до $2,5 \times 10^9$ Да, что соответствует $3,2 \times 10^6$ нуклеотидных пар (н.п.). Например, у *E. coli* бактериальная хромосома содержит 5×10^6 н.п. Для сравнения: размеры ДНК вирусов составляют порядка 10^3 н.п., дрожжей — 10^7 н.п., а суммарная длина хромосомных ДНК человека — 3×10^9 н.п. Бактериальная хромосома обладает гаплоидным набором генов, кодирующих жизненно важные для бактериальной клетки функции. Она формирует компактный нуклеоид бактериальной клетки.

5.1.2. Плазмиды бактерий

Плазмиды представляют собой двухцепочечные молекулы ДНК размером от 10^3 до 10^6 н.п. Они кодируют неосновные для жизнедеятельности бактериальной клетки функции, но придающие бактерии преимущества при попадании в неблагоприятные условия существования.

Среди фенотипических признаков, сообщаемых бактериальной клетке плазмидами, можно выделить следующие: 1) устойчивость к антибиотикам; 2) образование колицинов; 3) продукция факторов патогенности; 4) способность к синтезу антибиотических веществ; 5) расщепление сложных органических веществ; 6) образование ферментов рестрикции и модификации.

Репликацию плазмидной ДНК и бактериальной хромосомы (см. разд. 3.8 и рис. 3.5) осуществляет один и тот же набор ферментов, однако репликация плазмид происходит независимо от хромосомы.

Некоторые плазмиды находятся под строгим контролем. Это означает, что их репликация сопряжена с репликацией хромосомы так, что в каждой бактериальной клетке присутствует одна или, по крайней мере, несколько копий плазмид. Число копий плазмид, находящихся под слабым контролем, может составлять от 10 до 200 на бактериальную клетку.

Для характеристики плазмидных репликонов их принято разбивать на группы совместимости. **Несовместимость** плазмид связана с неспособностью двух плазмид стабильно сохраняться в одной и той же бактериальной клетке. Несовместимость свойственна тем плазмидам, которые обладают высоким сходством репликонов, поддержание которых в клетке регулируется одним и тем же механизмом.

Некоторые плазмиды могут обратимо встраиваться в бактериальную хромосому и функционировать в виде единого репликона. Такие плазмиды называются **интегративными**, или эписомами.

Ряд бактериальных плазмид способны передаваться из одной клетки в другую, иногда даже принадлежащую иной таксономической единице. Такие плазмиды называются **трансмиссивными** (син.: *конъюгативными*), Трансмиссивность присуща лишь крупным плазмидам, имеющим *tra*-оперон, в который объединены гены, ответственные за перенос плазмиды. Эти гены кодируют половые пили, которые образуют мостик с клеткой, не содержащей трансмиссивную плазмиду, по которой плазмидная ДНК передается в новую клетку. Этот процесс называется **конъюгацией** (см. разд. 5.4.1).

Мелкие плазмиды, не несущие *tra*-гены, не могут передаваться сами по себе, но способны к передаче при наличии трансмиссивных плазмид, используя их аппарат конъюгации. Такие плазмиды называются **мобилизуемыми**, а сам процесс — мобилизацией нетрансмиссивной плазмиды.

Особое значение в медицинской микробиологии имеют плазмиды, обеспечивающие устойчивость бактерий к антибиотикам, получившие название *R*-плазмид, а также плазмиды, отвечающие за продукцию факторов патогенности, способствующие развитию инфекционного процесса.

***R*-плазмиды** (от англ. *resistance* — противодействие) содержат гены, детерминирующие синтез ферментов, разрушающих антибактериальные препараты (например, антибиотики).

В результате наличия такой плазмиды бактериальная клетка становится устойчивой (резистентной) к действию целой группы лекарственных веществ, а иногда и к нескольким. Многие R-плазмиды, будучи трансмиссивными и распространяясь в популяции бактерий, делают ее недоступной к воздействию антибактериальных препаратов. Бактериальные штаммы, несущие R-плазмиды, часто являются этиологическими агентами внутрибольничных инфекций.

Плазмиды, детерминирующие синтез факторов патогенности, обнаружены у многих бактерий — возбудителей инфекционных заболеваний человека. Патогенность возбудителей шигеллезов, иерсиниозов, чумы, сибирской язвы, иксодового боррелиоза, кишечных эшерихиозов связана с наличием и функционированием у них плазмид патогенности. Первыми из этой группы плазмид были определены **Ent-плазида**, определяющая синтез энтеротоксина, и **Нly-плазида**, детерминирующая синтез гемолизина у *E. coli*.

Некоторые бактериальные клетки содержат плазмиды, детерминирующие синтез бактерицидных по отношению к другим бактериям веществ. Например, некоторые *E. coli* владеют **Col-плазмидой**, определяющей синтез колицинов, оказывающих микробоцидное действие на колиформные бактерии. Бактериальные клетки, несущие такие плазмиды, обладают преимуществами при заселении экологических ниш.

Плазмиды используются в практической деятельности человека, в частности в генной инженерии, при конструировании специальных рекомбинантных бактериальных штаммов, вырабатывающих в больших количествах биологически активные вещества.

5.1.3. Подвижные генетические элементы

В состав бактериального генома, как в бактериальную хромосому, так и в плазмиды, входят **подвижные генетические элементы**, к которым относятся вставочные последовательности и транспозоны.

Вставочные (инсерционные) последовательности, IS-элементы (от англ. *insertion sequences*) — это участки ДНК, способные как целое перемещаться из одного участка репликона в другой, а также между репликонами. IS-элементы имеют размеры ~1000 н.п. и содержат лишь те гены, которые необходимы для их собственного перемещения — транспозиции: ген, кодирующий фермент **транспозазу**, обеспечивающую процесс исключения IS-элемента из ДНК и его интеграцию в новый локус, и ген, детерминирующий синтез репрессора, который регулирует весь процесс перемещения.

Отличительная особенность IS-элементов — наличие на концах вставочной последовательности **инвертированных повторов** (рис. 5.1), которые узнает транспозаз, осуществляющая одноцепочечные разрывы цепей ДНК, расположенных по обе стороны от подвижного элемента. Оригинальная копия

IS-элемента остается на прежнем месте, а ее реплицированный дубликат перемещается на новый участок.

Перемещение подвижных генетических элементов принято называть репликативной или незаконной рекомбинацией. Однако в отличие от бактериальной хромосомы и плазмид подвижные генетические элементы не являются самостоятельными репликонами, так как их репликация — составной элемент репликации ДНК репликона, в составе которого они находятся.

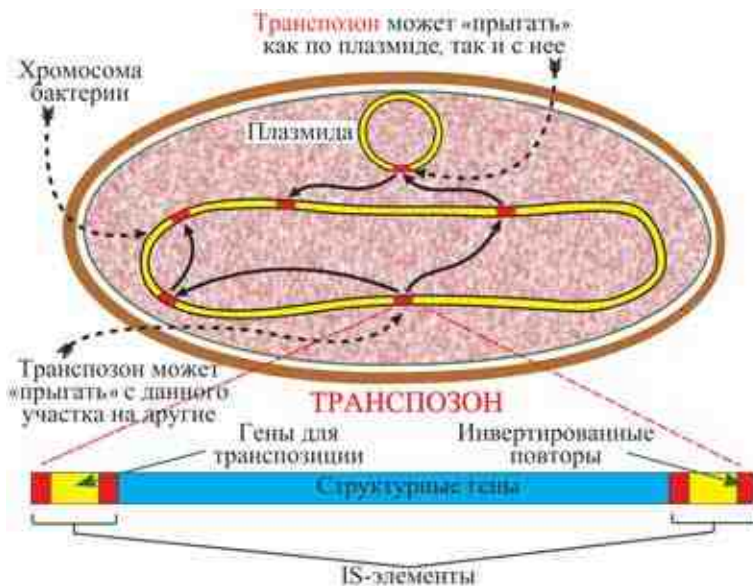


Рис. 5.1. Схема организации транспозона

Известно несколько разновидностей IS-элементов, которые различаются по размерам и по типам и количеству инвертированных повторов.

Транспозоны — это сегменты ДНК, обладающие теми же свойствами, что и IS-элементы, но имеющие структурные гены (см. рис. 5.1), т.е. гены, обеспечивающие синтез молекул, обладающих специфическим биологическим свойством, например токсичностью, или обеспечивающих устойчивость к антибиотикам.

Перемещаясь по репликону или между ними, подвижные генетические элементы вызывают:

- 1) инактивацию генов тех участков ДНК, куда они, переместившись, встраиваются;
- 2) образование повреждений генетического материала;
- 3) слияние репликонов, т.е. встраивание плазмиды в хромосому;
- 4) распространение генов в популяции бактерий, что может приводить к изменению биологических свойств популяции, смене возбудителей инфекций и эволюционным процессам среди микробов.

5.1.4. Интегроны и острова патогенности

Помимо плазмид и подвижных генетических элементов у бактерий существует еще одна система, способствующая распространению генов, — система интегров. **Интегроны** захватывают посредством сайт-специфической рекомбинации малые элементы ДНК, называемые **генными кассетами**, и экспрессируют их. Интегроны могут располагаться как на хромосоме, так и на плаزمиде. Поэтому возможно перемещение кассет с одного интегрона на другой как в пределах одной бактериальной клетки, так и по популяции бактерий. Один интегрон может захватывать несколько кассет антибиотикорезистентности.

Острова патогенности — участки ДНК протяженностью не менее 10 000 пар нуклеотидов, которые отличаются по составу Г-Ц-пар нуклеотидов от основного генома бактерий и ответственны за синтез факторов патогенности, обеспечивающих развитие патологического процесса в организме хозяина. Острова патогенности могут быть локализованы в составе хромосомы (*Salmonella*), плазмид (*Shigella*) и геноме конвертирующего фага (*V. cholerae*).

5.2. Мутации у бактерий

Мутации — это изменения в последовательности отдельных нуклеотидов ДНК, которые ведут к изменениям морфологии бактериальной клетки, возникновению потребностей в факторах роста (например, в аминокислотах, витаминах, т.е. ауксотрофности); к развитию устойчивости к антибиотикам, изменению чувствительности к температуре, снижению вирулентности (аттенуация) и т.д.

По протяженности повреждений ДНК различают мутации точечные, когда повреждения ограничиваются одной парой нуклеотидов, и протяженные, или абберрации. В последнем случае могут наблюдаться выпадения нескольких пар нуклеотидов, которые называются **делецией**, добавление нуклеотидных пар, т.е. **дупликация**, перемещение фрагментов хромосомы, **транслокация**, и перестановки нуклеотидных пар — **инверсии**.

Мутации могут быть спонтанными, т.е. возникающими самопроизвольно, без воздействия извне, и индуцированными.

Точечные спонтанные мутации возникают в результате ошибок при репликации ДНК, что связано с таутомерным перемещением электронов в азотистых основаниях.

Спонтанные хромосомные абберрации появляются вследствие перемещения подвижных генетических элементов.

Индукцированные мутации происходят под влиянием внешних факторов, которые называются мутагенами. **Мутагены** бывают физическими (УФ-лучи,

γ-радиация), химическими (аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований, азотистая кислота и ее аналоги и другие соединения) и биологическими — транспозоны.

Аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований, например 2-аминопурин, 5-бромурацил, включаются в нуклеотиды, а следовательно, и в ДНК, но при этом они значительно чаще в силу таутомерных превращений спариваются с «неправильными» партнерами, в результате вызывая замену пурина другим пурином (А–Г) или пиримидина другим пиримидином (Т–Ц). Замена пурина на пурин, а пиримидина на пиримидин называется **транзицией**.

Азотистая кислота и ее аналоги вызывают дезаминирование азотистых оснований, результатом чего являются ошибки при спаривании и как следствие возникновение транзиции. Аденин в результате дезаминирования превращается в гипоксантин, который спаривается с цитозином, что приводит к возникновению транзиции АТ–ГЦ. Гуанин же при дезаминировании превращается в ксантин, который по-прежнему спаривается с цитозином; таким образом, дезаминирование гуанина не сопровождается мутацией.

Акридин и профлавин внедряются между соседними основаниями цепи ДНК, вдвое увеличивая расстояние между ними. Это пространственное изменение при репликации может привести как к утрате нуклеотида, так и включению дополнительной нуклеотидной пары, что приводит к *сдвигу рамки считывания* тРНК. Начиная с того места, где произошло выпадение или включение нуклеотида, информация считывается неправильно.

УФ-облучение затрагивает преимущественно пиримидиновые основания, при этом два соседних остатка тимина ДНК могут оказаться ковалентно связанными.

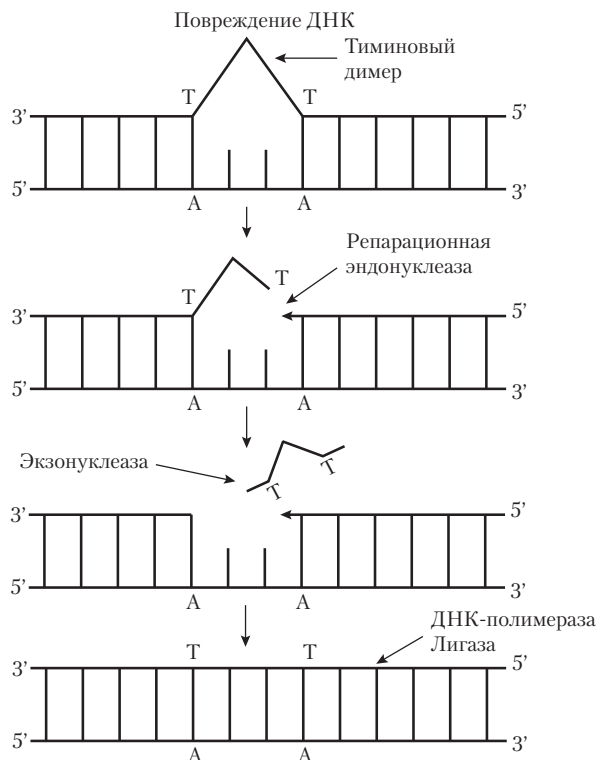


Рис. 5.2. Схема репарации повреждений бактериальной ДНК

На бактериях, подвергнутых УФ-облучению, было показано, что повреждения в бактериальных ДНК, вызванные облучением, могут частично исправляться благодаря наличию **репарационных систем**. У различных бактерий имеется несколько типов репарационных систем. Один тип репарации протекает на свету, он связан с деятельностью фотореактивирующегося фермента, который расщепляет тиминовый димер. При темновой репарации дефектные участки цепи ДНК удаляются, и образовавшаяся брешь достраивается при помощи ДНК-полимеразы на матрице сохранившейся цепи и соединяется с цепью лигазой (рис. 5.2).

Мутация, приводящая к потере функции, называется **прямой мутацией**. У мутантов может произойти восстановление исходных свойств, т.е. реверсия (от англ. *reverse* — обратный). Если происходит восстановление исходного генотипа, то мутация, восстанавливающая генотип и фенотип, является обратной или **прямой реверсией**. Если мутация восстанавливает фенотип, не восстанавливая генотип, то такая мутация называется супрессорной. **Супрессорные мутации** могут возникать как в пределах того самого гена, в котором произошла первичная мутация, так и в других генах или могут быть связаны с мутациями в тРНК.

5.3. Рекомбинация у бактерий

Генетическая рекомбинация — это взаимодействие между двумя геномами, т.е. между двумя ДНК, обладающими различными генотипами, которое приводит к образованию рекомбинантной ДНК, формированию дочернего генома, сочетающего гены обоих родителей.

Отсутствие полового размножения и мейоза, в процессе которых у высших организмов происходит рекомбинация, а также гаплоидный набор генов и определяют особенности рекомбинации у бактерий. В процессе рекомбинации бактерии условно делятся на клетки-доноры, которые передают генетический материал, и клетки-реципиенты, которые воспринимают его. В клетку-реципиент проникает не вся, а только часть хромосомы клетки-донора, что приводит к формированию неполной зиготы — **мерозиготы**. В результате рекомбинации в мерозиготе образуется только один рекомбинант, генотип которого представлен в основном генотипом реципиента с включенным в него фрагментом хромосомы донора. Реципрокные рекомбинанты не образуются.

По молекулярному механизму генетическая рекомбинация у бактерий делится на три вида: гомологичную, сайт-специфическую и незаконную.

Гомологичная рекомбинация. При гомологичной рекомбинации в процессе разрыва и воссоединения ДНК происходит обмен между участками ДНК, обладающими высокой степенью гомологии. Гомологичная рекомбинация происходит через образование промежуточного соедине-

ния, крестообразной структуры Холидея, в которой осуществляется комплементарное спаривание между одноцепочечными участками, принадлежащими разным родительским молекулам ДНК. Процесс гомологичной рекомбинации находится под контролем генов, объединенных в **REC-систему**, состоящую из генов **recA, B, C, D**. Продукты этих генов производят расплетание нитей ДНК и их переориентацию с образованием структуры Холидея, а также разрезают структуру Холидея для завершения процесса рекомбинации.

Сайт-специфическая рекомбинация происходит в определенных участках генома и не требует высокой степени гомологии ДНК. Этот тип рекомбинации не зависит от функционирования генов **recA, B, C, D**. Примером может служить встраивание плазмиды в хромосому бактерий, которое происходит между идентичными IS-элементами хромосомы и плазмиды, интеграция ДНК фага в хромосому *E. coli*. Сайт-специфическая рекомбинация, происходящая в пределах одного репликона, участвует также в переключении активности генов. Например, у сальмонелл следствием этого процесса являются фазовые вариации жгутикового H-антигена.

Незаконная или репликативная рекомбинация не зависит от функционирования генов **recA, B, C, D**. Примером ее является транспозиция подвижных генетических элементов по репликону или между ними, при этом, как уже было отмечено в разд. 5.1.3, транспозиция подвижного генетического элемента сопровождается репликацией ДНК.

5.4. Передача генетической информации у бактерий

Рекомбинация у бактерий — это конечный этап передачи генетического материала между ними, которая осуществляется посредством трех механизмов: конъюгацией (при контакте бактерий, одна из которых несет конъюгативную плазмиду), трансдукцией (при помощи бактериофага) и трансформацией (при помощи высокополимеризованной ДНК) (рис. 5.3).

5.4.1. Конъюгация

Конъюгация — передача генетического материала от клетки-донора в клетку-реципиент путем непосредственного контакта клеток. Впервые была обнаружена Дж. Ледербергом и Э. Тейтумом в 1946 г. Необходимым условием для конъюгации является наличие в клетке-доноре трансмиссивной плазмиды.

Трансмиссивные плазмиды кодируют половые пили, образующие конъюгационную трубочку между клеткой-донором и клеткой-реципиентом, по которой плазмидная ДНК передается в новую клетку. Механизм передачи плазмидной ДНК из клетки в клетку заключается в том, что специальный белок, кодируемый *tra*-опероном, «узнает» определенную последовательность в ДНК плазмиды (называемую *origin*), вносит в эту последовательность одноцепочечный разрыв и ковалентно связывается с 5'-концом. Затем цепь ДНК, с которой связан белок, переносится в клетку-реципиент, а неразорванная комплементарная цепь остается в клетке-доноре. Клеточный аппарат синтеза ДНК достраивает одиночные цепи и в доноре, и в реципиенте до двухцепочечной структуры. Бе-

лок, связанный с 5'-концом перенесенной цепи, способствует замыканию плазмиды в реципиентной клетке в кольцо. Примером служит перенос в реципиентную клетку F-фактора, или **F-плазмиды** (от англ. *fertility* — плодovitость), которая является как трансмиссивной, так и интегративной. Клетки-доноры, обладающие F-фактором, обозначаются как F^+ -клетки, а клетки-реципиенты, не имеющие F-фактора, — как F^- -клетки. Если F-фактор находится в клетке-доноре в автономном состоянии, то в результате скрещивания (F^+ - и F^- -клетки) клетка-реципиент приобретает донорские свойства (см. рис. 5.3).

Если F-фактор или другая трансмиссивная плазмида встраиваются в хромосому клетки-донора, то плазмида и хромосома начинают функционировать в виде единого трансмиссивного репликона, что делает возможным перенос

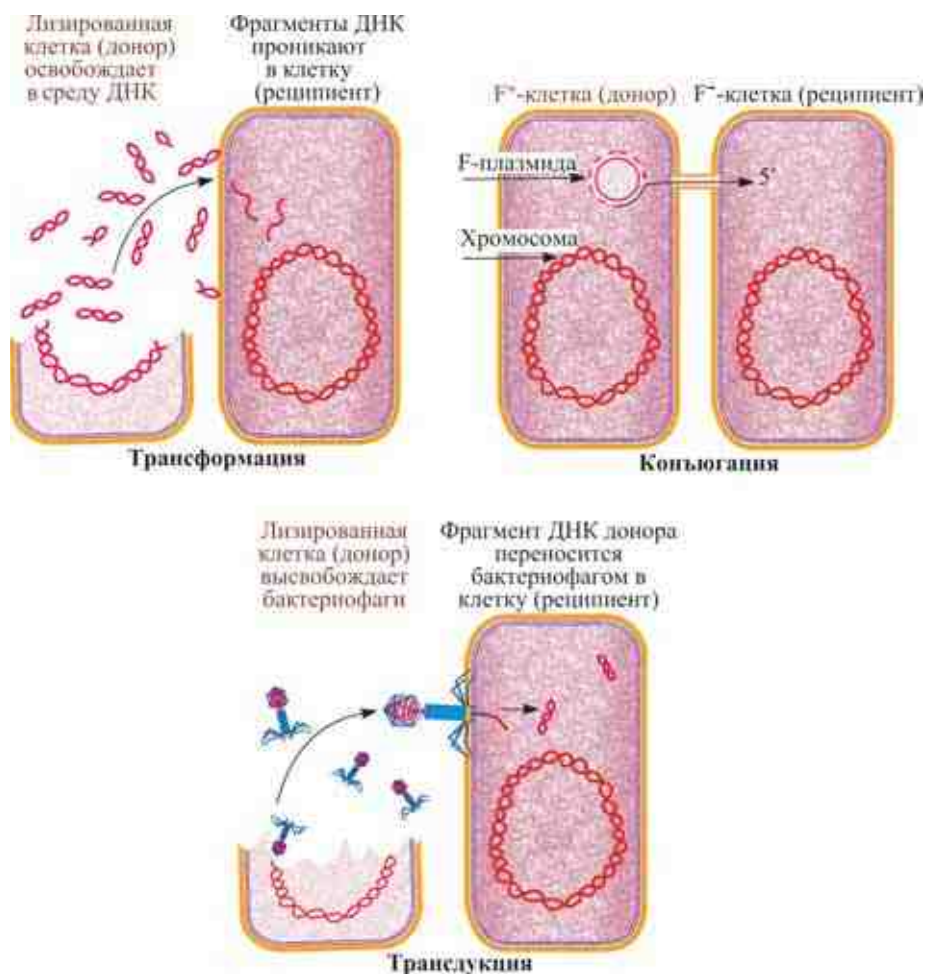


Рис. 5.3. Схемы трансформации, конъюгации и трансдукции у бактерий

бактериальных генов в бесплазмидную клетку-реципиент, т.е. процесс конъюгации. Штаммы, в которых плаزمида находится в интегрированном состоянии с хромосомой, переносят свои хромосомные гены бесплазмидным клеткам с высокой частотой и поэтому называются Hfr (от англ. *high frequency of recombination* — высокая частота рекомбинации).

Процесс переноса хромосомных генов в случае скрещивания Hfr- и F⁻-клеток всегда начинается с расщепления ДНК в одной и той же точке, месте интеграции F-фактора или другой трансмиссивной плазмиды. Одна нить донорской ДНК передается через конъюгационный мостик в реципиентную клетку. Процесс сопровождается достраиванием комплементарной нити до образования двунитчатой структуры. Перенос хромосомных генов при конъюгации всегда имеет одинаковую направленность, противоположную встроенной плазмиде. Сама трансмиссивная плаزمида передается последней. Переданная в реципиентную клетку и достроенная до двунитчатой структуры, нить ДНК донора рекомбинирует с гомологичным участком реципиентной ДНК с образованием стабильной генетической структуры. Вследствие хрупкости конъюгационного мостика F-фактор редко передается в клетку-реципиент, поэтому образовавшийся рекомбинант донорскими функциями, как правило, не обладает.

Вследствие направленности передачи генов конъюгация используется для картирования генома бактерий и построения генетической карты.

5.4.2. Трансдукция

Трансдукция — передача бактериальной ДНК посредством бактериофага.

Это явление было открыто в 1951 г. Н. Циндером и Дж. Ледербергом. В процессе репликации бактериофага внутри бактерий фрагмент бактериальной ДНК проникает в фаговую частицу и переносится в реципиентную бактерию во время фаговой инфекции. Различают общую и специфическую трансдукцию.

Общая трансдукция — перенос бактериофагом фрагмента любой части бактериальной хромосомы. Она происходит вследствие того, что бактериальная ДНК фрагментируется после фаговой инфекции и кусочек бактериальной ДНК того же размера, что и фаговая ДНК, проникает в вирусную, формируя дефектную фаговую частицу с частотой приблизительно 1 на 1000 фаговых частиц. При инфицировании клетки-реципиента дефектной фаговой частицей ДНК клетки-донора «впрыскивается» в нее и рекомбинирует гомологичной рекомбинацией с гомологичным участком хромосомы-реципиента с образованием стабильного рекомбинанта. Этим типом трансдукции обладают Р-фаги.

Специфическая трансдукция наблюдается в том случае, когда фаговая ДНК интегрирует в бактериальную хромосому с образованием профага. В процессе исключения ДНК-фага из бактериальной хромосомы в результате случай-

ного процесса захватывается прилегающий к месту включения фаговой ДНК фрагмент бактериальной хромосомы, становясь дефектным фагом (см. рис. 5.3). Так как большинство умеренных бактериофагов интегрирует в бактериальную хромосому в специфических участках, для таких бактериофагов характерен перенос в клетку-реципиент определенного участка бактериальной ДНК клетки-донора. ДНК дефектного фага рекомбинирует с ДНК клетки-реципиента сайт-специфической рекомбинацией. Рекомбинант становится меродиплоидом по привнесенному гену. В частности, бактериофаг передает специфической трансдукцией *gal*-ген у *E. coli*.

5.4.3. Трансформация

Трансформация — передача бактерии фрагмента бактериальной высокополимеризованной ДНК из разрушенной бактерии.

Феномен трансформации впервые был описан в 1928 г. Ф. Гриффитсом, обнаружившим превращение бескапсульного R-штамма пневмококков (*Streptococcus pneumoniae*) в штамм, образующий капсулу S-формы. Гриффитс ввел мышам одновременно небольшое количество авирулентных R-клеток и убитых нагреванием S-клеток. R-клетки были получены от штамма, капсульное вещество которого принадлежало к типу S II, а убитые нагреванием S-штаммы принадлежали к типу S III. Из крови погибших мышей были выделены вирулентные пневмококки с капсулой S III. Природу трансформирующего фактора в 1944 г. установили О. Эвери, К. Мак-Леод и М. Мак-Карти, которые показали, что ДНК, экстрагированная из инкапсулированных пневмококков, может трансформировать некапсулированные пневмококки в инкапсулированную форму. Таким образом, было доказано, что именно ДНК является носителем генетической информации.

Процесс трансформации может самопроизвольно происходить в природе у некоторых видов бактерий, чаще у грамположительных, когда ДНК, выделенная из погибших клеток, захватывается реципиентными клетками.

Процесс трансформации зависит от компетентности клетки-реципиента и состояния донорской трансформирующей ДНК. *Компетентность* — это способность бактериальной клетки поглощать ДНК. Она зависит от присутствия особых белков в клеточной мембране, обладающих специфическим аффинитетом к ДНК. Состояние компетентности у грамположительных бактерий связано с определенными фазами кривой роста. Трансформирующей активностью обладает только двунитчатая высокоспирализованная молекула ДНК. Это связано с тем, что в клетку-реципиент проникает только одна нить ДНК, тогда как другая — на клеточной мембране — подвергается деградации с освобождением энергии, которая необходима для проникновения в клетку сохранившейся

нити. Высокий молекулярный вес трансформирующей ДНК увеличивает шанс рекомбинации, так как внутри клетки трансформирующая нить ДНК подвергается воздействию эндонуклеаз. Интеграция с хромосомой требует наличия гомологичных с ней участков у трансформирующей ДНК. Рекомбинация происходит на одной нити, в результате чего образуется гетеродуплексная молекула, одна нить которой имеет генотип реципиента, а другая — рекомбинантный генотип. Рекомбинантные трансформанты формируются только после цикла репликации.

В настоящее время это основной метод генной инженерии, используемый при конструировании рекомбинантных штаммов с заданным геномом.

5.5. Особенности генетики вирусов

Особенность строения вирусного генома заключается в том, что наследственная информация может быть записана как на ДНК, так и на РНК в зависимости от типа вируса.

Мутации у вирусов могут возникать спонтанно, в процессе репликации нуклеиновой кислоты вируса, а также под влиянием тех же внешних факторов и мутагенов, что и у бактерий. Фенотипически мутации вирусного генома проявляются изменениями в антигенной структуре, неспособностью вызывать продуктивную инфекцию в чувствительной клетке, чувствительностью продуктивного цикла к температуре, а также изменением формы и размера бляшек, которые образуют вирусы в культуре клеток под агаровым покрытием (см. разд. 3.4).

Свойства вирусов могут изменяться при одновременном заражении несколькими вирусами чувствительной клетки. Причем изменения свойств при таких условиях могут происходить как в результате обмена между материалами нуклеиновых кислот, принадлежащих разным вирусам (генетическая рекомбинация и генетическая реактивация), так и в результате процессов, не сопровождающихся обменом генетического материала (комплементация и фенотипическое смешивание).

Генетическая рекомбинация встречается чаще у ДНК-содержащих вирусов. Среди РНК-содержащих вирусов она наблюдается у тех из них, которые обладают фрагментированным геномом, например у вируса гриппа. При рекомбинации происходит обмен между гомологичными участками генома.

Генетическая реактивация наблюдается между геномами родственных вирусов, имеющих мутации в разных генах. В результате перераспределения генетического материала формируется полноценный дочерний геном.

Комплементация встречается в том случае, когда один из двух вирусов, инфицирующих клетку, в результате мутации синтезирует нефункциональный белок. Немутантный вирус, синтезируя полноценный белок, восполняет его отсутствие у мутантного вируса.

Фенотипическое смешивание наблюдается в том случае, если при смешанном заражении чувствительной клетки двумя вирусами часть потомства приобретает фенотипические признаки, присущие двум вирусам, при сохранении неизменности генотипа.

5.6. Применение генетических методов в диагностике инфекционных болезней

5.6.1. Рестрикционный анализ

Данный метод основан на применении ферментов **рестриктаз**, которые представляют собой эндонуклеазы, расщепляющие молекулы ДНК путем разрыва фосфатных связей в определенных последовательностях нуклеотидов. Особое значение для методов молекулярной генетики имеют рестриктазы, которые узнают последовательности, обладающие центральной симметрией и считывающиеся одинаково в обе стороны от оси симметрии. Точка разрыва ДНК может или совпадать с осью симметрии, или быть сдвинута относительно нее.

В настоящее время из различных бактерий выделено и очищено более 175 различных рестриктаз, для которых известны сайты (участки) узнавания (рестрикции). Выявлено более 80 различных типов сайтов, в которых может происходить разрыв двойной спирали ДНК. В геноме конкретной таксономической единицы находится строго определенное (генетически задетерминированное) число участков узнавания для определенной рестриктазы.

Если выделенную из конкретного микроба ДНК обработать определенной рестриктазой, то это приведет к образованию строго определенного количества фрагментов ДНК фиксированного размера. Размер каждого типа фрагментов можно узнать с помощью электрофореза в агарозном геле: мелкие фрагменты перемещаются в геле быстрее, чем более крупные, и длина их пробега больше. Гель окрашивают бромистым этидием и фотографируют в УФ-излучении. Таким образом можно получить рестрикционную карту определенного вида микробов.

Сопоставляя карты рестрикции ДНК, выделенных из различных штаммов, можно определить их генетическое родство, выявить принадлежность к определенному виду или роду, а также обнаружить участки с мутациями. Этот способ используется также как начальный этап метода определения последовательности нуклеотидных пар (секвенирования) и метода молекулярной гибридизации.

5.6.2. Метод молекулярной гибридизации

Метод молекулярной гибридизации позволяет выявить степень сходства различных ДНК. Применяется при идентификации микробов для определения их точного таксономического положения.

Метод основан на способности двухцепочечной ДНК при повышенной температуре (90 °С) в щелочной среде денатурировать, т.е. расплетаться на две нити, а при понижении температуры на 10 °С вновь восстанавливать исходную двухцепочечную структуру. Метод требует наличия молекулярного зонда. **Зондом** называется одноцепочечная молекула нуклеиновой кислоты, меченная радиоактивными нуклидами, с которой сравнивают исследуемую ДНК.

Для проведения молекулярной гибридизации исследуемую ДНК расплетают указанным выше способом, одну нить фиксируют на специальном фильтре, который затем помещают в раствор, содержащий радиоактивный зонд. Создаются условия, благоприятные для образования двойных спиралей. В случае наличия комплементарности между зондом и исследуемой ДНК они образуют между собой двойную спираль.

Молекулярная гибридизация составляет основу **микрочипа**, который представляет собой стеклянную пластинку с присоединенными в определенных локусах молекулярными ДНК-зондами (от 100 до 1000), специфичными для некоторой таксономической единицы. Из исследуемого образца выделяют общую ДНК, амплифицируют по стабильной последовательности 16S РНК-гена. Выделенную ДНК метят флуорохромом или ферментом и обрабатывают ею микрочип, создавая условия для гибридизации. После отмывают несвязавшуюся ДНК и определяют локализацию молекулярных гибридов постановкой ИФА или денситометрией.

5.6.3. Полимеразная цепная реакция

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) позволяет обнаружить микроб в исследуемом материале (воде, продуктах, материале от больного) по наличию в нем ДНК микроба без выделения последнего в чистой культуре.

Для проведения этой реакции из исследуемого материала выделяют ДНК, в которой определяют наличие специфичного для данного микроба гена. Обнаружение гена осуществляют его накоплением. Для этого необходимо иметь праймеры комплементарного 3'-концам ДНК исходного гена. Накопление (амплификация) гена выполняется следующим образом. Выделенную из исследуемого материала ДНК нагревают, и она распадается на две нити. Добавляют праймеры. Смесь ДНК и праймеров охлаждают. При этом праймеры при наличии в смеси ДНК искомого гена связываются с его комплементарными участками. Затем к смеси ДНК и праймера добавляют ДНК-полимеразу и нуклеотиды. Устанавливают температуру, оптимальную для функционирования ДНК-полимеразы. В этих условиях в случае комплементарности ДНК гена и праймера происходит присоединение нуклеотидов к 3'-концам праймеров, в результате чего синтезируются две копии гена. После этого цикл повторяется снова, при

этом количество ДНК гена будет увеличиваться каждый раз вдвое (рис. 5.4). Проводят реакцию в специальных приборах — амплификаторах. ПЦР применяется для диагностики вирусных и бактериальных инфекций.

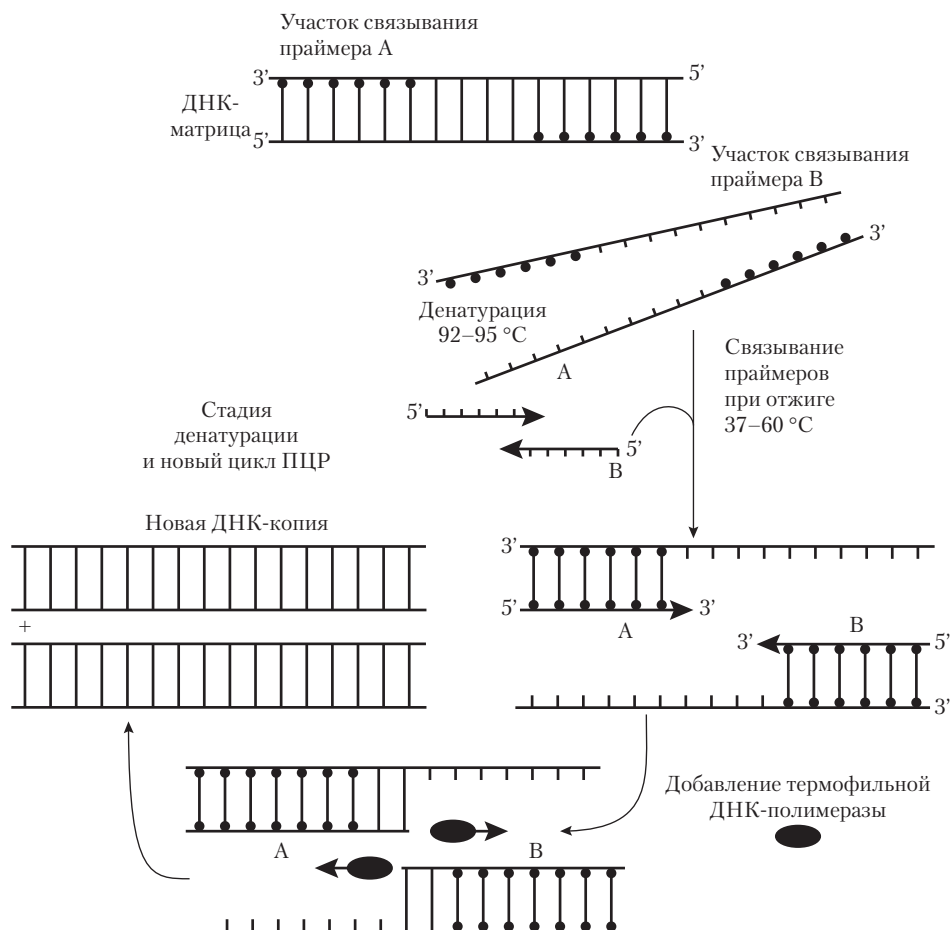


Рис. 5.4. Полимеразная цепная реакция (схема). Синтез ДНК при 63–75 °C

ПЦР в реальном времени — это ускоренный метод, при котором амплификация и определение продукта амплификации проводятся одновременно. Методика основана на том, что в амплификационную пробирку вводят молекулярный зонд, который в случае связывания с амплифицированной цепью генерирует флуоресцентный сигнал определенной длины волны. Реакция проводится в автоматическом режиме. ПЦР в реальном времени проводит полный анализ пробы в течение 20–60 мин. Метод позволяет обнаружить даже одну молекулу ДНК или РНК в пробе. Используется для определения вирусной нагрузки, проведения молекулярного типирования.

5.6.4. Риботипирование и опосредованная транскрипцией амплификация рибосомальной РНК

Последовательность нуклеотидных оснований в оперонах, кодирующих рРНК, отличается консервативностью, присущей каждому виду бактерий. Эти опероны представлены на бактериальной хромосоме в нескольких копиях. Фрагменты ДНК, полученные после обработки ее рестриктазами, содержат последовательности генов рРНК, которые могут быть обнаружены методом молекулярной гибридизации с меченой рРНК соответствующего вида бактерий. Количество и локализация копий оперонов рРНК и рестрикционный состав сайтов как внутри рРНК-оперона, так и по его флангам варьируют у различных видов бактерий. На основе этого свойства построен метод **риботипирования**, который позволяет производить мониторинг выделенных штаммов и определение их вида. В настоящее время риботипирование проводится в автоматическом режиме в специальных приборах.

Опосредованная транскрипцией амплификация рРНК используется для диагностики смешанных инфекций. Этот метод основан на обнаружении с помощью молекулярной гибридизации амплифицированных рРНК, специфичных для определенного вида бактерий. Исследование проводится в три этапа:

- 1) амплификация пула рРНК на матрице выделенной из исследуемого материала ДНК при помощи ДНК-зависимой РНК-полимеразы;
- 2) гибридизация накопленного пула рРНК с комплементарными видоспецифическим рРНК олигонуклеотидами, мечеными флюорохромом или ферментами;
- 3) определение продуктов гибридизации методами денситометрии, ИФА.

Реакция проводится в автоматическом режиме в установках, в которых одномоментное определение рРНК, принадлежащих различным видам бактерий, достигается разделением амплифицированного пула рРНК на несколько проб, в которые вносятся комплементарные видоспецифическим рРНК меченые олигонуклеотиды для гибридизации.

6

Биотехнология. Генетическая инженерия

По мнению большинства ученых, государственных и общественных деятелей, ведущей наукой, которая будет определять научно-технический прогресс, успехи и открытия в биологии и медицине в ближайшие десятилетия, станет биотехнология.

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.

6.1. Сущность биотехнологии. Цели и задачи

Биотехнология (от греч. *bios* — жизнь, *tecn* — искусство, *logos* — наука) представляет собой область знаний, которая возникла и оформилась на стыке микробиологии, молекулярной биологии, генетической инженерии, иммунологии, химической технологии и ряда других наук.

По определению академика А.А. Воробьева, биотехнология — наука, 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.

Рождение биотехнологии обусловлено потребностями общества в принципиально новых технологиях, более дешевых продуктах для народного хозяйства, в том числе для медицины и ветеринарии. 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 используются одноклеточные микроорганизмы, животные и растительные клетки, а также органы животных, человека или растения. 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 необходимых в жизни человека, пока недоступны для получения биотехнологическими 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 в промышленных масштабах искусственно нарастить на сравнительно дешевых и недефицитных питательных средах 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. Биотехнологический процесс возможно реализовать в промышленных масштабах при наличии соответствующего технологического оборудования, доступного сырья, технологий 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 (молекулярная масса менее 1500 Да), необходимые для роста клеток (аминокислоты, витамины, нуклеотиды, органические кислоты и др.);
- г) вторичные метаболиты — низкомолекулярные и макромолекулярные соединения, не требующиеся для роста клеток: антибиотики, алкалоиды, токсины, гормоны и др.

Биотехнология использует эту продукцию 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 применяют органы и ткани человека и животных, растения. Например, для получения иммуноглобулинов используют лошадей и других животных, препараты крови доноров и т.д.

С помощью биотехнологий, используя перечисленные выше биологические объекты, получают огромный ассортимент продукции, необходимой в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве, пищевой и химической промышленности, в других отраслях народного хозяйства. Например, такие продукты, без которых невозможно существование современного человека, как антибиотики, витамины, ферменты, вакцины, гормоны, аминокислоты, нуклеотиды, комплемент и препараты крови, иммуномодуляторы, антитела, диагностические препараты, сердечно-сосудистые, 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, воздушной среды путем их биоконверсии и биodeградации.

Однако биотехнология не ограничивается получением только вышеперечисленных продуктов. Значительные, более масштабные и революционные проблемы она решает на пути получения 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 CO_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 биотехнологии выделяют четыре приоритетных направления: а) медико-фармацевтическое; б) продовольственное; в) сельскохозяйственное; г) экологическое.

В биотехнологии, как в никакой другой области знаний, тесно увязываются наука и производство. Промышленное производство в биотехнологии, по сути, 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.

6.2. Микроорганизмы и процессы, применяемые в биотехнологии

На Земле существует свыше 100 000 видов бактерий, не считая многочисленных грибов (250 000 видов), вирусов и простейших. Однако в биотехнологии используют около 100 видов микробов, так как остальные мало изучены.

Из **бактерий** в биотехнологии чаще всего используются: род *Acetobacter* — для превращение 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; молочно-кислые бактерии (*Lactobacillus* и др.); псевдомонады, например *P. denitrificans*, — для получения витамина В₁₂; коринебактерии (*C. gentamicum*) — для получения аминокислот и др.

Из **грибов** для получения разнообразных антибиотиков применяют *Penicilium chrysogenum*, *Cephalosporium acremonium*, *Streptomyces spp.* и др. Препараты дрожжей используют в хлебопечении, пивоварении, виноделии, получении соков, кормового белка, питательных сред для выращивания бактерий и культур животных клеток.

Широкое применение в получении диагностикумов, вакцин, иммуноглобулинов, пробиотиков, фагов и других микробных препаратов находят патогенные и вакцинные штаммы болезнетворных микробов, а также условно-патогенные микробы.

Многие микробы (бактерии, дрожжи, вирусы) используются в качестве реципиентов чужеродного генетического материала в целях получения рекомби-

нантных 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 и др.

Из культур клеток растений (так же как и из растений) можно получать разнообразные соединения, используемые в медицине (алкалоиды, противоракительные вещества, противоопухолевые, противобактериальные, сердечные и мочегонные средства, ферменты, опиаты, витамины и др.), сельском хозяйстве, химической и других отраслях промышленности. Например, разработано и освоено в крупномасштабном производстве выращивание клеток женьшеня, обладающего биологическим действием, присущим природному растению.

Животные клетки используют как для получения продукции, синтезируемой клетками, так и для выращивания в клетках вирусов в целях создания 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, почки, костного мозга, соединительной ткани) или опухолевых тканей. Штаммы животных и растительных клеток поддерживаются в специальных сложных 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.

6.3. Генетическая инженерия и область ее применения в биотехнологии

Генетическая инженерия является основой биотехнологии. Она, по существу, сводится к генетической рекомбинации, т.е. к обмену генами между двумя хромосомами, который 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 в: а) выделении или синтезе ДНК из отличающихся друг от друга организмов или клеток; б) получении гибридных молекул ДНК; в) введе-

нии рекомбинантных (гибридных) молекул в живые клетки; г) создании условий для экспрессии и секреции продуктов, кодируемых генами.

Гены, кодирующие те или иные структуры, или выделяют (клонировуют) как таковые (хромосомы, плазмиды), или прицельно выщепляют из этих генетических образований с помощью ферментов рестрикции. Эти ферменты, 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.

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 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-содержащих вирусов передача генетической информации возможна с помощью ревертазы (обратной транскриптазы), которая передает информацию о структуре белка от РНК к ДНК.

Экспрессируемый ген в виде рекомбинантной ДНК (плазида, фаг, вирусная ДНК) встраивается в бактериальную или животную клетку, которая приобретает новое свойство — 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 применяются в биотехнологической промышленности.

Некоторые штаммы микробов хорошо экспрессируют чужеродные гены, но плохо секретируют продукт в окружающую среду. В таких случаях приходится прибегать к дезинтеграции (разрушению) клетки в целях 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 в целях повышения уровня секреции целевого

белка к гену целевого белка присоединяют ген-индикатор, т.е. ген, кодирующий легкоузнаваемый белок, в результате этой манипуляции получают химерный белок, а из него — целевой белок. В качестве индикатора может быть, например, β -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 используют в медицине полученные методом генетической инженерии вакцины против гепатита В, интерлейкины, инсулин, гормоны роста, интерфероны, 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; пептиды тимуса, колониестимулирующие факторы, эпидермальный 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.

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 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.

Тестовые вопросы и задания к главам 5, 6

А. Процессы, которые определяются плазмидами:

- 1) синтез факторов патогенности;
- 2) формирование антибиотикорезистентности;
- 3) процесс трансдукции;
- 4) процесс конъюгации;
- 5) продукция бактериоцинов (колицинов).

Б. Бактериофаг принимает участие при:

- 1) трансформации;
- 2) конъюгации;
- 3) трансдукции;
- 4) репарации.

В. В распространении генов среди бактерий участвуют:

- 1) транспозоны;
- 2) интегроны;
- 3) плазмиды;
- 4) бактериофаги.

Г. К подвижным генетическим элементам относятся:

- 1) IS-элементы;
- 2) интегроны;
- 3) транспозоны;
- 4) мезосомы.

Д. Подвижные генетические элементы вызывают:

- 1) инактивацию генов;
- 2) повреждения генетического материала;
- 3) слияние репликонов;
- 4) распространение генов среди бактерий.

7

Химиотерапевтические противомикробные 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.

Химиотерапевтические препараты вводят внутрь организма, поэтому они кроме губительного действия на возбудителей инфекций должны быть нетоксичными для человека и животных, т.е. обладать избирательностью действия. **Избирательное действие** (*селективная токсичность*) — термин, предложенный немецким иммунохимиком, лауреатом Нобелевской премии П. Эрлихом и характеризующий разную степень токсичности химиотерапевтического препарата 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 (грибов и простейших). 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:

- препараты, действующие на клеточные формы микроорганизмов (антибактериальные, противогрибковые, противопротозойные). Антибактериальные, в свою очередь, принято подразделять на препараты узкого и широкого спектра действия (**препарат узкого спектра действия** активен в отношении только небольшого количества разновидностей или грамположительных, или грамотрицательных бактерий, а **широкого спектра действия** действует на достаточно большое количество разновидностей представителей обеих групп);
- **противовирусные** химиотерапевтические препараты.

Кроме того, существуют некоторые антимикробные химиотерапевтические лекарственные средства, обладающие также **противоопухолевой** активностью.

По **типу действия** различают микробицидные и микростатические химиотерапевтические препараты:

- **микробицидные** (бактерицидные, фунгицидные и т.п.) препараты, т.е. губительно действующие на микробы за счет необратимых повреждений;
- **микростатические**, 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 химиотерапевтические препараты** разного химического строения (среди них есть препараты, которые действуют или на клеточные, или на не клеточные формы микробов).

7.1. 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 г.) подтвердили, что антагонизм в мире микробов — это распространенное явление, однако природа его была неясна. В 1928–1929 гг. А. Флеминг открыл штамм плесневого гриба пеницилла (*Penicillium notatum*), выделяющего химическое вещество, которое задерживает рост стафилококка. Вещество было названо «пенициллин», тем не менее 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.

Сам термин «антибиотик» (от греч. *anti*, *bios* — против жизни) был предложен С. Ваксманом в 1942 г. для обозначения природных веществ, продуциру-

емых 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.

7.1.1. 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 β -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:

- 1) **биологический синтез** (так получают природные антибиотики — натуральные продукты ферментации, когда в оптимальных условиях культивируют микробы-продуценты, которые выделяют антибиотики в процессе своей жизнедеятельности);
- 2) **биологический синтез** с последующими **химическими модификациями** (так создают полусинтетические антибиотики). Сначала с помощью 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;
- 3) **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.

7.1.2. Классификация антибиотиков по химической структуре

По химической структуре антибиотики сгруппированы в семейства (классы):

- β -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 β -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 грамположительных бактерий, однако имеет много недостатков: быстро выводится из организма, разрушается в кислой среде желудка, инактивируется пенициллиназами — бактериальными ферментами, разрушающими β -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. Среди них встречаются следующие препараты:

- **депо-препараты**, например *бициллин*, который действует около 4 нед. (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 — β -лактамаз (клавулановая кислота и др.), которые тоже содержат в своей молекуле β -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 они более активны в отношении грамотрицательных бактерий. По последовательности внедрения различают четыре поколения (генерации) препаратов, которые отличаются по спектрам активности, устойчивости к β -лактамазам и по 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 β -лактамазами;
- **2-е поколение** (*цефуроксим, цефаклор* и др.) — более активны в отношении грамотрицательных бактерий, более устойчивы к β -лактамазам;
- **3-е поколение** (*цефотаксим, цефтазидим* и др.) — более активны в отношении грамотрицательных бактерий, высокорезистентны к действию β -лактамаз;
- **4-е поколение** (*цефепим* и др.) — действуют в основном на грамположительные, некоторые грамотрицательные бактерии и синегнойную палочку, резистентны к действию β -лактамаз.

Карбапенемы (*имипенем* и др.) — из всех β -лактамов имеют самый широкий спектр действия и резистентны к β -лактамазам.

Монобактамы (*азтреонам* и др.) — резистентны к β -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 β -лактамам, при псевдомембранозном колите, вызываемом *Clostridium difficile*.

АМИНОГЛИКОЗИДЫ — соединения, в состав молекулы которых входят аминоксахара. 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 — семейство крупномолекулярных препаратов, имеющих в своем составе четыре циклических соединения. В настоящее время в основном применяют полусинтетики, например *доксциклин*. Тип действия — статический. Спектр действия — широкий (особенно часто используются для лечения инфекций, вызванных внутриклеточно расположенными микробами: риккетсиями, хламидиями, микоплазмами, бруцеллами, легионеллами).

МАКРОЛИДЫ (и азалиды) — 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 нитробенzenовое «ядро», которое, к сожалению, делает препарат токсичным не только в отношении бактерий, но и 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.

7.2. Синтетические противомикробные химиотерапевтические препараты

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 фторхинолоны, имидазолы, нитрофураны и др.

Особую группу составляют противовирусные препараты (см. разд. 7.8).

Сульфаниламиды. Основу молекулы этих препаратов составляет пара-аминогруппа, 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. 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. Ко-тримоксазол (*бактрим*, *бисептол*) — комбинированный препарат, который состоит из сульфаметоксазола и триметоприма. Оба компонента действуют синергически, потенцируя активность друг друга. Действует бактерицидно. Триметоприм блокирует синтез фолиевой кислоты, но на уровне другого фермента. Применяют при инфекциях мочевого тракта, вызванных грамотрицательными бактериями.

Хинолоны. Первый препарат этого класса — налидиксовая кислота (1962 г.). 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 фторхинолонов — 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.

Оксазолидиноны (*линезолид*). Тип действия в отношении стафилококков статический, в отношении некоторых других бактерий — цидный, спектр действия — широкий. Обладают активностью против широкого спектра грамположительных бактерий, включая метициллинрезистентные стафилококки, пенициллинрезистентные пневмококки и ванкомицинрезистентные энтерококки.

При длительном применении может приводить к угнетению функций кроветворения.

7.3. Механизм действия противомикробных химиотерапевтических препаратов

Основа избирательности противомикробных химиотерапевтических препаратов 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 различают следующие группы противомикробных препаратов: ингибиторы синтеза клеточной стенки, ингибиторы синтеза белка, нарушающие синтез и функции нуклеиновых кислот, нарушающие синтез и функции цитоплазматической мембраны (табл. 7.1).

Таблица 7.1

Классификация антимикробных препаратов по механизму действия

Ингибиторы синтеза клеточной стенки	Ингибиторы синтеза белка	Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот	Ингибиторы функции клеточных мембран
Бета-лактамы (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы) Гликопептиды (ванкомицин, тейкопланин) Бацитрацин	Аминогликозиды Тетрациклины Хлорамфеникол Линкозамиды Макролиды Фузидиевая кислота Оксазолидиноны	<i>Ингибиторы синтеза предшественников нуклеиновых кислот</i> Сульфаниламиды Триметоприм <i>Ингибиторы репликации ДНК</i> Хинолоны Нитроимидазолы Нитрофураны <i>Ингибиторы РНК-полимеразы</i> Рифамицины	Полимиксины Полиены Имидазолы

Ингибиторы синтеза клеточной стенки. Антибиотики, ингибирующие синтез клеточной стенки, очень различаются по своей химической структуре. Наиболее важные препараты этой группы — β -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 цитоплазматическую мембрану, где происходит их объединение в гликопептидные цепи (эту стадию ингиби-

руют гликопептиды). Образование полноценного пептидогликана происходит на внешней поверхности цитоплазматической мембраны. Этот этап совершается при участии ферментов, которые называют пенициллинсвязывающими белками, так как именно они служат мишенью для пенициллина и других β -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 аминокислоты тРНК к акцепторному сайту (тетрациклины), формирование пептида, катализируемого пептидилтрансферазой (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 антибиотиков процесс возобновляется, т.е. эффект бактериостатичен. Оксазолидиноны блокируют связывание двух субъединиц рибосом в единый 70S-комплекс, нарушают терминацию и высвобождение пептидной цепи.

Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот. Нарушение синтеза и функций нуклеиновых кислот достигается тремя способами: 1) ингибированием синтеза предшественников пурин-пиримидиновых оснований (сульфаниламиды, триметоприм); 2) подавлением репликации и функций ДНК (хинолоны/фторхинолоны, нитроимидазолы, нитрофураны); 3) ингибированием 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 цитоплазматической мембраны. Цитоплазматическая мембрана есть у всех живых клеток, но у прокариотов (бактерий) и эукариотов ее структура отлична. У грибов больше общего с клетками макроорганизма, хотя есть и различия. Поэтому противогрибковые препараты — антимикотики — более токсичны для организма человека, так что лишь немногие из них 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 повреждают эргостеролы (полиеновые антибиотики) и ингибируют один из ключевых ферментов биосинтеза эргостеролов (имидазолы).

7.4. Осложнения при антимикробной химиотерапии

Как и всякие лекарственные средства, практически каждая группа антимикробных химиотерапевтических препаратов может оказывать побочное действие, причем и на макроорганизм, и на микробы, и на другие лекарственные средства.

7.4.1. Осложнения со стороны макроорганизма

Наиболее частыми осложнениями антимикробной химиотерапии со стороны макроорганизма являются: токсическое действие препаратов, дисбиоз, отрицательное воздействие на иммунную систему, эндотоксический шок, взаимодействие с другими препаратами.

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 химиотерапевтических препаратов, когда создаются условия для их накопления в организме. Особенно часто такие осложнения бывают, когда мишенью действия препарата являются процессы или структуры, близ-

кие 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). Возможно угнетение кроветворения (тетрациклины, сульфаниламиды и левомецетин/хлорамфеникол, который содержит нитробензен — супрессор функции костного мозга); тератогенное действие (аминогликозиды, тетрациклины нарушают развитие костей, хрящей у плода и детей, формирование зубной эмали — коричневая окраска зубов, левомецетин/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 химиотерапевтические препараты, 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 развиваться 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), витаминотерапией, применением пробиотиков и т.п.

Отрицательное воздействие на иммунную систему. К этой группе осложнений относят прежде всего аллергические реакции. Причинами развития гиперчувствительности могут быть сам препарат, продукты его распада, а также комплекс препарата с сывороточными белками. Возникновение такого рода осложнений зависит от свойств самого препарата, способа и кратности его введения, от 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 β -лактамы (пенициллины), рифамицины. Сульфаниламиды

* Синдром «серого ребенка» — левомецетин метаболизируется в печени, образуя глюкурониды, поэтому при врожденном дефиците фермента глюкуронилтрансферазы может быть накопление препарата в крови в токсических концентрациях, в результате чего появляется серый цвет кожи, увеличение печени, боли в сердце, отеки, рвота, общая слабость.

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) 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 инаktivации других препаратов (например, эритромицин стимулирует выработку ферментов печени, которые начинают ускоренно метаболизировать лекарственные средства разного назначения).

7.4.2. Побочное воздействие на микроорганизмы

Применение антимикробных химиотерапевтических препаратов оказывает на микробы не только прямое угнетающее или губительное воздействие, но также может привести к формированию атипичных (например, к образованию L-форм бактерий или изменению других свойств микробов, что затрудняет диагностику инфекционных заболеваний) и персистирующих форм микробов. Широкое использование антимикробных лекарственных средств ведет также к формированию антибиотикозависимости (редко) и лекарственной устойчивости — антибиотикорезистентности (достаточно часто).

7.5. Лекарственная устойчивость бактерий

Антибиотикорезистентность — это устойчивость микробов к антимикробным химиотерапевтическим препаратам. Бактерии следует считать резистентными, если они не обезвреживаются такими концентрациями препарата, которые реально создаются в макроорганизме.

Резистентность может быть природной и приобретенной.

Природная лекарственная устойчивость бактерий. 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 из-за непроницаемости клеточной стенки бак-

терий для данного препарата (например, грамотрицательные микробы менее проницаемы для крупномолекулярных соединений, чем грамположительные бактерии, так как их наружная мембрана имеет «маленькие» поры).

Приобретенная лекарственная устойчивость бактерий. Приобретение лекарственной резистентности — это биологическая закономерность, связанная с адаптацией микроорганизмов к условиям окружающей среды. К противомикробным химиотерапевтическим препаратам могут стать устойчивыми не только бактерии, но и остальные микробы — от эукариотов (простейших, грибов) 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*).

7.5.1. Генетические основы приобретенной резистентности

Устойчивость к антибиотикам определяется и поддерживается генами резистентности и условиями, способствующими их распространению в микробных популяциях.

Приобретенная лекарственная устойчивость может возникать и распространяться в популяции бактерий в результате мутаций, переноса трансмиссивных плазмид резистентности, переноса транспозонов, несущих гены резистентности, экспрессии интегронами генных кассет, несущих гены резистентности.

Мутации в хромосоме бактериальной клетки с последующей селекцией (т.е. отбором) **мутантов.** Особенно легко селекция происходит при наличии 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 единичные (если мутация произошла в одной клетке, в результате чего в ней синтезируются измененные белки) и множественные (серия мутаций, вследствие чего изменяется не один, а целый набор белков, например пенициллинсвязывающих белков у пенициллинрезистентного пневмококка).

Перенос трансмиссивных плазмид резистентности (R-плазмид). Плазмиды резистентности (трансмиссивные) часто кодируют устойчивость сразу к нескольким семействам антибиотиков. Некоторые плазмиды могут переда-

ваться между бактериями разных видов, поэтому один и тот же ген резистентности можно встретить у бактерий, таксономически далеких друг от друга. Например, β -лактамаза, кодируемая плазмидой TEM-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.

Перенос транспозонов, несущих гены резистентности. 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 рекомбинациях другим бактериям-реципиентам.

7.5.2. Реализация приобретенной устойчивости

Вследствие изменений в геноме бактериальная клетка меняет свои свойства, в результате чего становится устойчивой к антибактериальным препаратам. Для осуществления антимикробного эффекта препарат должен, оставаясь активным, пройти сквозь оболочки микробной клетки, чтобы взаимодействовать с внутриклеточными мишенями.

Реализация приобретенной лекарственной устойчивости возможна в результате модификации мишени, «недоступности» мишени и инактивации препарата бактериальными ферментами.

Модификация мишени. Фермент-мишень может быть так изменен, что его функции не нарушаются, но способность связываться с препаратом (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 реализуется 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, β -лактамазы, аминогликозидмодифицирующие ферменты, хлорамфениколацетилтрансфераза). Бета-лактамазы — это ферменты, разрушающие β -лактамное кольцо с образованием неактивных соединений. Гены, кодирующие эти ферменты, широко распространены среди бактерий и могут быть в составе как хромосомы, так и плазмиды.

Для борьбы с инактивирующим действием β -лактамаз используют ингибиторы (например, клавулановую кислоту, сульбактам, тазобактам). Эти вещества содержат в своем составе β -лактамное кольцо и способны связываться с β -лактамазами, предотвращая их разрушительное действие на β -лактамы. При этом

собственная антибактериальная активность таких ингибиторов низкая. Клавулановая кислота ингибирует большинство известных β -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 антибиотикотерапии менять препарат, по возможности использовать препараты узкого спектра действия, ограниченно применять антибиотики в ветеринарии и не использовать их как фактор роста).

7.6. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам

Для определения чувствительности бактерий к антибиотикам (антибиотикограммы) применяют метод диффузии в агар и методы определения минимальных ингибирующих и бактерицидных концентраций.

Метод диффузии в агар. На агаризованную питательную среду засевают исследуемый микроб, а затем вносят антибиотики. Чаще всего препараты или вносят 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 (или дисков). Метод дисков — **качественный**. Он позволяет оценить, чувствителен или устойчив микроб к препарату.

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.

Разработаны также ускоренные способы с применением автоматических анализаторов.

7.7. 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 средствам. 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 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, возможность сочетания препаратов и т.п. Дозы препаратов должны быть достаточными для того, чтобы обеспечить в биологических жидкостях и тканях микростатические или микробицидные концентрации. Необходимо представлять оптимальную продолжительность лечения, так как клиническое улучшение не служит основанием для отмены препарата, потому что в организме могут сохраняться возбудители и вероятен рецидив болезни. Учитывают также оптимальные пути введения препарата, так как многие антибиотики плохо всасываются из ЖКТ или не проникают через гематоэнцефалический 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.

7.8. Противовирусные средства

Среди препаратов, обладающих противовирусной активностью, можно выделить несколько основных групп. По химическому составу и механизмам действия различают: химиотерапевтические препараты, интерфероны, индукторы эндогенных интерферонов, иммуномодуляторы.

Противовирусные химиотерапевтические препараты — это синтетические лекарственные средства, используемые в основном для этиотропной терапии вирусных инфекций. Механизм их действия 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 химиотерапевтический индекс, т.е. отношение специфической эффективности к токсичности. Другим существенным недостатком химиотерапевтических препаратов является их участие в формировании резистентных штаммов, возникновение и распространение которых, несомненно, снижает эффективность терапии.

В качестве противовирусных средств сегодня применяют в основном анормальные 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) и др. (табл. 7.2).

Сейчас существует достаточно много средств борьбы с гриппом, ОРВИ и герпесом. При вирусных гепатитах и ВИЧ/СПИДе применяют единичные

препараты (см. также разд. 16.6, 16.1.11). Что касается энтеровирусных инфекций, вирусных энцефалитов и других вирусных инфекций, то до сих пор практически отсутствуют химиотерапевтические средства для их эффективного этиотропного лечения.

Таблица 7.2

Классификация противовирусных химиотерапевтических препаратов

Препараты		Показания
Аномальные нуклеозиды	Азидотимидин (АЗТ) Ацикловир Ганцикловир Видабин Идоксуридин Рибавирин Трифлюридин Цитарабин	СПИД Герпес 1 и 2, герпес зостер Герпес 1, цитомегалия Герпес 1 и 2, герпес зостер Герпес 1 и 2 РС-вирус, гепатит С, лихорадка Ласса Герпес, аденовирусные кератиты Цитомегалия
Производные адамантана	Адапромин Амантадин Дейтифорин Ремантадин Тромантадин	Грипп А и В Грипп А Грипп А, парагрипп 3, РС-вирус Грипп А Герпес
Синтетические аминокислоты	Амбен. Аминокапроновая кислота	Грипп А и В, ОРВИ Грипп А и В, парагрипп, РС-вирус
Аналоги пирофосфата	Фоскарнет	Герпес 1 и 6, цитомегалия, гепатит В, СПИД
Производные тиосемикарбазона	Марборан, метисазон	Оспа
Вирулицидные препараты	Оксолин Теброфен Флюореналь	Грипп, герпес, риниты Герпес, аденовирусные кератиты Герпес, аденовирусные кератиты
Прочие препараты	Пандовир Хельпин Арбидол	Герпес Герпес, ветряная оспа Грипп А и В, ОРВИ

Таким образом, антимикробные химиотерапевтические 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 химиотерапевтических препаратов необходимо каждому врачу и медицинскому работнику.

Тестовые вопросы и задания

А. К химиотерапевтическим противомикробным препаратам относятся:

1) антисептики;

- 2) антибиотики;
- 3) бактериофаги;
- 4) дезинфектанты;
- 5) эубиотики.

Б. Осложнения антибиотикотерапии:

- 1) аллергические реакции;
- 2) дисбактериоз;
- 3) образование атипичных форм бактерий;
- 4) антибиотикорезистентность бактерий;
- 5) токсическое действие на организм человека.

В. Антибиотики эффективны против:

- 1) бактерий;
- 2) грибов;
- 3) простейших;
- 4) вирусов;
- 5) прионов;
- 6) вирионов.

Г. К антибиотикам — ингибиторам синтеза клеточной стенки бактерий относятся:

- 1) хлорамфеникол;
- 2) β -лактамы;
- 3) линкозамины;
- 4) гликопептиды;
- 5) полиены.

Д. В группу синтетических противогрибковых препаратов входят:

- 1) сульфаниламиды;
- 2) имидазолы;
- 3) хинолоны;
- 4) нитрофураны;
- 5) аминогликозиды.

Е. Осложнениями антимикробной химиотерапии со стороны макроорганизма являются:

- 1) токсическое действие препаратов;
- 2) дисбиоз;
- 3) отрицательное воздействие на иммунную систему;
- 4) эндотоксический шок.

Ж. Для борьбы с инактивирующим действием β -лактамаз используют следующие ингибиторы:

- 1) клавулановую кислоту;
- 2) сульбактам;
- 3) тазобактам;
- 4) ацикловир.

8

Учение об инфекции

Термин **«инфекция»** (от позднелат. *infectio* — заражение), или **инфекционный процесс**, обозначает совокупность физиологических и патологических восстановительно-приспособительных реакций, возникающих в восприимчивом макроорганизме при определенных условиях окружающей среды в результате его взаимодействия с проникшими и размножающимися в нем патогенными или условно-патогенными бактериями, грибами и вирусами. Данные реакции направлены на поддержание гомеостаза. Сходный процесс, но вызванный простейшими, гельминтами и насекомыми, 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 — **хозяина** — в качестве источника питания и места обитания. 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. Возбудители инфекционных и инвазионных болезней человека, животных и растений относятся к паразитам, т.е. способны к паразитической форме существования в живой системе. Так как продолжительность жизни организма хозяина ограничена во времени, для паразитов обязательна 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 сапрофитический 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 называ-

ют главной, специфической средой обитания. Выделяют три категории паразитов: облигатные, факультативные и случайные.

Облигатные паразиты на всех стадиях популяционного цикла тесно связаны с организмом хозяина (паразитическое существование без попадания в окружающую среду). Они передаются трансмиссивно, трансплацентарно или контактно-половым путем. Если паразит имеет двух хозяев — теплокровного носителя и членистоногого переносчика, то его популяция представлена двумя частями: **организменной (гостальной)** и **векторной (в переносчике)**. В других случаях популяция представлена лишь организменной частью. Они образуют замкнутую паразитарную систему.

Факультативные паразиты, помимо организма хозяина, в процессе циркуляции могут использовать и окружающую среду, но паразитическая фаза у них имеет определяющее значение. Данные микроорганизмы помимо выше названных путей передачи могут передаваться и нетрансмиссивными путями. Эта категория паразитов весьма неоднородна и состоит либо из трех частей, а именно, организменной, векторной и внеорганизменной (сапрофитической), либо из двух частей: организменной и внеорганизменной. Они образуют полузамкнутую паразитарную систему с преобладанием паразитической фазы существования над сапрофитической.

Случайные паразиты представлены организмами, для которых окружающая 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. Данная популяция паразитов состоит из двух частей: внеорганизменной (сапрофитической), которая является основной, и организменной — случайной. Трансмиссивный путь передачи у них отсутствует. Они образуют открытую паразитарную систему. Таким образом, теснота связи с организмом уменьшается от облигатных паразитов к случайным, у которых роль окружающей среды обитания возрастает. При этом чем выше зависимость пищевых потребностей микробов от клетки хозяина, тем сильнее его паразитические свойства.

8.1. 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 окружающей среды, которая и обуславливает возможность установления контактов между представителями разных видов: общность территории обитания разных видов, пищевые связи, плотность и числен-

ность популяций, особенности передачи генетической информации, миграции и т.д. При этом по отношению к человеку под условиями окружающей среды прежде всего следует понимать *социальные условия* его жизнедеятельности. Микроб определяет специфичность инфекционного процесса, а состояние макроорганизма вносит решающий вклад в форму проявления инфекционного процесса, его длительность, степень тяжести и исход. *Экологический фактор* (окружающая среда) оказывает на инфекционный процесс опосредованное воздействие, изменяя 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 окружающей среды, на которые попали возбудители, целесообразно обозначать как загрязненные тем или иным возбудителем. Под восприимчивостью макроорганизма следует понимать его способность реагировать на внедрение микробов развитием инфекционного процесса в его многообразных проявлениях — от носительства до инфекционной болезни.

8.1.1. Стадии и уровни инфекционного процесса

Инфекционный процесс — это динамичная форма взаимодействия между микробами и макроорганизмом, протекающая с постоянной сменой причинно-следственных взаимоотношений. Условно его можно разделить на несколько стадий.

Первая стадия — проникновение микробов в макроорганизм. Пусковой момент инфекционного процесса — внедрение и адаптация микробов в месте входных ворот инфекции — заражение (инфицирование), а также **адгезия (прилипание)** микробов к клеткам макроорганизма. Ткани и органы, через которые микробы попадают в макроорганизм, образуют входные ворота. В большинстве случаев микробы проникают в макроорганизм через поврежденные кожные покровы и проницаемые для микробов неповрежденные слизистые оболочки.

Вторая стадия — колонизация — 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, токсинов и,

кроме того, образование токсических продуктов распада клеток макроорганизма, которые оказывают повреждающее воздействие на ткани и органы.

Третья стадия — диссеминация, т.е. распространение микробов за пределы первичного очага внедрения и колонизации микробов лимфогематогенным путем, бронхогенно или перинеурально (по ходу нервных стволов), что ведет к генерализации инфекционного процесса.

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 защиты, действие которых направлено на нейтрализацию как самих микробов, так и их токсинов, а также на восстановление нарушенного гомеостаза в макроорганизме.

Пятая стадия — окончание и исходы инфекционного процесса. В большинстве случаев наступает **санация** макроорганизма, т.е. полное освобождение макроорганизма от микроба и приобретение им нового качества — **формирование иммунитета**. В ряде случаев инфекционный процесс заканчивается летально. В тех случаях, когда между микробом и макроорганизмом устанавливается равновесие, происходит формирование **микробоносительства**.

Инфекционный процесс не всегда проходит все присущие ему стадии и может закончиться уже на ранних этапах. Например, он может протекать в виде abortивной формы инфекционной болезни у привитых лиц или у лиц, ранее перенесших данное заболевание и имевших к нему иммунитет. 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. Прежде всего, многоуровневая система инфекционного процесса включает в себя популяционный и организменный уровень. **Популяционный уровень** определяет взаимодействие микробов с восприимчивыми особями популяции. **Организменный уровень** представляет собственно инфекционный процесс, так как инфекция — это система реакций, которые возникают в восприимчивом макроорганизме. **Нижестоящими уровнями** являются тканево-органный, клеточный и субклеточный, или молекулярный уровень, в основе которого лежит конкурентное взаимодействие биологических молекул микроба и макроорганизма.

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 влияют на течение 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.

8.1.2. Понятие об инфекционной болезни

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 выражено, 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 бессимптомная вакцинная инфекция при применении живых вакцин из аттенуированных штаммов.

8.2. Понятие о патогенных, сапрофитных и условно-патогенных микробах

По **степени патогенности** (син.: болезнетворности) для макроорганизма человека, животного или растения микробы делятся на три группы: патогенные, сапрофиты и условно-патогенные.

Патогенные (от греч. *pathos* — страдание и *genos* — рождение) микробы — это возбудители инфекционных болезней человека, животных и растений. Адаптация патогенных микробов в ходе эволюции зашла так далеко, что суще-

ствование их в макроорганизме является необходимым условием сохранения микроба как биологического вида, несмотря на то что они могут определенное время находиться вне макроорганизма. Следовательно, болезнь для них — это результат сформировавшихся симбионтных отношений с макроорганизмом в ходе эволюции.

Сапрофиты (от греч. *sapros* — гнилой и *phyton* — растение) — непатогенные микробы, питающиеся мертвыми тканями растений и животных или продуктами их жизнедеятельности. Они не зависят от макроорганизма, им нужны лишь готовые органические вещества. Некоторые микробы, например возбудитель сибирской язвы, ботулизма и столбняка, находясь в почве, ведут себя как сапрофиты. Патогенность их проявляется лишь после случайного проникновения в макроорганизм.

Условно-патогенные (син.: потенциально патогенные) микробы оказывают 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 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 симбионтных отношений.

8.3. Свойства патогенных микробов

Патогенные микробы — это паразиты, которые произошли в ходе длительной сопряженной эволюции от сапрофитов. При этом они утратили ряд ферментативных систем и 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 внутриклеточной среды, которая отличается от внеклеточной по многим физико-химическим свойствам, она богата органическими веществами и АТФ, которая отсутствует вне клеток. В такой среде много готовых жизненно необходимых веществ, есть белоксинтезирующие системы. Помимо обеспечения метаболических, энергетических, генетических и белоксинтезирующих потребностей микробов, клетка защищает их от дей-

ствия антител, фагоцитоза, бактериофагов и антибиотиков, которые не проникают через клеточную мембрану. Внутриклеточные паразиты 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 завершённого фагоцитоза. К облигатным внутриклеточным паразитам относятся вирусы, риккетсии, хламидии; возбудители лепры, малярии, токсоплазмоза. 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 макроорганизме. Данные микробы культивируются на искусственных питательных средах. К ним относятся возбудители туберкулеза, бруцеллеза, туляремии, 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 служат возбудители холеры и лептоспиры. Для внеклеточных паразитов характерна продукция экзoferментов, способствующих их агрессии и инвазии, — нейраминидазы, гиалуронидазы и т.д.

Патогенные микробы должны обладать целым рядом свойств, и прежде всего патогенностью.

Патогенность — 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. Это видовой, генетически детерминированный признак, передающийся по наследству. Он характеризует лишь потенциальную способность микроба вызывать инфекционный процесс. Фенотипическая же реализация генотипа происходит только в определенных условиях.

В невосприимчивом макроорганизме патогенность микробов остается нереализованной, так как для этого нет условий, обеспечивающих их адгезию, колонизацию и репродукцию. Микробы утрачивают свою жизнеспособность и поги-

бают. Лишь в восприимчивом организме происходит их активное размножение. В качестве примера можно привести возбудителя сифилиса (*T. pallidum*) или брюшного тифа (*S. Typhi*), которые в естественных условиях вызывают заболевание только у человека.

Для патогенных микробов характерна 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 клетками макроорганизма. Специфичность и органотропность объясняют хозяин-адаптированность многих микробов. Из этого правила есть исключения, например возбудители зоонозных инфекций (бруцеллеза, чумы, туляремии, сибирской язвы и др.), для которых характерны полигостальность и пантропизм, в основе которого лежит способность к внутриклеточному паразитизму в макрофагах, расположенных во многих тканях и органах. Для этих микробов инфекционный процесс у человека как неспецифического их хозяина 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 слабее их специфичность и органотропность, что характерно для условно-патогенных микробов. Чем сильнее органоспецифическая адаптация микроба и более выражены его метаболические особенности, тем уже диапазон его возможных биологических хозяев, без которых он не может существовать. Примером такого микроба со сложными метаболическими потребностями служит возбудитель сифилиса.

Патогенные микробы должны проникать в макроорганизм в определенной **критической, или инфицирующей, дозе** (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 дей-

ствием неспецифических защитных факторов макроорганизма (кислотности желудка, ферментов и т.д.) в момент его попадания, 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 большое значение имеет не столько абсолютное число микробов, попавших в макроорганизм, сколько их плотность на единицу поверхности и наличие рецепторов у эукариотических клеток. Важную роль также играет скорость репродукции микробов, определяющая возможность увеличения численности их популяции в макроорганизме. 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**. Например, возбудитель гонореи (*N. gonorrhoeae*) проникает в макроорганизм через однослойный цилиндрический эпителий слизистой оболочки уретры, канала шейки матки, дистальных отделов прямой кишки и конъюнктивы 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, так же как и пути проникновения микробов в макроорганизм, специфичны. Например, при воздушно-капельных инфекциях микробы выделяются с выдыхаемым воздухом, а при кишечных инфекциях с экскрементами. 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 (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 одного и того же вида обладает гетерогенностью. В связи с этим для обозначения степени патогенности введено понятие

«вирулентность» (от лат. *virulentus* — 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. В вирусологии вместо термина «вирулентность» применяют термины «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 следующие показатели:

- **Dcl** (dosis certe letalis) — наименьшее количество живого микроба или его токсина, вызывающее в течение определенного времени гибель 100% экспериментальных животных, взятых в опыт (безусловно смертельная доза);
- **Dlm** (dosis letalis minima) — наименьшее количество живого микроба или его токсина, вызывающее в течение определенного времени гибель 95% экспериментальных животных, взятых в опыт;
- **ID100** — 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 возни-

кает при введении через дыхательные пути 1–2 клеток микроба, тогда как при пероральном заражении летальная доза увеличивается до нескольких тысяч клеток. Степень вирулентности штамма можно оценивать не только *in vivo* (на лабораторных животных), но и *in vitro* путем определения факторов патогенности конкретного штамма при проведении клинико-лабораторных исследований.

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 пассирования микробов через организм маловосприимчивых животных. Полная утрата вирулентности связана с изменением генотипа. Повышение вирулентности, наоборот, отмечается 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.

Примером изменения вирулентности могут служить L-трансформация у бактерий, образование цист у спирохет, синтез капсулы у бактерий при их попадании в макроорганизм, температурозависимый синтез инвазивных белков у иерсиний и Vi-антигена у *S. Typhi* и т.д.

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.

8.3.1. Факторы патогенности микробов

Факторы патогенности — это материальные носители, обуславливающие способность микробов вызывать инфекционный процесс. Изучение факторов патогенности позволяет понять, чем патогенный микроб отличается от микроба, не обладающего патогенностью, и чем восприимчивый макроорганизм отличается от невосприимчивого. Для того чтобы противостоять защитным факторам макроорганизма, патогенные микробы должны обладать способностью к стойкой **адгезии** и **колонизации**; **инвазивностью**, т.е. способностью к преодолению защитных барьеров макроорганизма, проникновению во внутреннюю среду макроорганизма 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 агрессивных, интерферирующих с защитными факторами макроорганизма, в том числе противостоять фагоцитозу. Кроме того, патогенные микробы должны оказывать **токсическое воздействие** на макроорганизм. Каждую из этих функций патогенные микробы реализуют с помощью специализированных макромолекул, которые являются материальными носителями патогенности.

Адгезию, колонизацию и защиту от фагоцитоза осуществляют макромолекулы, входящие преимущественно в состав поверхностных морфологических структур микробов. Инвазивность и агрессивность связана с синтезом экзоферментов, а токсическое воздействие — с образованием токсинов, играющих ведущую роль в развитии специфических симптомов при инфекционных заболеваниях. В развитии инфекционного процесса принимают участие сразу несколько факторов патогенности.

Факторы патогенности, обуславливающие адгезию и колонизацию.

Адгезия и колонизация — это пусковые механизмы инфекционного процесса. Патогенные микробы активно преодолевают защитные барьеры макроорганизма, стремясь закрепиться на занятой ими поверхности кожи и слизистых оболочек. Микробы, не способные преодолеть этот барьер, проникают 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 как у микробов, так и у чувствительных к ним эукариотических клеток макроорганизма. Структуры микроба, ответственные за прикрепление, называют **адгезинами**, или **лигандами**, а структуры эукариотической клетки хозяина — **рецепторами**. Между ними происходит лиганд-рецепторное взаимодействие по принципу комплементарности. У грамотрицательных бактерий роль адгезинов выполняют фимбрии (или пили), а 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 липопротеиновой оболочки. Стойкая адгезия и колонизация возможны только в том случае, если микробы могут выстоять против биоцидных и биостатических факторов кожи и слизистых оболочек. 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. При этом бактерии ведут себя как многоклеточные организмы, образуя микроколонии, окруженные слизистыми биопленками, которые защищают их от действия неблагоприятных факторов, в том числе антибиотиков. 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 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 рецепторами клеток макроорганизма и адгезинами микробов.

С одной стороны, если рецепторов нет, то инфекционный процесс не развивается. С другой — даже при наличии рецепторов микробы-мутанты, лишенные адгезинов, не обладают способностью вызывать инфекционный процесс.

Факторы, обуславливающие адгезию и колонизацию микробов, играют ведущую роль на ранних 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 ферментов микробов, 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, а также переводя протоксины в токсины, либо сами действуют как токсины в результате образования токсических для макроорганизма веществ. Токсическое воздействие на макроорганизм оказывают протеазы легионелл; фермент уреазы, гидролизующая мочевины с образованием аммиака и диоксида углерода; декарбоксилазы аминокислот, образуемые бактериями в кишечнике, что ведет к образованию токсичных биогенных аминов, и т.д. Ряд микробов продуцирует ферменты, вызывающие гемолиз эритроцитов и разрушение лейкоцитов (гемолизины и лейкоцидины). Разнообразные ферменты микробов способствуют их инвазии и распространению в макроорганизме.

Гиалуронидаза расщепляет гиалуроновую кислоту, основной компонент соединительной ткани, препятствующий проникновению в них посторонних веществ.

Нейраминидаза (син.: сиалидаза) расщепляет 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 сialовая кислота входит в состав разных тканей и органов, нейраминидаза обладает широким спектром действия.

Фибринолизин растворяет сгустки фибрина, образующиеся в тканях в результате воспаления, что способствует ограничению воспалительного очага и препятствует распространению микробов по макроорганизму. Лизис фибрина ведет к инвазии микробов по макроорганизму.

Плазмокоагулаза ведет к образованию в воспалительном очаге вокруг микробов капсулы в результате коагуляции плазмы, что препятствует их фагоцитозу и действию комплемента.

ДНКаза деполимеризует ДНК, выделяющуюся в среду при гибели клеток. Это вызывает снижение вязкости окружающей среды, что благоприятно сказывается на развитии микробов в тканях.

Коллагеназа разрушает коллаген мышечных волокон, что понижает стабильность его структуры, а **лецитиназа С** (фосфолипаза) действует на лецитин и другие фосфолипиды, входящие в состав клеточных мембран мышечных волокон, и т.д.

Помимо своих агрессивных, разрушительных функций, **ферменты выполняют трофические функции**, поставляя микробам низкомолекулярные продукты распада клеток и тканей макроорганизма, необходимые микробам для их жизнедеятельности, что ведет к столь характерному для инфекционных болезней истощению макроорганизма. Так, например, фибринолизин создает условия не только для распространения менингококков сквозь сгустки фибрина, но и обеспечивает им поставку аминокислот, продуктов распада фибрина, необходимые микробам для жизнедеятельности. Продукция микробами ферментов объясняет наличие многих симптомов при инфекционных заболеваниях, например возникновение абсцедирующих пневмоний, вызванных стафилококками, а также необходимость назначения больным ингибиторов ферментов. При этом в патогенезе инфекционных болезней ведущую роль играют специализированные ферменты или ферментные системы, например специфическая протеаза гемоглобина у возбудителей малярии или специфические протеазы гонококков, вызывающие гидролиз секреторного иммуноглобулина класса А, препятствующего их адгезии на слизистых оболочках.

Кроме ферментов, важную роль как факторов патогенности играют **жгутики**, осуществляющие движение микробов и препятствующие их фагоцитозу, а также гетерофильные, т.е. **общие, антигены** у представителей разных видов. Такие антигены обнаружены у лиц с I группой крови, у возбудителя чумы, а также у других микробов. Благодаря наличию гетерофильных антигенов макроорганизм может не распознавать такие микробы, как чужеродные, что способствует их сохранению в макроорганизме. Образование данных антигенов —

результат либо случайного повторения биосинтеза конечных продуктов, либо длительной совместной эволюции представителей разных видов. Данное явление получило название **антигенной мимикрии** (от англ. *imitary* — подобный). Важным защитным механизмом у микробов служит образование **антигенных вариантов**, устойчивых к действию защитных факторов макроорганизма. Формирование антигенных вариантов может происходить как в одном организме хозяине, что характерно для возбудителей малярии, эндемического клещевого и эпидемического вшивого возвратных тифов, так и на уровне популяции, что типично для вируса гриппа типа А.

Факторы патогенности, обладающие антифагоцитарной активностью.

Микробы могут подавлять фагоцитарную активность клеток на всех стадиях фагоцитоза. К факторам патогенности, обладающим антифагоцитарной активностью у микробов, относятся капсулы, микрокапсулы, слизистые чехлы и входящие в их состав антигены. Они играют роль механических барьеров, экранирующих поверхностные структуры микробов, взаимодействующих с опсонинами, которые связывают их с фагоцитирующими клетками, а также непосредственно взаимодействующих с рецепторами фагоцитирующих клеток, что препятствует распознаванию микробов и их поглощению. **Капсула** защищает микробы от действия лизосомальных ферментов и перекисных радикалов фагоцитирующих клеток. Способность капсул и слизи отделяться от поверхности микробов 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, Vi-антигена — у возбудителя брюшного тифа, корд-фактора — у возбудителей туберкулеза, полипептидной капсулы — у возбудителя сибирской язвы и т.д.

Антифагоцитарные свойства у микробов обусловлены также другими факторами: синтезом веществ, подавляющих хемотаксис фагоцитов или противодействующих внутриклеточному перевариванию, препятствующих слиянию лизосомы с фагосомой; продукцией ферментов, инактивирующих перекисные радикалы, оказывающие кислородзависимый киллерный эффект; устойчивостью к лизосомальным ферментам; синтезом веществ, вызывающих лизис фаголизосомы (листериолизин, белок внутриклеточного распространения VirG шигелл); способностью покидать фаголизосому и индуцировать апоптоз фагоцитирующих клеток. С другой стороны, облигатные внутриклеточные паразиты образуют вещества, активирующие хемотаксис (N-формильные пептиды) и фагоцитарную активность клеток (**инвазивные белки**), что способствует их проникновению внутрь клетки. Таким образом, механизмы внутриклеточного существования микробов и незавершенного фагоцитоза многообразны.

Эндоцитобиоз способствует сохранению микробов в макроорганизме и их распространению по нему, делает микробы неузнаваемыми и недоступными

для защитных факторов иммунной системы. Это свойство микробов получило название механизма «троянского коня».

Преодолев входные ворота инфекции и попав в кровь, микробы должны избегать воздействия комплемента и других микрообидных факторов крови (антител, лизоцима, β -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, агрессивных, в том числе факторов, препятствующих фагоцитозу, большое значение имеют токсины микробов (от греч. *toxikon* — яд), обуславливающие развитие симптомов интоксикации при инфекционных заболеваниях.

8.3.2. 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 белковые токсины (экзотоксины) и эндотоксины.

Белковые бактериальные токсины и их биологические свойства. К данной группе токсинов относятся термолабильные и термостабильные белки, которые образуются как грамположительными, так и грамотрицательными бактериями. Способность бактерий образовывать белковые токсины называется **токсигенностью**.

Они секретируются клеткой в окружающую среду или находятся в связанном состоянии с клеткой, освобождаясь в процессе ее автолиза. По степени связи с бактериальной клеткой их подразделяют на три класса.

Класс А — секретируемые в окружающую среду, например гистотоксин дифтерийной палочки (*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**, например тетаноспазмин возбудителя столбняка (*C. tetani*) или нейротоксин возбудителя ботулизма (*C. botulinum*). Клетка остается жизнеспособной. Они не имеют сигнального пептида, поэтому не секретируются в окружающую среду. Эти токсины попа-

дают в окружающую среду в результате слияния с мембранами клетки и затем выводятся из нее посредством эксфолиации мембран (син.: отслоение, десквамация), 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 Шига-подобные токсины.

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 (от англ. *binding*) 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 (от англ. *active*), или активатора, в цитоплазму клетки. Субъединица А активна только при наличии субъединицы В, которая обеспечивает специфичность и органотропность действия токсина, а также экранирует субъединицу А, предотвращая ее взаимодействие с субстратом как в собственной клетке микроба, так и за ее пределами. **Сложные токсины** представляют собой уже готовую бифункциональную структуру, состоящую из одной или нескольких В-субъединиц, соединенных с А-субъединицей. Субъединицы А и В 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-активатор и А2, которая осуществляет транспорт активатора через цитоплазматическую мембрану клетки-мишени в цитоплазму.

В механизме действия белковых токсинов на молекулярном уровне выделяют несколько стадий. Данные токсины относятся к высокомолекулярным соединениям и самостоятельно через клеточные мембраны не проникают — необходима их диссоциация. **На первой стадии** белковый токсин за счет своих абсорбционных молекул В фиксируется 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 состояния в активное. Изменение конформационной структуры молекулы токсина ведет к раскрытию у нее каталитического центра и появлению ферментативной активности. **Третья стадия** заключается в транслокации части А или А1 в цитоплазму клетки, где она нарушает жизненно важные биохимические процессы, 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, нарушают 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 α -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*, О-перфринголизин *C. perfringens*, О-листериолизин *L. monocytogenes*, пневмолизин *S. pneumoniae*, О-стрептолизин *S. pyogenes* и α -токсин *S. aureus*. Последний токсин можно рассматривать в качестве прототипа олигомеризующих порообразующих цитотоксинов. 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 α -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-ток-

син обладает цитолитическим действием в отношении различных типов клеток, включая моноциты, лимфоциты, эритроциты, 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. aeruginosa*, Шига-токсин (Stx-токсин) *S. dysenteriae* 1 серовара и Шига-подобные токсины энтеропатогенных и энтерогеморрагических *E. coli* (Stx-токсины). Субстратом для них служат факторы элонгации и 28S-рибосомальная РНК. Дифтерийный гистотоксин 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 пятью В-субъединицами. После связи пентамера В с эукариотической клеткой и интернализации полипептид А расщепляется на энзиматическую часть А1 (проявляет N-гликозидазную активность) и фрагмент А2, связанный с В-пентамером. Stx-токсины инактивируют 28S-рибосомальную РНК, нарушая ее взаимодействие с аминоацил-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 дерматонекротический (DNT), токсины *B. pertussis*; А- и В-токсины *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, неспособного гидролизовать связанный с ним ГТФ. В пораженных клетках наблюдается «рифление» мембраны, формируется локальное сжатие актиновых нитей, далее развивается воспаление с формированием некротического очага.

А- и В-токсины *C. difficile*, обладая гликозилтрансферазной активностью, наоборот, инактивируют Rho ГТФ-связывающие белки, что ведет к гибели клеток. 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 Gs-белок, регулирующий активность аденилатциклазы клеточных мембран, что ведет к устойчивой активации последней и увеличению внутриклеточного содержания циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), нарушению всасывания ионов натрия, калия и воды, развитию диареи. В отличие от ST-энтеротоксина *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 (Gs и Gi). Они извращают функции клеток, нарушая внутриклеточный гомеостаз по цАМФ. Коклюшный токсин вызывает рибозилирование трансдуцина — белка, ингибирующего клеточную аденилатциклазу, что ведет к накоплению цАМФ и последующему нарушению функции клетки-мишени, так как повышенный уровень цАМФ изменяет эффект гормонов и снижает фагоцитарную активность.

Протеазы. В качестве примера можно привести ботулинический и столбнячный нейротоксины, а также летальный фактор *B. anthracis*. Ботулотоксин и тетаноспазмин относятся к цинк-металлоэндопротеазам. 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 ЖКТ. Тетаноспазмин образуется в ранах возбудителем столбняка (*C. tetani*), не формируя комплексов с белками. Оба нейротоксина синтезируются в виде крупномолекулярных 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. Мишенью 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 синаптобrevина в этих нейронах приводит к блокаде секреции ингибиторных нейротрансмиттеров — глицина и γ -аминобутировой кислоты, что вызывает перевозбуждение мотонейронов и ведет к стойким мышечным сокращениям (спастическим параличам). Он является ингибитором инактиваторов ацетилхолина.

Сибиреязвенный токсин относится к наиболее изученным трехсоставным A1-B-A2-токсинам. Отдельно компоненты токсина не действуют. Его основной мишенью являются макрофаги, а также подобные им клетки, имеющие к нему высокоаффинные рецепторы. Общая **B-субъединица** токсина — **протективный антиген**, взаимодействие которого с рецепторами эукариотических клеток и обеспечивает транслокацию летального (A1) и отекающего (A2) факторов в цитозоль клетки, где они проявляют свое цитотоксическое действие, что ведет к развитию массивного некроза и отека. **Летальный фактор** — цинк-зависимая металлопротеаза, мишенью которой служит митоген-активируемая киназа протеинкиназ (MAPKKs, Mitogen Activated Protein Kinase Kinases). Расщепляя аминокислотные последовательности MAPKKs, она инактивирует сигналы медиаторов, необходимых для формирования иммунного ответа. Летальный фактор повреждает макрофаги, нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, блокируя процессы пролиферации, синтеза и секреции цитокинов и иммуноглобулинов. Образование активных форм кислорода в макрофагах и нейтрофилах сопровождается увеличением перекисных соединений в клетках и их деструкцией (цитотоксическое действие). **Отечный фактор** — Ca^{2+} -зависимая аденилатциклаза, активируемая при внутриклеточном контакте с белком эукариотов — кальмодулином. Ее действие приводит к накоплению жидкости (выпота) в тканях. Аденилатциклаза индуцирует синтез вторичных мессенджеров. Ее мишенью является АТФ. 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.

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 (см. рис. 9.8) и могут действовать непосредственно на антигенпредставляющие клетки иммунной системы

и Т-лимфоциты. Их иммуностимулирующий эффект является результатом способности связывать различные участки экспрессированных на поверхности антигенпредставляющих клеток МНС II класса снаружи от пептидсвязывающего участка и специфических V-элементов на Т-клеточном рецепторе Т-лимфоцитов. В результате активируется много клонов лимфоцитов с образованием большого количества цитокинов.

Таблица 8.1

Сравнительная характеристика токсинов бактерий

Экзотоксины (белки)	Эндотоксин (ЛПС)
Выделяются бактерией в среду	Освобождаются при разрушении бактерий
Белки	Белковолипополисахаридные комплексы
Термолабильны (60–80 °С)	Термостабильны (120 °С)
Высокотоксичны	Слаботоксичны
Обладают специфичностью действия	Не обладают избирательным действием на клетки
Активные антигены, высокоиммуногены, индуцируют образование анитоксических нейтрализующих антител	Слабые антигены
При обработке 0,3–0,4% формалином в течение 30 дней при 40 °С переходят в анатоксин	В анатоксин не переходят
Образуют как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии	Образуют грамотрицательные бактерии

Сравнительная характеристика токсинов бактерий. В отличие от эндотоксинов (табл. 8.1) 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 приводят к гибели животных при введении доз, равных сотням микрограммов. Как и вирулентность, сила действия белковых токсинов измеряется величиной летальных доз (LD) — Dcl, Dlm и LD50. Это полноценные тимусзависимые антигены, к ним образуются антитела, нейтрализующие их, — анитоксины. При этом фрагменты А и В в антигенном отношении неидентичны. 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. Один из методов получения анатоксинов — 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 важно 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. При проведении 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 использовать 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, проявляющие 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.

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 диареогенные *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. В отличие от белковых токсинов эндотоксины **термостабильны** и образуются грамотрицательными бактериями, выделяясь в окружающую среду только после гибели

и вызывает поликлональную стимуляцию В-лимфоцитов, активирует систему комплемента по альтернативному пути, будучи 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 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 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 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.

Один и тот же фактор патогенности может участвовать в различных фазах инфекционного процесса, а в одной и той же фазе могут участвовать разные 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 возбудителя (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.

8.3.3. Генетическая регуляция факторов патогенности

Патогенность бактерий носит полидетерминантный характер и контролируется группой генов, расположенных отдельными кластерами на хромосомах и плазмидах. Они связаны с мобильными генетическими элементами и отличаются от большей части генома GC-составом, что позволило предположить их чужеродное происхождение, а также выдвинуть концепцию о ведущей роли «островов» (*islands*), или «островков» (*islets*), патогенности.

Острова патогенности — это сегменты бактериальной ДНК, несущие один или несколько генов вирулентности, которые были приобретены из чужеродного источника. Приобретение этих сегментов ДНК опосредовано такими мобильными генетическими элементами, как транспозоны и интегроны, плазмиды и бактериофаги.

Открытие островов патогенности стало возможным благодаря секвенированию геномов бактерий. От основных генов, имеющих относительно гомогенный состав Г-Ц-пар нуклеотидов и кодирующих белки, участвующие в основных клеточных функциях (трансляция, метаболизм и архитектура), они отличаются по проценту Г-Ц-пар и кодируют дополнительные функции, которые не являются существенными для роста бактерий, но обеспечивают преимущество в конкретных условиях. Острова патогенности отсутствуют у непатогенных бактерий; фланкированы прямыми повторами, генами тРНК, IS-элементами; часто нестабильны; содержат гены мобильности (интегразы, транспозазы, начала репликации). Они содержат гены, которые обеспечивают синтез факторов адгезии и колонизации, инвазивности и внутриклеточного размножения, а также токсинов, модуляторов клеточных функций и систем секреции. Гены островов патогенности служат горячими точками для мутаций и рекомбинаций. Их детерминанты способны распространяться среди одного или родственных видов бактерий горизонтально 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.

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 придает **системе секреции третьего типа**, ответственной за одноэтапный транспорт эффекторных молекул из цитоплазмы бактерий в цитозоль эука-

риотической клетки макроорганизма, где они осуществляют реорганизацию цитоскелета клетки, что способствует проникновению бактерий в нее, а также вызывают различные нарушения функций этих клеток. Помимо **эффektorных молекул**, данная система состоит из **структурных белков**, образующих непрерывную трубку, и **белков транслокационного комплекса**, обеспечивающего транслокацию эффекторных молекул в цитоплазму клеток макроорганизма. Ее называют контактзависимой системой секреции, так как секреция эффекторных белков происходит непосредственно после контакта возбудителя с клеткой хозяина.

Экспрессия генов патогенности носит индуцибельный характер и зависит от условий окружающей 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 окружающей среды. Такими сигналами являются изменившийся биохимический состав среды, ее pH, температура, осмотическое давление и т.д. Микробы 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 условиям контролируется двухкомпонентными регуляторными системами, состоящими 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, будучи активатором или репрессором транскрипции. Внутриклеточный домен сенсорного белка представлен гистидинкиназой. В качестве соответствующего сигнала может выступать аутофосфорилирование сенсора. Перенос фосфат-остатка на аминокислотную группу белка-регулятора изменяет способность последнего связывать специфические последовательности ДНК, с которых иницируется 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**. Все эти механизмы регуляции взаимосвязаны между собой. Значимость каждого из них постоянно меняется.

Нестабильность островов патогенности создает бактериям определенные адаптивные преимущества. Высокая вирулентность может оказаться невыгодной для бактерий на определенной стадии инфекционного процесса. Нестабильность островов патогенности будет способствовать снижению вирулентности

всей популяции возбудителя инфекции. Их делеция может усилить экспрессию других, рядом расположенных генов.

Циклические фенотипические или модификационные изменения вирулентности происходят при смене организменной и внеорганизменной стадии существования микробов. В иммунном организме и вне организма сохраняются мало-вирулентные резервационные штаммы. При попадании 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» и ведут себя не как совокупность отдельных клеток, а как сообщество, живущее по социальным законам. **Quorum sensing** (чувство кворума) — это химический сигнальный механизм бактерий, благодаря которому, попав в новую среду обитания, они ведут себя как единый организм (феномен коллективного поведения). Чем больше рядом 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 (чувство кворума), 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-сенсинга позволяет по-новому подойти к лечению инфекционных заболеваний, в том числе вызванных антибиотикорезистентными штаммами бактерий.

8.4. Влияние факторов окружающей среды на реактивность организма

8.4.1. Роль реактивности макроорганизма в развитии инфекционного процесса

Если микроб определяет специфичность инфекционного процесса, то особенности его течения и форма проявления зависят от состояния 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 фак-

торов 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 детерминирована и 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 — одно 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 высокочувствительны к возбудителю туляремии, погибая при заражении минимальными дозами этого микроба. В отличие от них кошки, лисицы и хорьки маловосприимчивы и практически нечувствительны к данному микроорганизму.

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. Она характеризует **меру инфекционной чувствительности** макроорганизма к инфекции. Степень индивидуальной восприимчивости определяется напряженностью иммунитета, приобретенного в результате перенесенного инфекционного заболевания той же этиологии или проведения вакцинопрофилактики, 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 станет протекать типично, атипично (стерто и субклинически) или не будет возникать.

Восприимчивость и устойчивость 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, кроме видовой принадлежности, относятся его половая принадлежность 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 от матери к плоду через плаценту специфических антител, относящихся к иммуноглобулинам класса G. 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 (иммуноглобулины класса A и M), 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. 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 в результате повышения продукции гормонов-иммунодепрессантов отмечается повышенная восприимчивость к возбудителям гнойных 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 внутренней среде. 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, 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. 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 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, работа которых взаимосвязана. Как и нервная, иммунная система — одна 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 имеют рецепторы к сигнальным молекулам макроорганизма — гормонам и нейромедиаторам. 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 активации центральной нервной системы (ЦНС). Клинической иллюстрацией этого служат 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 гнойных 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 участвующе-

го в регуляции обмена веществ в организме человека и животных, ведет к недоразвитию тимуса 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 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 интерферонов и т.д. К генетическим факторам, не реагирующим через иммунную систему, относятся мутации в субстратах, метаболизируемых узкоспециализируемыми микробами, и т.д.

Таким образом, разнообразие проявлений инфекционного процесса, клинический полиморфизм инфекционных болезней являются следствием не только биологических свойств возбудителей данного инфекционного процесса, но и особенностей индивидуальной реактивности поражаемого ими макроорганизма. Факторы, ослабляющие защитные функции макроорганизма, способствуют распространению инфекции, а факторы, повышающие резистентность макроорганизма, наоборот, препятствуют ее развитию. При этом в иммунодефицитном макроорганизме происходит селекция высоковирулентных штаммов микробов, в то время как в иммунном — слабовирулентных.

8.4.2. 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. Разнообразные физические, химические и биологические факторы оказывают 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 сни-

жению 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, наблюдающаяся 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. 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. В эти периоды усиливается также интенсивность взаимодействий в экологических системах микроб–жертва. Установлено, что патогенность возбудителей инфекционных болезней в такие критические периоды изменяется в сторону повышения их активности (эффект Чижевского–Вельхова). 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 на него социальных антропогенных факторов, таких как прием антибиотиков и иммунодепрессантов, антитаболитов и цитостатиков, а также применение с лечебной целью облучения, способствующих снижению реактивности макроорганизма в результате разви-

тия иммунодефицита. Существенное влияние на развитие и течение инфекционного процесса оказывает вакцинопрофилактика. Вакцинация ведет не только к формированию искусственного активного приобретенного иммунитета, но и созданию *вакуума вирулентности* за счет вытеснения высоковирулентных диких штаммов микробов аттенуированными вакцинными штаммами. Такое нарушение баланса между микробами и макроорганизмом приводит к его восстановлению за счет проникновения в популяцию других, ранее неизвестных патогенов.

Обычно экологические факторы ускоряют появление инфекционных болезней у человека путем создания контакта с естественным резервуаром или хозяином инфекции. Значение социально-бытовых условий проявляется в распространении инфекционных заболеваний среди лиц, проживающих на отдельной территории и занимающихся определенным производственным видом деятельности. 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. Так, сибирскую язву называют «болезнью тряпичников», туберкулез — «болезнью пролетариата», «слезами нищеты, выплаканными внутрь», брюшной тиф — «болезнью коммунальщиков».

Важную роль в распространении инфекционных заболеваний играют материально-бытовые условия жизни и уровень развития санитарной культуры населения, национальные и религиозные обычаи, политическая и экономическая ситуация в обществе. Например, 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. Из-за 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, охоту и рыболовство, что ведет к усилению контакта с клещами, активации трансмиссивного механизма передачи вируса и росту заболеваемости клещевым энцефалитом.

Возникновению новых и активации старых инфекционных болезней способствуют такие социальные факторы, как изменение технологии производства, особенно пищевых продуктов; технологии разведения домашних и сельскохо-

зяйственных животных; развитие международного туризма и коммерции; изменение поведения людей и т.д.

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.

8.5. 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 служит 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. Для них характерна **нозологическая специфичность**, которая заключается в том, что каждый патогенный микроб вызывает «свою», присущую только ему инфекционную болезнь и локализуется в том или ином органе или ткани. Нозологической специфичности нет у условно-патогенных микробов.

По этиологическому принципу инфекционные болезни делят на бактериальные инфекции (бактериозы), вирусные инфекции, микозы и микотоксикозы. Паразитарные болезни подразделяют на протозоозы (протозойные инвазии), гельминтозы и инфекации (заболевания, вызванные членистоногими).

2. Инфекционные болезни характеризуются **контагиозностью** (от лат. *contagiosus* — заразный, заразительный), под которой подразумевается легкость, с которой возбудитель передается от зараженного организма незаражен-

ному, или быстрота распространения микробов среди восприимчивой популяции.

Для инфекционных болезней характерно наличие **заразительного периода** — промежутка времени в течении инфекционной болезни, когда возбудитель может распространяться 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 срок может охватывать все время болезни или ограничиваться определенными ее периодами 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 неодинакова. 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. Различают следующие периоды развития болезни: инкубационный (скрытый); продромальный (начальный); основных или выраженных клинических проявлений болезни (период разгара); угасания симптомов болезни (ранний период реконвалесценции); выздоровления (реконвалесценции).

Период с момента внедрения микроба (заражения, инфицирования) в макроорганизм до начала первых клинических проявлений болезни получил название **инкубационного** (от лат. *incubatio* — без внешних проявлений, скрытое). В течение этого периода происходит адаптация возбудителя к макроорганизму. Возбудитель размножается и избирательно накапливается в определенных органах и тканях (тканевой и органный тропизм), которые в наибольшей степени подвержены повреждению. Признаков болезни в это время нет, однако можно обнаружить начальные проявления патологического процесса в виде характерных морфологических изменений, обменных и иммунологических сдвигов, циркуляции микробов и их антигенов в крови. Макроорганизм в конце инкубационного периода может представлять эпидемиологическую опасность вследствие выделения из него микробов в окружающую среду. Длительность инкубационного периода может исчисляться часами (например, при гриппе)

или неделями и даже месяцами, как, например, при вирусном гепатите В, бешенстве, медленных вирусных инфекциях. Для большинства инфекционных болезней длительность инкубационного периода равна 1–3 нед.

Продромальный, или начальный, период (от греч. *prodromos* — предвестник) начинается с появления первых клинических симптомов болезни общего характера (недомогание, озноб, повышение температуры, головная боль, тошнота и т.д.). Характерных специфических клинических симптомов 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 (выраженных) клинических проявлений болезни** (период разгара), который характеризуется максимальной выраженностью общих неспецифических симптомов болезни и появлением специфических или патогномоничных, свойственных только данной инфекции симптомов заболевания, которые позволяют поставить точный клинический диагноз. Этот период подразделяется на три стадии: нарастания клинических проявлений (*stadium incrementi*); максимальной выраженности клинических проявлений (*stadium fastigii*); ослабления клинических проявлений (*stadium decrementi*). Период выраженных клинических проявлений может закончиться летально, или болезнь переходит в **период угасания симптомов болезни** (ранний период реконвалесценции), при котором исчезают основные симптомы болезни, нормализуется температура.

Период реконвалесценции (от лат. *re* — обозначает повторность действия и *convalescentia* — выздоровление) характеризуется отсутствием клинических симптомов, восстановлением структуры и функции органов, прекращением размножения возбудителя и его гибелью, либо процесс может перейти в микробоносительство. Длительность периода реконвалесценции 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: **клиническое выздоровление**, при котором исчезают только видимые клинические симптомы болезни; **микробиологическое выздоровление**, сопровождающееся освобождением макроорганизма от микроба; **морфологическое выздоровление**, при котором восстанавливаются морфологические и физиологические свойства по-

раженных тканей и органов. Обычно клиническое и микробиологическое выздоровление не совпадает 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 принято выделять тип, тяжесть и течение инфекционной болезни. 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, чаще всего 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 болезни 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 мес., затяжным или **подострым** продолжительностью до 4–6 мес. и **хроническим** — свыше 6 мес.

Возникшие при инфекционных болезнях **осложнения** могут быть специфическими, вызванными действием основного возбудителя инфекционной болезни, и неспецифическими.

4. В ходе инфекционных болезней происходит **формирование иммунитета**, напряженность и длительность которого могут различаться — 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 иммунитета, обуславливающего возможность повторного заболевания даже спустя короткий промежуток времени (например, при шигеллезах). При большинстве инфекционных болезней формируется стойкий, напряженный иммунитет.

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, способствуя переходу инфекционного процесса в хроническую форму, что 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 реконвалесценции, 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.

5. Для постановки диагноза при инфекционных болезнях применяются **микробиологические и иммунологические методы диагностики** (микроскопическое, бактериологическое, вирусологическое, серологическое и молекулярно-генетическое исследования, а также постановка биопробы и кожных аллергических проб), которые нередко служат единственным достоверным способом подтверждения диагноза. Эти методы делятся на основные и дополнительные, а также методы экспресс-диагностики. **Основные методы диагностики** применяются для постановки диагноза у каждого обследуемого больного комплексно в динамике заболевания в обязательном порядке. **Дополнительные методы диагностики** позволяют более детально оценить состояние больного, а **методы экспресс-диагностики** — поставить диагноз на ранних сроках, в первые дни болезни.

6. Для лечения и профилактики инфекционных болезней, помимо этиотропных препаратов, к которым относятся антибиотики и другие противомикробные препараты, применяют специфические препараты (вакцины, сыворотки и иммуноглобулины, бактериофаги, пробиотики и иммуномодуляторы), направленные против данного микроба и его токсинов.

8.6. Формы инфекционного процесса

Проявления инфекционного процесса разнообразны. По происхождению различают экзогенную и эндогенную инфекцию. **Экзогенная инфекция** возникает в результате заражения микробами извне, а **эндогенная инфекция**, или аутоинфекция, вызывается условно-патогенными представителями нормальной микрофлоры. Возникновение эндогенной инфекции связано с ослаблением защитных сил макроорганизма под влиянием факторов, ведущих к снижению его резистентности 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 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 (кровь выполняет функцию «транспортной среды»), говорят о **бактериемии, риккетсиемии, спирохетемии, вирусемии или паразитемии**. Это обязательный этап патогенеза всех инфекционных и инвазивных болезней с трансмиссивным механизмом заражения. Разносясь по макроорганизму с током крови, микробы могут быть ассоциированы с клеточными элементами либо находиться в свободном виде в плазме.

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**.

Инфекция, вызванная одним видом микроба, получила название **моноинфекции**, а одновременно несколькими видами микробов — **микст-, или смешанной, инфекцией**. От нее следует отличать **вторичную инфекцию**, при которой к уже развившемуся инфекционному процессу присоединяется новый инфекционный процесс, вызванный другим микробом или микробами, вследствие снижения резистентности макроорганизма. Чаще всего вторичную инфекцию вызывают представители собственной микрофлоры, например развитие бактериальной пневмонии при гриппе. От смешанной и вторичной инфекции следует отличать **суперинфекцию** — повторное заражение тем же микробом, что ведет к усилению клинической картины того периода болезни, при

котором произошло 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 он не проявляется клинически, что называют **инаппарантной** (син.: скрытой, бессимптомной) **формой инфекции**. По длительности взаимодействия микроба с макроорганизмом можно условно выделить два типа инфекционного процесса.

Первый тип инфекционного процесса характеризуется непродолжительным пребыванием микроба в макроорганизме. К нему относятся:

- **острая продуктивная инфекция** длительностью до 3 мес., которая в ряде случаев переходит в **затяжную форму инфекции**, длящуюся от 3 до 6 мес. и характеризующуюся увеличением периода разгара и периода реконвалесценции болезни;
- **инаппарантная, субклиническая инфекция**, характеризующаяся отсутствием клинических симптомов и развитием определенного комплекса иммунологических, функциональных и структурных изменений в макроорганизме, которые протекают циклически и соответствуют острой форме инфекционного процесса. Данная форма заканчивается формированием иммунитета и полным освобождением макроорганизма от микроба.

Для **второго типа** инфекционного процесса типично длительное пребывание микроба в макроорганизме — **персистенция** (от лат. *persistentia* — сохранение предыдущего состояния, упорство, постоянство). Механизмы развития персистенции разнообразны. Важную роль играют образование морфологически измененных или дефектных форм микробов (L-форм бактерий, цист, дефектных вирусных частиц); формирование лекарственной устойчивости, способность микробов к внутриклеточному паразитированию (возбудители малярии и лейшмании, вирусы, хламидии и др.); блокирование апоптоза клеток хозяина; наличие как врожденных, так и приобретенных иммунодефицитов; развитие иммунологической толерантности, а также аутоиммунных и аллергических реакций в макроорганизме и т.д. Отличительная черта персистенции — ее развитие 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 виде микробоносительства, латентной или хронической инфекции.

Микробоносительство (бактерио-, паразито-, вирус- или миконосительство) представляет 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 сопро-

вождается иммунологическими изменениями в макроорганизме, при этом морфологические и функциональные изменения выражены слабо. Исключение составляет здоровое микробоносительство, при котором морфофункциональных и иммунологических изменений нет. Носительство может формироваться как в результате перенесенного заболевания (брюшной тиф, сальмонеллез, дифтерия), так и быть одной из стадий инфекционного процесса, предшествуя его генерализации (менингококковая инфекция).

Латентная инфекция (син.: дремлющая инфекция) — своеобразная форма микробоносительства, при которой микроб длительно находится в макроорганизме, но не выделяется в окружающую среду. Как правило, латентная инфекция — закономерная стадия инфекционного процесса при заболеваниях, склонных к хроническому течению (бруцеллез, сифилис, герпетическая инфекция, токсоплазмоз).

Хроническая инфекция длится свыше 6 мес. Она 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** (см. разд. 17.3).

8.7. Особенности формирования патогенности вирусов

В отличие от других представителей мира микробов вирусы — облигатные внутриклеточные паразиты на генетическом уровне. Среди них нет непатогенных, поэтому применительно к ним термин «патогенность» обычно не применяют, а вирулентность обозначают как **инфекционность**, или **инфекциозность**. Инфекционный процесс при вирусных инфекциях связан с поражением клеток 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 инфицированных клеток депротеинизировать вирус; перmissивности клеток; способности вирусов распространяться на новые клетки и за пределы первичного очага поражения; способности вызывать местные и общие патологические процессы; способности вируса к переходу в новый организм и обеспечение его эстафетной передачи. Некоторые из этих свойств обусловлены клетками, в которых они размножаются, что получило название **хозяинного (хозяйского) ограничения клеткой**.

Многие вирусы проникают в организм через слизистые оболочки, которые служат входными воротами инфекции и защищены факторами врожденного

иммунитета, поэтому вирусы должны быть устойчивы к действию этих факторов. 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, протекающим при участии **прикрепительных белков (антирецепторов)** вирусов и чувствительных к ним клеточных рецепторов. Простые вирусы содержат прикрепительные белки в составе капсида, а сложноустроенные вирусы — в составе липопротеиновой оболочки. 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 чрезвычайно малых по своим размерам углублениях-каньонах, благодаря чему они 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.

Адсорбция вирусов на поверхности клетки далеко не всегда приводит к проникновению вирусов в клетки. Эта стадия взаимодействия специфична для разных вирусов. В ней принимают участие процесс эндоцитоза и специальные **белки слияния** многих оболочечных вирусов, или их функциональные участки. Белки слияния нарушают функции клеточных мембран и изменяют их проницаемость. Наиболее хорошо изучен белок слияния у парамиксовирусов, получивший название F-белка (от англ. *fusion* — слияние). 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 нужен посттрансляционный процессинг белков слияния, заключающийся в протеолитическом нарезании белка-предшественника в результате точечного или ограниченного протеолиза, что ведет к 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 ре-

зультате протеолитического нарезания — критический момент в окончательном приобретении вирусами инфекционной активности и представляет уязвимую мишень для ингибиторов протеолиза. Белки слияния выводят из строя не только зараженные, но и не зараженные вирусами клетки, входящие в состав синцития. Они обуславливают 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. Важный фактор патогенности у вирусов гриппа — нейраминидаза, которая, удаляя остатки сиаловой кислоты с вирусного гемагглютинина, делает его доступным для протеолитического расщепления, необходимого для проявления инфекционности вирусов.

В результате адсорбции вируса, его проникновения в клетку и раздевания (депротеинизации) происходит освобождение генетического материала вирусов, который становится функционально активным. Депроотеинизация осуществляется либо клеточными протеазами, либо поверхностно-активными структурами клетки (хозяйинное ограничение клетки). При этом для сложных вирусов *минимальной инфицирующей структурой* оказались внутренние компоненты вирусной частицы — сердцевины и нуклеокапсиды с модифицированными белками и измененной конформацией, а для простых вирусов — нуклеиновые кислоты, соединенные с внутренними или геномными белками, функция которых связана с функциями генома и их регуляцией. Ключевой момент в репликации вирусов — использование для синтеза вирусных белков хозяйских структур клетки, синтезирующих белки. Эукариотическая клетка навязывает вирусу два ограничения.

Во-первых, ни в ядре, ни в цитоплазме эукариотической клетки 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.

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 разреза-

ется на индивидуальные белки. Транскрипция вирусного генома регулируется на протяжении инфекционного процесса многочисленными вирусоспецифическими и клеточными факторами. Со степенью транскрипции нередко связан характер инфекции, ее тип (от продуктивной инфекции до абортивной инфекции).

Белки-**трансактиваторы** 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. 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, считается перспективным направлением в противовирусной терапии. Трансактиваторы обнаружены у вируса иммунодефицита человека, вируса гепатита В, герпес-вирусов, аденовирусов и др.

Трансактиваторы — необходимый атрибут вирусов как генетических паразитов, конкурирующих с клеточным геномом.

Инфекционность вирусов определяется 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. Вирусы обладают способностью уходить от воздействия иммунной системы макроорганизма благодаря наличию липопротеиновой оболочки, образованной из мембраны клетки-хозяина, вариативности структуры поверхностных антигенов, интеграции в геном клетки и гибели Т-лимфоцитов.

Инфекционность 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. При этом вирус поражает клетки, имеющие к нему рецепторы, что и определяет тканевой тропизм вирусов. Тканевой тропизм определяется не только наличием на клетках рецепторов, но и возможностью осуществления в клетках вирусоспецифических синтезов.

Продуктивная инфекция происходит в пермиссивных клетках и характеризуется полным циклом репродукции, который заканчивается формированием инфекционного потомства.

Абортивная инфекция не завершается образованием инфекционных вирусных частиц. Она может наступить в силу двух обстоятельств. Во-первых,

из-за генетически обусловленной непермиссивности клеток, в основе которой лежит либо отсутствие клеточных факторов, необходимых для репродукции, либо наличие факторов, нарушающих репродукцию вирусов. Во-вторых, абортивная инфекция может быть результатом заражения 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 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 ходе репликации они интерферируют с гомологичными инфекционными вирусами, в связи с чем их называли 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.

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 (виrogenия)**. Возникшая интеграция может стать причиной ряда хронических и аутоиммунных заболеваний.

По исходу взаимодействия вируса 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 гены, белковые продукты которых ингибируют апоптоз. Вирусы могут изменять только лишь функциональную активность клеток без изменения их морфологии или вызывать опухолевую трансформацию клеток.

Повреждение клеток вирусами, их отмирание и распад переносят вирусную инфекцию с клеточного уровня на органнй и организменный. Распространение вирусов 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, нередко принимая **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 чего вирус может вторично локализоваться в ЦНС (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 инapparантной форме и завершается либо выздоровлением, либо гибелью организма. **Персистентная инфекция** в зависимости от выделения вируса в окружающую среду и возникновения симптомов заболевания проявляется в виде **вирусоносительства, латентной, хронической** или **медленной вирусной инфекции**, которая характеризуется длительным инкубационным периодом (месяцы и годы), медленным и прогрессирующим течением заболевания с неизбежным летальным исходом, поражением какой-либо системы макроорганизма (как правило, ЦНС).

Большинство вирусов человека и животных способны персистировать в макроорганизме, что ведет к иммунизации населения и сохранению вирусов как биологического вида.

8.8. 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 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 адаптационно изменяются. Взаимодействие паразитарной системы с социальными условиями жизни населения превращает ее в эпидемический процесс.

Эпидемический процесс обуславливает непрерывность взаимодействия трех его элементов: источник инфекции; механизмы, пути и факторы передачи; восприимчивость коллектива. Выключение любого из этих звеньев приводит к прерыванию эпидемического процесса.

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 их источником служит только человек, называются **антропонозными**, а инфекции, источником которых являются больные животные, но может болеть и человек, — **зоонозными**. Инфекции, роль источника которых играют объекты окружающей среды неживого происхождения, относятся к **сапронозам**.

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 их можно представить следующим образом (табл. 8.2).

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 задача по предупреждению эпидемий — 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, 2-й группы — на разрыв механизмов и путей передачи, 3-й группы — на восприимчивый коллектив. В зависимости от этого инфекции можно подразделить на

управляемые, при которых имеются эффективные меры воздействия на одно или несколько звеньев эпидемического процесса (например, вакцинация), и **неуправляемые**, при которых такие меры отсутствуют. Поэтому конечная цель эпидемиологии в борьбе с управляемыми инфекциями — их ликвидация в глобальном, мировом масштабе.

Таблица 8.2

Механизмы, пути и факторы передачи инфекций

Локализация возбудителей	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	Укусы кровососущих эктопаразитов	Эктопаразиты
		Парентеральный	Кровь, шприцы, инфузионные растворы, хирургический инструментарий и т.п.
Наружные покровы	Контактный	Раневой Контактно-половой	Пули, режущие предметы и т.п.
Зародышевые клетки	Вертикальный	Вертикальный	Трансплацентарный

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 некоторой 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 все новые территории.

В отличие от эпидемии *эндемия* не характеризует интенсивность эпидемического процесса. Эндемическая инфекция локализуется на некоторой географической территории, где возбудитель циркулирует между определенными видами животных, что обусловлено тем или иным комплексом климатогеографических и социально-экономических факторов.

8.8.1. Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней

С учетом изложенных выше особенностей эпидемического процесса разработана современная эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней человека (табл. 8.3).

Таблица 8.3

Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней

Класс инфекционных болезней	Группа инфекций 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.
Зоонозы	Зоонозы домашних и сельскохозяйственных животных	Животные	Бруцеллез, Ку-лихорадка, орнитоз, ящур, трихофития и др.
	Зоонозы диких животных (природно-очаговые)		Туляремия, клещевой риккетсиоз, клещевые боррелиозы, арбовирусные инфекции, обезьянья оспа, бешенство и др.
Сапронозы	Почвенные	Почва	Клостридиозы, актиномикоз, аспергиллез, гистоплазмоз, бластомикоз, кокцидиомикоз и др.
	Водные	Вода	Легионеллез, холера, мелиоидоз и др.
	Зоофильные (сапрозонозы)	Окружающая среда и животные	Сибирская язва, лептоспирозы, иерсиниозы, листериоз, столбняк и др.

Первичное эколого-эпидемиологическое разделение всех инфекционных болезней человека должно учитывать в своей основе главную среду обитания (резервуар) возбудителя в природе, с которой связано заражение человека. Существуют три главные специфические среды обитания возбудителя: организм человека (антропонозы), организм животного (зоонозы), окружающая 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).

При **зоонозах** основным резервуаром возбудителя в природе служат животные, преимущественно млекопитающие, и членистоногие. Зоонозы делятся на две эколого-эпидемиологические группы: болезни сельскохозяйственных, домашних и синантропных (в основном грызуны) животных; болезни диких животных.

При **сапронозах** основной резервуар возбудителя — субстраты окружающей среды (почва, вода и др.), которые способны сами по себе обеспечить устойчивое его существование в природе. Для возбудителей типичных сапронозов окружающая среда служит 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.

Человек и теплокровные животные являются биологическим тупиком для возбудителя сапроноза, поэтому закономерной цепной передачи его от особи к особи не существует. С эпидемиологических позиций сапронозы подразделяются по природным резервуарам на почвенные и водные. «Чистые» сапронозы — природно-очаговые заболевания: их возбудители — компоненты естественных наземных или водных экосистем. Доказано автономное существование легионелл в природных водоемах; клостридий и грибов — возбудителей глубоких микозов — в почве.

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 в окружающей среде. Заражение человека возможно как от почвы, воды, растительных субстратов, так и от животных.

8.8.2. Понятие о конвенционных (карантинных) и особо опасных инфекциях

Попытки предотвращения распространения инфекционных болезней путем установления разного рода карантинных мер 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. К конвенционным болезням относят чуму, желтую лихорадку и холеру.

Особо опасные инфекции — группа заболеваний человека, которые способны к внезапному появлению, быстрому распространению и широкому охвату населения. Они характеризуются тяжелым течением и высокой летальностью. Помимо конвенционных болезней к ним относятся сыпной тиф и возвратные тифы, грипп, полиомиелит, сибирская язва, туляремия и бруцеллез, арбовирусные инфекции, ботулизм и др. Для своевременного выявления особо опасных инфекций большое значение имеет применение методов экспресс-диагностики (РИФ). Работа с возбудителями данных инфекций проводится в специальных режимных лабораториях.

Тестовые вопросы и задания

А. Вирулентность микроба — это признак:

- 1) морфологический;
- 2) тинкториальный;
- 3) фенотипический;
- 4) изменяющийся под влиянием факторов окружающей среды;
- 5) присущий семейству микробов.

Б. Патогенность микроба — это признак:

- 1) генотипический;
- 2) фенотипический;
- 3) присущий виду микробов;
- 4) быстроизменяющийся под влиянием факторов окружающей среды.

В. По механизму действия белковые бактериальные токсины делятся на:

- 1) токсины, повреждающие клеточные мембраны;
- 2) токсины-ингибиторы синтеза белка;

- 3) токсины, активирующие пути метаболизма;
- 4) токсины, контролируемые вторичными посредниками (мессенджерами);
- 5) протеазы;
- 6) суперантигены, активирующие иммунный ответ макроорганизма.

Г. Свойства белковых токсинов:

- 1) специфичность действия;
- 2) могут кодироваться плазмидами;
- 3) слабые антигены;
- 4) высокотоксичны;
- 5) переводятся в анатоксины.

Д. Характерные свойства эндотоксина:

- 1) белковая природа;
- 2) переводится в анатоксин;
- 3) не обладает органным тропизмом;
- 4) является фактором патогенности;
- 5) является компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

Е. Различают следующие белковые бактериальные токсины и их свойства:

- 1) термолабильные и термостабильные белковые токсины;
- 2) токсины, секретируемые в окружающую среду;
- 3) токсины, частично связанные с микробной клеткой и частично секретируемые в окружающую среду (мезотоксины);
- 4) токсины, связанные с микробной клеткой и попадающие в окружающую среду лишь в результате гибели клетки.

Ж. Форма микробоносительства, при которой микроб длительно находится в макроорганизме, но не выделяется в окружающую среду, называется:

- 1) бактерионосительство;
- 2) медленная инфекция;
- 3) латентная инфекция;
- 4) острая инфекция.

З. Различают следующие стадии инфекционного заболевания:

- 1) продромальный период;
- 2) адгезия;
- 3) пенетрация;
- 4) период клинических проявлений;
- 5) реконвалесценция.

The background of the cover is a detailed, light-colored illustration of various microscopic organisms. It includes several elongated, rod-shaped cells with textured surfaces, some of which have long, fine, hair-like projections (pili) extending from them. There are also spherical cells, some with a distinct outer layer or capsule. The overall style is scientific and detailed, typical of a microbiology textbook.

Часть II

Медицинская ИММУНОЛОГИЯ

9

Учение об иммунитете. Факторы врожденного и адаптивного иммунитета

9.1. Основные понятия иммунологии. Органы иммунной системы

Для защиты от чужеродных веществ (антигенов) и поддержания гомеостаза в организме существует сложная система защиты, получившая название **иммунной системы**, — совокупность **органов** (тимус, костный мозг, селезенка, лимфатические узлы и др.), лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками и кожей, а также отдельных клеток (Т-, В-лимфоциты, дендритные клетки, макрофаги и др.).

Наиболее важная функция иммунной системы — **иммунитет**: защита организма от генетически чужеродных веществ (антигенов) экзогенного и эндогенного происхождения. К свойствам иммунной системы можно отнести специфичность (распознавание на уровне отдельных антигенов), чувствительность (антигеном может служить отдельная молекула), толерантность (невосприимчивость к отдельным антигенам) и др.

Иммунитет подразделяется на две ветви, или формы: **врожденный** (естественный) и **адаптивный** (приобретенный). Он направлен на разрушение и удаление из организма микробов, а также измененных и поврежденных собственных клеток и тканей (в том числе опухолевых).

На рис. 9.1 представлена общая схема реагирования иммунной системы на патоген, в качестве которого могут выступать микробы (бактерии, грибы, простейшие, вирусы), способные вызвать патологический процесс. Проникновение патогена в организм чаще всего происходит через естественные барьеры организма: кожу, слизистые оболочки и др. Далее начинается распознавание патогена сначала факторами врожденного иммунитета и значительно позднее — фак-

торами адаптивного иммунитета. В некоторых случаях активации иммунитета не происходит, этот механизм называется толерантностью.

Механизмы врожденного иммунитета в основном заключаются в процессах фагоцитоза, цитолиза, в воспалительных реакциях и др. В результате активации таких клеток врожденного иммунитета, как дендритные клетки, макрофаги, происходит презентация антигена (переработанного ими патогена) Т-лимфоцитам и запуск механизмов адаптивного иммунитета, который связан с клеточными компонентами (цитотоксическими Т-лимфоцитами) и/или с гуморальными факторами (антителами). После реализации механизмов иммунитета могут быть следующие исходы: благоприятный — удаление патогена из организма и образование клеток памяти; неблагоприятный — хронизация инфекционного процесса. Подробно компоненты и реакции иммунной системы будут рассмотрены далее.

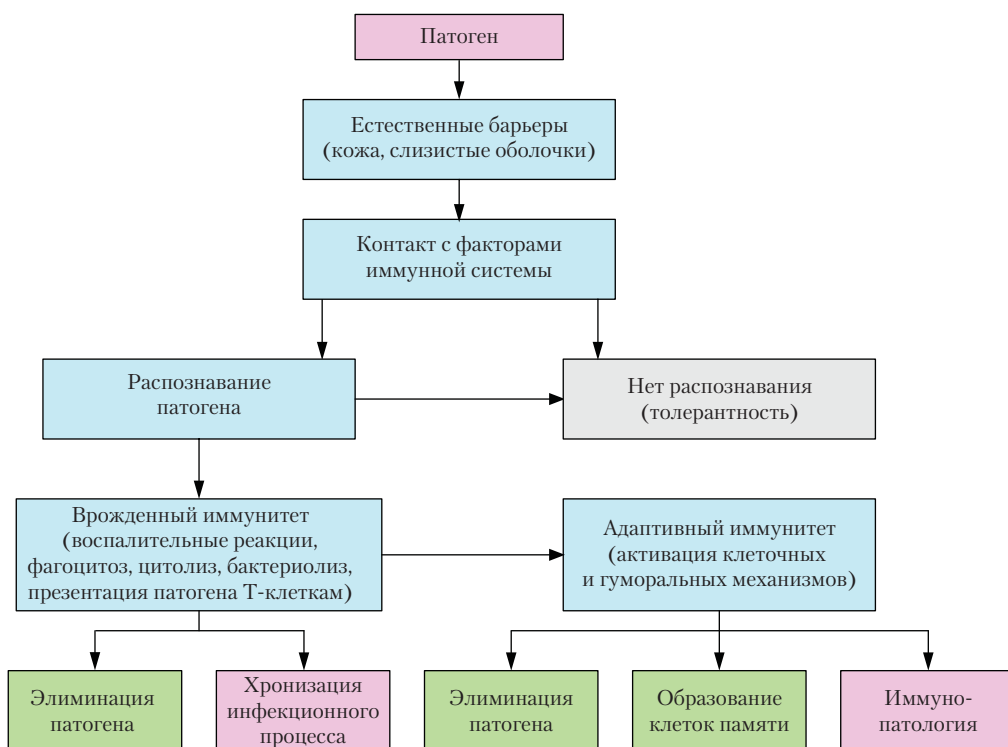


Рис. 9.1. Схема реагирования иммунной системы на патоген

Иммунная система состоит из центральных (первичных) и периферических (вторичных) органов. **Центральные органы** иммунной системы включают костный мозг и тимус, в которых происходят процессы антигеннезависимой дифференцировки и созревания клеток иммунной системы (иммунопоэз). В них

лимфоциты дифференцируются в **зрелые неиммунные лимфоциты**, так называемые наивные (от англ. *naïve*), или девственные (от англ. *virgine*), лимфоциты.

Периферические органы иммунной системы представлены лимфатическими узлами, селезенкой, пейеровыми бляшками и другими лимфоидными образованиями. В эту периферическую группу входят: лимфоидная ткань, ассоциированная с кожей (Skin-Associated Lymphoid Tissue — SALT); лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue — MALT) желудочно-кишечного, респираторного и мочеполового трактов. В них происходит окончательная (антигензависимая) дифференцировка лимфоцитов, презентация антигена и эффекторная активность (иммуногенез Т- и В-лимфоцитов). Циркуляция клеток между органами иммунной системы осуществляется посредством кровотока и лимфотока (рис. 9.2). Следует отметить, что как в центральных, так и в периферических органах иммунной системы помимо лимфоцитов присутствуют вспомогательные клетки, к которым относятся эпителиальные клетки, антигенпредставляющие клетки (АПК), в том числе макрофаги, дендритные клетки и др.

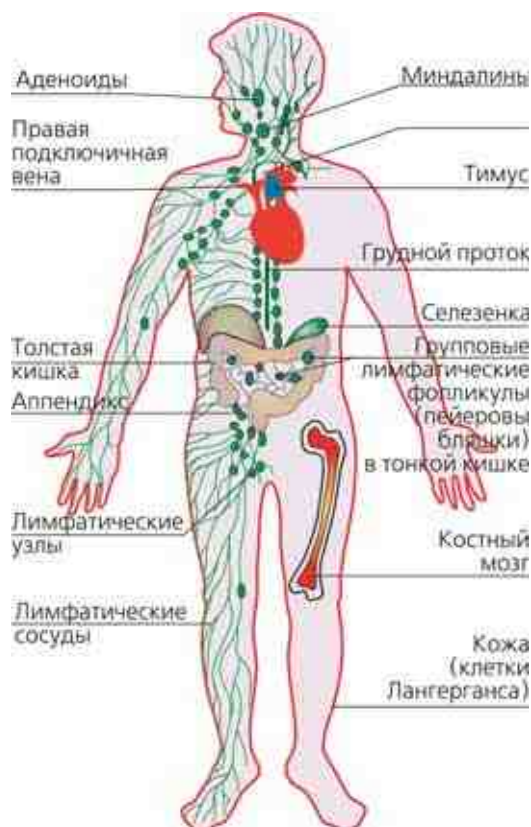


Рис. 9.2. Центральные и периферические органы иммунной системы

Костный мозг состоит из стромы и собственно кроветворной ткани. Он является центральным органом иммунной системы, который участвует в кроветворении (гемопоэзе) — процессе создания новых клеток крови. Выделяют две ветви гемопоэза: миелопоэз и лимфопоэз. В результате **миелопоэза** кроветворная стволовая клетка костного мозга дифференцируется в моноциты, макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки, дендритные клетки и др. **Лимфопоэз** обеспечивает образование субпопуляций Т-лимфоцитов ($CD8^+$, $CD4^+$ и др.), В-лимфоцитов ($B1$, $B2$) и NK (естественных киллеров). В-лимфоциты из костного мозга попадают в лимфоидные органы, где под влиянием антигена превращаются в плазматические клетки. Плазматические клетки возвращаются в красный костный мозг, продуцируя антитела. Костный мозг в норме содержит большое количество незрелых, недифференцированных клеток — стволовых клеток.

Тимус (вилочковая железа) отвечает за созревание, селекцию и дифференцировку тимоцитов (Т-лимфоцитов). В нем происходят основные процессы антигеннезависимой дифференцировки Т-лимфоцитов (антигензависимая дифференцировка этих клеток происходит в периферических органах иммунной системы).

Тимус расположен за рукояткой грудины, имеющий двудольчатое строение у человека. Орган покрыт капсулой, от которой в глубину отходят перемычки, делящие его на доли. У новорожденных масса тимуса составляет примерно 15 г, далее в детском и подростковом периодах продолжается рост тимуса (масса может достигать 20–37 г). После 30 лет происходит инволюция тимуса и в старческом возрасте ткань тимуса полностью замещается жировой и соединительной тканью. В ткани доли тимуса различают кору (на периферии доли) и мозговое вещество. В коре расположены артериолы и кровеносные капилляры, обеспечивающие гематотимусный барьер. Структурно кора разделена на наружный, субкапсулярный слой, глубокую кору и кортикомедуллярную зону.

Лимфатические узлы локализуются в различных участках тела (в области шеи, средостения, брыжейки, в подмышечной, в паховой области и др.) по ходу лимфатических сосудов в местах их разветвления, по ходу кровеносных сосудов. Они представляют собой овальные или бобовидные образования размером от 0,2 до 5 мм. Увеличение размера лимфатических узлов свидетельствует об патологических процессах.

Поверхность лимфатического узла покрыта капсулой, внутрь узла отходят трабекулы (образованные соединительной тканью), которые делят орган на доли. Структурная основа лимфатического узла представлена стромой (ретикулярная соединительная ткань). Лимфатический узел включает корковое вещество (ближе к поверхности), паракортикальную зону и мозговое вещество (ближе к центру органа) (рис. 9.3).

В зависимости от функциональных свойств в каждой доле выделяют три зоны: В-клеточную, Т-клеточную и центральную медуллярную зону, состоящую из клеточных тяжей, которые содержат макрофаги и многочисленные

плазматические клетки. В-лимфоциты располагаются в первичных фолликулах (мелкие фолликулы, содержащие неиммунные В-лимфоциты) корковой зоны. Появление антигена в лимфатическом узле способствует формированию герминативного центра (центра размножения, зародышевого центра), содержащего пролиферирующие В-лимфоциты. Таким образом, первичный фолликул становится вторичным фолликулом. На рис. 9.4 представлены процессы, протекающие в лимфатическом узле.

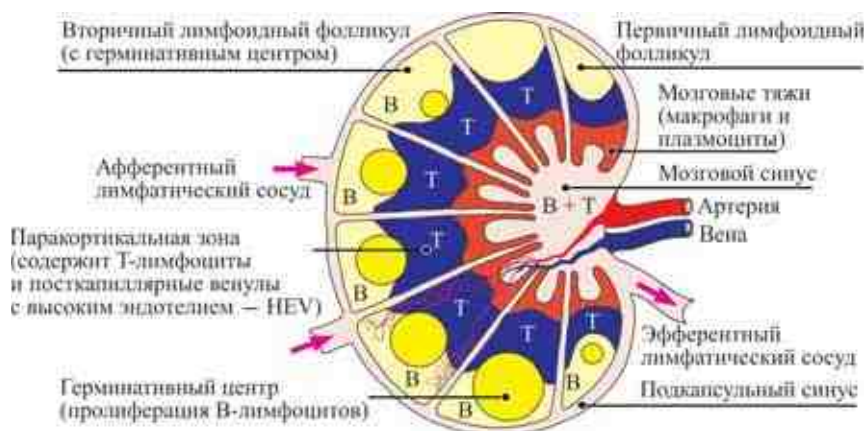


Рис. 9.3. Схема строения лимфатического узла

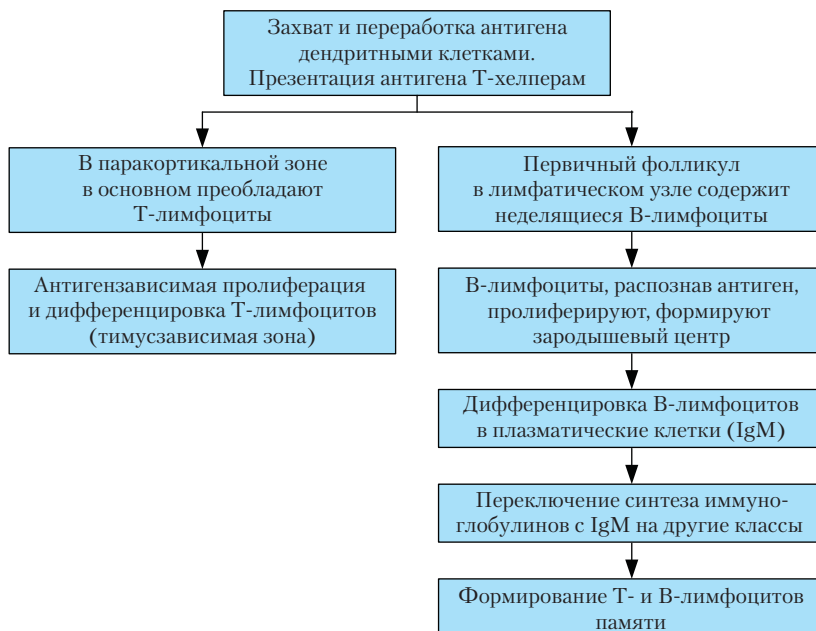


Рис. 9.4. Процессы, происходящие в лимфатическом узле

Пейеровы бляшки имеют овальную или округлую форму и располагаются в слизистой оболочке кишечника. Они имеют три основных составляющих: эпителиальный купол, состоящий из эпителия, лишенного кишечных микроворсинок и многочисленных М-клеток; лимфоидный фолликул с центром размножения (герминативным центром), заполненным В-лимфоцитами; межфолликулярная зона клеток, содержащая в основном Т-лимфоциты и дендритные клетки.

Антиген проникает в лимфоидную ткань с поверхности слизистых оболочек через особые эпителиальные М-клетки, которые захватывают бактерии из просвета кишечника и передают антигены макрофагам, незрелым дендритным клеткам и лимфоцитам. Кроме того, М-клетки продуцируют цитокины, которые участвуют в активации Т-, В-лимфоцитов, а также дендритных клеток.

Пейеровы бляшки кишечника имеют огромное значение для формирования иммунного ответа (для созревания Т- и В-лимфоцитов). Неадекватная стимуляция пейеровых бляшек кишечника приводит к нарушению созревания Т-лимфоцитов, что, в свою очередь, может стать причиной аллергических заболеваний.

Селезенка — лимфоидный орган овальной формы (10–15 см), покрытый капсулой, состоящий из красной и белой пульпы. Выделяют иммунные и неиммунные функции селезенки (рис. 9.5). До рождения у плода в селезенке происходит гемопоэз. После рождения селезенка в основном обеспечивает развитие адаптивного иммунного ответа, в частности гуморального иммунного ответа (антителообразование). Селезенка может также депонировать тромбоциты, эритроциты и гранулоциты.

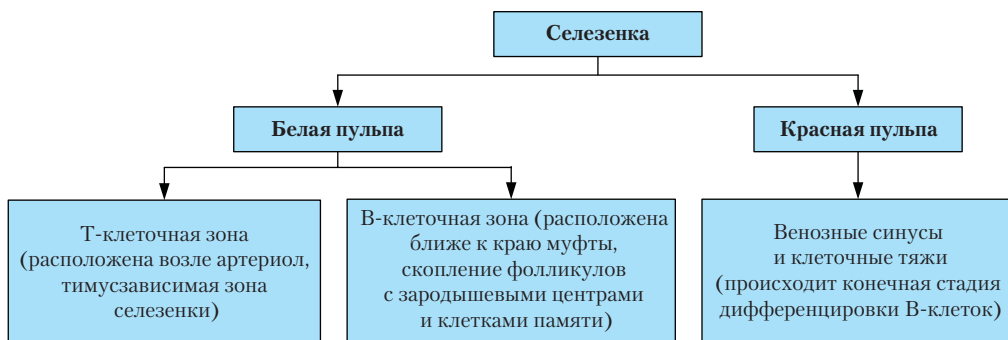


Рис. 9.5. Процессы, происходящие в селезенке

9.2. Антигены

Онтогенез каждого макроорганизма проходит в непосредственном контакте с чужеродными для него клетками, доклеточными формами жизни, а также отдельными молекулами биологического происхождения. Все эти объекты по-

тенциально таят в себе опасность: контакт с ними может нарушить гомеостаз, повлиять на течение биологических процессов и даже повлечь гибель макроорганизма. Поэтому биологические объекты, чужеродные по отношению к макроорганизму, объединены понятием антиген.

Антиген — высокомолекулярное соединение, несущее признаки генетически чужеродной информации, которое при попадании в организм распознается его иммунной системой и способно вызывать иммунный ответ, направленный на его удаление (элиминацию).

Антиген, который не вызывает иммунного ответа, но может взаимодействовать с антителами, называют **гаптеном**, или неполноценным антигеном. Обычно это низкомолекулярное соединение. Гаптен вызывает иммунный ответ только после соединения с белком (комплекс белок–гаптен) или с другим полимером-носителем.

Теоретически антигеном может быть молекула любой природы: белки, полисахариды и др. В частности, антигенами являются компоненты и продукты жизнедеятельности бактерий, грибов, простейших, вирусов, организмов животных и растений. В ряде случаев антигены могут образовываться в собственном организме при структурных изменениях уже синтезированных молекул при биодegradации, нарушении их нормального биосинтеза, в результате генетической мутации и др. Кроме того, антигены могут быть получены искусственно в результате научной или производственной деятельности человека, в том числе путем направленного химического синтеза, — синтетические антигены. Однако в любом случае молекулу антигена будет отличать генетическая чужеродность по отношению к макроорганизму. Антигены могут проникать в макроорганизм через кожные покровы или слизистые, непосредственно во внутреннюю среду организма, минуя покровы, или образовываясь внутри него. Антигены вызывают каскад иммунных реакций, направленных на их элиминацию из организма.

Учение об антигенах является ключевым для понимания основ молекулярно-генетических механизмов иммунной защиты макроорганизма, а также принципов иммунотерапии и иммунопрофилактики. Антигены обладают рядом характерных свойств: антигенностью, чужеродностью, специфичностью, иммуногенностью и толерогенностью.

Под **антигенностью** понимают потенциальную способность антигена активировать компоненты иммунной системы. Иными словами, антиген должен выступать специфическим «раздражителем» по отношению к иммунокомпетентным клеткам. Вместе с тем некоторые антигены, называемые **толерогенами**, не вызывают иммунного ответа (см. разд. 9.5).

Способность антигена быть распознанным иммунокомпетентными клетками организма в качестве генетически чужеродного — **чужеродность**. В норме

иммунная система невосприимчива к собственным антигенам — аутоантигенам. При нарушении механизмов иммунной системы возможно развитие реакций на аутоантиген, что может привести к аутоиммунным патологиям (аутоиммунный тиреоидит, инсулинзависимый сахарный диабет, ревматоидный артрит, системная красная волчанка и др.). Чужеродность находится в прямой зависимости от «эволюционного расстояния» между организмом-реципиентом и донором антигенов. Чем дальше в филогенетическом развитии организмы отстоят друг от друга, тем большей чужеродностью обладают их антигены по отношению друг к другу. Выделяют **сингенные антигены** — среди генетически однородных линий животных, **аллогенные антигены** — среди представителей одного вида и **ксеногенные антигены** — среди представителей разных видов.

Вместе с тем антигены даже генетически неродственных животных (или структурно различных биополимеров) могут специфически взаимодействовать с одними и теми же факторами иммунитета. Такие антигены получили название **перекрестно реагирующих**. Описанное явление характерно, например, для альбуминов, коллагенов, миоглобинов различных видов животных. Существует также понятие **антигенная мимикрия** — когда один микроб маскируется антигенами другого микроба или макроорганизма для «защиты» от факторов иммунитета. К примеру: некоторые антигены *Treponema pallidum* сходны с липидным антигеном (кардиолипиновым) миокарда крупного рогатого скота.

Свойство антигена вызывать по отношению к себе в макроорганизме специфическую защитную реакцию называется **иммуногенностью**. Можно усилить иммуногенность антигена за счет дополнительной активации иммунокомпетентных клеток (используется для увеличения эффективности вакцин). Иммуногенность зависит от ряда факторов: от молекулярных особенностей антигена (размера молекулы, ее конформации, разнообразия эпитопов), клиренса антигена в организме, а также от реактивности макроорганизма (генотипических особенностей и др.).

Первая группа факторов, определяющих иммуногенность, включает природу, химический состав, молекулярный вес, структуру и некоторые другие характеристики антигена (табл. 9.1). Другая группа факторов связана с динамикой поступления антигена в организм и его выведения. Хорошо известна зависимость иммуногенности антигена от способа его введения. Это свойство обусловлено анатомо-топографическими особенностями строения и развития иммунной системы в местах введения антигена, а также биологической природой антигена (учитывается при вакцинации или иммунизации). Например, вакцину против полиомиелита вводят перорально, против сибирской язвы — подкожно, против столбняка — внутримышечно и т.д.

Третья группа факторов определяет зависимость иммуногенности от состояния макроорганизма. Особенно следует выделить наследственные факторы. Существуют генетически опосредованные чувствительные и нечувствительные к определенным антигенам роды и виды животных, которых используют в ла-

бораторной работе. Например, кролики и крысы практически не реагируют на некоторые бактериальные антигены, которые могут вызывать у морской свинки или мыши сильный иммунный ответ.

Таблица 9.1

Характеристика антигенов по степени иммуногенности

Характеристика антигена	Степень иммуногенности	
	сильная	слабая
Природа антигена	Белки и полисахариды	Нуклеиновые кислоты и липиды
Химический состав антигена	Разнообразный аминокислотный состав, наличие ароматических аминокислот (тирозина, триптофана и др.)	Полимерные молекулы, состоящие из одного типа аминокислотных остатков
Оптическая изомерия аминокислот	Пептиды из L-аминокислот	Пептиды из D-аминокислот
Размер и молекулярная масса антигена	Большая молекулярная масса (белки-полисахариды), за исключением нуклеиновых кислот	Маленькая молекулярная масса (менее 450 Да)
Растворимость антигена	Растворимые белки	Нерастворимые белки
Пространственная структура антигена	Агрегаты молекул и корпускулярные антигены	Высокодисперсные коллоидные растворы антигена

Однако наряду с генетической предрасположенностью немаловажное значение имеет также функциональное состояние макроорганизма — его психоэмоциональный и гормональный фон, интенсивность обменных процессов и др. 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. С индивидуальной реактивностью макроорганизма на введение антигена связаны популяционные проблемы вакцинации. Ввиду 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. Существуют вещества, называемые **адьювантами** (см. разд. 13.3), которые способны неспецифически усиливать иммуногенность антигенов. Адьюванты широко используют при создании вакцин, в иммунотерапии, иммунопрофилактике и научно-исследовательской работе.

Специфичность антигена определяется его характерными участками — **эпитопами** (антигенными детерминантами). Один антиген может иметь несколько эпитопов. Эпитоп комплементарен активному центру антител или

Т-клеточному рецептору Т-лимфоцитов. Эпитопы могут быть линейными или конформационными. **Линейные**, или непрерывные, секвенциальные, эпитопы (от англ. *sequence* — последовательность) состоят из первичных линейных последовательностей аминокислот. **Конформационные** эпитопы имеют пространственное расположение структур, образующееся при свертывании молекулы. Если В-лимфоциты и антитела могут распознавать конформационные особенности эпитопов, то Т-лимфоциты распознают линейные эпитопы. Размер линейных эпитопов невелик, но может варьировать от 6 до 12 аминокислотных остатков и до 12–25 аминокислотных остатков (в комплексе с молекулой МНС II класса при распознавании «свой-чужой» Т-хелпером).

По расположению эпитопы делятся на **концевые** (расположенные на концевых участках молекулы антигена) и **центральные**. Замена хотя бы одного структурного элемента молекулы 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.

Классификация антигенов. Все многообразие антигенов может быть подразделено на несколько классификационных групп по: происхождению, природе, молекулярной структуре, степени иммуногенности, степени чужеродности, направленности активации и обеспеченности иммунного реагирования и др. (табл. 9.2). Например, различают органо- и тканеспецифические антигены (раковоэмбриональные антигены — α -фетопротеин и др.).

Таблица 9.2

Принципы классификации антигенов и их свойства

Классификация	Разновидность антигена	Свойства и характеристики антигенов
По происхождению	Экзогенные	Антигены, проникшие в организм из окружающей среды
	Эндогенные	Аутоантигены — антигены собственного организма. Неоантигены — антигены, возникающие в организме в результате мутаций. Забарьерные антигены организма, недоступные для контакта с факторами иммунитета (иммунологическая толерантность)
По природе (биополимеры)	Антигены белковой природы	Протеины
	Антигены небелковой природы	Полисахариды, липиды, липополисахариды, нуклеиновые кислоты и др.
По степени иммуногенности	Полноценные антигены	Обладают выраженной антигенностью и иммуногенностью. Имеют молекулярную массу более 10 кДа, большой размер молекулы в виде глобулы

Классификация	Разновидность антигена	Свойства и характеристики антигенов
	Неполноценные антигены (гаптены)	Не индуцируют иммунный ответ. Чаще всего гаптенами являются низкомолекулярные соединения (молекулярная масса менее 10 кДа)
По степени чужеродности	Ксеногенные (гетерологичные) антигены	Общие для организмов разных ступеней эволюционного развития, например относящиеся к разным родам и видам
	Аллогенные (групповые) антигены	Общие для генетически неродственных организмов, но относящихся к одному виду (например, антигены групп крови и др.)
	Изогенные (индивидуальные) антигены	Общие для генетически идентичных организмов, например для однояйцовых близнецов, инбредных линий животных (например, антигены гистосовместимости, типовые антигены бактерий)
По вызываемому эффекту	Иммуноген	Индукцирует продуктивную реакцию иммунной системы
	Толероген	Приводит к формированию иммунологической толерантности или неответственности на эпитопы данного толерогена
	Аллерген	Формирует патологическую реакцию в виде гиперчувствительности немедленного или замедленного типа
По участию Т-лимфоцитов в индукции иммунного ответа	Т-зависимый антиген	Иммунная реакция реализуется при участии Т-хелперов. К ним относится большая часть известных антигенов
	Т-независимый антиген	Антигены, стимулирующие В-лимфоциты без привлечения Т-хелперов (например, полимерная форма флагеллина, ЛПС и др.)
	Суперантиген	Антиген, в основном микробного происхождения, вызывающий неспецифическую поликлональную активацию лимфоцитов, их массовую гибель (апоптоз) и вторичный иммунодефицит

9.2.1. Антигены микробов

Антигены бактерий. Бактерии имеют разнообразные антигены: капсульные, жгутиковые, антигены пилей, антигены экзотоксинов, антигены клеточных стенок (О-антиген, порины, липопротеин, пептидогликан и др.). Антигенные свойства бактерий учитывают при классификации бактерий, изучении патогенеза иммунопатологических состояний (инфекционных, аллергических, аутоиммунных заболеваний и др.), при постановке микробиологического диагноза инфекций, при получении и использовании вакцин.

Чаще у бактерий исследуют следующие антигены.

1. **О-антиген** (соматический), который является липополисахаридом наружной мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий (точ-

нее, полисахаридной частью ЛПС). Он термостабилен, так как выдерживает кипячение в течение часа.

2. **H-антиген**, представляющий собой белок жгутика — флагеллин (от *flagellum* — жгутик), который разрушается при температуре 56–80 °С (термолабилен).
3. **Пилин** — белок пилей (фимбрий, ворсинок), обладающий антигенной активностью.
4. **Капсульные K-антигены** представлены полисахаридами. У сибиреязвенной палочки капсула состоит из полипептида. Капсульные бактерии, обработанные иммунной сывороткой, увеличиваются в размере (реакция набухания капсул) в результате отложения антител в веществе капсул. Антитела и другие компоненты сыворотки крови, проникая через капсулу, откладываются в ее основании — на поверхности клеточной стенки бактерии. У некоторых бактерий имеются особые полисахаридные антигены — Vi-антигены, наличие которых ассоциировано с уровнем вирулентности.

Знание об антигенах бактерий применяется в практике для внутривидовой или внутриродовой идентификации микроорганизмов. Существует понятие об антигенной формуле бактерий, т.е. об антигенной структуре. К примеру, *E. coli* имеет все три варианта антигена и антигенная формула может быть следующей: O55:K5:H21. Антигены также могут продуцироваться бактериальной клеткой. Так, можно выделить белковые токсины, ферменты (экзоферменты), протективные антигены. *Экзотоксины* бактерий — секретируемые белки; обладают специфичностью действия на организм, против них формируется антитоксический иммунитет (антитоксические антитела). Из экзотоксина получают *анатоксин* (токсоид, или молекулярная вакцина) — обезвреженный экзотоксин, сохранивший иммуногенные свойства (см. разд. 13.2).

Антигенная мимикрия. У бактерий и человека существуют общие, сходные по строению антигены (так называемая антигенная мимикрия). Так, гемолитические стрептококки содержат М-протеин, общий с антигенами миокарда и клубочков почки человека, что способствует образованию антител против данных тканей и аутореактивных лимфоцитов. В результате инициируются иммунопатологические реакции и такие заболевания, как ревматизм и постстрептококковый гломерулонефрит.

Антигены вирусов. Вирусные антигены представлены разнообразными белками, в том числе липопротеинами оболочки, гликопротеинами и нуклеопротеинами (сердцевинные антигены). Различают структурные белки и неструктурные белки вируса, обеспечивающие его репродукцию. Вирусы могут включать в свой состав как некоторые гены, так и другие компоненты клетки хозяина, что обуславливает их антигенное сходство.

Антигены микробов при инфекционных процессах могут играть роль **супер-антигенов**, которые блокируют возможный специфичный иммунный ответ (см. рис. 9.8).

9.2.2. Антигены человека

Антигены системы групп крови. На мембране эритроцитов человека располагается более 200 антигенов, но важное клиническое значение имеют некоторые из них — А, В и Rh (резус-фактор). Антигены А и В относятся к системе АВ0 и синтезируются предшественниками эритроцитов. В системе антигенов АВ0 выделяют три варианта антигенов: Н (базовая молекула), А и В. В зависимости от того, какие антигены располагаются на поверхности эритроцитов, выделяют четыре группы крови: I (нет антигенов А и В), II (имеется только антиген А), III (имеется только антиген В) и IV (присутствуют оба антигена на поверхности эритроцита). Кроме того, антигены А и В имеют несколько вариантов (например, А1, А2 и др. или В1, В2 и др.). Систему АВ0 крайне важно учитывать при переливании крови, поскольку в ответ на введение чужеродных антигенов (А или В) возможно образование антител. Групповая принадлежность по системе АВ0 определяется с помощью реакции агглютинации со специфическими групповыми антисыворотками. При переливании несовместимой по системе АВ0 крови велика вероятность развития внутрисосудистого гемолиза, гемолитического шока, что может привести к гибели.

Другой антиген, который продуцируется предшественниками эритроцитов, — резус-фактор (Rh), по которому людей разделяют на резус-положительных и резус-отрицательных. При несовместимости по резус-фактору может развиться резус-конфликт. К примеру, резус-конфликт можно наблюдать в случае, когда плод Rh+, а мать — Rh-. В таком случае ребенок рождается с синдромом желтухи, так как происходит частичное разрушение эритроцитов плода.

Антигены главного комплекса гистосовместимости (МНС — Major histocompatibility complex). Первоначально МНС были открыты как антигены гистосовместимости (трансплантационные антигены). МНС у человека называются HLA (англ. *Human leucocyte antigens*). **Антигены МНС I класса**, обозначаемые как HLA-A, HLA-B и HLA-C, имеют все клетки человека (кроме эритроцитов, нейронов и клеток ворсинчатого трофобласта).

Антигены МНС II класса — HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ — образуют только определенные антигенпредставляющие клетки — макрофаги, дендритные клетки и В-лимфоциты; они могут появляться на активированных Т-лимфоцитах, а также на эндотелиальных и эпителиальных клетках, активированных γ -интерфероном. Гены HLA, кодирующие гликопротеины, находятся на 6-й хромосоме в локусе 6p21.31. HLA-регион содержит более 200 генов. Аллели HLA сильно отличаются, обуславливая высокую степень вариабельности (полиморфизм) молекул HLA I класса и HLA II класса. В связи с этим каждый человек уникален по набору антигенов гистосовместимости, исключение составляют только однояйцовые близнецы, которые абсолютно похожи по набору генов. Антигены гистосовместимости участвуют в специфическом распознавании «свой-чужой», в индукции приобретенного иммунного ответа.

Если гены МНС I класса и МНС II класса кодируют молекулы, участвующие в презентации антигена Т-лимфоцитам, то гены МНС III класса кодируют цитокины (ФНО- α), белки системы комплемента и др. (рис. 9.6).

МНС I класса состоит из двух нековалентно связанных полипептидных цепей: α -цепи (α_1 -, α_2 -, α_3 -домены) и β_2 -микроглобулина. На α -цепи между α_1 - и α_2 -доменами находится участок, обладающий высокой степенью сродства к антигенам (щель Бьоркмана — гипервариабельный участок).

Презентация антигена цитотоксическим Т-лимфоцитам в комплексе с МНС I класса происходит следующим образом. Внутриклеточный белок (вирусный, опухолевый и др.) расщепляется в протеосоме клетки до отдельных пептидов, которые транспортируются в эндоплазматический ретикулум. Затем образуется комплекс пептида (антигена) с молекулой МНС I класса, транспортирующийся на поверхность клетки для презентации цитотоксическим Т-лимфоцитам (рис. 9.7).

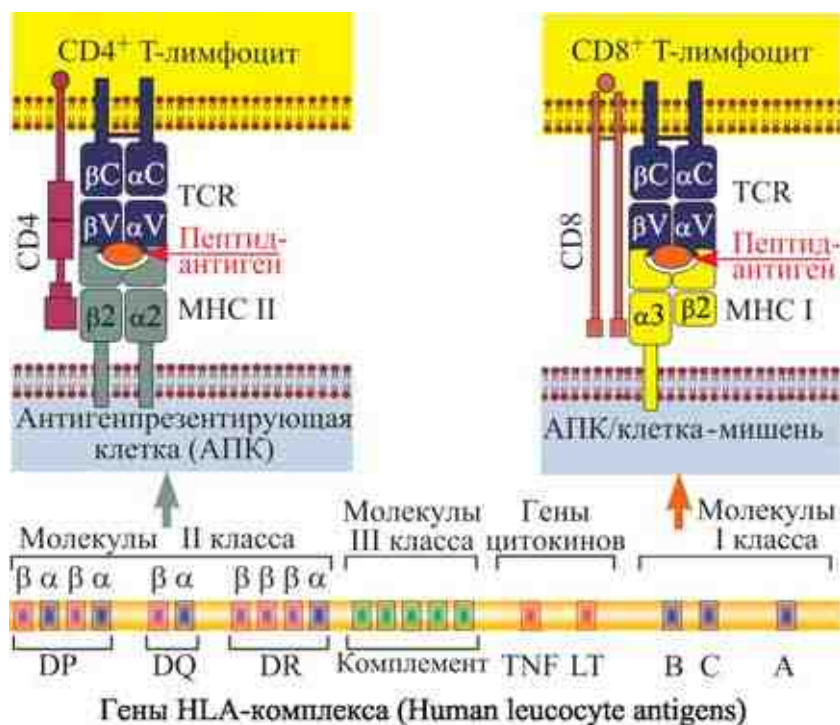


Рис. 9.6. Гены HLA/МНС и представление пептид-антигена в комплексе с МНС I или МНС II Т-лимфоцитам, распознающим комплексы с помощью Т-клеточных рецепторов (TCR) и корецепторов. МНС I состоит из тяжелой α -цепи (α_1 -, α_2 -, α_3 -домены) и β_2 -микроглобулина; МНС II состоит из двух цепей (α и β) с доменами α_2 , β_2 , α_1 , β_1 . Антиген-пептид расположен в антигенсвязывающей полости (бороздке) МНС: МНС I связывает в бороздке 8–10 аминокислотных остатков антигена-пептида, а МНС II — более длинные молекулы антигена-пептида (12–25 аминокислотных остатков)

МНС II класса в отличие от МНС I класса имеет более сложное строение. Молекула МНС II образована двумя полипептидными цепями: α и β . Каждая из цепей имеет по два домена. Антигенсвязывающий участок (щель Бьоркмана) образован как α -, так и β -цепью. Размер пептида, который может вместить антигенсвязывающий участок МНС II, больше, чем у молекул МНС I, и составляет 12–25 аминокислотных остатков.

Презентация антигена $CD4^+$ Т-лимфоцитам (Т-хелперам) в комплексе с МНС II класса происходит следующим образом. Патоген с помощью фагоцитоза или другого способа поглощения попадает в везикулу антигенпредставляющей клетки, в которой происходит разрушение патогена (в результате сли-

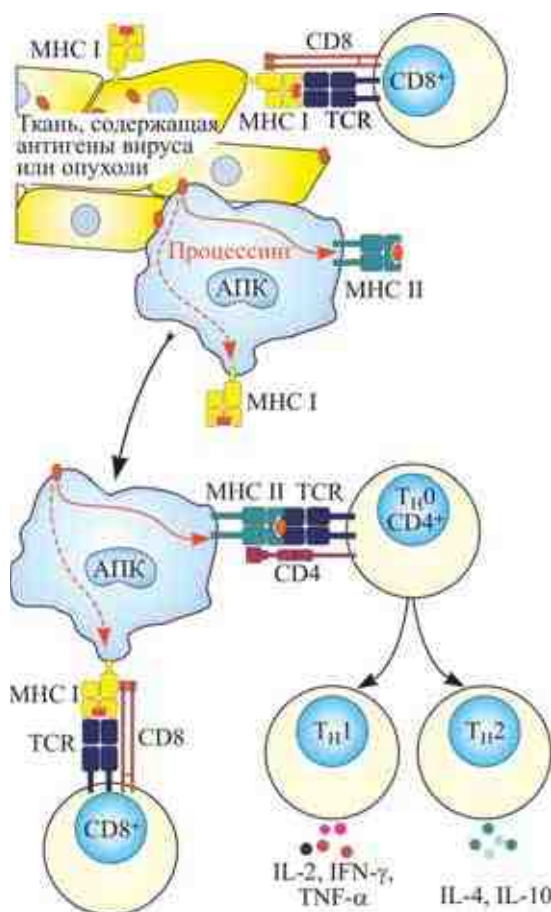


Рис. 9.7. Презентация антигена (пептид-антигена) с помощью молекул МНС I и МНС II: комплекс МНС I–антигенный пептид распознается цитотоксическим Т-лимфоцитом ($CD8^+$), а комплекс МНС II–антигенный пептид распознается наивным, или нулевым, Т-хелпером (T_H0), который под действием различных цитокинов дифференцируется на T_H1 , T_H2 , T_H17 и регуляторные Т-лимфоциты (см. разд. 9.3.2.1)

яния фагосомы и лизосомы). Параллельно с этими процессами формируется молекула МНС II класса в эндоплазматическом ретикулуме. В дальнейшем происходит образование комплекса молекулы МНС II класса с антигеном, который транспортируется на поверхность клетки, где и происходит презентация антигена $CD4^+$ Т-лимфоцитам (см. рис. 9.7). МНС также участвуют в распознавании суперантигенов.

Т-клеточные суперантигены — антигены микробов, взаимодействующие с МНС II класса антигенпредставляющих клеток (АПК) и Т-клеточным рецептором (TCR) Т-лимфоцитов вне антигенсвязывающей щели, т.е. не в активных центрах. Суперантигены присоединяются как бы сбоку молекул МНС II и TCR (рис. 9.8), т.е. без предварительной обработки антигенов (процессинга) в АПК. Суперантигены вызывают поликлональную активацию и антигеннеспецифическую пролиферацию лимфоцитов, гиперпродукцию цитокинов, способствующих развитию воспаления, деструкции тканей и гибели Т-лимфоцитов с явлениями иммунодефицита. Суперантигенами (точнее, Т-клеточными суперантигенами) являются: энтеротоксины стафилококков, токсин синдрома токсического шока; М-белок и эритрогенный токсин стрептококков, антигены вируса Эпштейна–Барр и др.

В-клеточные суперантигены (суперантигены иммуноглобулинов) — иммуноглобулинсвязывающие белки микробов или человека, неспецифически взаимодействующие с различными участками антител.

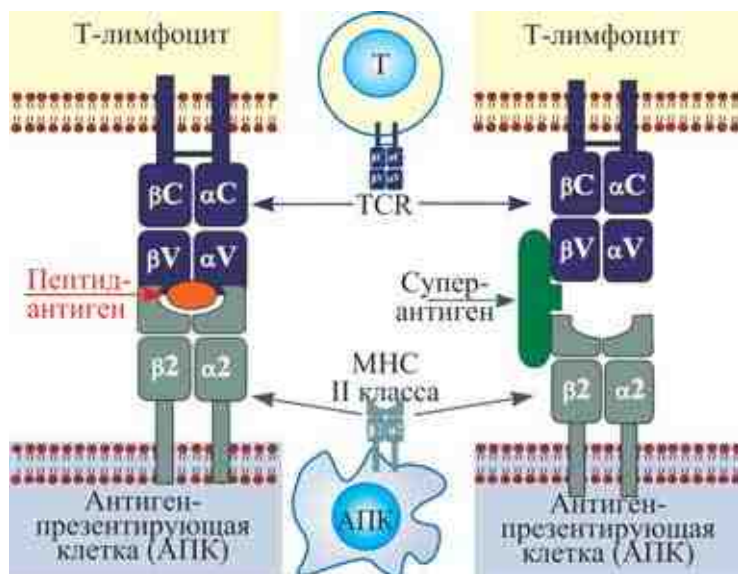


Рис. 9.8. Взаимодействие обычного пептид-антигена (слева) и суперантигена (справа) с молекулами антигенпредставляющей клетки и Т-лимфоцита. Суперантиген взаимодействует с клетками вне антигенраспознающей щели, напрямую связывая МНС II и TCR, неспецифически стимулируя различные клоны лимфоцитов (вызывает поликлональную активацию лимфоцитов)

CD-антигены. На плазмалемме лейкоцитов экспрессируются особые молекулы — CD-антигены (*cluster of differentiation* — кластеры дифференцировки), которые имеют различное функциональное значение; их используют для идентификации в качестве маркеров клеток. Некоторые CD-молекулы локализованы внутри клеток. Каждая клетка иммунной системы на своей поверхности имеет спектр молекул, которые свойственны только ей и по которым можно дифференцировать данный лейкоцит от остальных. Таким образом, CD-антигены — это маркеры субпопуляций лейкоцитов. CD-антигены могут быть рецепторами или их лигандами, которые участвуют в межклеточном взаимодействии, молекулами адгезии и др.

CD — в основном белковые молекулы, относятся к различным суперсемействам: суперсемейство иммуноглобулинов (CD3, CD4, CD8 и др.), суперсемейство рецепторов для фактора некроза опухолей и др. Спектр CD-молекул на клеточной поверхности лимфоцитов зависит от множества факторов: стадии дифференцировки, степени зрелости, клеточной субпопуляции. Они представлены практически на всех клетках иммунной системы: на поверхности В- и Т-лимфоцитов, макрофагов, дендритных клеток, нейтрофилов и других клетках. Таким образом, различить клеточные субпопуляции, а также оценить степень дифференцировки возможно по наличию специфических CD-антигенов (маркеров) с помощью моноклональных антител.

Существует CD-номенклатура Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), за основу которой принята специфичность антител к лейкоцитарным антигенам человека, по которой всем CD-молекулам присвоен порядковый номер. Список CD-антигенов весьма широк и исчисляется сотнями (более трехсот). Данная классификация включает не только CD-антигены лейкоцитов, но и антигены других клеток. Ниже приведен пример свойств некоторых CD-антигенов.

CD3 — общий маркер Т-лимфоцитов. Входит в состав Т-клеточного рецептора (TCR). Участвует в передаче активирующего сигнала в Т-лимфоците (после его связывания с антигеном).

CD4 — маркер и костимулирующая молекула Т-хелперов (T_H). Распознает МНС II на антигенпредставляющих клетках. CD4 также имеется на поверхности моноцитарно-макрофагальных, дендритных клеток и некоторых клеток опухолей.

CD8 — маркер и костимулирующая молекула цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ). Распознает МНС I класса на клетках-мишенях и антигенпредставляющих клетках.

CD16 — маркер естественных киллеров, участвующий в антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. Низкоаффинный рецептор IgG.

CD19, CD20, CD21 — маркеры В-лимфоцитов, участвуют в их активации и пролиферации.

CD25 — маркер активации Т- и В-лимфоцитов.

CD28 — костимулирующая молекула Т-лимфоцитов.

CD34 — основной маркер гемопоэтических стволовых клеток.

CD40 — костимулирующая молекула антигенпредставляющих клеток и В-лимфоцитов.

CD95 (Fas/APO) — рецептор для Fas-лиганда (см. рис. 9.24). Является рецептором смерти — DR (Death Receptor), который содержит домен смерти DD (Death Domen).

9.3. Виды и формы иммунитета

Иммунитет (от лат. *immunitas* — освобождение, избавление от чего-либо) — 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 зависимости от уровня эволюционного развития, особенностей и сложности сформировавшейся иммунной системы, способностей последней отвечать теми или иными реакциями на антигены в иммунологии традиционно принято выделять отдельные виды иммунитета: врожденный и адаптивный (рис. 9.9).

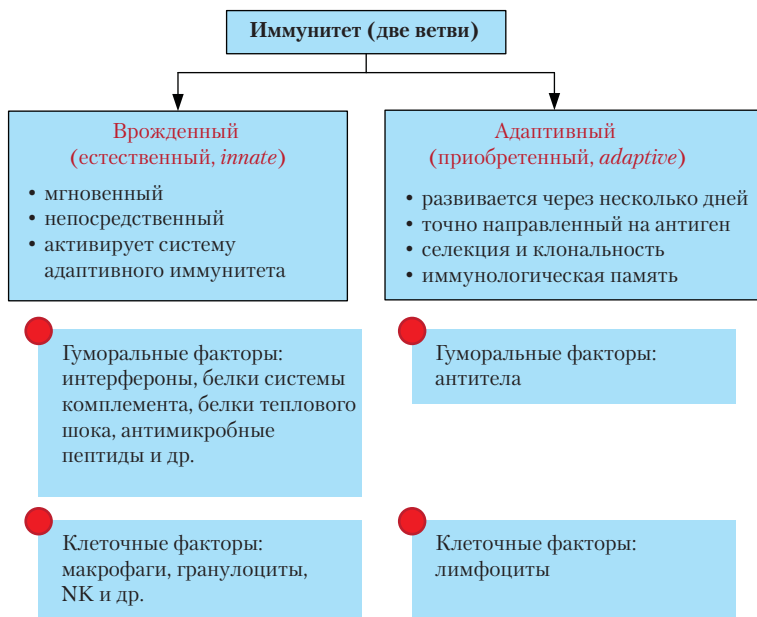


Рис. 9.9. Сравнительная характеристика врожденного и адаптивного (приобретенного) иммунитета

Врожденный иммунитет — генетически закрепленная, передающаяся по наследству невосприимчивость индивидуумов данного вида к какому-либо антигену (или микроорганизму), обусловленная биологическими особенностями самого организма, свойствами данного антигена, а также особенностями их взаимодействия. Факторы врожденного иммунитета не изменяются в процессе жизни организма, контролируются генами зародышевой линии и являются первой филогенетически более древней линией защиты организма от различных патогенов (включая вирусы, бактерии, грибы и простейшие) и измененных клеток самого организма-хозяина. Врожденный иммунитет развивается практически мгновенно в ответ на проникновение патогена, подавляя его клеточными и гуморальными (секреторными) факторами защиты. Врожденный иммунитет распознает образы (или паттерны) патогенности микробов, стрессорные и повреждающие воздействия на клетки и ткани организма. Он является первичной защитной реакцией организма против микробов и эндогенных молекул тканевой деструкции в отличие от вторичной — более специфической реакции, т.е. адаптивного иммунитета, возникающего в результате тонкой перестройки В- и Т-лимфоцитов, реагирующих на строго определенный антиген. Врожденный иммунитет обеспечивает быструю элиминацию патогенов и предотвращение инфекции на ранних этапах, когда механизмы адаптивного иммунитета еще отсутствуют.

К факторам врожденного иммунитета можно отнести следующие.

Механические и физиологические факторы защиты, выполняющие функцию механического барьера и выделительную функцию: кожа и слизистые оболочки (сальные и потовые железы, мерцательный эпителий слизистых оболочек, слезь, слюна, слезы, кислое рН желудка, муцин, ферменты), температура тела, гормональный баланс, чиханье, микрофлора тела человека в виде биологической пленки, выделение токсических продуктов с мочой и калом. Другая группа факторов врожденного иммунитета представлена **клеточными и гуморальными факторами защиты**. Клеточные факторы врожденного иммунитета (рис. 9.10) включают моноциты, макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, тучные клетки, эозинофилы, базофилы, тромбоциты, естественные киллеры (NK), а также NKT-, $\gamma\delta$ - и B_1 -лимфоциты. Гуморальные факторы врожденного иммунитета включают комплемент, белки острой фазы, белки теплового шока, антимикробные пептиды (лизозим и др.), естественные антитела, сурфактантные протеины легких (SP-A и SP-D) и др.

Факторы врожденного иммунитета, участвующие преимущественно в узнавании чужеродных белков и углеводов инфекционной природы, активируются вскоре (минуты, часы) после воздействия инфекционного агента. Отличительной чертой клеток врожденного иммунитета является то, что они в отличие от клеток адаптивного иммунитета (Т- и В-лимфоцитов) не образуют клонов и не проходят этапы позитивной и негативной селекции; им не нужны дополнительная дифференцировка, селекция и другие процессы, без которых реакции

держивается в отсутствии антигенов возбудителя) и **нестерильный иммунитет** (сопровождается присутствием возбудителя, например при туберкулезе).

По другой классификации иммунитет можно разделить на противоопухолевый, трансплантационный, противои инфекционный и др. Противои инфекционный иммунитет можно охарактеризовать как иммунные механизмы, развивающиеся в ответ на проникновение инфекционного патогена — вируса (противовирусный), гриба (противогрибковый), бактерии (противобактериальный) или простейшего (противопрозоийный).

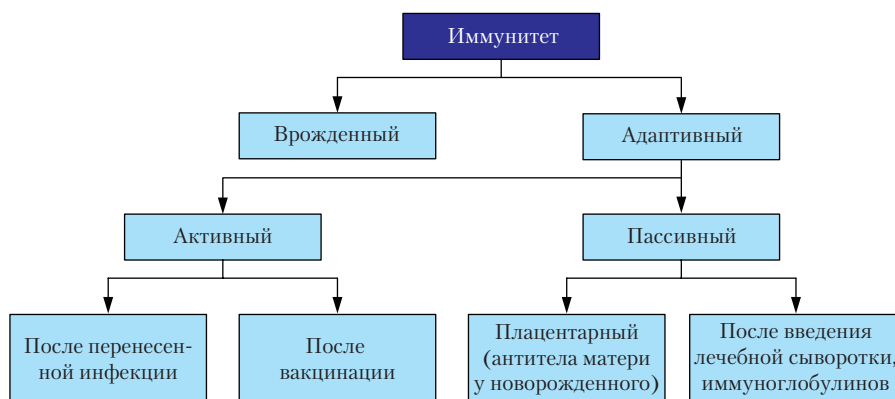


Рис. 9.11. Разновидности адаптивного иммунитета

Иммунитет может быть системным (генерализованным) и локальным (местным, при котором наблюдается более выраженная резистентность отдельных органов). Пример локального иммунитета — **мукозальный** (иммунные механизмы развиваются на уровне слизистых оболочек).

9.3.1. Врожденный иммунитет

Одним из важных обобщений иммунологии последних лет стало открытие молекулярных механизмов функционирования системы врожденного иммунитета, ее роли в развитии ответа на различные патогены и стрессорные воздействия на клетки организма. Ведущее значение при этом играют вышеперечисленные клеточные и гуморальные факторы врожденного иммунитета, оказывающие комплексное воздействие на возбудителя инфекции или другие повреждающие агенты. Действие клеток врожденного иммунитета проявляется в процессах фагоцитоза или цитолиза, а также в выработке активных эффекторных молекул и взаимодействии с гуморальными факторами. Так, к примеру, макрофаги совместно с нейтрофилами выполняют фагоцитарную функцию, а белки плазмы (белки системы комплемента, С-реактивный белок и др.) реагируют с углеводами микроорганизмов.

9.3.1.1. Клетки врожденного иммунитета

Клетками врожденного иммунитета являются моноциты, макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, тучные клетки, эозинофилы, базофилы, тромбоциты, естественные киллеры (NK), а также NKT-, $\gamma\delta$ - и B_1 -лимфоциты (см. рис. 9.10), а также вспомогательные клетки — эпителиоциты, эндотелиоциты, кератиноциты и др. В табл. 9.3 представлены некоторые клетки, участвующие в реакциях врожденного иммунитета. Особую группу составляют фагоциты (моноциты/макрофаги и нейтрофилы) — наиболее важные компоненты системы врожденного иммунитета. С помощью разнообразных рецепторов фагоциты взаимодействуют с патогенами, а также с поврежденными соматическими клетками, фагоцитируют и уничтожают их. Можно выделить следующие функции фагоцитов, в том числе макрофагов: фагоцитоз — основная функция; продукция эффекторных молекул (цитокинов, компонентов комплемента, антимикробных пептидов); хемотаксис; синтез оксида азота и перекисных радикалов кислорода; бактерицидное действие; презентация антигена (антигенпредставляющими клетками).

Таблица 9.3

Функции клеток врожденного иммунитета

Клетка	Локализация	Функция
Нейтрофил	Кровь/ткани	Фагоцитоз, внутриклеточное разрушение, противомикробная защита
Мононуклеарные фагоциты	Кровь/ткани	Фагоцитоз, внутриклеточное разрушение, продукция цитокинов, процессинг и презентация антигенов
Дендритная клетка	Ткани	Процессинг и презентация антигена, активация Т-хелперов и ингибирование T_{reg} -лимфоцитов
NK-клетка	Кровь, печень, селезенка, костный мозг	Разрушение вирусинфицированных и опухолевых клеток
Тучная клетка	Кожа, подслизистая оболочка	Активация воспалительных реакций при аллергии и заболеваниях, вызванных паразитами
Базофил	Кровь	Активация воспалительных реакций при аллергии и заболеваниях, вызванных паразитами
Эозинофил	Кровь	Участвуют в аллергических реакциях и заболеваниях, вызванных паразитами
Эпителиоцит	Кожа, слизистые оболочки	Механический барьер, выработка эффекторных молекул
Эндотелиоцит	Кровяные сосуды	Невосприимчивость к чужеродным веществам

Макрофаги и моноциты. Моноциты и тканевые макрофаги объединяют в систему мононуклеарных фагоцитов, которые участвуют в развитии воспалительных реакций, совместно с нейтрофилами являются основными фаго-

цитарными клетками. Предшественниками макрофагов являются моноциты. Поступая из кровотока в ткань, моноциты формируют популяцию **тканевых макрофагов**: макрофаги соединительной ткани (гистиоциты), звездчатые клетки печени (купферовские клетки); остеокласты костной ткани, альвеолярные, плевральные и перитонеальные макрофаги, а также микроглия ЦНС, синовиальные клетки (тип А) и др. Макрофаги фагоцитируют микробы и/или компоненты разрушенных клеток и разлагают их с помощью ферментов и токсических кислородных радикалов. Помимо прочего, макрофаги являются продуцентами провоспалительных цитокинов, интерферонов, хемокинов и других эффекторных молекул.

Среди многочисленных рецепторов макрофагов и моноцитов выделяют рецепторы-мусорщики (*scavenger*-рецепторы), маннозные рецепторы (связывают компоненты микроорганизмов и поврежденных клеток) и TLR (активируют выработку эффекторных молекул). Важную роль во взаимодействии макрофагов и моноцитов с другими клетками и компонентами межклеточного матрикса играют адгезивные молекулы (интегрины). Активация макрофагов характеризуется усилением выработки активных форм кислорода (перекись водорода, супероксиданион O_2^- , гидроксильный радикал OH^- , гипохлорид OCI^- , синглетный кислород), генерацией оксида азота, изменением активности ряда ферментов, повышением фагоцитарной активности, увеличением синтеза цитокинов и молекул, участвующих в презентации антигена Т-лимфоцитам.

Макрофаги продуцируют такие эффекторные молекулы (цитокины), как фактор некроза опухоли (ФНО- α), интерлейкины (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18), интерфероны (IFN- α , IFN- β) и др. ФНО- α — основной продукт макрофагов, нейтрофилов и естественных киллеров. В норме концентрация циркулирующего ФНО- α обычно очень низка, однако она резко возрастает при заболеваниях вирусной и бактериальной этиологии. IL-12, продуцируемый макрофагами, стимулирует цитотоксичность макрофагов, индуцирует выработку IFN- γ цитотоксическими Т-лимфоцитами и естественными киллерами, участвует в дифференцировке наивных Т-хелперов (CD4⁺Th0).

Выделяют два варианта макрофагов: M1- и M2-макрофаги, которые находятся в состоянии баланса. Реакции воспаления, выработка эффекторных молекул и другие функции, которые были рассмотрены выше, связаны в основном с M1-макрофагами. Известна также альтернативная активация M2-макрофагов, которые участвуют в реакциях супрессии (угнетения) иммунных механизмов через выработку противовоспалительных цитокинов (IL-10, TФР- β) и других факторов. Таким образом, в организме в норме существует некоторый баланс M1- и M2-макрофагов (рис. 9.12). При гиперактивации M1 или M2 происходит смещение баланса в сторону гипервоспаления или иммуносупрессии соответственно.

Нейтрофилы (или полиморфно-ядерные лейкоциты) в основном циркулируют в крови, но могут мигрировать в ткани под действием хемокинов. Ней-

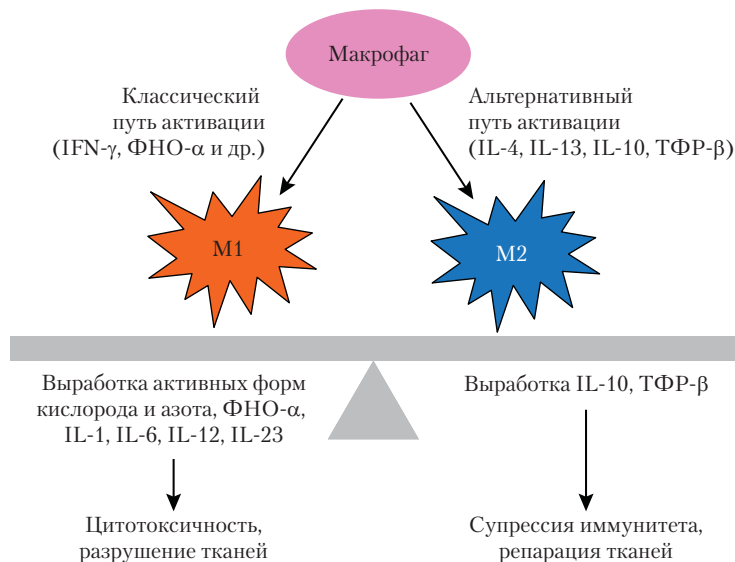


Рис. 9.12. Баланс M1- и M2-клеток в организме. Цитокины и бактериальные продукты поляризуют макрофаги в направлении M1- или M2-фенотипа. Классически активированные макрофаги (M1) участвуют в воспалении, а альтернативно активированные макрофаги (M2) восстанавливают ткани и супрессируют иммунитет

трофилы составляют 60–75% общего количества лейкоцитов. Они являются потенциальными киллерами, которые содержат различные варианты гранул с эффекторными молекулами. Существует два типа гранул нейтрофилов: первичные (азурофильные) и вторичные (специфические). В первичных гранулах присутствуют кислые гидролазы, во вторичных — содержатся ферменты: лактоферрин, щелочная фосфатаза, лизоцим и др. В гранулах также находятся антимикробные пептиды (α -дефенсины). Нейтрофилы активируются с помощью цитокинов и иммунных комплексов. Активированные нейтрофилы могут участвовать в элиминации микробов посредством нескольких механизмов: дегрануляция (выброс эффекторных молекул из гранул) и фагоцитоз.

Нейтрофилы первыми мигрируют в очаг воспаления, фагоцитируют патогены, оказывают бактерицидное действие, вырабатывают цитокины и другие молекулы. На поверхности нейтрофилов экспрессируются: TLR, рецепторы для Fc-фрагмента IgG (Fc γ R); рецепторы для компонентов комплемента (CR1, CR2, CR4), рецепторы цитокинов, в частности хемокинов, что обеспечивает накопление нейтрофилов в очаге воспаления. Нейтрофилы экспрессируют адгезивные молекулы: интегрины (LFA-1) и др. Хемотаксис нейтрофилов опосредован хемокином IL-8, цитокинами ФНО- α , IFN- γ и ГМ-КСФ, а также продуктами расщепления комплемента (C3a и C5a). После мобилизации к месту инфекции нейтрофилы секретируют большое количество цитокинов с противовирусным действием (в частности, ФНО- α) и антимикробных пептидов (дефенсинов),

которые оказывают прямое противомикробное действие на бактерии, вирусы, грибы. Помимо этого, они уничтожают поврежденные эпителиальные клетки.

Нейтрофилы ранее всего вовлекаются в иммунные процессы и обуславливают пусковые механизмы развития воспаления. Быстрота мобилизации нейтрофилов дополняется их способностью в течение секунд развивать метаболические процессы, приводящие к выбросу предшествующих гранул, которые содержат бактерицидные субстанции.

Нейтрофилы, как и большинство лейкоцитов, циркулируют в кровотоке и при развитии воспалительных реакций начинают мигрировать в ткани. Этот процесс можно разделить на несколько этапов: роллинг (перекатывание нейтрофила по клеткам эндотелия при участии селектинов), захват (взаимодействие L-селектина нейтрофила с молекулой CD34), адгезию (взаимодействие с эндотелиоцитами, синтез β_2 -интегринов нейтрофилами), диапедез (выхождение форменных элементов крови через неповрежденные стенки сосудов) и проликование нейтрофилов в ткани под действием хемокинов (рис. 9.13).

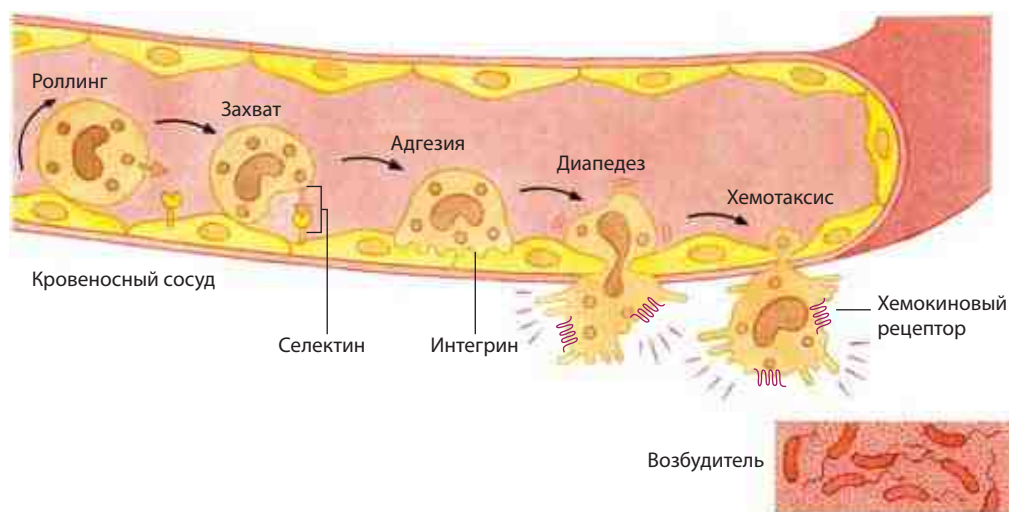


Рис. 9.13. Процесс миграции нейтрофилов в ткани

Эозинофилы высвобождают различные медиаторы, включая лейкотриены, тромбоксан A2, тромбоцитаактивирующий фактор, радикалы кислорода, а также белки (большой щелочной белок и эозинофильный катионный белок), токсичные для эпителия бронхов. Пребывая в крови до 18 ч, они затем мигрируют в ткани, в которых находятся в течение 10–12 сут. Эозинофилы участвуют в аллергии и в уничтожении гельминтов.

Базофилы — гранулоциты крови; поддерживают хроническую аллергию, выделяя тромбоцитаактивирующий фактор, повышающий проницаемость сосу-

дов в 10 000 раз сильнее, чем гистамин. Могут продуцировать разнообразные цитокины, в том числе участвующие в аллергии.

Тучные клетки локализованы в коже и слизистых оболочках. Они содержат гранулы с гистамином, лейкотриенами, простагландином D₂ и интерлейкинами; синтезируют протеазы (триптазы и химазы); поддерживают тонус гладких мышц, перистальтику ЖКТ, выделение слизистых секретов; участвуют в коагуляции крови, иммунном ответе, в аллергии.

Тромбоциты участвуют в остановке кровотечения в участках повреждения сосудов, в воспалении и репарации тканей. Активированные тромбоциты участвуют в разрушении бактерий и могут взаимодействовать с разными клетками, включая лейкоциты. Активированные тромбоциты продуцируют селектины, тромбоксан А₂, серотонин, провоспалительные цитокины (IL-1 β) и хемокины. Тромбоксан А₂ вызывает сокращение гладкомышечных клеток сосуда, что способствует остановке кровотечения.

НК-клетки (natural killer, естественные киллеры) относятся к клеткам врожденного иммунитета, которые специализируются на уничтожении вирусинфицированных, опухолевых клеток, а также клеток с внутриклеточными паразитами. Данные клетки называются «естественными», поскольку они не нуждаются в дополнительной стимуляции для распознавания и активации. НК-клетки относятся к большим гранулярным лимфоцитам, которые развиваются из лимфоидного предшественника. Они не экспрессируют на поверхности маркеров, характерных для Т-лимфоцитов (Т-клеточный рецептор), но имеют такие маркеры, как CD16⁺, CD56⁺ и CD94⁺. НК-клетки определяются в крови и составляют 10–12% от общего числа лимфоцитов. Взаимодействие НК-клетки с клеткой-мишенью может происходить по двум направлениям: непосредственный межклеточный контакт и антитело-опосредованное воздействие.

При межклеточном взаимодействии происходит контакт клеток (НК-клетки и клетки-мишени) через специфические рецепторы (рис. 9.14). На НК-клетках экспрессируются специфические рецепторы: KIR — killer cell immunoglobulin-like receptor. Лигандом KIR является молекула МНС (HLA) I класса. Если суммарный сигнал с активирующих рецепторов не превышает сигнала с ингибирующих, в таком случае активации НК-клеток не происходит. В случае если МНС (HLA) I класса содержит генетически чужеродный протеин (вирусный, опухолевый), или нарушено строение молекулы, или отсутствует достаточное количество молекул на поверхности клетки-мишени, в таком случае процент сигналов с ингибирующих рецепторов значительно снижается, соответственно возрастает относительный уровень сигналов с активирующих рецепторов, что, в свою очередь, приводит к активации НК-клеток и выбросу активных молекул: перфоринов и гранзимов. Перфорины образуют пору в цитоплазматической мембране клетки-мишени, а гранзимы проникают внутрь клетки и вызывают апоптоз (см. рис. 9.14).

Антитело-опосредованное взаимодействие клеток обусловлено наличием Fc-рецепторов на поверхности NK-клетки, которые связываются с комплексом IgG–антиген (в качестве антигена может выступать компонент клетки-мишени). Этот процесс (см. рис. 9.14, в) получил название **антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность, АЗКЦ** (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity).

Активированные NK-клетки помимо прямого цитолиза инфицированных клеток могут продуцировать эффекторные молекулы (IFN- γ) и выполнять регуляторную функцию в механизмах врожденного иммунитета.

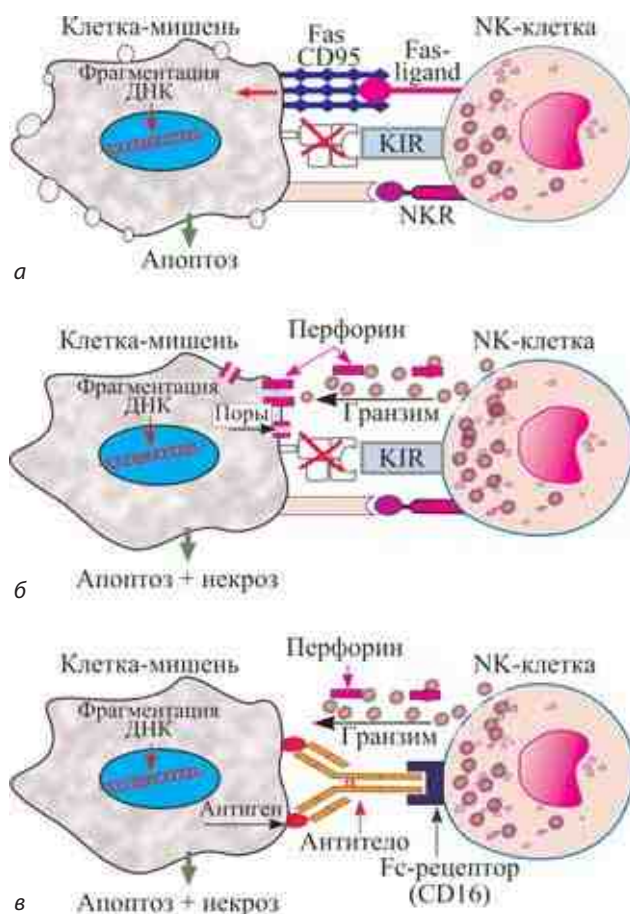


Рис. 9.14. Взаимодействие NK-клетки с ее клеткой-мишенью может вызывать несекреторный и секреторный лизис клетки-мишени. Несекреторный лизис происходит, когда клетки-мишени имеют рецепторы апоптоза типа антигена CD95 (Fas, или APO-1), а взаимодействующие с ними NK-клетки имеют Fas-лиганд (FasL), включающий «самоубийство клетки» — апоптоз. Обычно цитотоксическое действие NK-клеток обусловлено перфоринзависимым механизмом — секреторным лизисом, как и у ЦТЛ:

а — несекреторный лизис; б — секреторный лизис; в — антителозависимая клеточная цитотоксичность

Дендритные клетки — отростчатые, ветвистые клетки (*dendron* — дерево), основные представители антигенпредставляющих клеток. Незрелые дендритные клетки имеют выросты, отростки, а зрелые — форму вуалевидных клеток. Мигрируя в участки внедрения микробов, опухолевого роста или поврежденной ткани, незрелые дендритные клетки вступают в контакт с антигеном и после его поглощения начинают созревать. Зрелые дендритные клетки мигрируют в Т-клеточные зоны регионарных лимфатических узлов (см. рис. 9.3) или белой пульпы селезенки, формируя пул антигенпредставляющих дендритных клеток, активирующих наивные Т-лимфоциты (рис. 9.15). Все дендритные клетки

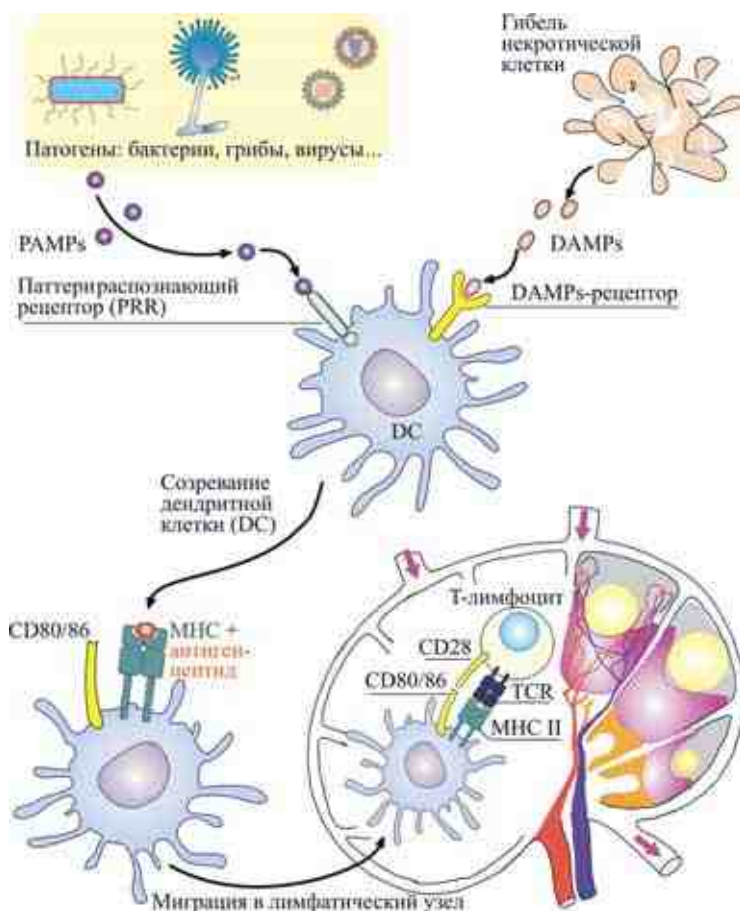


Рис. 9.15. PAMP инициируют развитие **инфекционного воспалительного ответа** в отличие от DAMP, которые дают старт развитию **неинфекционного (стерильного) воспалительного ответа** при появлении компонентов собственных поврежденных клеток. Обе группы молекул активируют клетки врожденного и адаптивного иммунитета. Дендритная клетка (DC), активированная компонентами PAMP и DAMP, а также захваченным антигеном, в свою очередь, активирует в лимфатическом узле Т-лимфоциты

должны пройти стадию заключительного созревания, необходимую для их активации, чтобы стать полностью иммунногенными. Активацию дендритных клеток стимулируют паттерны (микробные продукты и др.) через паттернраспознающие рецепторы, в частности Toll-подобные рецепторы (TLR), в результате чего синтезируются костимулирующие молекулы (CD40, CD80 и др.) и продуцируются цитокины, стимулирующие Т-лимфоциты и другие клетки.

Дендритные клетки с помощью фагоцитоза, пиноцитоза или других процессов могут захватывать микробные патогены, разрушенные клетки, иммунные комплексы. Далее происходит процессинг (разрушение захваченных компонентов, соединение образовавшихся антиген-пептидов с молекулами МНС) и презентация антиген-пептида Т-лимфоцитам в комплексе с молекулой МНС I или МНС II. Причем существует закономерность: экзогенные антигены (антигены бактерий и др.) подвергаются процессингу, соединяясь с молекулами МНС II, а эндогенные антигены (антигены вирусов или опухолей) — с молекулами МНС I.

Дендритные клетки человека делятся по крайней мере на четыре типа: кровяные моноцитарные CD14⁺, кожные, интерстициальные и клетки Лангерганса, плазмоцитоидные дендритные клетки.

Кровяные моноцитарные дендритные клетки происходят из CD14⁺-моноцитов, которые дифференцируются и приобретают следующие молекулы (маркеры): CD14⁺CD11⁺, CD83⁺⁺, HLA-DR.

Плазмоцитоидные дендритные клетки обнаруживаются в крови, лимфатических узлах, селезенке и тимусе; имеют более сглаженную поверхность и вырабатывают более низкие уровни МНС, костимулирующих молекул, чем обычные дендритные клетки. Распознав антиген, плазмоцитоидные дендритные клетки активно продуцируют интерферон I типа (IFN-α и IFN-β), являются основными продуцентами IFN-α.

Кожные (дермальные) и интерстициальные дендритные клетки распределяются по телу в те зоны, где иммунная система столкнулась с антигеном изначально, т.е. в эпителии кожи и слизистой, а обычные дендритные клетки локализуются в субэпидермальных тканях дермы кожи и в интерстиции органов.

Клетки Лангерганса человека находятся в коже. Они не вырабатывают CD11b и не экспрессируют CD1, обнаруженный на моноцитарных дендритных клетках.

9.3.1.2. Рецепторы врожденного иммунитета

Особой формой врожденного иммунитета является распознавание патогенов и собственных молекул особыми рецепторами клеток (см. рис. 9.15), среди которых различают:

- **PRR** — паттернраспознающие рецепторы (*pattern recognition receptors*), распознающие **патогенассоциированные молекулярные паттерны** (англ. *pattern* — образ) — **PAMP** (*patogen-associated molecular patterns*);

- **DAMP-рецепторы** — опасность-распознающие рецепторы, различающие молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением, — **DAMP** (*damage-associated molecular pattern*, или опасность-ассоциированные молекулярные паттерны, *danger-associated molecular pattern*).

К РАРМ относятся консервативные компоненты микробов: компоненты бактерий (ЛПС, липопrotein, пептидогликан, липотейхоевая и тейхоевая кислоты, белок жгутика — флагеллин), простейших и грибов; CpG-богатые участки ДНК бактерий и вирусов [CpG — 2'-deoxyribo (cytidine-phosphate-guanosine)]; РНК вирусов.

К DAMP относят эндогенные сигналы опасности: вещества клеток, образующиеся при их повреждении и клеточном стрессе: белки теплового шока, белки S100 (семейство калгранулинов), фибриллы амилоида- β , дефенсины, кателицидины, хроматинсвязанный белок HMGB1 (high mobility group box 1), мочевиная кислота (образует кристаллы мононатриевой соли урата) и др.

После взаимодействия паттернраспознающих рецепторов с РАРМ или DAMP активируются сигнальные пути (рис. 9.16), в результате чего продуцируются эффекторные молекулы (цитокины, антимикробные пептиды и др.). При нормальной работе врожденного иммунитета в большинстве случаев происходит элиминация патогена. Но возможен дисбаланс, в частности распознавания

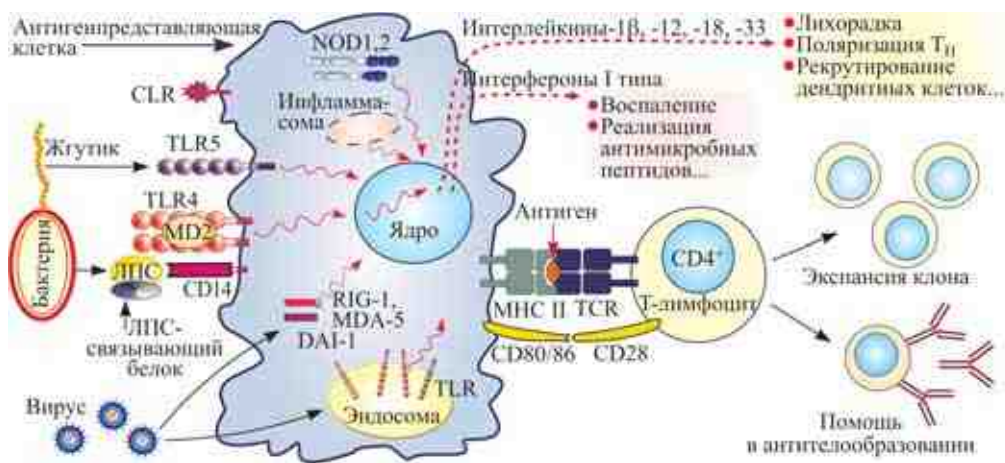


Рис. 9.16. Паттернраспознающие рецепторы (PRR), отвечающие за обнаружение патогенассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) и передачу сигналов в ядро АПК:

1) **TLR** — рецепторы, расположенные в плазмалемме, мембранах эндосом; 2) **NOD1** и **NOD2** — рецепторы, расположенные в цитозоле; 3) **RIG-I** (*retinoic acid-inducible gene I*) и **MDA5** (*melanoma differentiation-associated gene 5*) — рецепторы, выявляющие вирусные нуклеиновые кислоты в цитозоле; 4) **инфламмосома** — мультипротеиновый комплекс цитоплазмы, отвечающий за продукцию интерлейкинов семейства IL-1 и апоптоз инфицированных клеток хозяина. Активация PRR запускает продукцию провоспалительных цитокинов (IL-1 β , -18, -33 и ФНО- α), созревание и активацию клеток, стимулирует образование костимулирующих молекул (CD28 Т-лимфоцита и CD80 АПК), пролиферацию Т-лимфоцитов (экспансия клона), оказывает помощь В-лимфоцитам в антителообразовании. DAI (*DNA-dependent activator of IRFs*). CLR — лектиновые рецепторы С-типа

патогенов, передачи сигнала с рецептора и выработки эффекторных молекул. Недостаточность или избыточность механизмов врожденного иммунитета, в свою очередь, может приводить к развитию патологии.

Паттернраспознающие рецепторы (PRR) можно разделить на **секретируемые** (гуморальные) рецепторы, циркулирующие в крови и лимфе, и клеточные рецепторы передачи сигналов в клетке (мембранные и цитозольные), т.е. **сигнальные** рецепторы.

Основными клеточными рецепторами врожденного иммунитета являются паттернраспознающие рецепторы, существующие в двух формах: связанные и не связанные с цитоплазматической мембраной клетки. Их объединяют в различные группы, например: 1) Toll-подобные рецепторы (TLR — Toll-like receptor); 2) NOD-подобный рецептор (NLR — NOD-like receptor, NOD — nucleotide-binding oligomerization domain receptor); 3) RIG-подобный рецептор (RLR — RIG-like receptor, RIG — retinoic acid inducible gene); 4) маннозный рецептор; 5) scavenger-рецептор («мусорщик»).

Toll-подобные рецепторы. Среди паттернраспознающих рецепторов врожденного иммунитета центральное место занимают Toll-подобные рецепторы (TLR), названные по аналогии с Toll-рецептором дрозофилы (впервые ген *toll* был определен у *Drosophila melanogaster*). В 1992 г. было обнаружено, что белок, кодируемый этим геном, является трансмембранным рецептором, который участвует в эмбриональном развитии дрозофилы, а именно, регулирует дорзовентральную полярность насекомого. Позже было замечено, что дрозофилы, мутантные по этому рецептору, гибнут от грибковой инфекции. Оказалось, что активация Toll-рецептора приводит к экспрессии белков, участвующих в защите от грибов и бактерий. В конце 1990-х годов аналог Toll-рецептора был обнаружен у человека: они экспрессируются практически на всех клетках врожденного иммунитета, а также на эпителиальных и других клетках. В настоящее время у человека открыто десять TLR, каждый из которых различается по специфичности к различным паттернам (лигандам). Они сочетаются друг с другом, объединяясь в пары (димеры). Различают гомодимеры (например, TLR2/TLR2 или TLR4/TLR4) и гетеродимеры (например, TLR2/TLR6 или TLR2/TLR1).

Среди TLR выделяют поверхностные рецепторы, связанные с плазмалеммой клетки, и эндосомальные, связанные с мембраной эндосомы (см. рис. 9.16, 9.17).

Поверхностные TLR (TLR 1, 2, 4, 6 и др.), как правило, связываются со структурами микроорганизмов, существующих вне клеток. Наиболее широким спектром паттернов характеризуется TLR2, распознающий пептидогликан, липотейхвые кислоты, зимозан, бактериальные липопептиды, белки теплового шока и др. TLR1 в комплексе с TLR2 распознает триацилированные липопептиды бактерий; гомодимер TLR2/TLR2 — липопротеины, пептидогликан и липотейхвые кислоты бактерий, липоарабиноманнан микобактерий, гликолипиды трепонем, порины нейссерий, ЛПС лептоспир и хламидий, зимозан грибов,

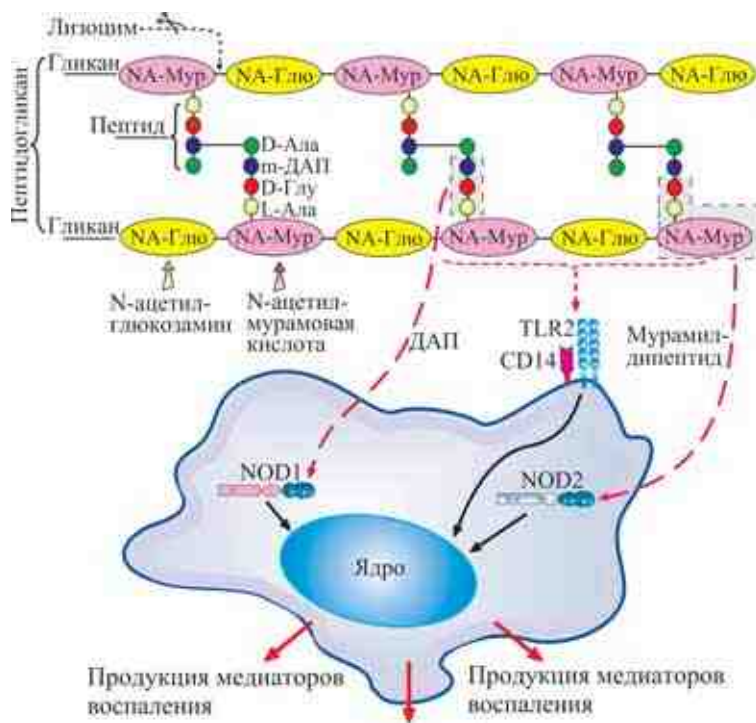


Рис. 9.17. Пептидогликан клеточных стенок бактерий распознают поверхностные рецепторы TLR2/6 и CD14, которые индуцируют секрецию провоспалительных медиаторов и иницируют приобретенный иммунный ответ. Разрушение гликозидных связей лизоцимом вызывает распад пептидогликана на фрагменты. Цитоплазматические рецепторы NOD1 и NOD2 (*nucleotide-binding oligomerization domain*) распознают внутриклеточные фрагменты пептидогликана и активируют клетки вместе с TLR2. NOD1 распознает мурамилтрипептид грамотрицательных бактерий, а NOD2 — мурамилдипептид грамположительных и грамотрицательных бактерий. Происходит активация транскрипционного фактора NF- κ B, продукция провоспалительных цитокинов и хемокинов. ДАП — диаминопимелиновая кислота

белки цитомегаловируса; гетеродимер TLR6/TLR2 — диацелированные липопептиды микоплазм. TLR4 участвует в распознавании ЛПС бактерий, белка теплового шока HSP60 хламидий и эндогенных паттернов, т.е. DAMP (фибринектин, фибриноген, гиалуроновую кислоту и др.), а TLR5 — флагеллина бактерий. TLR4 также участвует в образовании комплекса с ЛПС и ЛПС-связывающим белком, а также с мембранным рецептором CD14 моноцитов/макрофагов и нейтрофилов (см. рис. 9.16).

Эндосомальные TLR (TLR 3, 7, 8, 9) в основном распознают нуклеиновые кислоты, характерные для патогенов (двухцепочечная ДНК вирусов, одноцепочечная РНК, неметилированные CpG-повторы ДНК бактерий и вирусов). TLR3 распознает двухцепочечную РНК вирусов, TLR7 — синтетические лиганды и однонитевую РНК (вируса гриппа, ВИЧ и др.), TLR8 — однонитевую РНК

вирусов и других микробов, TLR9 — неметилированные CpG-повторы ДНК бактерий и вирусов.

Активация TLR приводит к запуску сигнальных каскадов, завершающихся активацией транскрипционных факторов NF-κB (от англ. *nuclear factor* κB), AP-1 (от англ. *activator protein 1*), IRF (от англ. *interferon regulated factor*) и др. Трансдукция сигнала осуществляется за счет внутриклеточного домена с адапторными белками, например белок MyD88 (от англ. *myeloid differentiation factor 88*). В настоящее время существует огромное количество вариантов путей трансдукции сигнала с TLRs.

NOD-подобные рецепторы (NLR) — семейство эндогенных NOD-подобных рецепторов. Данное семейство включает рецепторы, характерной структурой которых является NOD-домен (от англ. *nucleotide-binding oligomerization domain*). NOD1 распознает мурамилтрипептид, а NOD2 — мурамилдипептид. Оба NOD-рецептора находятся в цитоплазме (см. рис. 9.16). Подобная локализация и специфичность этих рецепторов свидетельствует о существовании у клеток системы оповещения о попадании любого бактериального патогена внутрь клетки. Связывание NLR с лигандами приводит к активации транскрипционного фактора NF-κB, в результате чего происходит выработка провоспалительных цитокинов и хемокинов.

RIG-подобные рецепторы (RLR) локализуются в цитоплазме и распознают двухцепочечную РНК вирусов и другие молекулы. Активация этих рецепторов приводит к продукции в основном интерферонов α/β или провоспалительных цитокинов (IL-6 и ФНО-α).

Маннозный рецептор — лектиновый рецептор, который экспрессируется на поверхности мононуклеарных фагоцитов; способствует эндоцитозу. Этот рецептор содержит лектиновые домены, участвующие в связывании углеводов, в состав которых входит манноза. Данный рецептор связывается с микроорганизмами, экспрессирующими богатые маннозой структуры.

Рецептор-«мусорщик» (от англ. *scavenger receptor*) относится к группе рецепторов на макрофагах, способных распознавать продукты клеточной деградации (продукты сиаловых кислот) и участвующих в фагоцитозе погибших клеток и некоторых патогенов. Они связывают липопротеины низкой плотности, вещества клеточной стенки бактерий (липопротеины, ЛПС, липотейхоевую кислоту и др.) и стареющие клетки, например эритроциты. Основная функция рецепторов состоит в улавливании и эндоцитозе из внутренней среды организма модифицированных молекул и апоптотных телец. У человека рецепторы-«мусорщики» экспрессированы преимущественно на макрофагах и дендритных клетках, в меньшей степени на эпителиальных клетках.

9.3.1.3. Гуморальные факторы врожденного иммунитета

Гуморальные факторы врожденного иммунитета относятся к секретируемым, растворимым PRR. Они являются *опсонидами* (от лат. *opsonin* — усили-

вающий, греч. *opsoniazo* — снабжать пищей) — белками, которые, связываясь с поверхностью микробов (РАМР), облегчают их фагоцитоз совместно с антителами. К ним относятся: С1q-компонент комплемента, белки острой фазы, маннозосвязывающий лектин, ЛПС-связывающий белок и антимикробные пептиды. Маннозосвязывающий лектин связывается с углеводами, содержащими остатки маннозы и фукозы некоторых микробов, вызывая активацию комплемента по лектиновому пути. Комплекс ЛПС и ЛПС-связывающего белка взаимодействует с CD14 макрофага, вызывая его активацию. Эти и другие свойства гуморальных факторов будут рассмотрены в данном разделе.

9.3.1.3.1. Антимикробные пептиды: характеристика, структура, функции

Антимикробные пептиды обладают не только прямым противомикробным действием, но также участвуют в процессах репарации и активации клеток иммунной системы. Они активируют синтез IL-1, ФНО- α и других эффекторных молекул в макрофагах.

Антимикробные пептиды были открыты в середине 1980-х годов профессорами R. Lehrer и В.Н. Кокряковым. По своей структуре антимикробные пептиды — небольшие амфипатические молекулы, образованные 12–100 аминокислотными остатками. Описано более 900 антимикробных пептидов различных организмов — от насекомых и растений до млекопитающих. Они были обнаружены и у некоторых грамположительных бактерий. В зависимости от структуры и свойств антимикробные пептиды были объединены в семейства: кателицидины, дефенсины, протегрины, цекропины, профенины, магаинины и др. Большинство антимикробных пептидов являются катионными (основными) молекулами.

Продукция антимикробных пептидов в организме осуществляется клетками иммунной системы, а также эпителием слизистых оболочек дыхательного, пищеварительного, урогенитального тракта и кожи. Они могут синтезироваться постоянно (конститутивно) или индуцибельно (например, под влиянием патогенов).

У млекопитающих наиболее охарактеризованы два основных семейства антимикробных пептидов: дефенсины и кателицидины. У человека дефенсины делятся на две группы: α -дефенсины и β -дефенсины. Различают шесть α -дефенсинов человека: четыре из них, обозначаемые как HNP1–HNP4 (от англ. *Human neutrophil peptide 1–4*) — нейтрофильные пептиды человека, присутствующие в гранулах нейтрофилов, а два других дефенсина, обозначенные как HD5 и HD6 (от англ. *Human defensin 5, 6*), экспрессированы в эпителиальных клетках кишечного и репродуктивного трактов. У человека обнаружено также шесть β -дефенсинов — HBD 1–6 (от англ. *Human β -defensin*). α -дефенсины 1–4 кон-

ститутивно синтезируются нейтрофилами и депонируются в их гранулах, а при стимуляции они вырабатываются моноцитами и Т-лимфоцитами. β -дефенсины (HBD2–HBD4) продуцируются только индуцибельно кератиноцитами, моноцитами, дендритными, эпителиальными и тучными клетками. HBD1 продуцируется на высоком уровне постоянно эпителиальными клетками слизистых оболочек.

Другое семейство антимикробных пептидов — **кателицидины**. Они обладают широким спектром функциональных свойств: противомикробный эффект, активация хемотаксиса Т-лимфоцитов, фагоцитов и дегрануляции тучных клеток и др. У человека имеется *кателицидин LL-37*, который вырабатывается нейтрофилами, клетками эпителия дыхательных путей, ЖКТ, цервикального канала и влагалища; продуцируется в семенную жидкость и др.

Механизм действия антимикробных пептидов. Существуют фундаментальные различия между микробной клеткой и клетками млекопитающих, которые могут служить мишенями для антимикробных пептидов. В состав мембран эукариот могут входить фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, сфингомиелин, холестерин, не несущие на себе электростатического заряда. У бактерий имеются отрицательно заряженные гидроксильированные фосфолипиды (фосфатидилглицерол и др.), обуславливающие значительный отрицательный заряд. Обладая положительным зарядом, антимикробные пептиды способны связываться с отрицательно заряженными мембранами микроорганизмов, сорбироваться на них и оказывать противомикробный эффект. Кроме того, различают мишени, локализованные в цитоплазме микроорганизмов и являющиеся важным звеном в действии этих пептидов.

Механизм действия антимикробных пептидов может быть связан с образованием из них мембранных пор. Возможно также скопление большого количества антимикробных пептидов в мембране клеток, что приводит к изменению текучести, барьерной функции и к разрушению структуры мембраны.

9.3.1.3.2. Цитокины

Цитокины представляют собой группу гликозилированных полипептидов с молекулярной массой менее 25 кДа, которые продуцируются различными клетками организма. Они осуществляют межклеточные и межсистемные взаимодействия. К цитокинам относятся интерфероны, интерлейкины, факторы некроза опухоли, колониестимулирующие факторы, факторы роста, нейтропэтины, хемокины и др. Функции цитокинов: регуляция программированной гибели, роста и дифференцировки клеток; активация или ингибирование клеток врожденного и адаптивного иммунитета и др. (табл. 9.4). Будучи регуляторными молекулами, цитокины играют важную роль во врожденном и адаптивном иммунитете: обеспечивают их взаимосвязь, контролируют гемопоэз, воспаление, заживление ран, образование новых кровеносных сосудов (ангиогенез) и многие другие процессы. Цитокины взаимодействуют с клеткой через специальные рецепторы.

Таблица 9.4

Классификация цитокинов, основанная на функциональных свойствах

Группа цитокинов		Клетки-продуценты	Клетки-мишени/функция
<i>1. Классификация цитокинов по функциональной активности</i>			
Интерлейкины (IL-1–IL-37)		Дендритные клетки, макрофаги, NK, T- и В-лимфоциты	Регулируют межклеточное взаимодействие дендритных клеток, макрофагов, T- и В-лимфоцитов
Интерфероны (ИФН)	IFN-α	Плазмоцитоидные дендритные клетки, макрофаги и др.	Участвуют в противовирусном и противоопухолевом иммунитете
	IFN-β	Фибробласты	
	IFN-γ	T _H 1, T _H δ, NKT, NK и др.	Регуляция иммунитета
	IFN-λ	T- и В-лимфоциты, NK, фибробласты, эпителиальные клетки и др.	Противовирусный иммунитет и иммуномодуляция
Факторы некроза опухоли		ФНО-α и лимфотоксин (ЛТ)	Цитотоксическое и регуляторное действие
Факторы роста	Г-КСФ, ГМ-КСФ	Фибробласты, макрофаги	Регулируют пролиферацию и дифференцировку гранулоцитов, моноцитов, дендритных клеток и др.
	М-КСФ	T-лимфоциты и др.	
Хемокины (CL, CCL, CXCL и др.)		Нейтрофилы, моноциты, NK, дендритные клетки, T- и В-лимфоциты, эозинофилы, базофилы и др.	Обеспечивают направленное движение клеток
<i>2. Классификация цитокинов относительно воспалительной реакции</i>			
Провоспалительные цитокины	ФНО-α, IL-1, IL-6	Макрофаги, тучные клетки, лимфоидные клетки и др.	Участвуют в развитии воспалительных реакций
	IL-17	T-лимфоциты памяти, T _H 17, NK, T _H 1	
Противовоспалительные цитокины (IL-10, ТФР-β)		T _{Reg} , T-хелперы	Иммуносупрессия, ингибирование воспалительных реакций

Система цитокинов может быть представлена следующим образом: клетки-продуценты секретируют цитокины, которые через рецепторы воздействуют на клетки-мишени. Механизм действия цитокинов может быть аутокринным, паракринным, эндокринным. При **аутокринном** механизме цитокины воздействуют на клетку, которая их же продуцировала, при **паракринном** — на окружающие клетки, при **эндокринном** — цитокины попадают в кровь и транспортируются к отдаленным клеткам-мишеням. В большинстве случаев цитокины продуцируются и действуют на клетки-мишени, находящиеся в непосредственной близости (аутокринно, паракринно).

Один и тот же цитокин может продуцироваться различными клетками (ФНО-α продуцируется макрофагами, нейтрофилами, эозинофилами и др.). Кроме этого, одну и ту же функцию могут осуществлять различные цитокины

(например, за воспаление отвечают IL-1, IL-6, ФНО-α и другие провоспалительные цитокины). Данный феномен называется избыточностью системы цитокинов. Для цитокинов также характерна полифункциональность действия, т.е. один и тот же цитокин может участвовать в различных реакциях.

Цитокины между собой работают по принципу сети. Взаимодействие между цитокинами может происходить по следующим вариантам: разные цитокины вызывают одинаковый эффект; действие цитокинов направлено на ингибирование действия других цитокинов (**антагонизм**) или на усиление действия друг друга (**синергизм**); цитокины активируют продукцию других цитокинов (**каскадность**). В организме существует некоторый баланс в системе цитокинов, при проникновении патогенных микроорганизмов в организм баланс сдвигается в сторону провоспалительных цитокинов. Нормальная микрофлора организма не приводит к значительным изменениям в продукции цитокинов.

Цитокины вырабатываются лимфоцитами, клетками макрофагально/моноцитарного звена (табл. 9.5), а также клетками, которые не относятся к иммунной системе (клетки эпителия, эндотелия и др.).

Таблица 9.5

Клетки врожденного и адаптивного иммунитета, продуцирующие цитокины

Клетка	Основные продуцируемые цитокины
<i>Врожденный иммунитет</i>	
Макрофаг	IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-23, ФНО-α, IFN-α, IFN-β, ТФР-β и др.
Дендритная клетка	IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-23, ФНО-α, IFN-α, IFN-β и др.
Нейтрофил	IL-6, IL-8, ФНО-α и др.
Эозинофил	IL-1, IL-4, IL-5, IL-8, ФНО-α, ТФР-β и др.
Базофил	IL-4, IL-13, IL-25 и др.
НК-клетка	ФНО-α, IFN-γ и др.
Тучная клетка	IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, ФНО-α, IFN-α, IFN-β, М-КСФ, ГМ-КСФ и др.
Эндотелиоцит	IL-1, IL-6, IL-8, ФНО-α, ТФР-β и др.
Эпителиоцит	IL-6, IL-25, IL-32, ФНО-α, ГМ-КСФ и др.
<i>Адаптивный иммунитет</i>	
Т-лимфоцит CD4 ⁺ (Т _H 1)	IFN-γ, IL-2, ФНО-β и др.
Т-лимфоцит CD4 ⁺ (Т _H 2)	IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-25 и др.
Т-лимфоцит CD4 ⁺ (Т _H 17)	IL-17, IL-22, IL-23 и др.
T _{Reg}	IL-10, ТФР-β и др.
CD8 ⁺ Т-лимфоцит	IFN-γ и др.
В-лимфоцит	IL-10

На локальном уровне цитокины ответственны за развитие реакций врожденного и адаптивного иммунитета в ответ на патоген. Если стимул достаточно сильный, образуется большое количество провоспалительных цитокинов (IL-1 β , ФНО- α и IL-6), их концентрация повышается в крови. С током крови эти цитокины попадают в гипоталамус, действуют на клетки гипоталамуса, те, в свою очередь, активируют деятельность передней доли гипофиза по выработке адренокортикотропного гормона и синтезу кортикостероидов надпочечниками. IL-1 β более сильный активатор выброса кортикостероидов, чем ФНО- α или IL-6. Низкие дозы кортикостероидов стимулируют иммунные реакции, тогда как высокие дозы подавляют как иммунные реакции, так и воспалительный процесс. Повышение концентрации провоспалительных цитокинов в крови приводит к активации различных систем организма и начинается острофазовый ответ, который характеризуется лихорадкой, похуданием, снижением аппетита, лейкоцитозом, появлением острофазовых белков в сыворотке крови, активацией гипофизоадреналовой системы, болевым синдромом, активацией системы свертывания крови, нарушением функционирования органов.

Цитокины в низкой концентрации нужны для адекватного развития и кульминации местного воспаления, более высокие дозы этих медиаторов могут вызвать развитие системной воспалительной реакции.

Интерфероны (ИФН) — гликопротеины, вырабатываемые клетками в ответ на вирусную инфекцию и другие стимулы; оказывают противовирусное, противобактериальное, противоопухолевое и иммуномодулирующее действие. Они блокируют репродукцию вируса в других клетках и участвуют во взаимодействии между клетками иммунной системы. Интерфероны видоспецифичны, т.е. интерферон человека эффективен для человека, но не для животных, и наоборот.

Различают интерфероны **I типа** (IFN- α , IFN- β , IFN- ω , IFN- κ и др.) и интерферон **II типа** (IFN- γ). Открытые интерлейкины IL-28A, IL-28B и IL-29 были описаны как IFN- λ (λ_1 , λ_2 , λ_3); их первоначально отнесли к интерферонам III типа.

Интерфероны I типа — IFN-альфа (α), IFN-бета (β), IFN-омега (ω), IFN-каппа (κ) и др. Отличаясь по структуре и клеткам-продуцентам, они обладают практически одинаковым механизмом действия (противовирусное, противоопухолевое и иммуномодулирующее). Усиливают продукцию ИФН и другие патогены, их метаболиты (см. рис. 9.16), а также пирогенное действие IL-1 и понижение pH в межклеточной жидкости на фоне повышения температуры.

Интерфероны α и β продуцируют многие типы клеток человека. Ранее считалось, что в норме IFN- α вырабатывается лейкоцитами (отсюда одно из названий — лейкоцитарный ИФН), а IFN- β — фибробластами (фибробластный ИФН). Однако оказалось, что IFN- α/β продуцируют в основном плазматодендритные клетки (pDC) под воздействием вирусных однонитчатых РНК и неметилированных CpG-последовательностей бактерий и вирусов.

Миелоидные дендритные клетки (mDC) продуцируют $\text{IFN-}\alpha/\beta$ под влиянием двунилевой РНК, но менее активно, чем pDC. $\text{IFN-}\alpha/\beta$ регулируют функции лимфоцитов, моноцитов, макрофагов и дендритных клеток. Они усиливают экспрессию молекул МНС I, продукцию $\text{IFN-}\gamma$ активированными Т-лимфоцитами, могут подавлять пролиферацию В-лимфоцитов и продукцию хемокинов, привлекающих T_H2 -лимфоциты.

Интерферон ω — основной компонент человеческого лейкоцитарного интерферона. Он проявляет высокую противовирусную и противоопухолевую активность. В частности, $\text{IFN-}\omega$ является мощным ингибитором репродукции ВИЧ.

Интерферон κ — важный защитный фактор кожи; синтезируется преимущественно кератиноцитами кожи, а также моноцитами и дендритными клетками. Он строго экспрессируется при аллергическом контактном дерматите и слабо при псориазе и атопическом дерматите.

Противовирусное действие ИФН I типа реализуется посредством его взаимодействия с рецепторами I типа ($\text{IFN-}\alpha\text{RI}$) вирусинфицированной клетки и индуцирования им олигоаденилатсинтетазы, протеинкиназы (PKR) и белка Mx:

- 1) 2',5'-олигоаденилатсинтетаза приводит к активированию клеточной эндорибонуклеазы (РНКазы L), расщепляющей вирусные РНК в аппарате трансляции;
- 2) протеинкиназа (серинтреониновая киназа P1), фосфорилируя и инактивируя фактор $e\text{IF-2}$, подавляет трансляцию белков клетки и вируса;
- 3) белок Mx, связываясь с РНК-полимеразой вируса, блокирует ее активность.

Аналогичный механизм, а также способность индуцировать апоптоз некоторых опухолей лежит в основе противоопухолевого действия ИФН I типа. ИФН I типа индуцирует экспрессию молекул МНС I, усиливает продукцию НК-клетками $\text{IFN-}\gamma$ и их литическое действие на вирусинфицированные и трансформированные клетки.

Интерферон II типа — $\text{IFN-}\gamma$ («иммунный ИФН») — продуцируется Т-лимфоцитами (T_H1 и CD8^+ ЦТЛ), NKT и НК. Стимулирует активность Т- и В-лимфоцитов, моноцитов/макрофагов, нейтрофилов и НК. Усиливает экспрессию молекул МНС I, МНС II и костимулирующих молекул (CD80/CD86 , CD40 и др.). Стимулирует дифференцировку T_H0 в T_H1 . $\text{IFN-}\gamma$ вместе со своим антагонистом IL-4 поддерживает баланс T_H1/T_H2 . Помимо этого, $\text{IFN-}\gamma$ регулирует апоптоз целого ряда нормальных, а также некоторых инфицированных и трансформированных клеток.

Интерфероны λ продуцируются преимущественно эпителиальными клетками, в том числе респираторного тракта, играя существенную роль в защите от возбудителей ОРВИ.

Интерлейкины — цитокины, ответственные за межклеточные взаимодействия между лейкоцитами. Описано свыше 35 интерлейкинов. Особенности

интерлейкинов, как и других цитокинов, являются: высокая идентичность их биологического эффекта, например IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-15, IL-18; способность отдельных групп цитокинов взаимодействовать с одной и той же рецепторной субъединицей, что характерно для новых интерлейкинов семейства IL-10 (IL-19–IL-25).

9.3.1.3.3. Комплемент

Система комплемента (комплемент) — комплекс термолabileльных сывороточных белков, обладающих каскадной ферментативной активностью и участвующих в реакциях врожденного и адаптивного иммунитета. Комплемент осуществляет повреждение клеток. Помимо прямого цитотоксического действия, белки системы комплемента выполняют регуляторные функции: участвуют в фагоцитозе, в активации иммунного ответа. Основные клетки-продуценты белков системы комплемента: моноциты, макрофаги, эпителиальные клетки, клетки эндотелия и др.

Комплемент включает в себя девять основных термолabileльных белков, обозначаемых буквой С (от англ. *complement*) и цифрой. Они взаимодействуют в следующей последовательности: C1, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8 и C9. Продукты расщепления компонентов комплемента обозначают малой латинской буквой (C3a, C3b, C4b и др.).

Активация системы комплемента. В норме белки комплемента локализованы в крови в неактивном состоянии. После активационного импульса (в виде комплекса антитела с антигеном или в виде микроорганизма) происходит запуск ферментативного каскада, который приводит к образованию мембраноатакующего комплекса. Выделяют три пути активации системы комплемента: классический, лектиновый и альтернативный (рис. 9.18).

Классический путь активации системы комплемента запускается через комплекс компонента комплемента C1q с Fc-фрагментом антитела (IgM или IgG). В крови обычно компонент C1q циркулирует в неактивном состоянии. При взаимодействии с иммунным комплексом антиген–антитело происходят активация компонента комплемента C1q и присоединение C1r, C1s, в результате чего образуется активированный комплекс C1qrs. Присоединенный к иммунному комплексу C1q вызывает конформационные изменения в C1. Это ведет к активации C1r и C1s (сериновой протеазы) и протеолизу C4 с образованием C4a- и C4b-фрагментов. C4b связывается с поверхностью клетки и с C2-компонентом комплемента, который расщепляется с образованием C2a и C2b. Фрагмент C2a связывается с C4b, образуя C3-конвертазу (C4b2a-протеазу) классического пути. C4b2a катализирует протеолиз C3 в C3a и высокореактивный фрагмент C3b. C5-конвертаза (C4b2a3b-протеаза) синтезируется как конечный продукт классического пути активации комплемента. Дальнейшая активация комплемента приводит к образованию мембраноатакующего комплекса (см. ниже).

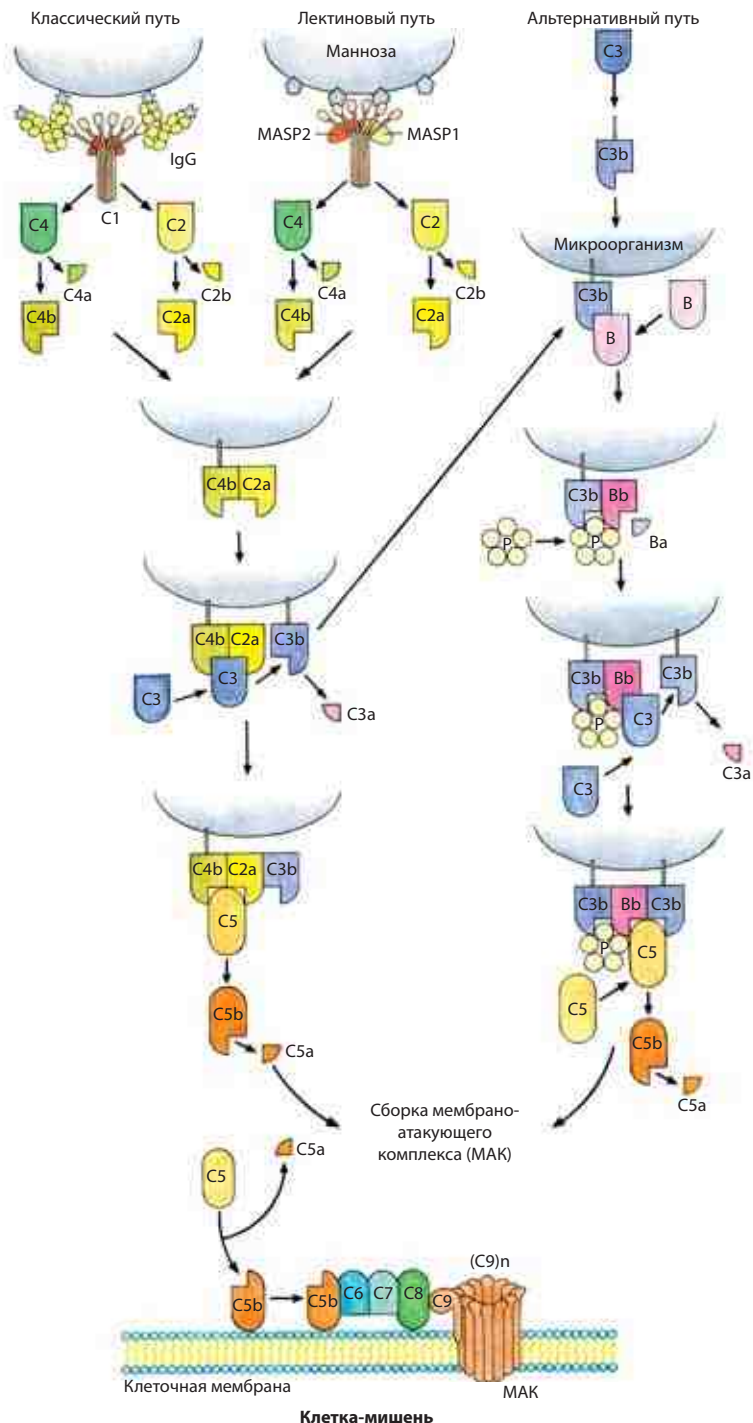


Рис. 9.18. Пути активации системы комплемента. Маннозсвязывающий лектин (mannose-binding lectin, MBL) крови содержит маннозсвязывающие лектинассоциированные сериновые протеазы (mannan-binding lectin-associated serine protease, MASP)

Лектиновый путь активации системы комплемента запускается, когда маннозосвязывающий лектин (mannose-binding lectin, MBL) связывается с маннозой маннозосодержащих полисахаридов на поверхности бактерий и грибов. Далее происходит расщепление C4- и C2-компонентов комплемента с образованием C3-конвертазы классического пути (C4b2a), т.е. активация комплемента уже совпадает с его активацией по классическому пути.

Запуск **альтернативного пути** инициируется при спонтанном расщеплении C3-компонента на C3a- и C3b-компоненты, последний участвует в активации каскада комплемента. В данном пути активации участвуют факторы В, D и Р (пропердин), поэтому часто альтернативный путь именуют пропердиновым. В альтернативном пути активации не участвуют C1-, C4- и C2-компоненты комплемента. Активаторами альтернативного пути служат компоненты микробов и агрегаты различных белков.

Результатом активации компонентов комплемента (независимо от пути) является образование **мембраноатакующего комплекса**, вызывающего лизис клеток-мишеней. С C3b-компонентом системы комплемента начинаются одинаковые процессы во всех известных путях его активации. Так, компонент C3b в комплексе с другими компонентами приводит к расщеплению C5 на C5a и C5b, который участвует в сборке мембраноатакующего комплекса: C5b связывается с C6 и C7, далее с C8 и в итоге с C9. Комплекс C5b,6,7,8,9 (мембраноатакующий комплекс) на мембране клетки-мишени образует пору диаметром около 10 нм. Многочисленные поры в клетке (рис. 9.19) способствуют выходу содержимого и ее гибели.

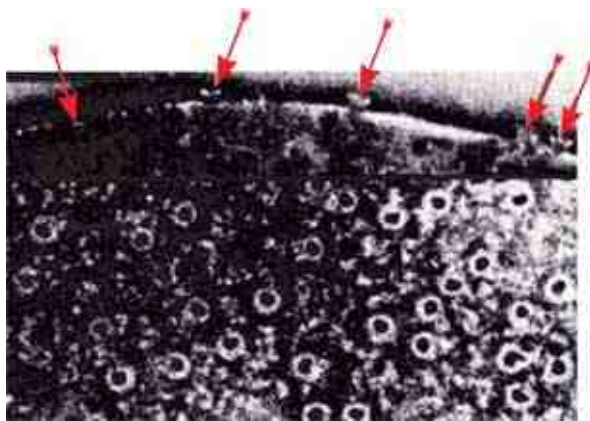


Рис. 9.19. Электронограмма фрагмента мембраны эритроцита, поврежденного мембраноатакующим комплексом (указано стрелками)

Компоненты системы комплемента, помимо литической функции, обладают также регуляторной функцией, могут участвовать в процессе **хемотаксиса** — направленного движения клеток, поскольку рецепторы к компонентам компле-

мента присутствуют на многих клетках иммунной системы. Так, С5а-компонент как **хемоаттрактант** активирует хемотаксис не только клеток врожденного (дендритных клеток, макрофагов), но также адаптивного иммунитета (Т-лимфоцитов). Компоненты С5а и С3а называются **анафилатоксинами**, поскольку высвобождают медиатор аллергии гистамин из тучных клеток и вызывают сокращение гладкой мускулатуры. Компонент комплемента С3b является **опсо-нином**, усиливая фагоцитоз макрофагов и нейтрофилов.

В организме существует система регуляции активности комплемента, которая не дает накапливаться активным компонентам этой системы. Среди ингибиторов каскада системы комплемента можно выделить: С1-ингибитор — ингибирует компонент С1; С4-связывающий протеин — взаимодействует с С4-компонентом и приводит к угнетению классического пути активации; фактор Н — связывается с С3b-компонентом и ингибирует альтернативный путь активации; S-протеин — ингибирует комплекс С5b67 и др.

Микробы также могут регулировать активность системы комплемента. Бактериальные клетки часто действуют путем связывания растворимых ингибиторов фактора Н или С4-связывающего протеина, блокируя активацию С3 и С5, тем самым инактивируя каскад реакций системы комплемента. Микобактерии используют рецепторы к С3 для инфицирования макрофагов. Но чаще всего вирусы используют рецепторы комплемента для проникновения в клетку (например, вирус Эпштейна–Барр взаимодействует с рецептором CR-2 и др.).

9.3.1.3.4. Белки острой фазы и теплового шока

Белки острой фазы (пентраксины, фибриноген, маннозосвязывающий лектин, амилоидный белок А, ингибиторы сериновых протеаз α_1 -анти-трипсин и α_2 -макроглобулин, гаптоглобин и др.) вырабатываются в печени при тяжелых острых воспалительных процессах и в ответ на любое повреждение (хирургическая операция, ожог, опухолевый процесс и др.).

Белки острой фазы — маркеры повреждения и воспаления, концентрация которых увеличивается в течение первых двух суток. Их синтез в печени усиливается под влиянием провоспалительных цитокинов — IL-1 β , IL-6, ФНО- α .

К пентраксинам относят С-реактивный белок, сывороточный амилоидный протеин — SAP и пентраксин 3.

Пентраксин 3 секретируется макрофагами, дендритными, эпителиальными клетками и фибробластами при активации их провоспалительными цитокинами.

С-реактивный белок получил название из-за способности к преципитации полисахарида С пневмококка. С-реактивный белок (протеин) связывается с полисахаридом бактерий, фосфорилхолином клеточных стенок ряда грамположительных бактерий и грибов, способствуя их фагоцитозу. Он активирует компле-

мент, связывает ряд продуктов распада собственных клеток (фосфоэтаноламин, гистоны, ДНК и др.) и цитокинов, участвуя в их обезвреживании и удалении.

Белки теплового шока, или стресс-белки, обозначаемые как Hsp (*Heat shock proteins*), впервые были обнаружены в прогретых клетках дрозофил, но позднее оказалось, что их синтез происходит при воздействии разнообразных стрессовых факторов, а некоторые Hsp являются конститутивными белками. Hsp имеют различную молекулярную массу, например 40, 70 кДа (Hsp40, Hsp70). В норме они отсутствуют как на поверхности клеток, так и в крови. Появление в крови белков теплового шока считается сигналом опасности (алармины).

Hsp выступают в качестве регуляторов апоптоза, активаторов врожденного и приобретенного иммунитета. Они стимулируют активацию и созревание антигенпредставляющих клеток, синтез цитокинов и выполняют функцию шаперонов. Hsp участвуют в повышении термотолерантности, в сворачивании и поддержании белковой структуры, переносе белков через внутриклеточные мембраны, в деградации нестабильных белков и в возникновении аутоиммунных болезней, которые могут развиваться в результате сходства Hsp микробов и человека (феномен молекулярной мимикрии). Hsp-специфичные антитела могут реагировать с Hsp-антигенами микробов и организма с образованием иммунных комплексов, откладывающихся в тканях, что способствует развитию атеросклероза (иммунное воспаление в стенке артерий), артрита, воспаления и др.

9.3.2. Адаптивный иммунитет

9.3.2.1. Клеточный иммунный ответ. Т-лимфоциты

Как уже описывалось ранее, к основным субпопуляциям лимфоцитов (клеточным компонентам адаптивного иммунитета) относят Т- и В-лимфоциты. Т-лимфоциты, или Т-клетки, получили свое название от слова «тимус» (вилочковая железа), где они созревают, по аналогии были названы и В-лимфоциты (В-клетки), которые дифференцируются в бурсе Фабрициуса (*Bursa Fabricius* у птиц). В разделе по клеточным компонентам адаптивного иммунитета речь пойдет в основном о Т-лимфоцитах, поскольку некоторые субпопуляции Т-клеток обеспечивают клеточный ответ организма. В-лимфоциты будут рассматриваться в разделе о гуморальных компонентах адаптивного иммунитета, поскольку производные В-лимфоцитов — плазматические клетки — являются основными продуцентами антител.

Т-лимфоциты в зависимости от корецепторных (вспомогательных) молекул разделяют на две группы: Т-хелперы обозначаются как T_H , или $CD4^+$ Т-лимфоциты (содержат на своей поверхности молекулу $CD4$), а цитотоксические Т-лимфоциты как ЦТЛ, или $CD8^+$ Т-лимфоциты (содержат молекулу $CD8$). Среди основных функций Т-хелперов можно выделить продукцию цитокинов,

которые регулируют иммунные процессы. Также за счет Т-хелперов происходит координация клеточного и гуморального адаптивного иммунитета.

Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) активируются антигеном и могут приводить к уничтожению вирусинфицированной или опухолевой клетки и др. Соотношение Т-хелперов ($CD4^+$ Т-лимфоциты) и ЦТЛ ($CD8^+$ Т-лимфоциты) в крови составляет 2:1. При патологии данное соотношение может сдвигаться, к примеру при инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека, преобладают $CD8^+$ Т-лимфоциты (табл. 9.6).

Таблица 9.6

Функции популяций Т-лимфоцитов

Т-клеточные субпопуляции	Наличие $CD4^-$ или $CD8^-$ -молекул на поверхности клеток	Функции лимфоцитов
$\gamma\delta$ -Т-лимфоциты (5% от всей популяции)	$CD4^-CD8^-$ (двойные негативные, т.е. не содержат $CD4$ и $CD8$)	Находятся в эпителии слизистых оболочек и кожи, осуществляют первую защиту от патогенов, могут распознавать антигены небелковой природы
	$CD4^+CD8^-$ (одинарные позитивные: содержат $CD4$, не содержат $CD8$)	?
	$CD4^-CD8^+$ (одинарные позитивные: содержат $CD8$, не содержат $CD4$)	Цитотоксическая функция
$\alpha\beta$ -Т-лимфоциты (95% от всей популяции)	$CD4^-CD8^-$ (двойные негативные)	Существуют только в тимусе
	$CD4^+CD8^-$ (одинарные позитивные: содержат $CD4$, не содержат $CD8$)	Т-хелперы 1-го типа участвуют в активации клеточного иммунитета, а Т-хелперы 2-го типа — гуморального иммунитета, другие представители — в иммунорегуляции
	$CD4^-CD8^+$ (одинарные позитивные: содержат $CD8$, не содержат $CD4$)	Цитотоксические Т-лимфоциты формируют клеточный иммунитет. Участвуют в противовирусном и противоопухолевом иммунитете, в реакциях при трансплантации, при аутоиммунных процессах
	$CD4^+CD8^+$ (двойные позитивные, т.е. содержат $CD4$ и $CD8$)	Существуют в тимусе

Т-клеточный рецептор (TCR — T-cell receptor). Основная отличительная черта Т-лимфоцитов — наличие на цитоплазматической мембране TCR, который состоит из двух форм антигенсвязывающих полипептидных цепей (гетеродимеров $\alpha\beta$ или $\gamma\delta$), молекулы $CD3$ (состоит из $\epsilon\gamma$ - и $\epsilon\delta$ -цепей) и ζ -цепи, с которых передается сигнал внутрь клетки (рис. 9.20). Соответственно различают $\alpha\beta$ -Т-лимфоциты (95% Т-лимфоцитов) и $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты (5% Т-лимфоцитов). Гетеродимеры $\alpha\beta$ и $\gamma\delta$ участвуют в связывании антигена. Они, так же как молекулы иммуноглобулинов, имеют переменные (V) и константные (C)

домены. TCR, подобно антителам, кодируется несколькими наборами генов (VDJ-рекомбинации) в процессе дифференциации Т-лимфоцитов (см. ниже).

При взаимодействии этого комплекса с молекулами МНС участвуют корецепторные молекулы: CD4 — при взаимодействии Т-хелпера (Т_Н) с МНС II класса или CD8 — при взаимодействии ЦТЛ с МНС I класса.

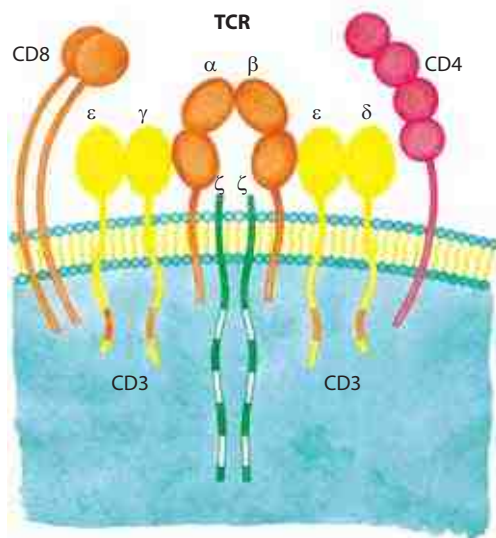


Рис. 9.20. Строение комплекса Т-клеточного рецептора (TCR). Рядом расположены корецепторные молекулы CD4 или CD8

Дифференцировка Т-лимфоцитов. Т-лимфоциты дифференцируются из общего лимфоидного предшественника и мигрируют из костного мозга в тимус, где они называются **timoцитами**. Здесь происходят их пролиферация и генетические перестройки из большого набора зародышевых генов путем их перегруппировки. Сначала перегруппировываются β-, а потом α-цепи TCR.

Дифференцировку Т-лимфоцитов подразделяют на антигеннезависимую и антигензависимую. В тимусе происходят основные процессы антигеннезависимой дифференцировки Т-лимфоцитов. Антигензависимая дифференцировка Т-лимфоцитов происходит в периферических органах иммунной системы.

В ходе дифференцировки в тимусе Т-лимфоциты созревают и мигрируют из кортикальной зоны в медуллярную, при этом маркерный состав меняется, сначала появляются двойные негативные клетки (CD4⁻CD8⁻), у которых отсутствуют молекулы CD4 и CD8, далее — двойные позитивные клетки (CD4⁺CD8⁺), а при выходе из тимуса — одинарные позитивные Т-лимфоциты (CD4⁺CD8⁻ или CD4⁻CD8⁺). Один из важнейших процессов, происходящих в тимусе, — дифференцировка Т-клеток и формирование CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, которые при выходе на периферию способны распознавать антиген (рис. 9.21).

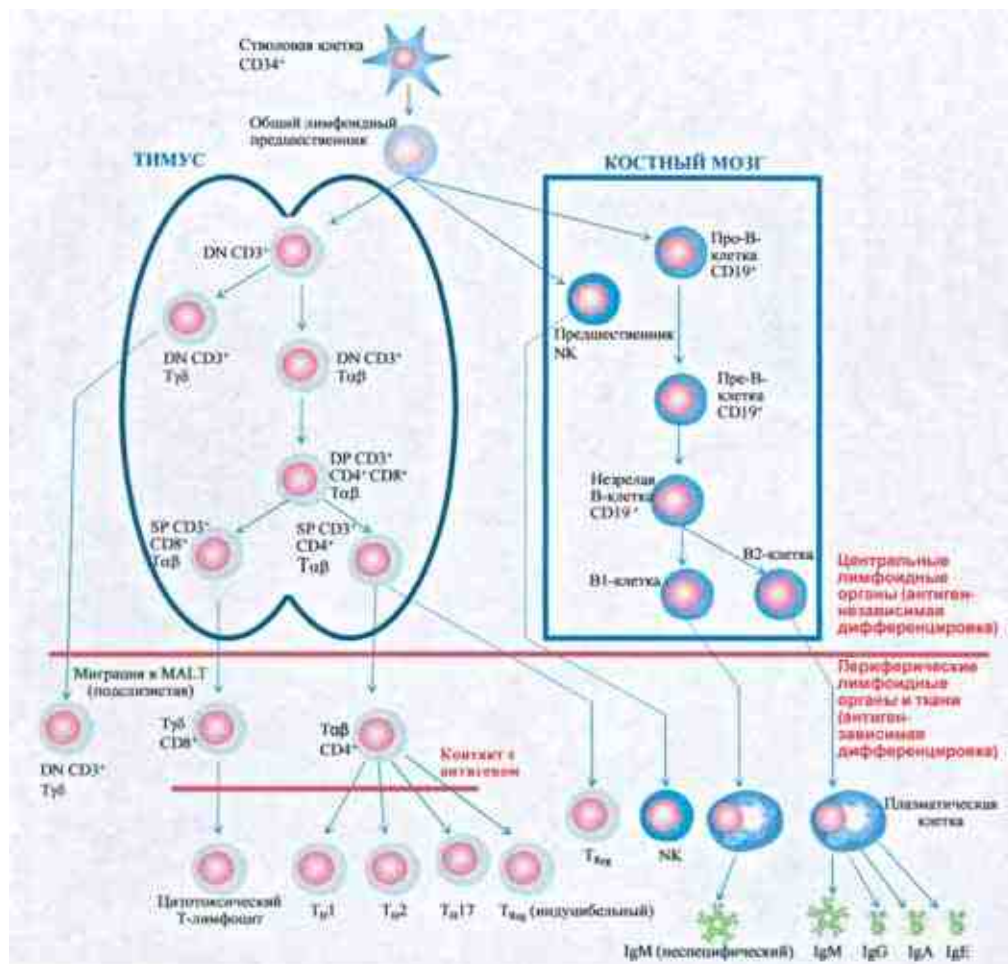


Рис. 9.21. Дифференцировка Т- и В-лимфоцитов; DN — двойные негативные клетки (CD4⁻CD8⁻), DP — двойные позитивные клетки (CD4⁺CD8⁺), SP — одинарные позитивные клетки, MALT — лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками

Если рассматривать процесс по ходу дифференцировки Т-лимфоцитов, то особый интерес представляет перестройка генов TCR (реаранжировка). У человека гены, кодирующие цепи TCR, располагаются на 7-й (β-цепь или γ-цепь) и на 14-й (α-цепь или δ-цепь) хромосоме. Существуют различные варианты так называемых зародышевых генов TCR: V-, D-, J- и C-гены. В результате реаранжировки «вырезаются» по варианту каждого из них и соединяются в единый ген, с которого и происходит синтез новой цепи TCR.

Т-лимфоциты, проходящие дифференцировку в тимусе, претерпевают позитивную и негативную селекцию. **Позитивная селекция** проходит в коре

тимуса, при этом двойные позитивные Т-клетки уже экспрессируют на своей поверхности TCR. Происходит первое взаимодействие рецепторного комплекса с молекулами МНС, если тимоцит распознал собственную молекулу МНС, такой лимфоцит претерпевает дальнейшую дифференцировку. В случае нераспознавания собственной молекулы тимоцит погибает путем апоптоза. **Негативная селекция** происходит позже в медуллярном веществе, и на этом этапе формируются клоны Т-лимфоцитов, которые не являются аутореактивными. То есть тимоциты, которые при повторном взаимодействии с молекулами МНС активируются в ответ на собственный антиген, уходят в апоптоз. Если тимоцит распознал, но не активировался на аутоантиген, такие клоны выживают и продолжают дифференцировку.

После антигеннезависимой дифференцировки (в тимусе) происходит антигензависимая дифференцировка. Из тимуса выходят наивные Т-лимфоциты, которые мигрируют в периферические органы иммунной системы и в ткани, где и происходит двойное распознавание антигена, представленного антигенпредставляющими клетками.

Субпопуляции Т-лимфоцитов. Т-хелперы (T_H от *helper* — помощник) имеют Т-клеточный рецептор (TCR) и корецептор CD4, которые участвуют в распознавании комплекса антигенный пептид + МНС II класса антигенпредставляющих клеток (рис. 9.22). Функция Т-хелперов — продукция цитокинов в результате взаимодействия с антигенпредставляющей клеткой. Выброс цитокинов приводит к активации всех окружающих клеток.

Наивные Т-хелперы, или нулевые (T_H0), под действием различных факторов дифференцируются на T_H1 , T_H2 , фолликулярные Т-хелперы (T_{FH}), T_H17 и T_{Reg} .

T_H1 -лимфоциты отвечают за стимуляцию клеточного иммунитета; участвуют в иммунном воспалении по типу ГЗТ, продуцируя IFN- γ и активируя макрофаги. T_H1 -ответ стимулируется внутриклеточными возбудителями (вирусами, микобактериями, некоторыми грибами и простейшими). Он усиливается под влиянием IL-12, выделяемого макрофагами, и IFN- γ , продуцируемого НК-клетками. T_H1 -лимфоциты продуцируют так называемые T_H1 -цитокины, включая IL-2, IFN- γ и ФНО- β .

T_H2 -лимфоциты отвечают за развитие гуморального иммунитета, стимулируя антителообразование В-лимфоцитами. T_H2 -ответ стимулируется внеклеточными бактериями и паразитами. Он усиливается под влиянием IL-4. T_H2 -лимфоциты продуцируют так называемые T_H2 -цитокины, включая IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13. T_H1 и T_H2 оказывают друг на друга супрессирующее действие: T_H1 , продуцируя IFN- γ , угнетает T_H2 , а последний, образуя IL-4, угнетает T_H1 (рис. 9.23).

T_{Reg} -лимфоциты могут угнетать T_H1 и T_H2 и другие клетки, участвуя в негативной регуляции иммунного ответа (см. ниже — «Регуляторные Т-лимфоциты»).

T_H17 -лимфоциты продуцируют в основном IL-17 (см. рис. 9.23), поэтому они известны как T_H17 -лимфоциты. Эти мощные воспалительные клетки продуциру-

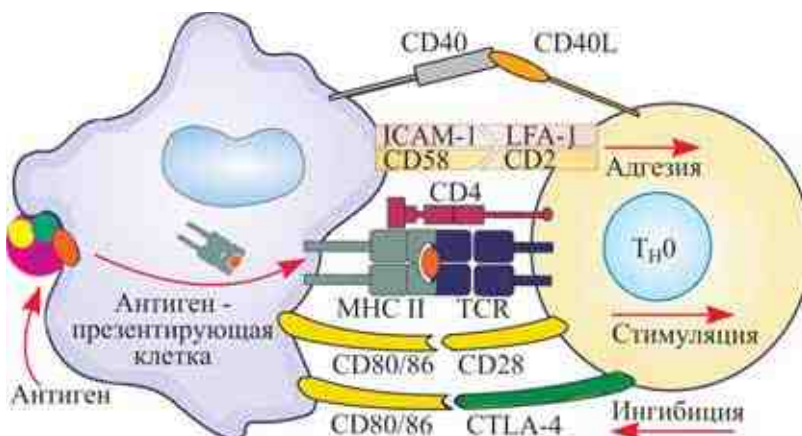


Рис. 9.22. Важными корецепторными взаимодействиями Т-хелпера и АПК является образование пар CD40L (CD40-лиганд) — CD40 и CD28–CD80, а также молекул, участвующих в адгезии (например, LFA-1 и ICAM). При этом возникают сигналы: **1-й сигнал** определяется специфичностью антигена, представляемого МНС-молекулой АПК Т-лимфоциту (его TCR), если отсутствуют дополнительные костимулирующие сигналы, то Т-лимфоцит направляется на апоптоз; **2-й сигнал** может быть положительным (стимуляция клетки) или негативным без ответа (ингибция). Если в паре CD28–CD80 (ведущей к активации) вместо молекул CD28 Т-лимфоцита появляются ингибиторные молекулы CTLA-4, то активация Т-лимфоцита подавляется и он возвращается в исходное состояние; **3-й сигнал** в зависимости от вида поляризирующего фактора превращает Т-хелпер (T_H0) в T_H1 , T_H2 или T_{Reg} ; **4-й сигнал** Т-лимфоциты получают от дендритных клеток или из окружающей среды, приобретая хоминговые рецепторы для миграции в ткани

ют IL-17, IL-6, IL-21, IL-22 и ФНО- α , участвуя в защите против внеклеточных бактерий, активируя, привлекая нейтрофилы. Они направляют T_H1 -лимфоциты к месту размножения внутриклеточных бактерий, что сопровождается воспалением. Они также активно участвуют в аутоиммунных нарушениях, например при псориазе, способствуя гиперпролиферации кератиноцитов.

Регуляторные Т-лимфоциты (T_{Reg}) играют важную роль в негативной регуляции иммунного ответа, используя несколько механизмов для подавления активации и пролиферации Т-лимфоцитов. T_{Reg} -лимфоциты модулируют функции АПК, ингибируя их созревание и блокируя экспрессию на поверхности клеток молекул МНС и костимулирующих молекул (CD80 и CD86), ослабляя таким образом взаимодействия между АПК и Т-лимфоцитами. T_{Reg} -лимфоциты могут оказывать цитотоксические эффекты на мишени (на Т-лимфоциты и на АПК) через секрецию гранзимов и перфоринов, а также подавляют активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов через секрецию ингибирующих цитокинов, например ТФР- β , интерлейкинов (IL-10 и IL-35). Супрессорные функции регуляторных Т-лимфоцитов обеспечиваются также поверхностной супрессорной молекулой CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4) и др.

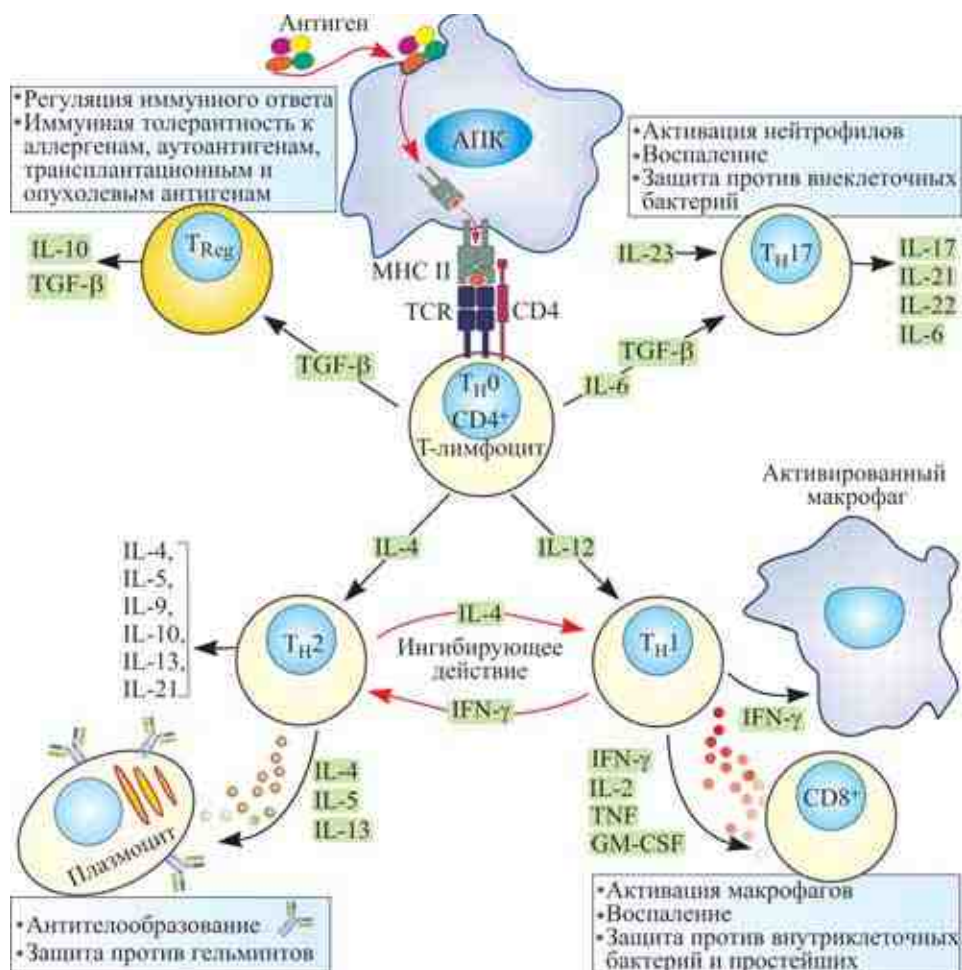


Рис. 9.23. Дифференциация субпопуляций CD4⁺ Т-лимфоцитов и их цитокиновый профиль. Наивные Т-хелперы (T_{H0}) дифференцируются на T_{H1}, T_{H2}, T_{H17} и T_{Reg}-лимфоциты: 1) Т-хелперы 1-го типа (T_{H1}) ответственны за клеточно-опосредованный иммунитет (точнее, за **иммунное воспаление I типа**) с продуцируемыми ими ведущими цитокинами: IFN-γ и IL-2, которые активируют макрофаги и ЦТЛ CD8⁺; 2) Т-хелперы 2-го типа (T_{H2}) имеют центральное значение в **иммунном воспалении II типа** (в продукции антител и в защите против гельминтов, с ведущими цитокинами IL-4 и IL-5); 3) T_{H17}-лимфоциты продуцируют IL-17, защищая против внеклеточных микробов, активируя нейтрофилы; они также направляют T_{H1}-лимфоциты к месту размножения внутриклеточных бактерий; 4) регуляторные Т-лимфоциты (T_{Reg}) контролируют чрезмерные иммунные ответы. Фолликулярные Т-хелперы (T_{FH}) помогают В-лимфоцитам в герминативном центре

T_{Reg}-лимфоциты участвуют в толерантности к пищевым антигенам и к антигенам нормальной микрофлоры. Основной функцией T_{Reg} является поддержание ауто толерантности. Они предотвращают развитие чрезмерно интенсивного

иммунного воспаления, развитие аутоиммунных заболеваний, участвуют в сохранении нормального течения беременности. В то же время избыточная активность T_{Reg} -лимфоцитов чревата ослаблением противоинфекционного и противоопухолевого иммунитета.

Различают естественные регуляторные Т-лимфоциты и индуцируемые (адаптивные) регуляторные Т-лимфоциты — $Tr1$ -лимфоциты и др.

Естественные регуляторные Т-лимфоциты — nT_{Reg} -клетки (Natural regulatory T-cells) экспрессируют на своей поверхности молекулы CD25, а внутри содержат большое количество белка FOXP3 (forkhead box P3 — репрессор транскрипции), обеспечивающего основные супрессорные свойства. Эти клетки стали обозначать как $Foxp3^+$ Т-лимфоциты, или $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T_{Reg} -лимфоциты, т.е. $CD4^+CD25^+$ -лимфоциты с высоким уровнем экспрессии CD25 ($CD4^+CD25^{hi}$ -клетки). В норме эти клетки составляют до 10% лимфоцитов периферической крови. Они синтезируют супрессорные цитокины IL-10 и ТФР- β , а подавление ими Т-клеточного ответа осуществляется при контакте с клетками независимо от продукции цитокинов. Естественные T_{Reg} -лимфоциты направлены против аутоспецифических Т-лимфоцитов для поддержания иммунологической толерантности к собственным антигенам и предотвращения аутоагрессии. Кроме того, они подавляют функции других клеток (ДК, моноцитов/макрофагов, НК, $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов), что поддерживает периферическую толерантность.

Индукцируемые регуляторные Т-лимфоциты образуются при участии антигена на периферии от наивных $CD4^+CD25^-$ или $CD8^+CD25^-$ Т-лимфоцитов под влиянием полузрелых дендритных клеток, IL-10, ТФР- β и, возможно, IFN- α . Полузрелые дендритные клетки имеют промежуточный фенотип с низкими уровнями экспрессии CD40 и продукции IL-12, но с высоким уровнем секреции IL-10. Индуцибельная популяция регуляторных Т-лимфоцитов включает различные подтипы $CD4^+$ Т-лимфоцитов (индуцированные T_{Reg} — T_{R1} и T_{R2} ; последние обозначались ранее как T_{H3}).

Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) имеют Т-клеточный рецептор (TCR) и корецептор CD8, которые участвуют в распознавании комплекса антигенный пептид+МНС I класса (рис. 9.24) на клетке-мишени. Распознавание антигена-пептида усиливается дополнительным сигналом в виде IL-2 от T_{H1} -лимфоцита, что вызывает пролиферацию ЦТЛ с образованием антигенспецифического клона цитотоксических Т-лимфоцитов. Далее ЦТЛ выбрасывают из гранул цитотоксические белки перфорины и гранзимы (сериновые протеазы). Перфорины, встраиваясь в мембрану клетки-мишени, образуют поры, которые способствуют проникновению гранзимов. Гранзимы запускают процесс апоптоза клетки-мишени. Клетка-мишень, имеющая Fas-рецептор (CD95, содержит домен смерти), направляется на апоптоз в результате взаимодействия с Fas-лигандом (FasL) цитотоксического Т-лимфоцита (см. рис. 9.24).

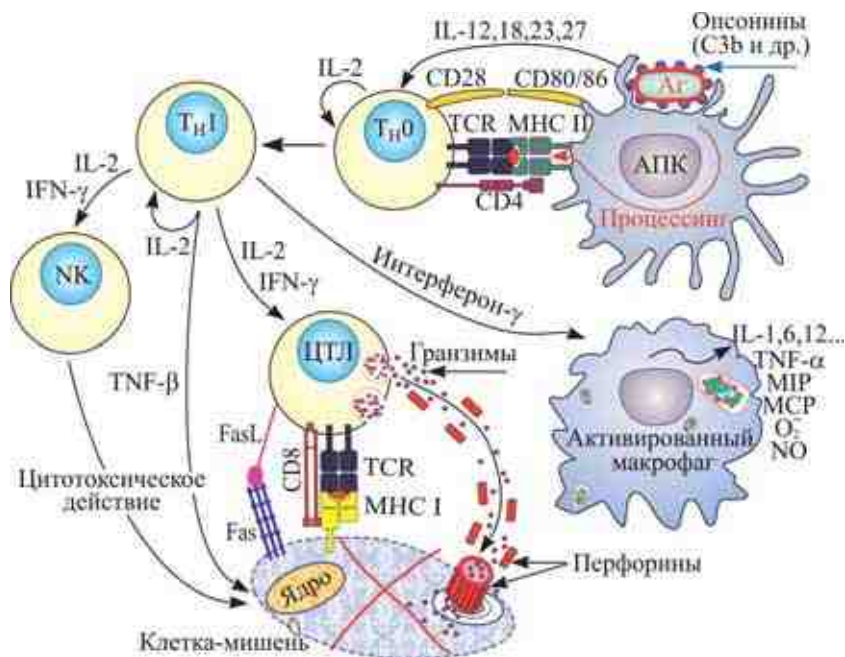


Рис. 9.24. Клеточный иммунный ответ: цитотоксические Т-лимфоциты и NK-клетки уничтожают клетки-мишени в результате активации Fas/FasL-системы, перфорин-гранзим-механизма и фактора некроза опухоли

За цитотоксические свойства ЦТЛ отвечает также фактор некроза опухолей. После уничтожения клетки-мишени ЦТЛ сами не погибают и способны к разрушению других клеток-мишеней (серийные убийцы). Таким образом, ЦТЛ участвуют в **клеточном иммунном ответе** совместно с активированным γ -интерфероном макрофагом и NK-клеткой.

НКТ-лимфоциты, или НКТ-клетки (естественные киллерные Т-клетки, natural killer T-cells) рассматривают как высококонсервативную отдельную субпопуляцию Т-лимфоцитов, которые экспрессируют особый Т-клеточный рецептор. Одна из основных функций НКТ-клеток — цитотоксичность, опосредованная через рецепторы. В основном НКТ-клетки локализуются в тимусе, селезенке, печени, костном мозге. НКТ-клетки могут мигрировать в зону воспаления. Среди функций НКТ-клеток можно выделить секрецию IFN- γ (индукция цитотоксичности), активацию неспецифической цитотоксичности NK-клеток и макрофагов. Подобно естественным киллерам, НКТ-клетки могут оказывать неспецифическое цитотоксическое действие на опухолевые и инфицированные вирусами клетки. Активация НКТ-клеток происходит через такие же KIR-рецепторы, что и у естественных киллеров. НКТ-клетки являются регуляторными клетками, стимулируя или подавляя отдельные звенья адаптивного иммунного ответа; с помощью IFN- γ , IL-4 и IL-13 они влияют на баланс T_H1/T_H2 .

$\gamma\delta$ -Т-лимфоциты имеют TCR, состоящий из $\gamma\delta$ -полипептидных цепей. Они являются полноправными участниками реакций врожденного иммунитета. Субпопуляция $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов преобладает преимущественно в коже и слизистых оболочках. Если $\alpha\beta$ -Т-лимфоциты распознают антигены, представляемые молекулами МНС, то $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты распознают антигены (липиды, гликолипиды), представляемые CD1 и другими «неклассическими» молекулами (не МНС) клеток, или свободные антигены, без участия антигенпредставляющих клеток. Эти клетки отвечают на антигенный стимул пролиферацией, а также выработкой IFN- γ и других цитокинов. Т-лимфоциты, несущие $\gamma\delta$ -рецепторы, участвуют в фагоцитозе и других реакциях. Далее происходит дифференцировка, в результате которой появляются эффекторные цитотоксические $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты.

9.3.2.2. Гуморальный иммунный ответ (антителообразование)

Основой гуморального (от лат. *humor* — жидкость) адаптивного иммунного ответа служит активация В-лимфоцитов и их дифференцировка в антителообразующие плазматические клетки — плазмциты. В-лимфоцит играет роль антигенпредставляющей и антителообразующей клетки.

9.3.2.2.1. Субпопуляции В-лимфоцитов

Основной функцией В-лимфоцитов (плазматических клеток) является выработка иммуноглобулиновых молекул — антител. На поверхности В-лимфоцитов присутствует В-клеточный рецептор (B-cell receptor — BCR), представленный комплексом мономера иммуноглобулина М (IgM) и молекул CD79a (Ig α) и CD79b (Ig β), с которых происходит передача сигнала внутрь клетки (рис. 9.25). В отличие от TCR BCR может распознавать антигены в нативном (неизмененном) состоянии.

Дифференцировка В-лимфоцитов, так же как и Т-лимфоцитов, проходит в две стадии: антигеннезависимая стадия, которая проходит в костном мозге, и антигензависимая — в периферических лимфоидных органах. В костном мозге происходит дифференцировка В-лимфоцитов по схеме: стволовая клетка → про-В-клетка → пре-В-клетка → незрелая В-клетка → зрелый наивный В-лимфоцит, выходящий из костного мозга. Важные процессы, которые протекают в костном мозге, — формирование В-клеточного рецептора, а также негативная и позитивная селекция (элиминация аутореактивных клонов, т.е. удаляются клоны В-лимфоцитов, связавшие белки собственных тканей). Созревшие наивные В-лимфоциты покидают костный мозг (см. рис. 9.21) и рециркулируют по периферическим лимфоидным органам. При антигензависимой дифференцировке происходит пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов в плазматические клетки (плазмциты). Встречая антиген, В-лимфоциты исполняют роль антигенпредставляющей клетки, взаимодействующей с Т-хелпером. В-лимфоциты получают антиген при его рецептор-опосредованном поглоще-

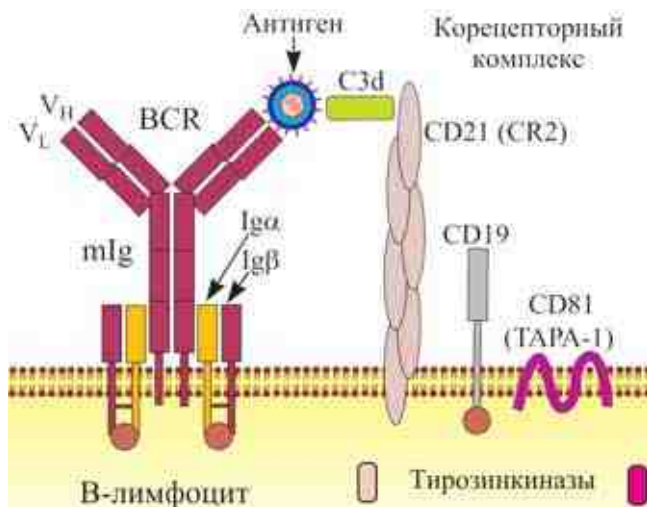


Рис. 9.25. Антигенраспознающий В-клеточный рецептор (BCR) и корецепторный комплекс мембранных молекул [CD19, CD21(CR2), CD81 (TAPA-1)], связанных с системами внутриклеточного проведения сигналов: взаимодействие с антигеном и C3d-компонентом комплекса значительно снижает дозу антигена, необходимую для клеточной активации

нии или от *фолликулярных дендритных клеток*, несущих иммунные комплексы антиген–антитело–комплемент (C3d).

В-лимфоцит играет роль антигенпредставляющей и антителообразующей клетки: BCR распознает антиген, а клетка поглощает его (рис. 9.26). После встраивания поглощенного антигена в МНС II класса В-лимфоцит выставляет образовавшийся комплекс на поверхность и представляет его наивному Т-хелперу (T_H0) — предшественнику T_H2 . T_H2 взаимодействует своим рецептором (TCR) и корецептором CD4 с комплексом антиген/МНС II класса В-лимфоцита. Кроме этого комплекса на поверхности Т- и В-лимфоцитов взаимодействуют дополнительные пары молекул, необходимые для взаимной активации (CD40+CD40L, CD80/86+CD28 и молекулы адгезии). Так, T_H2 -хелперы экспрессируют CD40-лиганд (CD40L). Последний связывается с CD40 на В-лимфоците, и клетки активируются образовавшимся комплексом CD40+CD40L. Этот процесс важен для переключения синтеза иммуноглобулинов на другие изоформы (классы). Происходит пролиферация В-лимфоцитов. Под влиянием интерлейкинов (IL-4, 5, 6, 10 и др.), образуемых T_H2 , происходит переключение иммуноглобулиновых генов В-лимфоцитов, которые синтезируют иммуноглобулины различных классов. Ростowymi факторами для T_H2 являются IL-2 и IL-4. В продукции IgG1 и IgG3 участвуют цитокины, продуцируемые T_H1 .

В-лимфоциты могут активироваться и без Т-хелперов (Т-независимая активация); секретируемые иммуноглобулины относятся в основном к IgM. Т-независимые антигены имеют множественные повторяющиеся эпитопы. Они на-

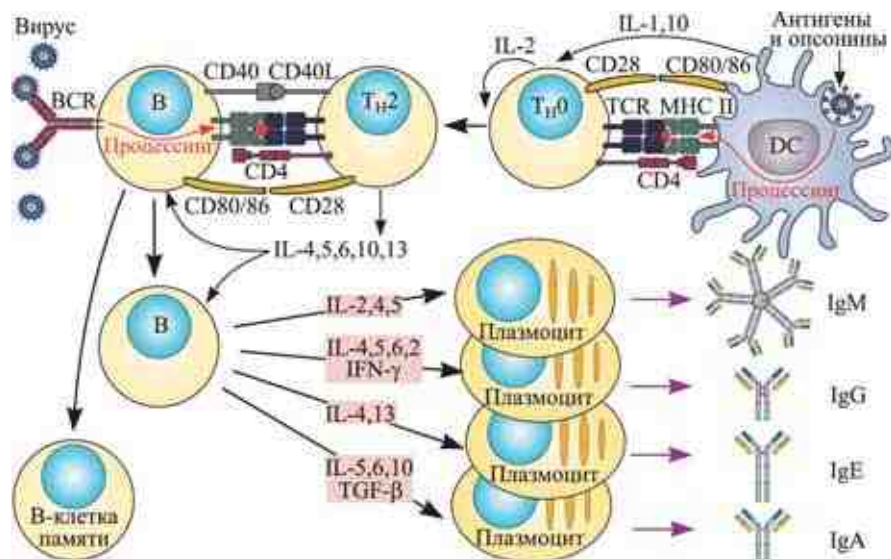


Рис. 9.26. Гуморальный иммунный ответ: интерлейкины (IL), продуцируемые Т_H2, индуцируют антителообразование, в частности IL-4 и IL-13 индуцируют синтез IgE; DC — дендритная клетка

прямую активируют В-лимфоциты в результате перекрестного связывания их рецепторов.

В₁-лимфоциты и В_{MZ}-лимфоциты. Указанная схема (см. рис. 9.26) характерна для главной популяции В-лимфоцитов, обозначаемых как В₂-лимфоциты. Другая популяция В-лимфоцитов, обозначаемая В₁, продуцирует нормальные, или естественные, антитела (в основном IgM) и располагается в перитонеальной и плевральной полостях (небольшое количество их находится в селезенке и лимфатических узлах). Она представлена двумя разновидностями: В_{1a} (CD5⁺) и В_{1b} (CD5⁻).

В-лимфоциты маргинальных зон периартериальных муфт селезенки получили название **В_{MZ}-лимфоцитов**. Они продуцируют антитела как против продуктов распада клеток организма, так и против микробных антигенов. В_{MZ}-лимфоциты быстро (через сутки) запускают синтез перекрестно реагирующих противомикробных IgM. Пусковым моментом их активации является взаимодействие антигенов (в том числе микробов-комменсалов кишечника) с сигнальными рецепторами (TLR), но не с BCR.

9.3.2.2.2. Иммуноглобулины

Иммуноглобулины (Ig, Immunoglobulin) — антитела, продуцируемые В-лимфоцитами (плазматическими клетками) и состоящие из пяти классов молекул: IgG, IgM, IgE, IgA, IgD.

Классификация иммуноглобулинов основана на химическом и структурном отличии. Они состоят из мономеров, димеров, тримеров или пентамеров.

Мономеры иммуноглобулинов состоят из двух пар полипептидных цепей: двух идентичных тяжелых **Н-цепей** (от heavy chains) с высокой молекулярной массой и двух идентичных легких **Л-цепей** (от light chains) с низкой молекулярной массой, связанных дисульфидной связью (рис. 9.27). Эти цепи образуют Y-подобную структуру и имеют константные (**С**) и переменные (**В**) участки, или **домены** — компактные вторичные структуры, скрепленные дисульфидной связью. V-домены входят в антигенраспознающий центр антитела.

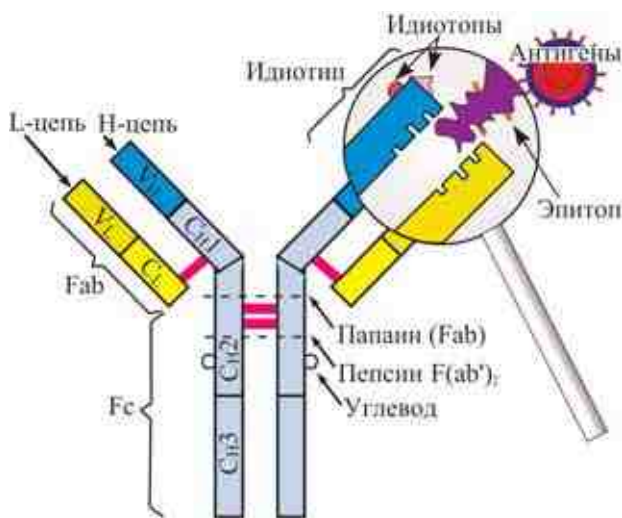


Рис. 9.27. Строение иммуноглобулина (IgG), в котором различают переменные V-домены легких (V_L) и тяжелых (V_H) цепей, расположенные в N-концевой части Fab-фрагмента; C-домены константных участков легких цепей (C_L); C-домены константных участков тяжелых цепей (C_H1 , C_H2 , C_H3). В C_H2 -домене находится комплементсвязывающий участок, участвующий в классическом пути активации комплемента. Папаин расщепляет молекулу иммуноглобулина ниже дисульфидных связей (обозначены красным) на два одинаковых антигенсвязывающих Fab-фрагмента и Fc-фрагмент, а пепсин — на укороченный Fc'-фрагмент и два сочлененных Fab-фрагмента, $F(ab')_2$

Легкие Л-цепи (каппа — κ или лямбда — λ) одинаковые у всех классов иммуноглобулинов; содержат около 200 аминокислотных остатков, а **тяжелые Н-цепи** — разные (γ , μ , α , δ , ϵ); содержат около 550 аминокислотных остатков. По типу тяжелой цепи различают пять классов (изотипов) иммуноглобулинов (Ig): IgG, IgM, IgA, IgD, IgE (рис. 9.28). Мономеры, образующие IgM и IgA, связаны друг с другом **Ж-цепью** (англ. *joint* — связь). Все иммуноглобулины имеют углеводные (олигосахаридные) цепочки, т.е. они являются гликопротеинами.

Папаин расщепляет молекулу иммуноглобулина на два одинаковых антигенсвязывающих фрагмента: **Fab-фрагмент** (антигенсвязывающий фрагмент)

мент, **Fragment antigen binding**) и **Fc-фрагмент**, способный к кристаллизации (**Fragment cristallizable**):

- Fab-фрагмент имеет очень изменчивый **антигенсвязывающий участок** (активный центр антител в варибельном V-домене), образованный гипервариабельными участками* Н- и L-цепей, которые связывают эпитопы антигена. Это позволяет иммунной системе распознавать самые разнообразные антигены;
- Fc-фрагмент связывает комплемент (при образовании комплекса антиген–антитело), взаимодействует с Fc-рецепторами мембран клеток, с компонентами комплемента, а также участвует в переносе IgG через плаценту (плацентарный иммунитет).

Компактные вторичные структуры, структуры антител, скрепленные дисульфидной связью, называются **доменами**. Так, в IgG различают варибельные V-домены легких (**V_L**) и тяжелых (**V_H**) цепей, расположенные в N-концевой части Fab-фрагмента; C-домены константных (постоянных по составу) участков легких цепей (**C_L**) и C-домены константных участков тяжелых цепей (**C_{H1}**, **C_{H2}**, **C_{H3}**). В C_{H2}-домене находится комплементсвязывающий участок, участвующий в классическом пути активации комплемента (см. рис. 9.18).

Между C_{H1}- и C_{H2}-доменами IgG расположен **шарнирный** участок антитела, включающий остатки пролина, что позволяет менять угол наклона Fab-фрагментов; антитело может приобретать Y- или Т-образную форму. Шарнирный участок делает молекулу IgG гибкой; Fab- и Fc-фрагменты могут вращаться относительно друг друга, что важно для функционирования IgG.

Классы иммуноглобулинов. По структурным и антигенным различиям Н-цепей (γ , μ , α , δ , ϵ) выделяют пять классов иммуноглобулинов, определяемых в сыворотке крови человека: IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. Количественное содержание иммуноглобулинов — важный показатель оценки гуморального иммунитета.

IgG составляет около 75% антител сыворотки крови и представлен четырьмя подклассами (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). IgG — мономер, молекулярная масса 146–170 кДа. Его Fab-фрагмент имеет два эпитопсвязывающих участка, поэтому IgG может связать две одинаковые молекулы антигена, участвуя таким образом в нейтрализации антигена и в реакции агглютинации. Fc-фрагмент IgG1 и IgG3 участвует в классическом пути активации комплемента. Кроме этого, Fc-фрагмент IgG может связываться с макрофагом, нейтрофилом и NK. IgG — единственное антитело, которое передается через плаценту, участвуя в плацентарном иммунитете и защищая новорожденного в первые 3–4 нед. после рождения. Он преобладает при вторичном иммунном ответе.

* Гипервариабельные области тяжелой цепи обозначаются как V_{H1}, V_{H2}, V_{H3} (название от hypervariable) или как CDR1, CDR2, CDR3 (complementary determining regions — участки, определяющие комплементарность). Промежутки между ними, названные FR1, FR2, FR3, FR4 (framework regions — каркасные участки), кроме структурной функции проявляют ферментативную активность и способность связываться с ионами металлов.

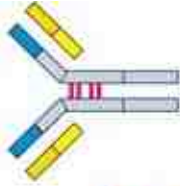
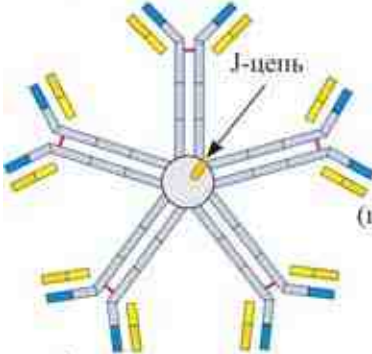
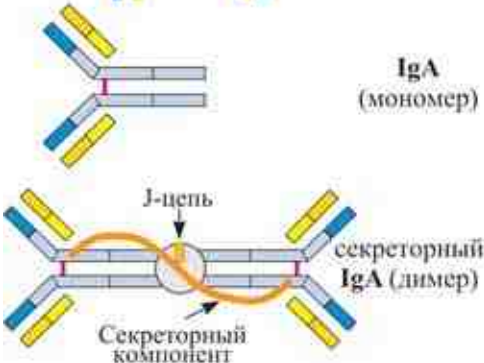
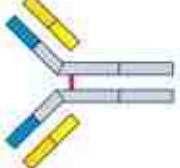
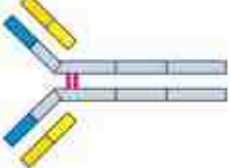
Строение иммуноглобулинов	Особенности иммуноглобулинов
 IgG (мономер)	IgG; 4 подкласса — IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Мономер с молекулярной массой 146–170 кДа. IgG участвует в активации фагоцитоза, в классическом пути активации комплемента. Переносится через плаценту
 IgM (пентамер)	IgM состоит из пяти мономеров, объединенных J-цепью (пентамер). Молекулярная масса 970 кДа. Первым вырабатывается при инфицировании. Участвует в классическом пути активации комплемента. Мономеры IgM имеются на поверхности В-лимфоцита в виде мембранного Ig
 IgA (мономер) секреторный IgA (димер)	IgA — сывороточный и sIgA — секреторный. Существует в виде мономера или димера (мономеров объединены J-цепью). Димер (sIgA) имеет секреторный компонент, защищающий его от разрушения ферментами. Молекулярная масса 385 (или 160) кДа. sIgA участвует в местном (мукозальном) иммунитете; находится на слизистой оболочке, в слюне, слезах, молозиве и грудном молоке, блокируя микробы
 IgD (мономер)	IgD — мономер, существует только в виде рецептора на поверхности В-клеток. Молекулярная масса 184 кДа
 IgE (мономер)	IgE — мономер, участвует в аллергических реакциях. Молекулярная масса 188 кДа

Рис. 9.28. Сравнительная характеристика иммуноглобулинов

IgM составляет около 10% антител сыворотки крови; состоит из пяти мономеров (пентамер, имеет 10 эпитопсвязывающих участков), объединенных соединительной J-цепью. Молекулярная масса 970 кДа. IgM первым вырабатывается при инфицировании (маркер острой инфекции), преобладает при первичном иммунном ответе; участвует в классическом пути активации комплемента и в реакции агглютинации. Момеры IgM имеются на поверхности В-лимфоцита в виде мембранного Ig (BCR).

IgA сывороточный составляет около 15% антител сыворотки крови; представлен двумя подклассами — IgA1 и IgA2. **Секреторный IgA (sIgA)** — димер с соединяющей J-цепью. При переносе IgA через эпителий на поверхность слизистой оболочки к нему присоединяется внеклеточный участок рецептора полимерных Ig (pIgR). Затем комплекс pIgR–IgA поглощается, и эндосомы, содержащие комплекс, перемещаются к апикальной мембране эпителиоцита для экзоцитоза. При экзоцитозе внеклеточная часть pIgR протеолитически отрезается эндопептидазой и выпускается из клетки в виде секреторного компонента, связанного с IgA. Секреторный компонент защищает sIgA от разрушения ферментами слизистых оболочек. sIgA участвует в местном (мукозальном) иммунитете; находится, кроме слизистой оболочки, в слюне, слезах, молозиве и грудном молоке, блокируя микробы, препятствуя их подвижности и адгезии к эпителиоцитам.

IgD составляет менее 0,1% антител сыворотки крови; мономер, имеет два эпитопсвязывающих участка. Находится на поверхности В-лимфоцита (наряду с мономером IgM) в виде mIg, контролируя его активацию и супрессию.

IgE составляет менее 0,01% антител сыворотки крови, имеет два эпитопсвязывающих участка. Участвует в противопаразитарном иммунитете. В ответ на аллергены Fc-фрагмент IgE связывается с тучными клетками и базофилами; последующее взаимодействие с аллергеном запускает аллергическую реакцию (ГНТ, точнее, реакцию I типа по Джеллу и Кумбсу).

Нормальные антитела. В отличие от главной популяции В-лимфоцитов, продуцирующих вышеописанные специфические антитела и обозначаемых как В₂-лимфоциты, другая популяция В-лимфоцитов, обозначаемая как В₁, продуцирует нормальные, или естественные, антитела (в основном IgM). Нормальные антитела образуются вне зависимости от введения в организм антигена. К ним относятся α- и β-аллоантитела (это IgM) против А- и В-аллоантигенов эритроцитов. Нормальные антитела имеют различную специфичность и направлены как против продуктов распада клеток организма, так и против разнообразных микробов, вызывая неспецифическую нейтрализацию их антигенов.

Свойства антител. Антитела нейтрализуют антигены, усиливают фагоцитоз, участвуют в активации комплемента (IgM, IgG) и в реакциях антиген–антитело, входят в состав рецепторов В-лимфоцитов (IgM, IgD). Они отличаются по аффинности, avidности, каталитическим и антигенным свойствам.

Аффинность (аффинитет) антител — сродство антител к антигенам, основанное на силе связи антигенсвязывающего центра Fab-фрагмента антитела с эпитопом антигена.

Авидность антител (от лат. *avidity* — жадный) — прочность связи антитела с антигеном и количество связанного антителами антигена. Данные свойства зависят от валентности антигенсвязывающего центра, т.е. количества активных центров (IgG — два, IgM — десять, IgE — два, IgA — четыре или два): минимум двухвалентные антитела могут вызывать внешне видимый эффект типа реакции агглютинации и называются *полными антителами* в отличие от *неполных антител*, одновалентных (блокирующих), у которых функционально «работает» только один антигенсвязывающий центр.

Абзимы (от англ. *adzymes* — от antibody (**ab**) + enzymes) представляют собой своеобразные антитела-ферменты, которые специфически связываются с антигеном, вызывая его деструкцию. Абзимы являются биокатализаторами ферментативных реакций. Они катализируют многие эстеразные и оксидазные реакции. Известны абзимы протеазы, ДНКазы, РНКазы. Кроме этого, абзимы могут катализировать другие процессы, не имеющие ферментативных аналогов.

Антигенные свойства антител. Различают изотипические, идиотипические и аллотипические детерминанты антител.

- **Изотип антител** определяется С-доменами тяжелых цепей, по антигенным свойствам которых различают классы и подклассы иммуноглобулинов (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, IgE); выявляется с помощью антисыворотки против Fc-фрагментов тяжелых цепей в реакции радиальной иммунодиффузии или ИФА.
- **Идиотип антител** детерминируется антигенсвязывающими центрами Fab-фрагментов антител, т.е. антигенными свойствами вариабельных участков (V-доменов). Идиотип состоит из набора **идиотопов** — антигенных детерминант V-доменов антитела.
- **Аллотип антител** определяется индивидуальными отличиями антител каждого класса иммуноглобулина, т.е. отличиями между одними и теми же антителами у разных людей.

Моноклональные антитела являются однородными и высокоспецифичными. Их продуцирует **гибридома** — популяция гибридной клетки, полученной слиянием антителообразующей клетки определенной специфичности с «бессмертной» опухолевой клеткой миеломы, не образующей антител. Например, спленоциты мыши, иммунизированной антигеном, сливают (в среде полиэтиленгликоля) с клетками мышиной миеломы, в результате чего появляется гибридома. Затем отобранные селекцией и размноженные В-лимфоциты гибридомного клона культивируют или прививают в брюшную полость мыши с асцитной опухолью, где в экссудате брюшной полости появляются моноклональные антитела одной специфичности. Моноклональные антитела широко используются в клинико-диагностической практике. При терапии рака и ауто-

иммунных заболеваний, например ревматоидного артрита, также применяют химерные моноклональные антитела.

Химерные моноклональные антитела состоят из вариабельной области Fab-фрагмента мышиных моноклональных антител против определенного антигена и фрагмента IgG-антител человека.

Гуманизированные моноклональные антитела получают соединением генных участков гипервариабельных областей (CDR) иммуноглобулина крысы с генами иммуноглобулина человека. Гуманизированные моноклональные антитела (даклизумаб и базиликсимаб) к рецептору IL-2 применяют в трансплантологии для блокирования активации Т-лимфоцитов.

Генетика антителообразования. По наследству передается всего около 120 структурных генов (зародышевые гены), отвечающих за структуру иммуноглобулинов. Эти гены кодируют только определенные участки молекулы иммуноглобулина. Фрагменты генов иммуноглобулинов разбросаны во многих экземплярах по хромосоме. В ходе развития плазматической клетки они собираются в различных сочетаниях, образуя миллионы вариантов непрерывного функционирующего гена. В каждом В-лимфоците происходит особая рекомбинация ДНК из сегментов зародышевых генов. Рекомбинация ДНК происходит с помощью уникальных ферментов лимфоцитов — **рекомбиназ**, ответственных за расщепление и воссоединение ДНК, вовлеченных в реаранжировку (перестройку).

Феномен объединения сегментов ДНК, кодирующих компоненты молекулы иммуноглобулинов, открыл в 1976 г. С. Тонегава с сотр. (Нобелевская премия 1987 г.). Многообразие иммуноглобулинов (антител) основано на явлениях рекомбинации ДНК, неточности связи полученных сегментов (добавление лишних нуклеотидов) и гипермутации V-генов иммуноглобулинов.

Гены, кодирующие тяжелые (H) цепи иммуноглобулинов, расположены на 14-й хромосоме. В зародышевой конфигурации (*germline configuration*) незрелых клеток эти гены локализуются в четырех областях: V (*variable* — вариабельность), D (*diversity* — разнообразие), J (*joining* — соединяющий) и C (*constant* — константный). Имеется около 50 сегментов V-генов, около 30 сегментов D-генов и шесть сегментов J-генов, кодирующих тяжелую цепь иммуноглобулина человека. Кроме этого, константная область тяжелой цепи детерминируется девятью C-генами: μ — для IgM, $\gamma 1$ — для IgG1, $\gamma 2$ — для IgG2 и т.д. В процессе созревания D-ген связывается с J-геном (D–J-реаранжировка) через делецию части ДНК между ними. Молекулы мРНК транскрибируются с DJ-последовательности и с гена для молекулы (C_μ) константной области IgM. Далее синтезируется DJ– C_μ -белок. При дальнейшем созревании последовательности V-гена перестраиваются таким образом, что V-ген (вместе с сопутствующим L-сегментом) переносится рядом с перестроенным DJ-геном (V-DJ-реаранжировка). Транскрибируется

VDJ Σ -мРНК и синтезируется VDJ Σ -белок. Расщепление ферментами лидерного (L) сигнального белка L-последовательности приводит к образованию тяжелой (μ) цепи IgM. Процесс реаранжировки известен как соматическая рекомбинация; он может происходить даже в отсутствии антигена для создания репертуара молекул потенциального антитела (рецептор антигена). В ходе соматической рекомбинации при транскрипции генов и при сплайсинге (вырезании некодирующего участка нуклеиновой кислоты, расположенного между кодирующими участками — экзонами) происходит утрата отдельных участков нуклеиновых кислот. При сплайсинге молекула РНК вместе с интронами теряет большую часть «лишних» генов.

Гены легких (κ и λ) цепей иммуноглобулинов. Гены для легких κ -цепей находятся на 2-й хромосоме. Около 40 функционально активных V-генов кодируют аминокислоты вариабельной области легкой цепи; пять J-генов кодируют дополнительные аминокислоты. V-гены переносятся рядом с J-генами в процессе реаранжировки ДНК. Далее мРНК транскрибируется с DJ-последовательности вместе с последовательностью для константной области легких κ -цепей (С κ). При этом белок, кодируемый L-последовательностью, отщепляется.

Гены для легких λ -цепей находятся на 22-й хромосоме. Здесь также имеется множество генов константной области и J-последовательностей непосредственно перед С-генами.

Переключение классов иммуноглобулинов. Зрелые В-лимфоциты первыми синтезируют IgM. Впоследствии перестроенные VDJ-последовательности соединяются с другими смежными С-генами. Каждому С-гену (кроме С δ) предшествует так называемая последовательность переключения S (от англ. *switching* — переключение), контролирующая процесс перестройки, рекомбинируя с другими S-последовательностями из-за высокого уровня гомологии. Например, если В-лимфоцит вместо IgM образует IgG1, то вырезаются С μ , С δ и С γ 3, расположенные между VDJ-последовательностью и новым С-геном. При этом С μ -последовательность и другие, расположенные между VDJ-последовательностью и новым С-геном удаляются.

9.4. Иммунологическая память

Иммунологическая память основана на наличии Т- и В-лимфоцитов памяти, образующихся при первичном введении антигена параллельно (с небольшой задержкой) с эффекторными Т-лимфоцитами и плазматическими клетками.

При первичном введении антигена (первичном иммунном ответе) выделяют четыре периода антителообразования:

- 1) латентный, при котором происходит индукция антител с предварительным представлением антигена и накоплением клона антителообразующих клеток;

- 2) логарифмического возрастания антител;
- 3) максимального антителообразования;
- 4) снижения антителообразования.

При **первичном иммунном ответе** первыми образуются IgM, а затем — IgG (рис. 9.29), формируются Т-лимфоциты памяти, которые имеют CD45R0-изоформу тирозинкиназы, ассоциированную с TCR.

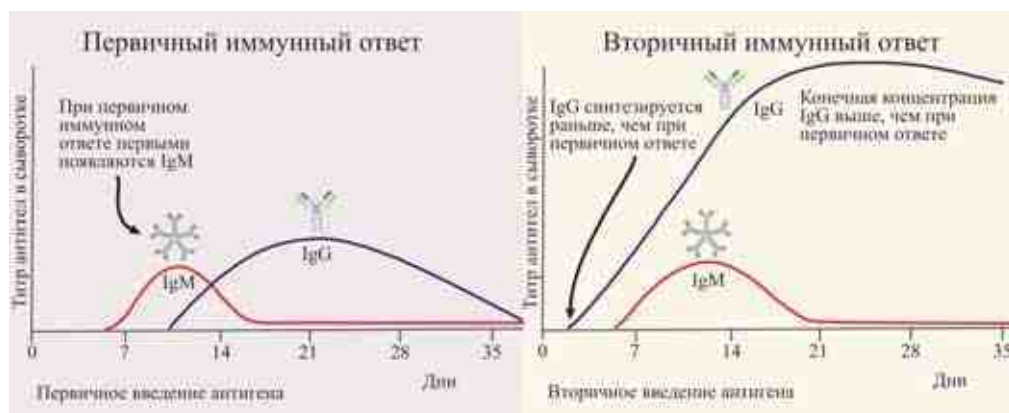


Рис. 9.29. Антителообразование при первичном и вторичном иммунном ответе

Повторное введение антигена, через недели или месяцы после первичного поступления, сопровождается **вторичным иммунным ответом**, при котором благодаря ранее образовавшимся лимфоцитам памяти практически отсутствует латентный период антителообразования. Лимфоциты памяти быстро пролиферируют под влиянием специфического антигена: появляется большая популяция эффекторных клеток, увеличивается синтез антител и цитокинов. При вторичном иммунном ответе за счет лимфоцитов памяти значительно возрастают скорость образования, количество и сродство к антигену (аффинность) IgG-антител. Повторно введенные антигены удаляются более эффективно. Иммунологическая память при некоторых инфекциях (оспа, корь и др.) может сохраняться годами и пожизненно. При вакцинации повторное введение вакцины значительно усиливает иммунный ответ.

9.5. Иммунологическая толерантность

Иммунологическая толерантность — отсутствие иммунного ответа (ареактивность) при наличии в организме антигенов (толерогенов), доступных лимфоцитам. Наиболее толерогенными являются растворимые антигены, так как не вызывают у антигенпредставляющих клеток экспрессию соответствующих костимулирующих молекул для иммунного ответа.

Естественная иммунологическая толерантность (син.: ауто толерантность) — толерантность к антигенам (аутоантигенам) собственных тканей и клеток. Она обусловлена отрицательной селекцией аутореактивных клонов лимфоцитов. Толерантность к собственным антигенам организма развивается в процессе онтогенеза за счет уничтожения аутореактивных клонов лимфоцитов. Т-лимфоциты подвергаются отрицательной селекции в тимусе, а большинство В-лимфоцитов — в костном мозге. Однако оказалось, что толерантность обеспечивается за счет толерогенных сигналов со стороны окружающих клеток. Основную роль в обеспечении толерантности выполняют регуляторные Т-лимфоциты (см. рис. 9.23). Антигены так называемых забарьерных органов в норме не вызывают аутоиммунного ответа, потому что не контактируют с клетками иммунной системы; при травме, длительной инфекции эти антигены попадают в кровь и вызывают иммунный ответ против тканей «забарьерного органа». Кроме этого, экспрессия Fas-лиганда (FasL) на клетках «забарьерных» органов может вызвать при контакте апоптоз Т-лимфоцитов, имеющих Fas-рецептор (CD95).

Искусственная иммунологическая толерантность возможна при введении чужеродных антигенов плоду или сразу после рождения (т.е. в период «иммунологической незрелости»). В 1960 г. Ф. Бернет (Австралия) и П. Медавар (Великобритания) получили Нобелевскую премию за открытие приобретенной иммунологической толерантности. Оказалось, что при введении антигена плоду или новорожденным животным в последующем ими приобреталась невосприимчивость к повторно вводимому антигену (Медавар П., 1953 г.).

Иммунологическая толерантность развивается по следующим направлениям.

- **Делеция клона лимфоцитов**, связавших антиген своими рецепторами и (вместо активации) погибающих в результате сигнала на апоптоз. Делеция аутореактивных клонов лимфоцитов развивается в тимусе и костном мозгу (*центральная толерантность*).
- **Анергия клона лимфоцитов** из-за отсутствия активации лимфоцитов, связавших антиген своими Т- или В-клеточными рецепторами (ингибирующее действие T_{Reg} -лимфоцитов, отсутствие презентации антигенов, отсутствие костимулирующих сигналов, цитокинов и др.). Например, Т-лимфоцит не отвечает на антиген, если при его представлении у антигенпредставляющей клетки не экспрессируются костимулирующие молекулы B7 (CD80/CD86).

9.6. Аллергия. Типы гиперчувствительности

Аллергия (от греч. *allos* — другой) — специфическая повышенная неадекватная реакция иммунной системы на повторное проникновение антиге-

на/аллергена в организм. В аллергических реакциях на антиген/аллерген выделяют иммунную фазу (взаимодействие иммунных клеток с антигеном), патохимическую фазу (продукция медиаторов аллергии, эффекторных клеток и цитокинов) и патофизическую фазу клинических проявлений (кожные высыпания, отек, зуд, удушье и др.). Аллергия проявляется по IgE-зависимому типу и может сочетаться с различными механизмами **гиперчувствительности**.

Повышенная чувствительность (гиперчувствительность) к антигенам/аллергенам рассматривается как результат гипертрофированной реакции иммунной системы с поражением органов и тканей. В 1963 г. Филипп Джелл и Робин Кумбс предложили выделять четыре типа гиперчувствительности (по некоторым источникам зарубежной литературы, типов гиперчувствительности более десяти). Несмотря на наличие широкого спектра известных иммунных повреждений тканей, их основу составляет классификация Ф. Джелла и Р. Кумбса с дополнением современных положений иммунологии (табл. 9.7). Еще ранее Р. Куком (1947 г.) было предложено выделять гиперчувствительность немедленного и замедленного типа.

Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ) обусловлена антителами (IgE, IgG, IgM) против аллергенов*. Она развивается через несколько минут или часов после воздействия аллергена: расширяются сосуды, повышается их проницаемость, развиваются зуд, бронхоспазм, сыпь, отеки. Поздняя фаза ГНТ дополняется действием продуктов эозинофилов и нейтрофилов. К ГНТ относятся I, II и III типы гиперчувствительности (по Ф. Джеллу и Р. Кумбсу): **I тип — анафилактический**, обусловленный главным образом действием IgE, реже IgG₄; **II тип — цитотоксический**, вызванный участием IgG, IgM в цитолитических реакциях; **III тип — иммунокомплексный**, развивающийся при образовании иммунного комплекса IgG, IgM с антигенами. В отдельный тип выделяют **антирецепторные реакции** (наподобие II типа).

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) относится к **IV типу гиперчувствительности** (по Ф. Джеллу и Р. Кумбсу). Она обусловлена взаимодействием антигена (аллергена) с макрофагами и T_H1-лимфоцитами, стимули-

* **Аллергены** — антигены (в основном белки с молекулярной массой 10–80 кДа), способные вызывать аллергические реакции. Аллергены классифицируют по пути проникновения в организм (пищевые, контактные, парентеральные — при укусах насекомых, аэроаллергены — вдыхаемые компоненты клещей, споры грибов и др.), по источнику (аллергены животных, пыльцы, пищевые и др.) и т.д. Аллергены пыльцы растений разнообразны и для каждого региона существует свой «график пыления». Так, в средней полосе известно три пика пыления растений: весенний (пыление деревьев), летний (пыление злаков), летне-осенний (пыление сорных трав). Наибольшей аллергенностью среди продуктов питания обладают молоко, яйца, рыба, мед, ананасы, земляника и многие другие. Для них свойственны перекрестные реакции. Сильными аллергенами являются аллергены домашней пыли (основной компонент — клещи семейства *Pyroglyphidae*). Химические компоненты (к примеру, лекарственные препараты или промышленные аллергены) могут также вызывать аллергические реакции.

рующими клеточный иммунитет. Развивается главным образом через 1–3 сут после воздействия аллергена: происходит уплотнение и воспаление ткани в результате ее инфильтрации Т-лимфоцитами и макрофагами.

Таблица 9.7

Типы гиперчувствительности и соответствующие им клинические проявления

Тип гиперчувствительности по Джеллу и Кумбсу	Иммуно-реагенты	Клинические проявления (с наиболее часто встречающимся типом гиперчувствительности)
I. Анафилактический тип (IgE-опосредованный)	IgE, реже IgG4	Анафилактический шок, атопическая бронхиальная астма, аллергический ринит и конъюнктивит, поллиноз, крапивница, ангиоэдема, пищевая и инсектная аллергия
II. Цитотоксический тип	IgG, IgM	Лекарственная аллергия, гемолитическая анемия, тромбоцитопения, лейкопения
III. Иммунокомплексный тип	IgG, IgM	Сывороточная болезнь, экзогенный аллергический альвеолит, реакция Артюса
IV. Гиперчувствительность замедленного типа	Макрофаги, Т _H 1	Контактный дерматит, контактный конъюнктивит, бруцеллез, туберкулез, лепра, листериоз, лейшманиоз, токсоплазмоз, кандидоз

При I типе гиперчувствительности — **анафилактическом** — первичное поступление аллергена вызывает продукцию плазмócитами IgE, IgG4.

Аллергены, поступившие в организм, встречаются с антигенпредставляющими дендритными клетками, которые мигрируют в лимфатические узлы, и выставляют переработанные антиген-пептиды на свою поверхность вместе с МНС II для последующего взаимодействия с наивными Т-хелперами (Т_H0), которые дифференцируются в Т_H2. После взаимодействия В-лимфоцитов с Т_H2 происходит процесс антителообразования плазматическими клетками. Выработку IgE-антител стимулируют интерлейкины, выделяемые Т_H2 (IL-4, IL-10 и IL-13), а угнетают — IFN-γ и IL-2, выделяемые Т_H1. Синтезированные IgE прикрепляются Fc-фрагментом к высокоаффинным Fc-рецепторам (FcεR1) базофилов крови и тучных клеток слизистых оболочек или соединительной ткани. При повторном поступлении аллергена на тучных клетках и базофилах образуются комплексы IgE с аллергеном (перекрестная сшивка FcεRI антигеном), вызывающие проникновение ионов кальция внутрь клеток и их дегрануляцию (рис. 9.30). Из гранул базофилов и тучных клеток в ткани выбрасываются биологически активные *медиаторы*: вазоактивные амины (гистамин), протеогликаны (гепарин), липидные медиаторы (лейкотриены, простагландины и тромбоцит-активирующий фактор — PAF), ферменты (триптаза, химаза, карбоксипептидаза, катепсин G) и цитокины (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, ГМ-КСФ, ФНО-α). Гистамин, лейкотриен D и простагландины способствуют активному сокращению гладких мышц.

Базофилы имеют также Fc-рецепторы к IgG, которые, связав IgG в составе иммунных комплексов, секретируют тромбоцитарноактивирующий фактор, повышающий проницаемость сосудов в 10 000 раз сильнее, чем гистамин. *Тромбоциты* выделяют медиаторы аллергии, в том числе серотонин. Это поддерживает состояние хронической аллергии.

Хемотаксические факторы привлекают в очаг нейтрофилы, эозинофилы и макрофаги. Так, эозинофильные хемотаксические факторы (ECF), выделяемые тучными клетками, привлекают эозинофилы, которые выделяют ферменты, катионные белки, лейкотриены и основной белок, повреждающий эпителий.

Перечисленные выше метаболиты клеток вызывают сокращение гладких мышц, ослабление сердечной деятельности, развитие коллапса, повышение сосудистой проницаемости, гиперсекрецию слизи, отек, зуд и т.д. Гиперчувствительность I типа — пример типичной воспалительной реакции, вызванной определенным антигеном/аллергеном.

В качестве специфической терапии при аллергической патологии следует выделить аллергенспецифическую иммунотерапию (АСИТ). При этом происходит введение постепенно увеличивающейся концентрации аллергенов пациенту, страдающему IgE-опосредованной аллергией, для устранения симптомов заболеваний, возникающих при контакте с этим причинно-значимым аллергеном.

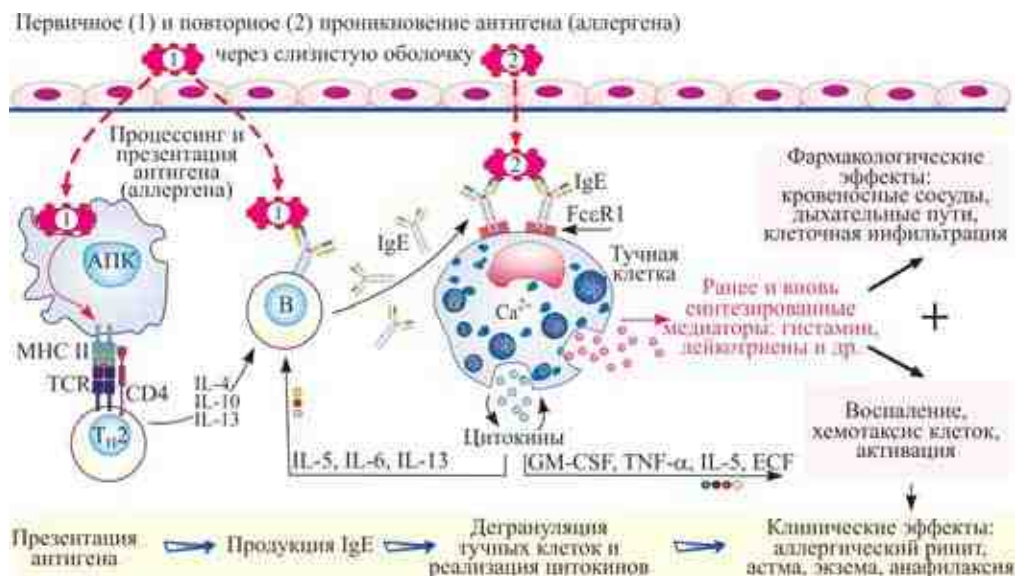


Рис. 9.30. Механизм гиперчувствительности I типа:

1 — первичное поступление аллергена способствует продукции IgE, которые прикрепляются Fc-фрагментом к тучным клеткам и базофилам; 2 — повторно поступивший аллерген перекрестно связывается с IgE на клетках, в результате чего ионы кальция проникают в клетки; они активируются, дегранулируют, выбрасывая гистамин и другие медиаторы аллергии

Клинические проявления гиперчувствительности I типа обычно протекают на фоне атопии.

Атопия — наследственная предрасположенность к развитию ГНТ, обусловленная повышенной выработкой IgE-антител к аллергену, повышенным количеством Fc-рецепторов для этих антител на тучных клетках, особенностями распределения тучных клеток и повышенной проницаемостью тканевых барьеров. Системным и грозным проявлением этого типа служит **анафилактический шок (системная анафилаксия)** — острое, практически мгновенное возникновение аллергии, обусловленное IgE-антителами и высвобождающимися медиаторами. Процесс протекает быстро с развитием коллапса, отеков, спазма гладкой мускулатуры; нередко заканчивается смертью. Анафилактический шок чаще возникает при парентеральном введении лекарственных препаратов, сывороток крови, рентгеноконтрастных веществ и т.д., а также при укусах или ужалении насекомыми и как реакция на пищевые или пыльцевые аллергены.

К другим проявлениям гиперчувствительности I типа относят следующие. **Аллергическая крапивница** — увеличивается проницаемость сосудов, кожа краснеет, появляются пузыри, зуд. **Ангиоэдема** — отек подкожных и субмукозных тканей; часто сочетается с крапивницей. **Аллергический ринит** или **риноконъюнктивит** — развивается отек, раздражается слизистая. **Поллиноз** (сенная лихорадка) — аллергия к пыльце растений, для которой характерны вазомоторные проявления слизистых оболочек (ринит, конъюнктивит) и бронхоспазм. **Бронхиальная астма** (атопическая форма — IgE-зависимая) — развиваются воспаление, бронхоспазм, усиливается секреция слизи в бронхах. **Пищевая аллергия** — повышенная чувствительность человека к определенным продуктам питания; развиваются тошнота, диарея, сыпь, зуд, анафилаксия. **Лекарственная аллергия** — иммунопатологическая реакция организма на лекарственные средства и продукты их превращения в организме. **Инсектная аллергия** — повышенная чувствительность человека на укусы насекомых, а также на аэрогенное или контактное воздействие компонентов насекомых.

Лабораторная диагностика. Определение в сыворотке крови больного: общего IgE, а также IgE- и IgG-антител к предполагаемым аллергенам; уровня гистамина, триптазы, интерлейкинов (IL-5, IL-4). У больных поллинозом при обострении в мазках из носа возрастает количество эозинофилов. Возможна эозинофилия в крови. Ставят провокационные назальные, ингаляционные и кожные тесты с атопическими аллергенами: пыльцевыми, бытовыми, пищевыми, эпидермальными и др.

II тип гиперчувствительности — цитотоксический (цитолитический). Эндогенные антигены или экзогенные химические вещества, лекарственные препараты (гаптены), прикрепленные к мембранам клеток, могут вызвать образование антител против них и привести ко II типу гиперчувствительности. Антигены, расположенные на клетках, «узнаются» антителами классов IgG, IgM. При взаимодействии типа клетка–антиген–антитело происходит активация

комплемента и разрушение клетки по трем направлениям: *комплементзависимый цитолиз*, *фагоцитоз* и *антителозависимая клеточная цитотоксичность*. Время реакции — минуты или часы. Ко II типу гиперчувствительности близки антирецепторные реакции (так называемый V тип гиперчувствительности), основой которых являются антирецепторные антитела, например антитела против рецепторов к гормонам.

Комплементзависимый цитолиз (цитолиз, опосредованный комплементом). Антитела взаимодействуют с антигенами различных веществ, лекарств/гаптенов на поверхности клеток-мишеней. Затем к Fc-фрагменту антител присоединяется комплемент (C), который активируется по классическому пути с образованием анафилатоксинов (C5a- и C3a-компонентов) и мембраноатакующего комплекса, состоящего из компонентов C5–9. Мембраноатакующие комплексы комплемента вызывают комплементзависимый цитолиз клетки.

Фагоцитоз. Фагоциты могут поглощать и/или разрушать опсонизированные антителами и комплементом (C3b) клетки-мишени, содержащие антиген.

Антителозависимая клеточная цитотоксичность — лизис НК-клетками клеток-мишеней, опсонизированных антителами. НК-клетки присоединяются к Fc-фрагментам иммуноглобулинов, которые связались с антигенами клеток-мишеней. Уничтожение клетки-мишени происходит с помощью перфоринов и гранзимов НК-клеток.

Клинические проявления. По II типу гиперчувствительности развиваются некоторые аутоиммунные болезни, обусловленные появлением аутоантител к антигенам собственных тканей: злокачественная миастения, аутоиммунная гемолитическая анемия, вульгарная пузырчатка, синдром Гудпасчера, аутоиммунный гипертиреозидизм.

Аутоиммунную гемолитическую анемию вызывают антитела против Rh-антигена эритроцитов; эритроциты разрушаются в результате активации комплемента и фагоцитоза. *Лекарственно-индуцируемая гемолитическая анемия, гранулоцитопения и тромбоцитопения* сопровождаются появлением антител против лекарства-гаптена и цитолизом клеток, содержащих этот антиген. *Вульгарную пузырчатку* (в виде пузырей на коже и слизистой оболочке) вызывают аутоантитела против молекулы межклеточной адгезии. *Синдром Гудпасчера* в виде нефрита в сочетании с кровоизлияниями в легких вызывают аутоантитела против базальной мембраны клубочковых капилляров и альвеол. При злокачественной *миастении*, сопровождающейся выраженной слабостью, образуются антитела (аутоантитела) против рецепторов ацетилхолина на клетках мышц. Антитела блокируют связывание ацетилхолина рецепторами, что ведет к мышечной слабости.

Другие аутоантитела, наоборот, вместо блокады оказывают стимулирующий эффект. Например, при *аутоиммунном гипертиреозидизме* (болезни Грейвса) антитела к рецепторам для тиреотропного гормона (ТТГ), имитируя его действие, стимулируют функцию щитовидной железы.

Лабораторная диагностика включает определение циркулирующих противотканевых антител, а также определение с помощью РИФ наличия антител и комплемента в поврежденных участках (биопсия).

III тип гиперчувствительности — иммунокомплексный, основанный на образовании растворимых иммунных комплексов (антиген–антитело и комплемент) с участием IgG, реже — IgM (рис. 9.31).

Первичными компонентами III типа гиперчувствительности являются растворимые иммунные комплексы антиген–антитело и комплемент (анафилаксины C5a, C4a, C3a). При избытке антигенов или недостатке комплемента иммунные комплексы откладываются на стенке сосудов, базальных мембранах, т.е. структурах, имеющих Fc-рецепторы. Повреждения обусловлены тромбоцитами, нейтрофилами, иммунными комплексами, комплементом. Привлекаются провоспалительные цитокины, включая ФНО- α и хемокины. В поздних стадиях в процесс вовлекаются макрофаги.

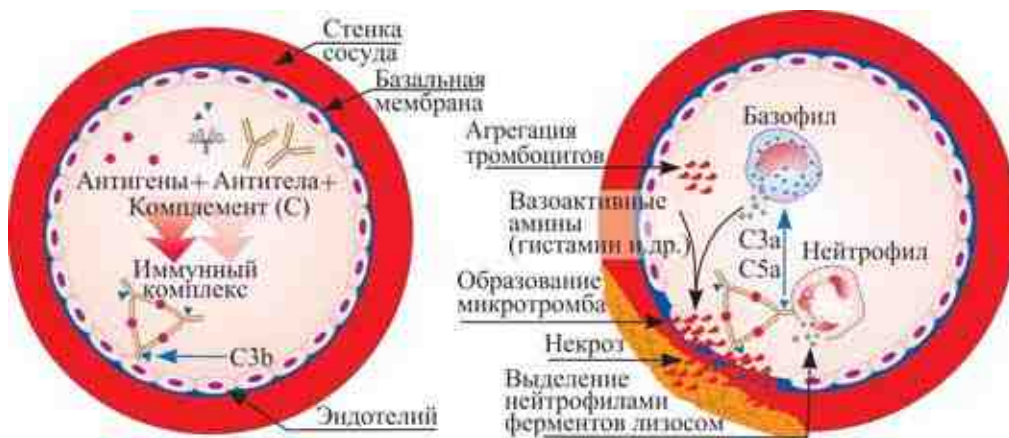


Рис. 9.31. Стадии развития гиперчувствительности III типа (отложение иммунных комплексов в стенках кровеносных сосудов)

Клинические проявления. Реакция может быть общей (например, сывороточная болезнь) или вовлекать отдельные органы, ткани, включая кожу (системная красная волчанка, реакция Артюса), почки (волчаночный нефрит) или другие органы. Эта реакция может быть обусловлена многими микробами. Она развивается через 3–10 ч после экспозиции антигена, как в реакции Артюса. Антиген может быть экзогенный (хронические бактериальные, вирусные, грибковые или протозойные инфекции) или эндогенный, как при системной красной волчанке.

Сывороточная болезнь происходит при введении высоких доз антигена, например лечебной лошадиной противостолбнячной сыворотки. Через 6–7 дней в крови появляются антитела против лошадиного белка, которые, взаимодей-

ствуя с данным антигеном, образуют иммунные комплексы, откладывающиеся в стенках кровеносных сосудов и тканях. Развиваются системные васкулиты, артриты (отложение комплексов в суставах), нефрит (отложение комплексов в почках).

Реакция Артюса развивается при повторном внутрикожном введении антигена, который локально образует иммунные комплексы с ранее накопившимися антителами. Проявляется отеком, геморрагическим воспалением и некрозом.

Лабораторная диагностика — исследуют биоптаты тканей для выявления отложений иммуноглобулинов и комплемента с помощью РИФ. В иммунных комплексах, осажженных полиэтиленгликолем из крови, определяют IgG.

IV тип — гиперчувствительность замедленного типа, обусловленная макрофагами и T_H1 -лимфоцитами, которые отвечают за стимуляцию клеточного иммунитета.

Гиперчувствительность замедленного типа развивается главным образом через 1–3 сут после повторного воздействия аллергена: происходит уплотнение и воспаление ткани в результате ее инфильтрации Т-лимфоцитами и макрофагами. В фазу сенсибилизации поступивший антиген или гаптен, связавшийся с белками организма, процессируется и презентруется дендритной клеткой Т-хелперу (T_H0), который формирует клон воспалительных T_H1 . При повторном поступлении антигена (эффе́кторная фаза) происходит повторная его презентация T_H1 , который, активируясь, продуцирует хемокины и $IFN-\gamma$, соответственно привлекающие и активирующие макрофаги. Активированные макрофаги секретируют цитокины, в том числе ФНО- α — ключевой фактор в формировании гранулем. Феномен вызывается $CD4^+$ Т-лимфоцитами (субпопуляция T_H1) и $CD8^+$ Т-лимфоцитами, которые секретируют цитокины ($IFN-\gamma$), активирующие макрофаги, и индуцируют воспаление (ФНО- α). При некоторых нарушениях $CD8^+$ ЦТЛ непосредственно убивают клетку-мишень, несущую комплексы МНС I + антиген (аллерген).

Клинические проявления. При ГЗТ повреждение ткани происходит в результате действия продуктов активированных макрофагов, таких как гидролитические ферменты, реактивные промежуточные продукты кислорода, оксид азота и провоспалительные цитокины. Эндотелиальные клетки сосудов в условиях повреждения экспрессируют цитокинрегулируемые поверхностные белки в виде молекул адгезии и МНС II. При хронической ГЗТ часто образуется фиброз как результат секреции цитокинов и факторов роста макрофагов.

Многие органоспецифические аутоиммунные болезни являются результатом ГЗТ, индуцированной аутореактивными Т-лимфоцитами. Например, при инсулинзависимом сахарном диабете инфильтраты лимфоцитов и макрофагов найдены вокруг островков Лангерганса поджелудочной железы; происходит разрушение инсулинпродуцирующих β -клеток, что обуславливает дефицит инсулина.

Лекарства, косметические препараты, низкомолекулярные вещества (гаптены) могут соединяться с белками тканей, образуя комплексный антиген с развитием *контактной ГЗТ*. Инфекционные болезни (бруцеллез, туляремия, туберкулез, лепра, токсоплазмоз, многие микозы и др.) сопровождаются развитием ГЗТ, поэтому при диагностике используют кожно-аллергические пробы с аллергенами возбудителей: туберкулинами, лепромином, бруцеллином, тулярином, токсоплазмином и др. Примером такого типа гиперчувствительности может служить *туберкулиновая ГЗТ* (туберкулиновая проба Манту), положительный результат которой проявляется развитием в месте внутрикожного введения препаратов туберкулина инфильтрата (уплотнения), включающего лимфоциты, моноциты и макрофаги.

Лабораторная диагностика включает постановку кожных тестов. Применяют внутрикожные тесты с аллергенами микробов (с туберкулином, бруцеллином, токсоплазмином и др.). Реакция оценивается через 24–48 ч. Возможно гистологическое изучение кожи.

Тестовые вопросы и задания

А. Центральными органами иммунной системы являются:

- 1) костный мозг;
- 2) тимус;
- 3) селезенка;
- 4) пейеровы бляшки;
- 5) миндалины.

Б. Периферическими органами иммунной системы являются:

- 1) лимфатические узлы;
- 2) селезенка;
- 3) пейеровы бляшки;
- 4) кровь.

В. Назовите основное место созревания и дифференцировки Т-лимфоцитов:

- 1) вилочковая железа;
- 2) костный мозг;
- 3) селезенка;
- 4) лимфатические узлы;
- 5) пейеровы бляшки.

Г. Перечислите свойства антигенов:

- 1) аффинность;
- 2) антигенность;
- 3) авидность;
- 4) специфичность;
- 5) иммуногенность.

Д. К клеткам врожденного иммунитета относятся:

- 1) нейтрофилы;
- 2) моноциты;
- 3) НК;
- 4) дендритные клетки;
- 5) Т- и В-лимфоциты;
- 6) эозинофилы;
- 7) базофилы.

Е. Какие из представленных факторов относятся к врожденному иммунитету:

- 1) макрофаги;
- 2) лизоцим;
- 3) комплемент;
- 4) нормальная микрофлора;
- 5) интерфероны;
- 6) антимикробные пептиды;
- 7) белки теплового шока.

Ж. Назовите антигенпредставляющие клетки:

- 1) кровяные моноцитарные $CD14^+$;
- 2) кожные, интерстициальные дендритные клетки;
- 3) клетки Лангерганса;
- 4) плазмцитоподобные дендритные клетки;
- 5) Т-лимфоциты.

З. Паттернраспознающие рецепторы распознают:

- 1) PAMP;
- 2) пептидогликан;
- 3) CpG-богатые участки ДНК бактерий;
- 4) DAMP.

И. Отметьте, что относится к гуморальным факторам врожденного иммунитета:

- 1) антимикробные пептиды;
- 2) белки теплового шока;
- 3) белки системы комплемента;
- 4) белки острой фазы;
- 5) Т-лимфоциты.

К. Перечислите паттернраспознающие рецепторы:

- 1) TLR;
- 2) NLR (NOD-подобные рецепторы);
- 3) RLR (RIG-подобные рецепторы);
- 4) Scavenger-рецептор («мусорщик»).

Л. Какие клетки врожденного иммунитета участвуют в презентации антигена Т-лимфоцитам:

- 1) нейтрофилы;
- 2) макрофаги;
- 3) естественные киллеры;
- 4) дендритные клетки;
- 5) В-лимфоциты.

М. При первичном иммунном ответе первыми появляются:

- 1) IgE;
- 2) IgA;
- 3) IgG;
- 4) IgM.

Н. Для вторичного иммунного ответа характерно:

- 1) преобладание IgD;
- 2) преобладание IgA;
- 3) преобладание IgG;
- 4) преобладание IgD;
- 5) практически отсутствие латентного периода антителообразования.

О. В каких реакциях могут участвовать иммуноглобулины:

- 1) активация системы комплемента;
- 2) ГНТ;
- 3) активация фагоцитоза;
- 4) дефенсинов;
- 5) активация TLR.

П. Какие маркеры можно определить на поверхности цитотоксических Т-лимфоцитов:

- 1) CD3;
- 2) CD4;
- 3) CD8;
- 4) CD16;
- 5) CD56.

Р. Клеточный адаптивный иммунитет обусловлен:

- 1) активацией комплемента;
- 2) действием антител;
- 3) действием цитотоксических лимфоцитов;
- 4) действием НК-клеток;
- 5) активацией макрофагов.

С. К субпопуляциям CD4⁺-лимфоцитов относятся:

- 1) T_H1;
- 2) T_H2;
- 3) T_H17;
- 4) регуляторные Т-лимфоциты;
- 5) НК-клетки.

Т. Какие клетки способны становиться клетками памяти:

- 1) естественные киллеры;
- 2) макрофаги;
- 3) В-лимфоциты;
- 4) Т-лимфоциты;
- 5) дендритные клетки.

У. IgE участвует в:

- 1) реакциях цитотоксического типа;
- 2) реакциях анафилактического типа;
- 3) формировании гиперчувствительности иммунокомплексного типа;
- 4) формировании гиперчувствительности замедленного типа.

Ф. К формам адаптивного иммунного ответа относятся:

- 1) антителообразование;
- 2) ГНТ;
- 3) ГЗТ;
- 4) иммунологическая память;
- 5) активация комплемента по альтернативному и лектиновому путям.

10

Особенности иммунитета при различных локализациях и состояниях

10.1. Роль барьерных тканей

Большинство возбудителей инфекций, с которыми организм сталкивается постоянно, проникает в организм хозяина через барьерные ткани — слизистые оболочки и кожу. Они препятствуют проникновению различных патогенов в организм и участвуют в развитии защитных реакций врожденного иммунитета на патогены, в инициации реакций адаптивного иммунитета, в формировании толерантности к комменсалам и пищевым антигенам. Значительная часть инфекционных агентов элиминируется на локальном уровне за счет механизмов врожденного иммунитета слизистых оболочек и кожи. Иммунные механизмы, развивающиеся на уровне слизистых оболочек, являются примером местного (или мукозального) иммунитета, концепцию которого впервые выдвинул А.М. Безредка.

Следует отметить также, что многие патологические процессы, такие как аллергия, хроническое воспаление и др., развиваются с вовлечением слизистых оболочек и кожи.

Иммунитет слизистых оболочек. Слизистая оболочка (от лат. *tunica mucosa*) выполняет барьерную функцию, препятствуя проникновению в организм микробов, аллергенов, антигенов пищи и т.д., в результате комплекса факторов (перистальтика, движения ресничек эпителия, выделение слизи, ферментов, формирование кислого pH желудка и т.д.). Она состоит из эпителия, под которым находится соединительная ткань (собственная пластинка, от лат. *lamina propria*) и слой гладких мышц (мышечная пластинка, от лат. *lamina muscularis*). Под мышечной пластинкой локализуется слой рыхлой соединительной ткани (подслизистая основа, от лат. *tela submucosa*). Среди лимфоидных образований слизистых оболочек выделяют лимфоидную ткань, ассоциированную с ЖКТ,

бронхами, носоглоткой и др. В сочетании эти лимфоидные структуры создают функционально единую систему иммунитета — лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистыми оболочками.

На основании морфологических особенностей и функций слизистые оболочки организма могут быть разделены на два типа:

- 1) **первый тип** включает слизистые оболочки тонкого и толстого кишечника, дыхательной системы (полость носа, дыхательные пути, легкие), верхних отделов женской половой системы (яичники, фаллопиевы трубы, матка);
- 2) роговица, слизистые оболочки ротовой полости, пищевода и нижних отделов женской половой системы (цервикальный канал, влагалище) относятся ко **второму типу**.

Характерный признак структурных образований лимфоидной системы, ассоциированной со слизистыми оболочками, — синтез В-лимфоцитами секреторного IgA (sIgA), который определяется только в секретах слизистых оболочек I типа и в норме не выявляется в периферической крови. В клетках эпителия слизистых оболочек II типа практически не происходит транспорта IgA в *lamina propria*. Слизистая оболочка II типа представлена многослойным неороговевающим эпителием.

Слизистые оболочки бронхолегочного тракта. Эпителиальные клетки слизистых оболочек дыхательной системы выполняют двоякую иммунологическую функцию: барьерную и секреторную. С другой стороны, существуют специализированные эпителиальные клетки, М-клетки, которые без специальной подготовки способны осуществлять такие иммунологические функции, как связывание и представление антигена, секреция цитокинов. Миграция дендритных клеток в слизистую оболочку бронхов происходит при участии молекул адгезии β_2 -интегринов и хемокинов. Активность дендритных клеток повышается в условиях воспаления и действия микробных продуктов. В эпителиальном слое слизистой оболочки дыхательных путей присутствуют CD8⁺ Т-лимфоциты. В различных слоях бронхиальной и альвеолярной стенок находятся макрофаги и нейтрофилы. В норме большая часть макрофагов представляет собой резидентные клетки, дифференцирующиеся из моноцитов крови, лишь незначительная часть находится в активном состоянии.

Слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта. Ведущую роль в функционировании врожденного иммунитета в области ЖКТ играет микрофлора кишечника. Она участвует в колонизационной резистентности (см. разд. 4.2.1), обладает антагонистическими свойствами против патогенной и гнилостной микрофлоры, так как продуцирует молочную и уксусную кислоты, антибиотики, бактериоцины; конкурирует с посторонней микрофлорой за счет более высокого биологического потенциала. Антигены микрофлоры стимулируют иммунную систему. Так, бактериальные короткоцепочечные жирные кислоты, мурамилди- и мурамилтрипептиды (см. рис. 9.14), образующиеся из пептидогликана бактерий под влиянием лизоцима и других антимикробных

пептидов кишечника, усиливают местный иммунитет. Кроме того, антимикробные пептиды и антитела (секреторный IgA) подавляют адгезию посторонних микробов к эпителиоцитам.

Несмотря на то что микробные антигены служат главными индукторами Т-лимфоцитов, воспалительные процессы кишечника — относительно редкое явление. При проникновении через слизистую оболочку пищевых антигенов или непатогенных микроорганизмов (комменсалов) воспаление не развивается благодаря феномену *оральной толерантности*. Эта толерантность обусловлена блокадой активации сигнальных рецепторов (TLR и других PRR) к компонентам микрофлоры человека и активностью регуляторных Т-лимфоцитов (T_{Reg}). Кроме этого, внутренний слой муцина ограничивает прямой контакт бактерий с эпителиоцитами (рис. 10.1). Нарушение оральной толерантности способствует развитию иммунопатологии (хронического гастрита, болезни Крона, неспецифического язвенного колита и др).

Рост посторонней микрофлоры задерживается в результате антагонистических свойств нормальной микрофлоры и блокирующего действия секреторного IgA и антимикробных пептидов. У младенцев угнетающим действием также обладает лактоферрин, поступающий с грудным молоком матери.

Слизистые оболочки ЖКТ содержат дендритные клетки, CD4⁺ Т-хелперы (T_H1, T_H2, T_H17, T_{Reg}), γδ-Т-лимфоциты, NK-клетки, естественные киллерные Т-клетки (NKT), макрофаги, тучные клетки и антимикробные пептиды. Эти компоненты поддерживают состояние физиологического покоя на местном и системном уровне, сдерживая и предотвращая распространение патологического процесса. В пейеровых бляшках происходит дифференцировка В-лимфоцитов в плазматические клетки, продуцирующие антитела, в том числе IgA и IgE. При переносе IgA на поверхность слизистой оболочки в эпителиальных клетках к ним присоединяются секреторные компоненты, защищающие молекулы sIgA от переваривания.

Слизистые оболочки урогенитального тракта. Компоненты иммунной системы, локализованные в районе слизистых оболочек урогенитального тракта, изучены значительно меньше по сравнению с процессами, происходящими в кишечнике или бронхолегочном аппарате. Структурированные образования, аналогичные лимфоидной ткани кишечника или респираторного тракта, найдены лишь в фаллопиевых трубах. Дендритные клетки обнаружены в значительной степени в слизистой оболочке влагалища, в то же время они отсутствуют в уретре. В слизистой оболочке урогенитального тракта присутствуют В-лимфоциты, несущие рецептор IgA и дифференцирующиеся в клетки-продуценты IgA. Наиболее активно механизм продукции секреторных иммуноглобулинов работает в шейке матки и фаллопиевых трубах. Следует отметить, что урогенитальный тракт практически полностью лишен структурной лимфоидной ткани, в результате этого почти отсутствуют механизмы, обеспечивающие реализацию афферентного звена иммунного ответа.

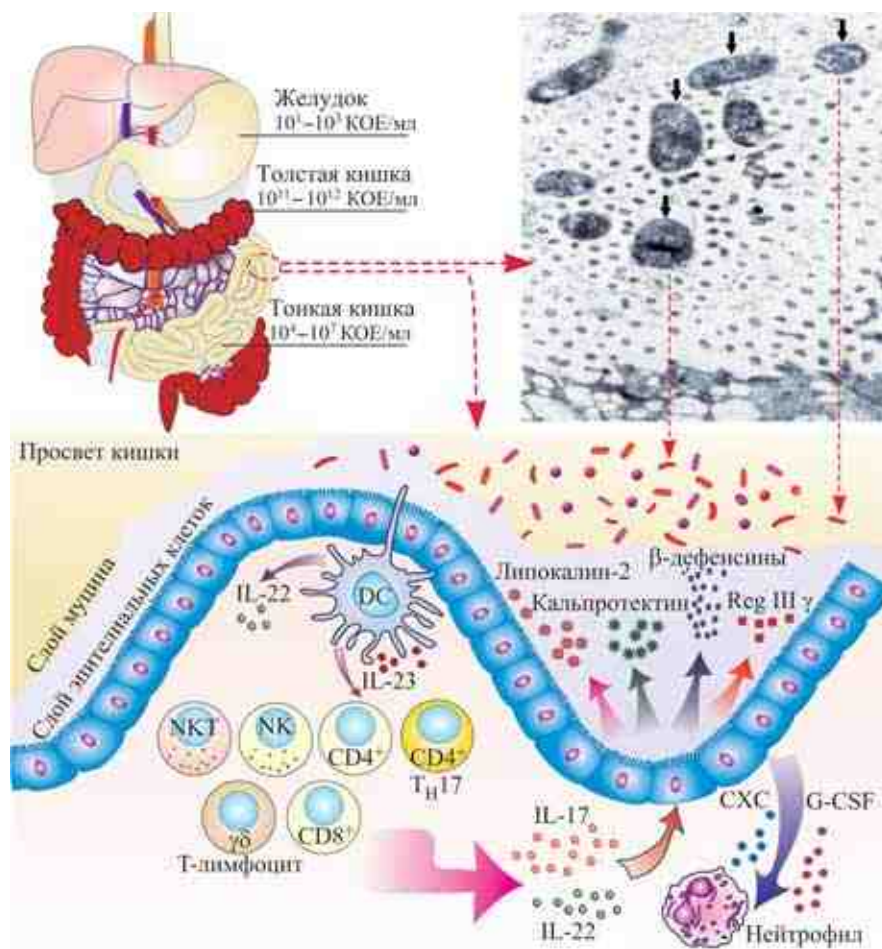


Рис. 10.1. Численность микробов кишечника в колониеобразующих единицах (КОЕ) и взаимодействие грамотрицательных бактерий с эпителиоцитами тонкой кишки (электроннограмма ультратонкого среза).

Нижний фрагмент показывает схему иммунного аппарата кишки. Дендритные клетки, активированные патогеном, секретируют ряд цитокинов, в том числе IL-22 и IL-23. Последний стимулирует несколько субпопуляций Т-лимфоцитов (T_H17 , $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты, NK, и NKT-лимфоциты), продуцирующих IL-17 и IL-22. Т-лимфоциты способствуют усилению защиты хозяина стимулированием кишечного эпителия, секретирующего хемокины CXC (хемоаттрактанты нейтрофилов) и антимикробные пептиды (липокалин-2, кальпротектин, лектин Reg3 и β -дефенсины)

Иммунитет кожи. Кожа — это барьерная ткань, и, что особенно важно отметить, в ней протекает иммунный ответ, реализуемый лимфоидной тканью, ассоциированной с кожей (SALT).

Существенным фактором врожденного иммунитета является нормальная микрофлора кожи (или нормофлора, микробиота). Она представлена биологической пленкой, состоящей из микробных клеток, микробного экзополисахара-

ридного гликокаликса и секретов покровных тканей. Кожа поддерживает рост этих бактерий-комменсалов, которые защищают хозяина от патогенных бактерий (в результате продукции бактериоцинов, конкуренции за питательные вещества и за рецепторы клеток и т.д.). В норме появление избытка микробов на коже сдерживают микробоцидные факторы врожденного и приобретенного иммунитета (антимикробные пептиды, IgA, IgG, трансферин, органические кислоты). Низкие уровни pH и температуры кожи также ограничивают размножение микробов (большинство бактерий растут лучше при нейтральном pH и 37 °C).

Кожа состоит из эпидермиса, дермы и подкожной жировой клетчатки. Компоненты кожи рассматриваются как аутоантигены, играющие роль при буллезных заболеваниях кожи. Кератиноциты как сенсоры опасности являются основными часовыми кожи. Через паттернраспознающие рецепторы (TLR и др.) они выявляют чужеродные и опасные агенты, например патогенассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs) микробного происхождения и опасность-ассоциированные молекулярные паттерны (DAMPs). В результате активируется синтез провоспалительных цитокинов (IL-1 β и др.).

Эпидермис содержит помимо кератиноцитов (рис. 10.2) меланоциты (защищают от УФ-лучей), клетки Меркеля (участвуют в тактильной чувствительности и развитии кожи) и клетки Лангерганса (участвуют в презентации антигена Т-лимфоцитам). Основную барьерную функцию кожи выполняет ее роговой слой (*stratum corneum*), представленный корнеоцитами (ороговевающие кератиноциты), между которыми располагается межклеточный «цемент», состоящий из смеси полярных липидов, среди которых преобладают церамиды (главные водно-сохраняющие молекулы в межклеточном пространстве), холестерин и сульфат холестерина. Там же находятся нейтральные жиры и свободные жирные кислоты. Это передовая линия защиты кожи от вторжения микробов.

Дерма содержит дермальные дендритные клетки, плазмоцитоидные дендритные клетки, CD4⁺ Т-хелперы (T_H1, T_H2, T_H17, T_{Reg}), $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты, естественные киллерные Т-клетки (NKT), макрофаги, тучные клетки и фибробласты.

Важную роль в приобретенном иммунитете играют клетки Лангерганса. Захватив и переработав патоген (антиген), клетки Лангерганса в виде вуалевидных клеток перемещаются из своих мест обитания (базальных и супрабазальных слоев эпидермиса кожи) по афферентным лимфатическим сосудам в паракортикальную зону регионарных лимфатических узлов. Здесь они дифференцируются в дендритные клетки, обвивающие своими отростками Т-лимфоциты, и презентруют антиген наивным Т-лимфоцитам с помощью молекул МНС и костимулирующих молекул. Т-лимфоциты, в свою очередь, активируют В-лимфоциты и ЦТЛ. Обученные иммунциты поступают в кожу с помощью экспрессируемых ими хоминговых (CLA-1) и хемокиновых рецепторов. Лигандом для CLA-1 является Е-селектин.

Вовлеченные в иммунологический надзор в коже $\gamma\delta$ -Т- и NKT-лимфоциты, как и обычные ЦТЛ, продуцируют перфорин и гранзим В, вызывая апоптоз

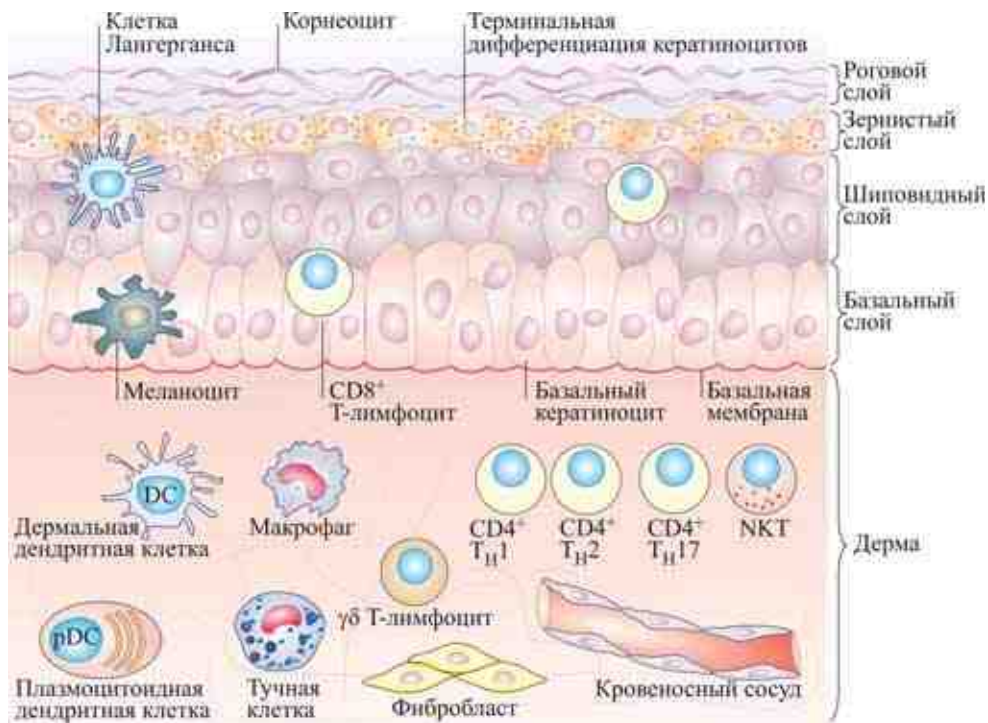


Рис. 10.2. Компоненты кожи. Эпидермис содержит базальный, шиповатый, зернистый и роговой слои. Специализированные клетки в эпидермисе включают клетки Лангерганса и меланоциты, продуцирующие пигмент (меланин), обуславливающие окраску кожи. Цитотоксические $CD8^+$ Т-лимфоциты могут находиться в базальном и шиповатом слоях. Дерма содержит дермальные дендритные клетки (DC), плазмоцитонидные дендритные клетки (pDCs), $CD4^+$ Т-хелперы (T_H1 , T_H2 и T_H17), $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты, естественные киллерные Т-клетки (NKT), макрофаги, тучные клетки, фибробласты, а также нервы, кровяные и лимфатические сосуды

измененных или инфицированных клеток. Продуцируя фактор некроза опухоли и $IFN-\gamma$, они активируют дермальные дендритные клетки. Кроме того, Т- и NKT-лимфоциты продуцируют цитокины, которые существенны для заживления раны, например фактор роста соединительной ткани (*connective tissue growth factor*, CTGF), фактор роста фибробластов (*fibroblast growth factor 9*, FGF9, или GAF), фактор роста кератиноцитов (*keratinocyte growth factor*, KGF) и др.

10.2. Особенности противобактериального иммунитета

При острой бактериальной инфекции возбудители проникают через кожу или через слизистые оболочки и распознаются сигнальными рецепторами (TLR, NOD1, NOD2 и др.) врожденного иммунитета, в результате чего вырабаты-

ваются эффекторные молекулы (провоспалительные цитокины, хемокины). Антимикробные пептиды (лизозим, дефенсины, кателицидин) разрушают оболочку бактерий. Фагоциты перемещаются к объекту фагоцитоза, реагируя на хемоаттрактанты: вещества микробов, активированные компоненты комплемента (C5a, C3a) и цитокины. Если данных механизмов недостаточно, то бактериальные клетки проникают в кровоток, что может вызвать генерализацию инфекции.

Основное значение в противобактериальном иммунитете имеет гуморальное звено адаптивного иммунитета (выработка антител плазматическими клетками). Антитела, образующиеся против бактериальных экзотоксинов, нейтрализуют их, препятствуя повреждению тканей. Они также связывают бактериальные клетки и посредством фагоцитов (макрофагов, нейтрофилов) или системы комплемента приводят к разрушению патогена и его элиминации из организма. Секреторные IgA, взаимодействуя с бактериями, препятствуют их адгезии на эпителиоцитах.

Антитела и комплемент (C3b, iC3b) обволакивают бактерии и «приклеивают» их к Fc-, CR1-, CR3-, CR4-рецепторам фагоцитов, исполняя роль опсоинов вместе с другими белками, усиливающими фагоцитоз (C-реактивным белком, маннозсвязывающим лектином и др.). Дефект синтеза антител, особенно IgG1, IgG3, а также C3-компонента комплемента и нарушение фагоцитоза значительно снижают антибактериальный эффект. Фагоциты уничтожают бактерии с помощью активных форм кислорода, оксида азота, катионных антимикробных пептидов (включая дефенсины) и других механизмов. Внутриклеточные возбудители (микобактерии туберкулеза, лепры и др.) могут выживать в фагоцитах с недостаточной антибактериальной активностью. Тогда включается механизм клеточного иммунитета с активацией T_H1 , ЦТЛ и макрофагов.

Бактерии способны игнорировать механизмы иммунитета, что приводит к хронизации процесса. Существуют механизмы ускользания бактерий от иммунного надзора и ингибирования ими как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Так, бактерии и их протеазы могут приводить к деградации компонентов системы комплемента, а также антител. Капсула бактерий препятствует распознаванию их антителами (опсонизации) и последующему фагоцитозу. Гликолипиды *M. tuberculosis* защищают бактериальную клетку от агрессивной среды фаголизосом. Шигеллы и листерии мигрируют из фагосомы до образования фаголизосомы. Сальмонеллы способны разрушать антимикробные пептиды (дефенсины, кателицидины), иерсинии могут индуцировать выработку IL-10, что приводит к ингибированию иммунных механизмов. Гонококки способны инактивировать пролиферацию $CD4^+$ Т-лимфоцитов.

Таким образом, при активации врожденного, а затем адаптивного иммунитета происходит элиминация патогенных микроорганизмов, но возможна и хронизация инфекционного процесса. В таком случае бактериальные антигены могут приводить к иммунопатологии (аутоиммунные заболевания, вторичный иммунодефицит).

10.3. Особенности противовирусного иммунитета

Обычно первым барьером, с которым сталкиваются вирусы, являются кожные покровы и слизистые оболочки организма. В случае нарушения их целостности активируются механизмы врожденного иммунитета. На этом этапе инфекции вирусу противостоят секреторные компоненты врожденного иммунитета, в частности компоненты системы комплемента и антимикробные пептиды (α -дефенсины ингибируют репродукцию некоторых вирусов, а кателицидин и другие разрушают оболочки вирусов). Большую роль также играют нормальная микрофлора, гликокаликс клеток слизистых оболочек. Если все-таки вирусы проникли в клетки, происходит выработка инфицированными клетками интерферонов первого типа ($IFN-\alpha$ и $IFN-\beta$). Гибель инфицированных клеток сопровождается выделением эффекторных молекул (цитокинов, медиаторов воспаления), хемокинов и антигенов, которые вызывают миграцию в очаг первичной инфекции клеток врожденного иммунитета. Первыми в зону разрушения вирусинфицированных клеток мигрируют нейтрофилы, далее другие клетки: макрофаги, дендритные клетки, НК-клетки. Особое значение для сдерживания вирусной инфекции (в первые дни после заражения) имеет вируцидная функция НК-клеток и активированных макрофагов.

Интерфероны усиливают противовирусную резистентность, индуцируя в клетках синтез ферментов, подавляющих образование нуклеиновых кислот и белков вирусов. Кроме этого, интерфероны оказывают иммуномодулирующее действие, усиливают в клетках экспрессию антигенов МНС (HLA). Важными участниками противовирусного иммунитета являются плазмцитоподобные дендритные клетки, поскольку способны продуцировать при вирусной инфекции большое количество интерферонов первого типа. Интерфероны первого типа действуют неизбирательно, блокируя синтез не только вирусных, но и клеточных РНК и белков, что способствует гибели зараженной клетки. Интерферон второго типа ($IFN-\gamma$) в большей степени относят к факторам адаптивного иммунитета. Он активирует НК-клетки, макрофаги и ЦТЛ, способствуя более эффективному уничтожению этими клетками вирусинфицированных клеток и запуская микробоцидные механизмы макрофагов, вызывающие гибель внутриклеточных патогенов.

Интенсивность поражения НК-клетками клеток-мишеней находится в обратной зависимости от уровня экспрессии ими молекул МНС I класса (не содержащих вирусные белки). Действие НК-клеток на инфицированные вирусом клетки обусловлено перфоринзависимым механизмом — секреторным лизисом (аналогично ЦТЛ). Через перфориновые поры в клетку проникают различные вещества, в том числе гранзимы (сериновые протеазы), которые активируют каспазы, запускающие апоптоз клетки-мишени.

Если компоненты врожденного иммунитета не справляются с вирусной инфекцией, то происходит развитие клеточного и гуморального звеньев адаптивного иммунитета (появление ЦТЛ и противовирусных антител).

Антительная защита организма существенна только против внеклеточно расположенных вирусов. Слизистые оболочки защищены от вирусов секреторными IgA- и IgM-антителами, которые, окружая вирионы, препятствуют их адсорбции на эпителиоцитах. Действие антител (IgG, IgM), помимо нейтрализации внеклеточных вирусов и их опсонизации, состоит в том, что они способствуют разрушению инфицированных вирусами клеток, активируя систему комплемента. В результате активации комплемента происходит сборка его мембраноатакующего комплекса и лизис зараженных клеток. Антитела также участвуют в феномене антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (см. рис. 9.14, в) в результате связывания NK-клеток с Fc-фрагментом антител, покрывающих инфицированную клетку, что приводит к ее разрушению с помощью перфорин-гранзимного механизма.

Механизмы противовирусной защиты включают цитотоксическое действие CD8⁺ Т-лимфоцитов (ЦТЛ), распознающих вирусные пептиды в комплексе с МНС I класса на поверхности инфицированных вирусом клеток. ЦТЛ представляют собой основные клетки для осуществления в организме противовирусного иммунологического надзора. При большинстве вирусных инфекций специфические ЦТЛ появляются через 3–4 дня после инфицирования, а пик их количества наблюдается к 7–10-му дню. ЦТЛ скапливаются в очагах размножения вирусов и разрушают инфицированные клетки. В месте взаимодействия с клеткой-мишенью ЦТЛ посредством экзоцитоза продуцируют перфорины и гранзимы. Перфорины на поверхности клетки-мишени, полимеризуясь, формируют трансмембранные поры диаметром 5–20 нм, через которые в клетку устремляется вода, в результате чего клетка гипергидратируется и гибнет. Через образовавшиеся поры в клетку-мишень также поступают гранзимы, которые вызывают фрагментацию ДНК клетки и деградацию вирусной ДНК. Разрушение клеточной ДНК — второй механизм гибели инфицированных клеток.

Развитие вирусной инфекции всегда сопряжено с **подавлением защитных механизмов**. Так, иногда макрофаги становятся клетками, в которых происходит размножение вирусов и их распространение по организму. Многие вирусы способны ингибировать факторы защиты организма. Например, вирус простого герпеса ингибирует презентацию собственных антигенов на инфицированных клетках. Аденовирусы в борьбе с защитными силами организма используют молекулярные механизмы подавления экспрессии молекул МНС I класса на поверхности инфицированных клеток.

Ряд вирусов способны подавлять систему комплемента. Так, вирус коровьей оспы секретирует белки, которые, соединяясь с C4b-компонентом комплемента, ингибируют классический путь активации комплемента. Вирус простого герпеса содержит гликопротеин, который, соединяясь с C3b-компонентом комплемента, ингибирует классический и альтернативный пути активации комплемента.

Многие вирусы избегают иммунной атаки в результате высокой антигенной изменчивости (результат мутаций), что присуще вирусам гриппа, риновиру-

сам и ВИЧ. Пример такого хода событий — ежегодные эпидемии гриппа (каждый раз вызываемые иммунологически новым штаммом этого вируса).

Часть вирусов способна индуцировать генерализованную иммуносупрессию. Среди них вирусы эпидемического паротита, кори, Эпштейна–Барр, цитомегаловирус и ВИЧ. Например, вирус Эпштейна–Барр продуцирует белок BCRF1, гомологичный IL-10, способствующему ингибированию иммунных механизмов. Вирусы могут уклоняться от иммунных механизмов путем встраивания своего генома в геном клетки-хозяина, без экспрессии на поверхности инфицированных клеток своих антигенов. Это делает вирус иммунологически невидимым и позволяет ему персистировать в организме. Вирусы гепатита В, герпес-вирусы могут находиться в латентном состоянии годы и только при определенных ситуациях активизироваться и вызывать соответствующую симптоматику.

10.4. Особенности противогрибкового иммунитета

Грибы имеют многослойную, толстую клеточную стенку, состоящую из нескольких типов полисахаридов (маннанов, глюканов, целлюлозы, хитина), а также белка и липидов. Эти структуры распознают клеточные рецепторы (TLR2, TLR4, дектин-1 и др.) врожденного иммунитета, в котором большое значение имеют также барьерные функции кожи, слизистых оболочек и их секреты (секреты сальных и потовых желез, антимикробные пептиды), нормальная микрофлора, вступающая в конкурентные взаимоотношения с грибами, и др.

Механизмы, ответственные за защиту от грибковых инфекций, связаны с Т-клеточным иммунитетом. Антитела (IgM, IgG) при микозах имеют меньшее значение, чем клеточный иммунитет. В тканях происходит фагоцитоз, развивается эпителиоидная гранулематозная реакция, иногда тромбоз кровеносных сосудов. Микозы, особенно оппортунистические, часто манифестируют после длительной антибактериальной терапии и при иммунодефицитах. Они сопровождаются ГЗТ. Возможно развитие аллергических заболеваний после респираторной сенсибилизации фрагментами условно-патогенных грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* и др. В этом случае выявляются IgE-антитела против антигенов грибов. У больных диагностируют ГЗТ и ГНТ с помощью кожных проб на аллергены.

10.5. Особенности противопротоzoйного иммунитета

Первая линия защиты от простейших — факторы врожденного иммунитета, в частности растворимые рецепторы (маннозосвязывающий лектин, С-реак-

тивный белок) и рецепторы клеток (TLR и др.), взаимодействующие с лигандами простейших. Антитела (IgM, IgG) против простейших действуют на внеклеточные формы паразитов. Часто иммунитет является стадийноспецифическим, т.е. против различных форм, стадий развития паразита возникают соответствующие антитела. Паразит, имеющий различные стадии развития в организме (например, плазмодии малярии), как бы «ускользает», отклоняется от ранее образовавшихся антител. Фагоцитоз может быть незавершенным, например при лейшманиозах. Внутриклеточно расположенные простейшие уничтожаются за счет клеточного иммунитета: T_H1 , выделяющих $IFN-\gamma$, активирующих макрофаги и ЦТЛ. Выявление ГЗТ используют при диагностике токсоплазмоза, лейшманиоза и некоторых других протозойных инфекций

Защита простейших от иммунного ответа организма зависит от ряда факторов:

- 1) образования цист (токсоплазма, криптоспоридии, изоспора, циклоспора, акантамеба);
- 2) формирования паразитоформной вакуоли (криптоспоридии);
- 3) образования покоящихся стадий (возбудители трехдневной малярии);
- 4) внутриклеточной локализации (плазмодии, токсоплазма, лейшмании, трипаносомы);
- 5) формирования незавершенности фагоцитоза (токсоплазма, лейшмании);
- 6) антигенной изменчивости, иммунологического уклонения (трипаносомы, плазмодии малярии);
- 7) локализации в иммунологически «привилегированных» («забарьерных») органах — мозг, орган зрения (токсоплазма).

10.6. Особенности противогельминтного иммунитета

При глистных инвазиях отмечаются высокий уровень IgE, эозинофилия и мастоцитоз. Активированные $CD4^+ T_H2$ -хелперы продуцируют интерлейкины, стимулирующие продукцию IgE (IL-4) и привлечение эозинофилов (IL-5), которые участвуют в уничтожении гельминтов. Большинство гельминтов обитает в кишке, куда секретируется более 99% IgE. Эозинофилы взаимодействуют с гельминтами через Fc-фрагмент IgE, окружающих гельминт. В результате эозинофилы активируются и высвобождают токсичные для паразитов основной щелочной белок, пероксидазу и эозинофильный катионный белок. К Fc-фрагменту IgE также прикрепляются и дегранулируют тучные клетки слизистой оболочки кишки. Продуцируемый тучными клетками гистамин способствует констрикции гладких мышц стенки кишки, что усиливает перистальтику и выброс гельминтов. Медиаторы тучных клеток также привлекают эозинофилы к очагу первичной воспалительной реакции.

10.7. Трансплантационный иммунитет

После пересадки неиммунокомпетентных органов или тканей (почки, сердце, печень) развивается иммунный ответ организма хозяина на трансплантат, вплоть до его отторжения (реакция отторжения трансплантата — «хозяин против трансплантата»). В случае трансплантации иммунокомпетентных тканей (костный мозг, стволовые клетки периферической крови) развивается как реакция «хозяин против трансплантата», так и реакция «трансплантат против хозяина» (лимфоциты донора атакуют ткани реципиента). Реакцию отторжения можно избежать или уменьшить подбором трансплантата к тканям реципиента по антигенам гистосовместимости — HLA, поэтому их называют трансплантационными антигенами.

Сверхострое отторжение развивается на 1–5-е сутки после трансплантации органа (например, печени). Оно обусловлено наличием предшествующих антител, появившихся в результате переливания крови или беременности (AB0-или HLA-сенсibilизация). **Острое отторжение** трансплантата развивается в интервале от 5 до 30 дней, а **хроническое отторжение** — через 6 месяцев и более. Острое и хроническое отторжение трансплантата происходят в результате активации клеточного иммунитета: $CD8^+$ цитотоксические Т-лимфоциты, узнавая несвойственные им антигены трансплантата, атакуют его. В отторжении участвуют и НК-клетки. Активированные T_H2 участвуют в развитии гуморального иммунитета, стимулируя В-лимфоциты к антителообразованию. Оставшиеся в пересаженном органе «лейкоциты-пассажиры» с фенотипом дендритных клеток могут в качестве антигенпредставляющих клеток стимулировать $CD4^+$ Т-хелперы и $CD8^+$ цитотоксические Т-лимфоциты реципиента. Таким образом, Т-лимфоциты реципиента распознают антигены трансплантата, представляемые донорскими АПК. Кроме такого так называемого **прямого распознавания** антигенов трансплантата, существует и **непрямое распознавание**. Непрямое распознавание антигенов трансплантата осуществляют антигенпредставляющие клетки реципиента, представляющие Т-лимфоцитам антигены трансплантата в комплексе с собственными молекулами МНС.

Типирование донора и реципиента по МНС осуществляют с помощью микроцитотоксического теста с В-лимфоцитами, моноспецифическими сыворотками и комплементом, а также ДНК-типированием на основе ПЦР.

Для предупреждения и лечения кризиса отторжения применяют: азатиоприн — антиметаболит синтеза белка, подавляющий индукцию ЦТЛ; кортикостероиды (преднизолон и др.), угнетающие макрофаги, Т-лимфоциты, синтез цитокинов и комплемента; циклоспорин А, подавляющий синтез IL-2 Т-хелперами. Для блокирования активации Т-лимфоцитов применяют гуманизированные моноклональные антитела (даклизумаб и базиликсимаб) к рецептору IL-2 (CD25).

10.8. Противоопухолевый иммунитет

Особенностью противоопухолевого иммунитета является низкая иммуногенность раковых клеток, их слабые антигенные отличия от нормальных клеток. Опухольассоциированные антигены представлены раково-эмбриональными антигенами, продуктами онкогенов, особыми вирусными антигенами, гиперпродуцируемыми нормальными белками.

Угнетают противоопухолевый иммунитет T_H2 , стимулированные опухольассоциированными антигенпредставляющими клетками, и миелоидные клетки-супрессоры. Увеличение и активация регуляторных Т-лимфоцитов (T_{Reg}) среди опухольинфильтрующих лимфоцитов (TIL — tumor-infiltrating lymphocytes) также угнетает противоопухолевый иммунитет. Вместе эти типы клеток генерируют в опухолевое окружение такие иммуносупрессорные цитокины, как трансформирующий фактор роста- β (ТФР- β), интерлейкины (IL-10) и др. Преобладает гуморальный иммунный ответ (В-лимфоциты), защитная функция которого сомнительна. Антитела, соединяясь с антигенными детерминантами на опухолевых клетках, экранируют их от цитопатогенного действия иммунных лимфоцитов.

Основную роль в противоопухолевом иммунитете играют компоненты клеточного иммунитета (активированные макрофаги, ЦТЛ, НК- и НКТ-клетки). Опухолевый антиген распознается антигенпредставляющими клетками (дендритными клетками и макрофагами) и непосредственно или через T_H1 представляется наивным $CD8^+$ Т-лимфоцитам. Последние дифференцируются в иммунные цитотоксические $CD8^+$ Т-лимфоциты, разрушающие опухолевую клетку-мишень. Однако механизм представления антигена часто нарушается, нет достаточного уровня ФНО, интерферонов, IL-2 и других цитокинов. Опухоли запускают феномен «ускользания» от иммунитета. Уменьшение экспрессии МНС на опухолевых клетках ведет к отмене распознавания опухоли.

10.9. Иммунный статус

Иммунный статус — состояние иммунной системы человека, оцениваемое системой качественных и количественных клинико-лабораторных показателей.

В связи с открытиями последних десятилетий существует необходимость оценки характеристик иммунной системы при различных патологических состояниях. После сбора иммунологического анамнеза пациента направляют на лабораторное исследование ключевых позиций иммунитета, что позволяет своевременно выявить иммунопатологию.

Комплекс данных подходов позволяет оценить иммунный статус пациента. По сути, тесты для оценки иммунной системы можно разделить на те, которые направлены на изучение клеточного звена (Т-лимфоциты), гуморального звена адаптивного иммунитета (В-лимфоциты, антитела), клеточного звена врожденного иммунитета (макрофаги, НК-клеток и др.), и на изучение функциональных молекул иммунной системы (цитокины и др.).

Для оценки иммунного статуса используют разнообразный биологический материал: в основном периферическая кровь и ее производные (сыворотка, плазма, клетки крови), секрет слизистых оболочек, слезная жидкость, cerebroспинальная жидкость и др.

Иммунологические тесты проводятся в целях диагностики иммунопатологии для своевременной ее терапии, а также для мониторинга состояния иммунной системы. Тесты, которые входят в оценку иммунного статуса, принято делить на тесты первого и второго уровня.

В **тесты первого уровня** входят ориентировочные тесты, которые не требуют каких-либо усилий и дорогостоящих реактивов. С помощью тестов первого уровня можно выявить грубые нарушения в звеньях иммунной системы. К тестам первого уровня относятся: определение абсолютного и относительного количества лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов, НК-клеток, концентрации иммуноглобулинов, определение фагоцитарной активности лейкоцитов и др.

Для постановки конкретного диагноза используются **тесты второго уровня**: очень трудоемкие, дорогостоящие, но дающие конкретный результат. Можно привести следующие примеры тестов, которые используются на этом уровне: определение субпопуляционного состава крови (определение T_H1 , T_H2 , T_{Reg} и др.), определение маркеров пролиферации и активации Т- и В-лимфоцитов (CD25 и др.), изучение апоптоза клеток, оценка выработки эффекторных молекул (цитокинов и др.) и иммуноглобулинов (IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgE), определение экспрессии генов рецепторов врожденного иммунитета (TLR, NLR, RLR и др.), изучение процессов фагоцитоза и активации компонента и др.

Один из основных тестов иммунного статуса — определение субпопуляционного состава лимфоцитов, для его проведения используется метод проточной цитометрии, который позволяет определить CD-маркеры клеток. Существуют нормативы по абсолютному и относительному количеству клеток (процент от всего числа лимфоцитов) с определенными CD-маркерами в зависимости от возраста. Так, к примеру, относительное количество CD3-лимфоцитов в периферической крови до 6 лет составляет 62–69%, после 6 лет — 66–76%. Относительное количество $CD4^+$ Т-лимфоцитов в периферической крови пациентов в возрасте до 17 лет — 30–40%, после — 38–46%. Относительное количество ЦТЛ (маркер CD8) с возрастом также увеличивается с 25–32 до 31–40%. Относительное количество В-лимфоцитов (маркер CD19) в периферической крови с возрастом снижается с 24 до 13%. Также немаловажно определить concentra-

цию иммуноглобулинов в сыворотке крови, которая тоже меняется с возрастом. Во взрослом состоянии концентрация IgM в сыворотке крови составляет 0,55–3,5 г/л, IgG — 6,5–13,5 г/л, IgA — 0,7–3,15 г/л. Другие классы иммуноглобулинов в норме не определяются, при аллергопатологии в сыворотке может резко увеличиваться количество IgE.

Показатели иммунного статуса в норме имеют большой диапазон, который связан с такими факторами, как гормональные перестройки, факторы окружающей среды и др. Данный факт несколько затрудняет анализ показателей иммунного статуса, которые могут находиться в трех состояниях: без достоверных изменений, небольшой сдвиг значений по нескольким показателям и значительные изменения показателей иммунного статуса.

С помощью определения показателей иммунного статуса можно также провести углубленное изучение механизмов иммунитета на разных стадиях: *распознавание патогенов Т-хелперами* (экспрессия молекул МНС II класса, определение CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-лимфоцитов); *активация лимфоцитов* (экспрессии молекул активации лимфоцитов CD25, CD69 и др., выработка провоспалительных цитокинов); *дифференцировка лимфоцитов* (определение маркеров — молекул CD, которые появляются в процессе дифференцировки); *эффекторные механизмы клеток как врожденного, так и адаптивного иммунитета* (клеточная цитотоксичность, выработка эффекторных молекул); *формирование иммунной памяти* (определение иммуноглобулиновых молекул и др.); *регуляция иммунных механизмов* (соотношение про- и противовоспалительных цитокинов, определение T_{Reg} и др.) и *апоптоз* (определение активности и количества каспаз, обнаружение апоптозных телец — метод TUNEL) на всех этапах иммунного ответа.

Поскольку существует огромное количество тестов для оценки иммунного статуса, то имеется необходимость в персонализированном выборе методов для каждого пациента на основании клинических проявлений. Данные, полученные в результате определения иммунного статуса, предоставляют необходимую информацию для постановки правильного диагноза. Например, при бактериальной патологии целесообразно исследование В-клеточного звена, а при вирусной — клеточных звеньев врожденного и адаптивного иммунитета, а также интерферонового статуса.

Данные тестов иммунного статуса позволяют более точно подобрать иммунотропную терапию с минимальными побочными последствиями.

В отдельную группу можно выделить тесты, связанные с определением аллергопатологии. Так, с помощью определения иммунного статуса реально провести аллергодиагностику. Возможна оценка цитокинового профиля T_H2-типа — интерлейкинов (IL-3, IL-4, IL-13), которые стимулируют продукцию IgE. Для диагностики аллергических реакций проводятся также кожные и провокационные пробы. Показание к проведению вышеперечисленных проб — аллергический анамнез (реакции на сыворотки и другие препараты, профессиональ-

ные вредности, наследственная предрасположенность, сезонность проявлений и др.).

Кожные пробы — одно из основных исследований в диагностике аллергии. С помощью данного тестирования выявляют сенсибилизацию различными аллергенами. Панели аллергенов для проведения проб содержат аллергены — пищевые, бытовые, аллергены пыльцы, инсектные и др. За один тест можно проверить сенсибилизацию на 10–20 аллергенов. Для проведения теста используют кожу предплечья или спины. Скарификацию проводят поверхностно, частично нарушая целостность эпидермиса. Через некоторое время проводят оценку результатов: нет никаких реакций — результат отрицательный; небольшая гиперемия — результат сомнительный; если появляется волдырь — результат положительный (чем больше волдырь, тем больше степень реакции).

Другой вариант — провокационные пробы: изучение реакций, которые возникают при контакте аллергена с шоковым органом (введение аллергена интраназально, перорально и другими путями).

Для диагностики контактных дерматитов и других аллергических патологий используют аппликационные пробы (аллергены нанесены на пластины, которые в течение пары суток контактируют с кожей). Результаты (эритема, папулы и др.) оцениваются через некоторое время после удаления пластин.

Большое значение в аллергодиагностике имеет определение IgE. В норме данный иммуноглобулин практически не определяется, при аллергопатологии уровень IgE может возрастать в разы. В некоторых случаях происходит спонтанный рост уровня IgE: ВИЧ-инфекция, лимфомы, паразитозы, микозы и др.

11

Патология иммунной системы

Поражения различных органов и функций иммунной системы многообразны по механизмам развития и клиническим проявлениям. К патологии иммунной системы относят иммунодефициты, аллергические болезни, различные типы гиперчувствительности (см. разд. 9.6), аутоиммунные болезни и болезни с синдромом иммунного воспаления.

11.1. Первичные и вторичные иммунодефициты

Иммунодефицит — состояние организма, при котором происходит нарушение иммунологических реакций вследствие дефекта одного из звеньев иммунитета. Различают первичные и вторичные иммунодефициты. Первые обусловлены нарушениями на генетическом уровне (мутация в генах, белковые продукты которых участвуют в реакциях иммунного ответа). Приобретенные (вторичные) иммунодефициты — это патология, для которой характерны нарушения иммунной системы, развивающиеся в постнатальном периоде (без генетических дефектов). Причиной такого иммунодефицитного состояния могут стать различные факторы, к примеру: инфекционный возбудитель (чаще вирусной природы — ВИЧ, вирусы герпеса и др.), иммуносупрессорная терапия, воздействие физических (радиация) или химических (яды) факторов и др.

Первичные иммунодефициты. Следствием первичных иммунодефицитов является развитие тяжелых рецидивирующих форм инфекций, которые не поддаются консервативному лечению (пневмонии, менингиты, отиты, сепсис и др.). Также на фоне первичных иммунодефицитов могут развиваться опухоли, аллерго- и аутопатология. При данных нарушениях чаще всего проводят длительную терапию антибиотиками последнего поколения, а также собирают информацию о схожих клинических проявлениях у близких родственников. В случае наличия одного или нескольких из вышеперечисленных признаков существует необходимость в подробном изучении иммунного статуса.

Первичные иммунодефициты были открыты в начале 50-х годов прошлого столетия. Одним из первых считается X-сцепленная агаммаглобулинемия (отсутствие гамма-глобулинов вследствие мутации на X-хромосоме). В настоящее время выявлено более сотни мутаций в генах, белковые продукты которых участвуют в развитии реакций иммунного ответа, а также связанных с ними патологий. Созданы национальные регистры первичных иммунодефицитов (в 1989 г. в России) и классификация первичных иммунодефицитов, которая представлена несколькими группами.

Первая группа — комбинированные иммунодефициты (например, тяжелая комбинированная иммунная недостаточность — ТКИН). Гены, кодирующие ТКИН, ассоциированы с X-хромосомой. В большинстве случаев они представлены точечными мутациями в гене γ -цепи рецептора для IL-2, 4, 9 и других интерлейкинов на длинном плече X-хромосомы. Конечным результатом подобных мутаций является иммуносупрессия (снижение количества $CD4^+$, $CD8^+$ Т-лимфоцитов и иммуноглобулинов). Первые проявления ТКИН начинаются в первые недели жизни в виде инфекций кожи и слизистых, пневмоний и др. Для лечения подобных иммунодефицитных состояний используют заместительную иммунотерапию иммуноглобулинами, применяют антибактериальную терапию, в крайних случаях проводят трансплантацию костного мозга. Однако это не всегда приводит к желаемому результату, пациенты страдают от септических состояний, которые могут привести к летальному исходу.

Вторая группа — преимущественный дефицит антител. Данный вариант иммунодефицитов чаще всего связан с В-клеточным звеном и встречается довольно часто (относительно других первичных иммунодефицитов). Нарушение антителообразования может быть связано с дефектами дифференцировки или снижением/отсутствием ответа В-лимфоцитов на взаимодействие с Т-лимфоцитами. Среди примеров можно привести *X-сцепленную агаммаглобулинемию*, в основе которой лежит нарушение процессов дифференцировки и созревания В-лимфоцитов (мутация находится в гене Bruton tyrosine kinase (Btk), кодирующем В-клеточную тирозинкиназу, которая участвует во внутриклеточной передаче сигналов в В-лимфоцитах). Прогностически неблагоприятен полный блок созревания В-лимфоцитов, в результате чего они не образуются, отсутствуют клетки, экспрессирующие иммуноглобулиновые рецепторы.

Диагностические критерии данной патологии: снижение содержания иммуноглобулинов в биологических жидкостях (IgG сильно снижен в сыворотке крови, при этом IgA и IgM могут совсем отсутствовать), также может снижаться количество В-лимфоцитов, остальные показатели иммунного статуса могут оставаться в пределах нормальных значений. Терапия в данном случае в основном заместительная препаратами иммуноглобулинов.

К **третьей группе** относят другие строго очерченные синдромы иммунодефицитов со специфическими клиническими проявлениями. К примеру, можно привести синдром *гипериммуноглобулинемии E* (мутации в 4-й хромосоме),

основной признак которого — резко увеличенное содержание IgE в сыворотке крови и эозинофилия, при этом наблюдаются рецидивирующие гнойные инфекции (вызваны кокками и *Candida albicans*) мягких тканей и внутренних органов, кожи и подкожной клетчатки. Данная патология начинает проявляться с первых недель жизни в виде экземы кожи с поражением лица, а также разгибательных поверхностей конечностей. Схожие нарушения наблюдаются при *синдроме Джоба*, где мутации локализуются в гене *STAT3*. Лечение данного заболевания — симптоматическое. Прогноз благоприятный.

К **четвертой группе** относят болезни иммунной дисрегуляции, например *X-сцепленный лимфопролиферативный синдром*, который связан с мутацией в гене, кодирующем синтез белка SAP (белка сывороточного амилоида Р), на длинном плече X-хромосомы (Xq25), что приводит к нарушению передачи активационного сигнала от В-лимфоцитов, инфицированных вирусом Эпштейн–Барр, на Т-лимфоциты и NK-клетки, результатом чего является поликлональная активация В-лимфоцитов и развитие лимфопролиферации. При этом наблюдается снижение $CD4^+$ и увеличение количества $CD8^+$ Т-лимфоцитов. К клиническим проявлениям можно отнести лимфаденопатию, лихорадку, ангину и др. Возможно развитие В-клеточной лимфомы. Пациенты с данным синдромом погибают чаще от инфекционного мононуклеоза и аплазии костного мозга. По лабораторно-диагностическим показателям очень похож *аутоиммунный лимфопролиферативный синдром*, который является следствием мутации в гене *PHORSF6* (хромосома 10 район q23-q24.1).

Мутации в представленных выше генах могут приводить к хронической лимфопролиферации, аутоиммунным проявлениям (гемолитическая анемия, тромбоцитопения, нейтропения и др.), а также к развитию злокачественных новообразований. Лечение данной группы первичных иммунодефицитов проводится глюкокортикостероидами, химиотерапевтическими препаратами и др.

Пятая группа первичных иммунодефицитов включает врожденные дефекты фагоцитов (связанные с нарушением подвижности, хемотаксиса, киллинга и других процессов). Среди данной группы иммунодефицитов можно назвать *хроническую гранулематозную болезнь*, *циклическую нейтропению* (дефект гена *ELA2* — neutrophil elastase, локус 19p.13.3) и *врожденную X-сцепленную нейтропению* (дефект гена *WASP* — Wiskott-Aldrich Syndrome Protein, локус Xq11.22). У людей с циклической нейтропенией может снижаться уровень нейтрофилов до нуля, в этом случае резко возрастает риск возникновения инфекционных осложнений. Течение заболевания благоприятное. В случае с врожденной X-сцепленной нейтропенией, кроме резкого снижения числа нейтрофилов, снижается созревание промиелоцитов. У больных наблюдаются инфекционные патологии, в большинстве бактериальной природы. Возможен летальный исход при острой лейкемии. Лечение в основном связано с антибактериальной терапией (пожизненной), в некоторых случаях используется генная терапия.

Шестая группа первичных иммунодефицитов связана с другими дефектами врожденного иммунитета. Примером такого рода заболеваний может быть *X-сцепленная ангиодротическая эктодермальная дисплазия*, причиной которой является мутация в гене ингибитора NF-κB (ген *iKKBG*, Xq28). Известно, что мутантный аллель гена дефенсина HBD1 (точечная замена в промотерной области гена) связан со сниженным уровнем экспрессии данного белка, что ассоциировано с развитием воспалительных заболеваний кожи и слизистых оболочек. Схожие закономерности отмечены и в рецепторном аппарате врожденного иммунитета. При точечных мутациях в генах, белковые продукты которых участвуют в реакциях врожденного иммунитета, обычно наблюдается патология инфекционной природы (фурункулы, паратонзиллиты и др.).

Иммунодефициты, связанные с аутовоспалительными нарушениями, относятся к **седьмой группе**. В качестве примера можно представить *гипер-IgD-синдром*, который связан с мутацией в гене *MVK* (12q24) и проявляется гипериммуноглобулинемией D, лейкозом и лихорадкой.

Восьмая группа первичных иммунодефицитов достаточно хорошо изучена: это иммунодефициты, связанные с дефектами в генах белков системы комплемента. Так, мутация в гене, кодирующем C1q (1p36.3-p34.1), приводит к дефициту данного компонента, который клинически проявляется в виде СКВ-подобного синдрома. Схожую картину можно наблюдать при мутациях в гене, кодирующем C4. Если нарушения касаются C3- или C9-компонентов системы комплемента, то страдать будет противобактериальная защита организма, а также гуморальное звено иммунитета, а клинические проявления будут выражаться в инфекциях различного характера. При данной патологии проводят лечение инфекционных осложнений, заместительную терапию, а в крайнем случае — трансплантацию костного мозга.

Приобретенные, или вторичные, иммунодефициты — это состояние организма, при котором происходит функциональное нарушение механизмов иммунитета (без генетических дефектов). В отличие от первичных иммунодефицитов (которые, по сути, пожизненные) вторичные иммунодефициты могут быть излечены (в случае избавления от повреждающего фактора) или скорректированы иммуностимулирующими препаратами.

Можно выделить три формы вторичных иммунодефицитов: спонтанную (отсутствие явной причины), индуцибельную (обязательно есть причина — химическое, физическое или биологическое воздействие) и приобретенную.

Несмотря на схожие признаки, имеются такие характеристики, по которым можно отличить вторичные иммунодефициты от первичных: в случае вторичных иммунодефицитов нарушения различных звеньев иммунитета наступают значительно позже и на фоне ранее нормально функционировавшей иммунной системы. Изменения при вторичных иммунодефицитах не носят генотипического характера, поддаются иммунотерапии, нарушения иммунного статуса

временные и возможно полное излечение. Однако инфекционная сопутствующая патология может быть схожей (сепсис, пневмонии, фурункулы и др.).

Следует отметить, что иммунодефицитные состояния могут встречаться в норме: к примеру, существует феномен «иммунной адаптации ребенка», когда непосредственно после рождения иммунная система ребенка находится на стадии формирования. Другой наглядный пример — состояние беременности, при этом баланс в факторах иммунитета смещен в сторону активации механизмов врожденного иммунитета, в то время как адаптивный иммунитет может быть супрессирован (активация T_{Reg} и другие механизмы). Поэтому при первичном инфицировании организма беременной женщины происходит гиперактивация механизмов иммунитета (активация нейтрофилов, макрофагов, субпопуляций Т-лимфоцитов, выработка провоспалительных цитокинов и др.), что приводит к преждевременным родам (при недостаточности механизмов — к внутриутробному инфицированию плода).

Известно, что после тридцати лет у человека происходит полная инволюция тимуса, таким образом, в пожилом возрасте наступает иммунодефицитное состояние, связанное с Т-клеточным звеном.

В «забарьерных» органах (антигены которых в силу анатомических обстоятельств не контактируют с клетками иммунной системы) также имеются механизмы ингибирования иммунной системы. «Забарьерные» органы (головной мозг, передняя камера глаза, роговица, стекловидное тело, семенные канальца яичек, фолликулы щитовидной железы и др.) отделены от основных иммунных механизмов гистогематическим барьером — комплексом физиологических механизмов, регулирующих обменные процессы между кровью и тканями (гематоэнцефалический барьер, гематоофтальмический барьер и др.). В результате повреждения этих барьеров иммунные факторы взаимодействуют с антигенами «забарьерных» органов, что приводит к развитию иммунных механизмов (формируется иммунный ответ против собственных тканевых структур).

11.2. Аутоиммунные болезни

В организме иммунные механизмы активируются в ответ на генетически чужеродные антигены, в крайнем случае — на изменившиеся собственные (опухолевые). При сбое нормального течения иммунологических реакций вследствие инфекционных или другого рода факторов происходит образование аутореактивных клонов и развиваются аутоиммунные реакции, обусловленные появлением антител (аутоантител) или цитотоксических Т-лимфоцитов к собственным антигенам. Разнообразие клинических проявлений аутоиммунных заболеваний объясняется различиями в локализации, выраженности и механизмах повреждения собственных тканей и органов.

Аутоиммунные болезни можно разделить на органоспецифические и системные. При **органоспецифических аутоиммунных болезнях** аутоантитела и аутореактивные лимфоциты направлены против аутологических антигенов одного органа и только в нем индуцируют иммунопатологические реакции (*аутоиммунный тиреоидит, атрофический гастрит, инсулинзависимый сахарный диабет, аутоиммунная гемолитическая анемия* и др.).

При **системных аутоиммунных болезнях** иммунная агрессия направлена на аутологичные антигены, которые характерны для различных органов и тканей (*рассеянный множественный склероз, ревматоидный артрит, системная красная волчанка* и др.). Возможно развитие нескольких форм аутоиммунных заболеваний у одного человека.

Аутоиммунные болезни — это мультифакторные нарушения, в развитии которых принимают участие многие факторы — экзогенные (частые инсоляции, УФ-излучение или переохлаждение, инфекции, вакцинные и лекарственные препараты) и эндогенные (генетические, гормональные и др.). Для многих аутоиммунных болезней выявлена ассоциация с маркерами в генах HLA, генах иммуноглобулинов и др. Потенциально возможна роль инфекционных агентов в развитии заболевания. Некоторые белки вирусов, бактерий обладают гомологией с белками человека, таким образом, антитела к белкам патогенов могут запускать аутоиммунную реакцию. Возбудители инфекций могут не только иметь гомологичную структуру с антигенами организма, но также приводить к их изменению, и тогда аутоантигены воспринимаются собственной иммунной системой как чужеродные.

Известно влияние гормонов на развитие аутоиммунной патологии, например эстроген может вызывать обострение *системной красной волчанки*, поэтому это заболевание чаще развивается у молодых женщин с высоким гормональным фоном (заболевание в 10 раз чаще возникает у женщин, чем у мужчин). Влияние эстрогенов на течение данной патологии подтверждается значительным ухудшением состояния больных во время беременности и непосредственно после родов.

Еще один вариант пусковых механизмов аутоиммунных заболеваний — нарушение естественных барьеров, вследствие чего компоненты иммунной системы в полной мере могут проникать в «забарьерные» органы, т.е. органы, которые в силу анатомических особенностей (наличие тканеспецифичных антигенов, незнакомых для иммунной системы) не контактируют с факторами иммунитета. К ним относятся головной мозг, хрусталик, сетчатка, щитовидная железа, семенные канальцы яичек и др. Пример аутоиммунных заболеваний, связанных с нарушением целостности барьера, — *аутоиммунный тиреоидит*. В норме антигены щитовидной железы через гематотиреоидный барьер не проникают в кровь, но в результате травмы и разрушения барьера возможен контакт между антигенами щитовидной железы и факторами иммунной системы, что и приводит к развитию аутоиммунного заболевания. Аутоиммунные механизмы уча-

ствуют в диффузных поражениях нервной системы (*острые диссеминированные энцефаломиелиты*). Данная патология может развиваться вследствие гнойных синуситов у детей, а также на фоне гипоксии мозга и родовой травмы.

Другая причина развития аутоиммунных заболеваний — гипериммунное состояние вследствие активации иммунных механизмов (увеличивается процент аутореактивных клонов) на фоне нарушений в иммунорегуляторных механизмах.

Врожденные дефекты компонентов комплемента также ассоциированы с риском развития аутоиммунных патологий. Было высказано предположение, что возникновение этого риска связано с нарушением выведения иммунных комплексов из организма. Во время активной формы болезни компоненты комплемента, в частности С3b, осаждаются в зоне воспаления в различных органах, в том числе селезенке, сердце и почках. Это, в свою очередь, приводит к снижению сывороточного уровня комплемента, так как он быстро связывается с циркулирующими иммунными комплексами у таких больных, что вызывает дефицит С1q-компонента в сыворотке и ведет к изложенным выше изменениям.

Нарушение регуляции продукции цитокинов, приводящее к активации экспрессии, может способствовать развитию воспалительных реакций в тканях и повреждению органов. Считается, что провоспалительные цитокины, такие как ФНО- α , интерфероны I и II типа, интерлейкины (IL-6, IL-1), и др., а также противовоспалительные цитокины, такие как IL-10 и ТФР- β , могут принимать участие в развитии аутоиммунной патологии (в том числе системной красной волчанки). В настоящее время продолжается исследование роли IL-17 и IL-21 в патогенезе этого заболевания.

Перечисленные выше механизмы так или иначе приводят к активации главного звена в патогенезе аутоиммунных заболеваний, а именно, к нарушению толерантности к собственным антигенам, а также к увеличению продукции аутоантител и аутореактивных Т-лимфоцитов, ведущих к развитию иммунопатологии.

Лечение. Изучение генотипа пациентов позволит усовершенствовать существующие схемы лечения. На данный момент они в большинстве своем все еще сводятся к применению противовоспалительных и цитостатических препаратов. Разрабатываются препараты на основе моноклональных антител для антицитокиновой терапии и подавления ряда клеточных рецепторов в целях супрессии иммунного ответа. Существуют попытки применения препаратов антиидиотипических моноклональных антител, но повсеместно они еще не применяются. Глюкокортикоиды были и остаются препаратами выбора при остром течении заболевания. Но длительная терапия глюкокортикоидами сложна подбором доз и побочными эффектами терапии. Пульс-терапия (введение сверхвысоких доз глюкокортикоидов и цитостатиков) с успехом применяется для лечения пациентов, но побочные эффекты существенно ухудшают их качество жизни. Противовоспалительный и иммунорегуляторный эффект пульс-терапии в значи-

тельной степени обусловлен воздействием на систему цитокинов. Не утратили своего значения и аминокислотные производные (делагил, резохин, хингамин, плаквенил и др.), обладающие противовоспалительным, антиагрегантным, гиполипидемическим, антиоксидантным, антимикробным, анальгетическим и фотопротективным эффектами. Их применяют у пациентов без тяжелых висцеральных проявлений.

11.3. Характеристика некоторых аутоиммунных заболеваний

Системная красная волчанка — аутоиммунное заболевание с системным поражением соединительной ткани, связанное с образованием аутоантител и иммунных комплексов, протекающее с прогрессирующим иммуновоспалительным процессом (дерматит, сыпь, серозит, поражение почек, легких, суставов, сердца и ЦНС). На лице часто появляется красноватая сыпь, напоминающая крылья бабочки.

В результате поликлональной активации лимфоцитов, дефектов апоптоза лимфоцитов и ряда других причин возникают аутоантитела ко многим антигенам организма: антиядерные (антинуклеарные), антицитоплазматические и др. Так, например, могут накапливаться аутоантитела к мультивалентным нуклеопротеиновым комплексам (рибонуклеопротеинам, нуклеосоме и др.) и к поверхностным структурам клеток, разрушающихся в результате апоптоза. Антиядерные антитела могут образовываться из-за гиперпродукции цитокинов T_H2 -типа (IL-4, IL-10, IL-6), активирующих В-лимфоциты. Возможна активация В-лимфоцитов суперантигенами микробов. Аутоантитела направлены против лейкоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов, эритроцитов и других клеток. Аутоантитела против фосфолипидов (антифосфолипидные) обуславливают развитие тромботических нарушений.

Системное иммунное воспаление связано с рядом факторов: отложение в тканях иммунных комплексов; цитокинозависимое (IL-1, ФНО- α) повреждение эндотелия; активация комплемента и лейкоцитов. Увеличивается количество T_H17 , секретирующих IL-17, что приводит к воспалению в тканях и повреждению органов. Антимикробные пептиды (кателицидин и др.), компоненты погибающих клеток (ДНК и хроматинсвязанный белок HMGB1) и ДНК-специфические IgG-аутоантитела образуют иммунные комплексы, которые поглощаются после связывания с рецептором (Fc γ RIIa) на поверхности дендритных клеток и активируют TLR9, индуцирующие секрецию IFN- α . Это способствует дальнейшему образованию аутоантител, иммунных комплексов, усилению секреции цитокинов и активации комплемента.

Лабораторная диагностика. Выявляют антинуклеарные антитела методом РИФ и антитела к ДНК. В коже находят отложения IgG, IgM, а также

С3- и С4-компонентов комплемента. В плевральном, перитонеальном и перикардальном выпоте, а также в ликворе появляются LE-клетки (нейтрофилы с фагоцитированным ядерным материалом — нуклеофагоцитоз).

Ревматоидный артрит — хроническое прогрессирующее аутоиммунное заболевание, сопровождающееся развитием симметричного воспаления синовиальных оболочек с поражением периферических суставов (синовит, эрозивный артрит) и системным воспалением внутренних органов. Происходит поликлональная активация В-лимфоцитов, которые продуцируют иммуноглобулины, особенно **ревматоидный фактор**, представляющий собой аутоантитела (IgM, IgG, IgA), направленные против Fc-фрагмента IgG. Ревматоидный фактор и другие аутоантитела участвуют в повреждении суставных тканей и формировании иммунных комплексов. IL-33, выделяемый синовиальными эндотелиальными клетками и фибробластами, способствует усилению раннего ответа T_H2 -типа и активности T_H17 . Повреждение суставов поддерживается за счет иммунных комплексов, активации комплемента, привлечения нейтрофилов, активации ферментов лизосом, продуктов метаболизма арахидоновой кислоты и т.д. Однако основным механизмом ревматоидного артрита является Т-клеточный с преобладанием $CD4^+ T_H1$. В результате образуются провоспалительные цитокины (IL-1, ФНО- α , IFN- α , IL-6, IL-8, IL-15, IL-16, IL-17 и др.), участвующие в иммунопатогенезе ревматоидного артрита. Индукция ревматоидного артрита может быть неспецифической или вызываться неизвестным антигеном, стимулирующим активацию Т-лимфоцитов активированными макрофагами. Макрофаги секретируют ФНО- α , IL-1 и IL-6, которые активируют остеокласты (клетки, отвечающие за резорбцию кости) и хондроциты хряща. Это приводит к разрушению кости и хряща. Кроме повреждения хряща развивается васкулит, увеличивается проницаемость мелких кровеносных сосудов, приводящая к отеку синовиальной оболочки и инфильтрации тканей нейтрофилами, Т-лимфоцитами, плазматическими и дендритными клетками. В результате пролиферации синовиоцитов гипертрофируется синовиальная оболочка и на поверхности суставного хряща образуется агрессивная грануляционная ткань (*паннус*), содержащая макрофаги, Т-хелперы, плазматические и пролиферирующие синовиальные клетки.

Лабораторная диагностика. Определяют ревматоидный фактор (он выявляется и при других аутоиммунных заболеваниях, например при системной красной волчанке). Возможно появление и других аутоантител (антиперинуклеарный фактор, антитела к модифицированному цитруллинированному виментину, кератину, коллагену и др.), что свидетельствует о поликлональной активации В-лимфоцитов. В стадии обострения повышается уровень С-реактивного белка.

Синдром Шегрена — хроническое заболевание, обусловленное взаимодействием антигенов экзокринных желез (слезных, слюнных и др.) с аутоантителами; сопровождается гипофункцией желез и иммуновоспалительными

процессами. Разрушаются слюнные и слезные железы; развиваются сухой кератоконъюнктивит, прогрессирующая сухость слизистых оболочек носа, рта и гениталий. В развитии синдрома принимают участие многие факторы, в том числе хроническая вирусная инфекция. В очагах поражения преобладают CD4⁺ Т-лимфоциты; синтезируются цитокины (IL-1, IL-6, IFN- γ , ФНО- α), индуцирующие экспрессию молекул HLA II класса на эпителиоцитах слюнных и слезных желез. Активируются Т- и В-лимфоциты, вследствие чего усиливается антителообразование, в том числе синтез аутоантител. Отмечается связь патологии с антигенами гистосовместимости (HLA-DR3, -DQ1 и -DQ2) и гормональным фактором (эстрогены).

Лабораторная диагностика. Выявляют аутоантитела к ядерным антигенам и ревматоидный фактор. Гистологически определяются очаги лимфоидной инфильтрации.

Васкулиты обусловлены развитием воспалительной инфильтрации и некроза стенок кровеносных сосудов. Клинические признаки связаны со степенью поражения сосудов и их расположением в органах и системах организма. Этиология васкулитов остается невыясненной. Поэтому их классифицируют по морфологическим критериям — по калибру пораженных сосудов, по образованию гранулем в участках поражения, клиническим проявлениям и по механизму развития. По калибру пораженных сосудов различают васкулиты с поражением мелких сосудов (*гранулематоз Вегенера, синдром Черджа–Стросса, микроскопический полиангиит, пурпура Шенлейна–Геноха, лейкоцитокластический васкулит*), васкулиты с поражением средних сосудов (*узелковый полиартериит, болезнь Кавасаки*), васкулиты с поражением крупных сосудов (*гигантоклеточный височный артериит, артериит Такаясу*).

Болезнь Кавасаки (впервые описана Т. Kawasaki в 1967 г.) — системный артериит больших, средних и мелких артерий, сочетающийся с кожно-слизистым синдромом. Болезнь Кавасаки очень напоминает корь. Чаще болеют дети 2–3 лет. Начало болезни острое — высокая температура тела сопровождается лимфаденопатией на шее. Отмечаются сухость губ с покраснением, красный «земляничный язык». Появляется полиморфная красная сыпь, похожая на крапивницу. Развиваются артрит, артралгия, увеит, светобоязнь. Часто поражаются коронарные сосуды; возможен инфаркт или разрыв аневризмы коронарной артерии. Причинно связанные антигены болезни процессируются с МНС I класса. Активируются макрофаги. Антигенспецифические CD8⁺ Т-лимфоциты разрушают инфицированные клетки. Антигенспецифические IgA В-лимфоциты развиваются в плазматические клетки, секретирующие антитела против агента болезни. Образуются иммунные комплексы. Макрофаги и миофибробласты секретируют ФНО- α , VEGF (vascular endothelial growth factor), матричные металлопротеиназы, способствуя росту клеток и образованию тромба. Интима разрушается; эндотелиальные клетки подвергаются некрозу, и тромбы прилипают к поврежденной поверхности.

Лабораторная диагностика имеет вспомогательное значение. Отмечаются тромбоцитоз, лейкоцитоз, увеличенные показатели СОЭ, С-реактивного белка (до 4–6 нед.) и иммуноглобулинов.

Геморрагический васкулит (*пурпура Шенлейна–Геноха*) — геморрагический некротизирующий васкулит мелких и средних сосудов, чаще развивающийся в возрасте 2–8 лет. Заболевание начинается обычно после инфекции верхних дыхательных путей; иммунные комплексы, состоящие из антител, антигенов и комплемента, откладываются на стенках сосудов. Отмечаются нейтрофильные инфильтраты. В результате активации комплемента развивается внутрисосудистое свертывание крови. В стенках мелких сосудов кожи и в почечных клубочках откладываются IgA и С3-компонент комплемента. Поражения почек сходны с проявлениями IgA-нефропатии. Из-за повышенной проницаемости стенки сосудов появляется обильная симметричная красная папулезно-геморрагическая сыпь (диаметром 3–10 мм) на коже конечностей и туловища, вызванная кровоизлияниями из воспаленных капилляров. Отмечаются боли в крупных суставах и животе, тошнота, рвота, лихорадка.

Лабораторная диагностика. В сыворотке повышен уровень IgA. В коже и почечных клубочках выявляют отложение IgA.

Тестовые вопросы и задания к главам 10, 11

А. Оральная толерантность обусловлена:

- 1) блокадой активации сигнальных рецепторов (TLR и др.) к компонентам микрофлоры человека;
- 2) активностью регуляторных Т-лимфоцитов (T_{Reg});
- 3) функцией внутреннего слоя муцины;
- 4) белками теплового шока;
- 5) цитотоксическими Т-лимфоцитами.

Б. В формировании врожденного иммунитета слизистых оболочек и кожи принимают участие:

- 1) нормальная микрофлора человека;
- 2) антимикробные пептиды;
- 3) дендритные клетки;
- 4) NK-клетки;
- 5) В-лимфоциты;
- 6) цитотоксические Т-лимфоциты.

В. Участниками противобактериального иммунитета являются:

- 1) гуморальное звено адаптивного иммунитета;
- 2) комплемент;
- 3) антимикробные пептиды;

4) фагоциты;

5) опсонины.

Г. В формировании противовирусного иммунитета участвуют:

1) интерфероны первого типа;

2) интерфероны второго типа;

3) цитотоксические Т-лимфоциты;

4) плазмцитоподобные дендритные клетки;

5) антимикробные пептиды;

6) NK-клетки;

7) секреторный IgA;

8) феномен антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Д. Участниками противогрибкового иммунитета являются:

1) клеточные рецепторы врожденного иммунитета;

2) механизмы Т-клеточного иммунитета;

3) ГЗТ;

4) антимикробные пептиды;

5) клетки эндотелия.

Е. Простейшие защищаются от иммунного ответа организма в результате:

1) формирования незавершенности фагоцитоза;

2) иммунологического уклонения;

3) образования цист;

4) внутриклеточной локализации.

Ж. К тестам первого уровня относятся:

1) определение абсолютного и относительного количества лейкоцитов;

2) определение Т- и В-лимфоцитов;

3) определение NK-клеток;

4) определение концентрации иммуноглобулинов;

5) изучение апоптоза клеток.

З. К тестам второго уровня относятся:

1) определение T_H1 , T_H2 , T_{Reg} ;

2) анализ маркеров пролиферации и активации Т- и В-лимфоцитов (CD25 и др.);

3) оценка выработки эффекторных молекул (цитокинов и др.);

4) определение экспрессии генов рецепторов врожденного иммунитета (TLR, NLR, RLR и др.);

5) определение фагоцитарной активности лейкоцитов.

И. Особенности первичных иммунодефицитов:

1) обусловлены нарушениями на генетическом уровне;

2) вызваны мутациями в генах;

3) обусловлены дефектами в генах;

4) могут быть полностью излечены иммуноотропными препаратами.

К. Особенности вторичных иммунодефицитов:

- 1) обусловлены нарушениями иммунной системы в постнатальном периоде (без генетических дефектов);
- 2) могут встречаться в норме;
- 3) сохраняются пожизненно.

Л. При диагностике аутоиммунных заболеваний выявляют:

- 1) антинуклеарные антитела;
- 2) иммунные комплексы;
- 3) ревматоидный фактор;
- 4) провоспалительные цитокины.

12

Иммунодиагностические реакции и их применение

12.1. Реакции антиген–антитело

Особенности взаимодействия антитела с антигеном являются основой диагностических реакций в лабораториях. Реакция *in vitro* между антигеном и антителом состоит из специфической и неспецифической фазы. В **специфическую фазу** происходит быстрое специфическое связывание активного центра Fab-фрагмента антитела с детерминантой (эпитопом) антигена, что обусловлено ван-дер-ваальсовыми силами, водородными связями и гидрофобным взаимодействием. Прочность и количество связавшегося антителами антигена зависят от аффинности, авидности антител и их валентности. Специфическую фазу реакции сменяет **неспецифическая фаза** — более медленная, для которой характерны видимые физические явления, например образование хлопьев при агглютинации и др. Эта фаза требует наличия определенных условий (электролитов, оптимального pH среды).

На основе реакций антиген–антитело определяют или антитела с помощью известных антигенов (диагностикумов) или антигены с помощью известных антител (иммунных сывороток).

В практике для постановки диагноза инфекций применяют **серологический метод диагностики** (от лат. *serum* — сыворотка) — выявление антител или антигенов в сыворотке крови и других жидкостях с помощью реакций антиген–антитело. При выделении микроба от больного проводят его идентификацию с помощью иммунных диагностических сывороток, т.е. сывороток крови гипериммунизированных животных, содержащих специфические антитела. Это так называемая **серологическая идентификация** микроорганизмов.

В микробиологии и иммунологии применяют различные варианты реакций агглютинации, преципитации, нейтрализации, а также реакций с участием ком-

племента, с использованием меченых антител и антигенов (радиоиммунологический, иммуноферментный, иммунофлюоресцентный методы). Эти реакции различаются по регистрируемому эффекту и технике постановки, однако все они основаны на эффекте взаимодействия антигена с антителом и применяются для выявления как антител, так и антигенов. Реакции иммунитета характеризуются высокой чувствительностью и специфичностью.

12.2. Реакции агглютинации

Реакция агглютинации — РА (от лат. *agglutinatio* — склеивание) — простая по постановке реакция, при которой происходит связывание антителами корпускулярных антигенов (бактерий, эритроцитов, различных частиц с адсорбированными на них антигенами, а также макромолекулярных агрегатов). Она протекает при наличии электролитов, например при добавлении изотонического раствора натрия хлорида, и проявляется образованием хлопьев или осадка (клетки и частицы, «склеенные» антителами, — рис. 12.1). Применяются различные варианты РА: развернутая, ориентировочная, непрямая и др. Их используют для определения противомикробных антител в сыворотке крови больных; возбудителя, выделенного от больного; групп крови с использованием моноклональных антител против аллоантигенов эритроцитов.

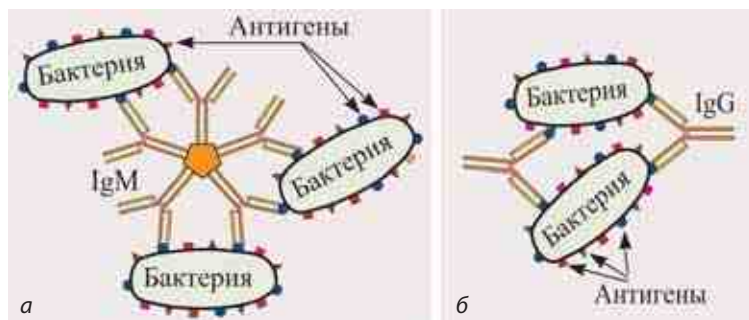


Рис. 12.1. Схема реакции агглютинации с IgM-антителами (а) и IgG-антителами (б)

1. Определение антител в сыворотке крови больного проводят с помощью **развернутой реакции 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. Реакция 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) — крупнохлопчатая и протекает быстрее.

2. Для **определения возбудителя, выделенного от больного**, ставят **ориентировочную реакцию агглютинации**, применяя диагностические антитела (агглютинирующую сыворотку, полученную гипериммунизацией кролика убитыми микробами), 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 (положительная реакция) ставят **развернутую реакцию агглютинации** в пробирках с увеличивающимися разведениями этой же агглютинирующей сыворотки, добавляя в каждую пробирку 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 за счет перекрестно реагирующих антител, что затрудняет идентификацию возбудителя. 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 г.).

Реакция не прямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА, или РПГА) основана на использовании эритроцитов или латекса с адсорбированными на их поверхности антигенами или антителами (рис. 12.2), взаимодействие которых с соответствующими антителами или антигенами сыворотки крови больных вызывает склеивание и выпадение эритроцитов на дно пробирки или ячейки в виде фестончатого осадка («зонтика»). При отрицательной реакции эритроциты оседают в виде «пуговки». Обычно в РНГА выявляют антитела с помощью антигенного эритроцитарного диагностикума, который представляет собой эритроциты с 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 не прямой гемагглютинации** — РОНГА). РНГА применяют для диагностики инфекционных болезней, определения гонадотропного гормона в моче при установлении беременности, для выявления по-

вышенной чувствительности к лекарственным препаратам, гормонам и в некоторых других случаях.

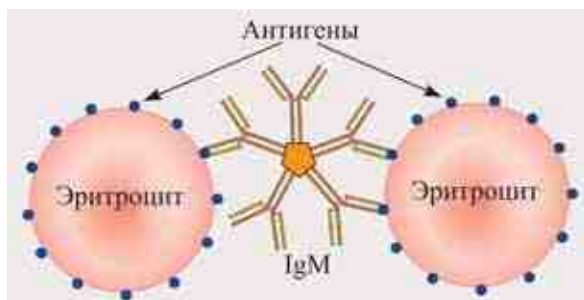


Рис. 12.2. Схема реакции непрямой (пассивной) агглютинации

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.

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА) основана на блокаде, т.е. подавлении антигенов вирусов антителами иммунной сыворотки, в результате чего гемагглютининовые шипы вирусов теряют свойство агглютинировать эритроциты (рис. 12.3). РТГА применяют для диагностики вирусных болезней, возбудители которых (вирусы гриппа, кори, краснухи и др.) могут агглютинировать эритроциты.

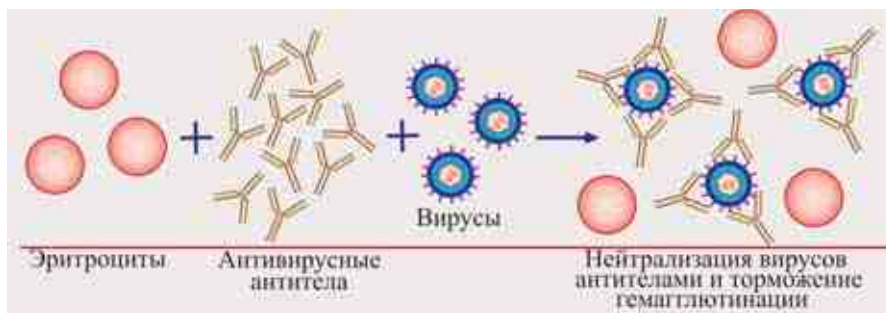


Рис. 12.3. Схема реакции торможения гемагглютинации

Реакцию агглютинации для определения групп крови применяют для установления системы АВ0 (см. разд. 9.2.2) с помощью агглютинации эритро-

цитов 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 0(I).

В реакции агглютинации для определения резус-фактора (см. разд. 9.2.2) 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.

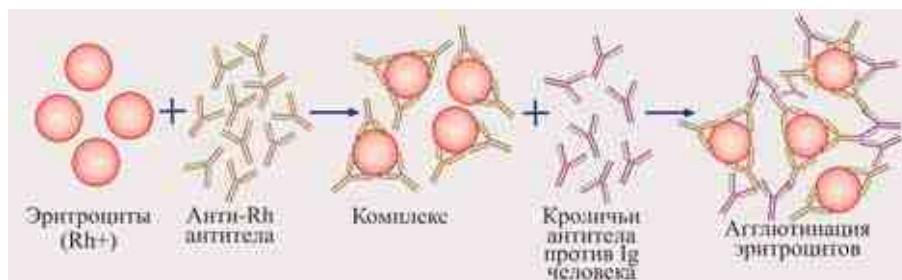


Рис. 12.4. Схема реакции Кумбса

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 (рис. 12.4). С помощью реакции Кумбса диагностируют патологические состояния, например гемолитическую болезнь новорожденных: эритроциты резус-положительного плода соединяются с циркулирующими в крови неполными антителами к резус-фактору, которые перешли через плаценту от резус-отрицательной матери. Можно также выявлять неполные антитела против микробов.

12.3. Реакции преципитации

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 сме-

шивании антигенов и антител в эквивалентных количествах; избыток одного из них снижает уровень образования иммунного комплекса.

Реакции преципитации ставят в пробирках (*реакция кольцепреципитации*), в гелях, питательных средах и др. К вариантам реакции преципитации в полужидком геле агара или агарозы относят *двойную иммунодиффузию по Оухтерлони*, *радиальную иммунодиффузию*, *иммуноэлектрофорез* и др.

Реакцию кольцепреципитации ставят 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 (рис. 12.5). 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).

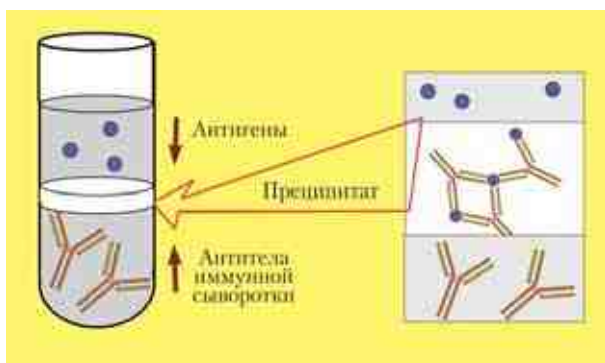


Рис. 12.5. Схема реакции кольцепреципитации

Реакция двойной иммунодиффузии по Оухтерлони. Растопленный агаровый гель тонким слоем выливают на стеклянную пластинку и после его застывания в нем вырезают лунки размером 2–3 мм. В эти лунки раздельно помещают антигены и иммунные сыворотки, которые диффундируют навстречу друг другу. В месте встречи в эквивалентных соотношениях они образуют преципитат в виде белой полосы. У многокомпонентных систем между лунками с разными антигенами и антителами сыворотки появляется несколько линий преципитата; у идентичных антигенов линии преципитата сливаются; у неидентичных — пересекаются (рис. 12.6).

Реакция радиальной иммунодиффузии. Иммунную сыворотку с расплавленным агаровым гелем равномерно наливают на стекло. После застывания в геле делают лунки, в которые помещают антиген в различных разведениях. Антиген, диффундируя в гель, образует с антителами кольцевые зоны преципи-



Рис. 12.6. Схема реакции двойной иммунодиффузии

тации вокруг лунок (рис. 12.7). Диаметр кольца преципитации пропорционален концентрации антигена. По показателям диаметра колец и концентрации искомого вещества (антигенов или антител) составляют калибровочную кривую, по которой определяют концентрацию антигена (или антител) в исследуемом образце. Реакцию используют для определения содержания в крови иммуноглобулинов различных классов, компонентов системы комплемента и др.

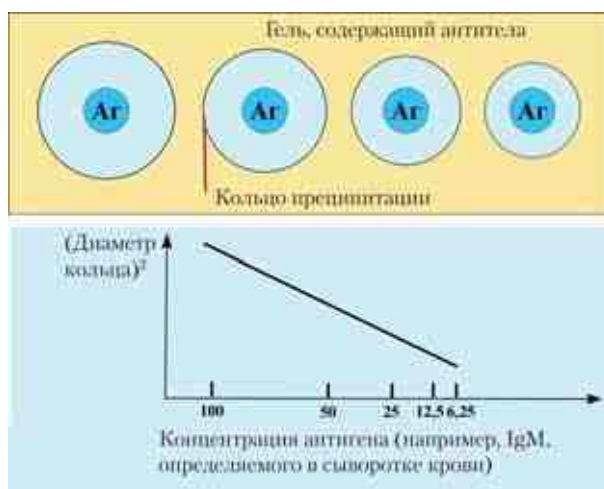


Рис. 12.7. Схема реакции радиальной иммунодиффузии: в лунки геля, содержащего антитела против IgG человека, добавляют сыворотку крови пациента, которая служит антигеном (АГ) для противочеловеческой сыворотки, растворенной в геле

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.

Реакция флоккуляции по Рамону (от лат. *floccus* — хлопья шерсти) — появление опалесценции или хлопьевидной массы (иммунопреципитации)

в пробирке при реакции токсин–антитоксин или анатоксин–антитоксин. Ее применяют для определения активности антитоксической сыворотки или анатоксина.

12.4. Реакции с участием комплемента

Реакции с участием комплемента основаны на активации комплемента комплексом антиген–антитело.

Реакция связывания комплемента (РСК) ставится с сывороткой крови больного или диагностической иммунной сывороткой, которые предварительно прогревают при температуре 56 °С для инактивации собственного комплемента. 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 сенсibilизированных 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 из-за образования мембраноатакующего комплекса комплемента; реакция отрицательная (рис. 12.8). РСК ранее применялась для диагностики 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 краснухой, клещевым энцефалитом и др. 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 иммунного прилипания (РИП) основана на активации системы комплемента корпускулярными антигенами (бактериями, вирусами), обработанными иммунной сывороткой. В результате образуется С3b-компонент комплемента, который присоединяется к корпускулярному антигену в составе иммунного комплекса. На эритроцитах, тромбоцитах, макрофагах имеются ре-

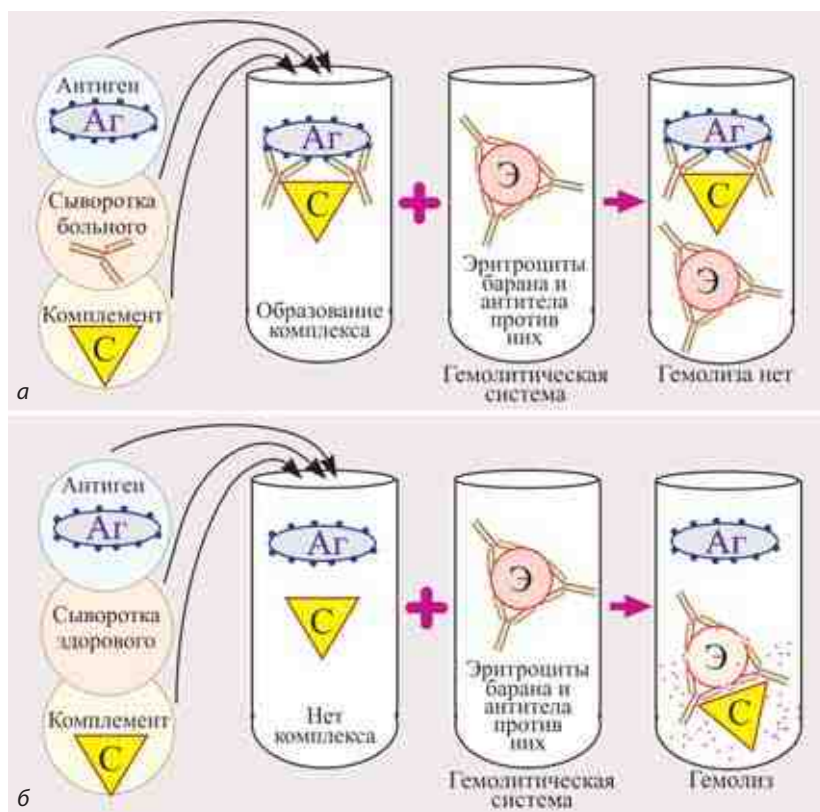


Рис. 12.8. Схема РСК с сывороткой крови больного (а) и здорового (б) человека

цепторы для С3b, благодаря чему при смешивании этих клеток с иммунными комплексами, несущими С3b, происходят их соединение и агглютинация.

12.5. 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 (рис. 12.9).

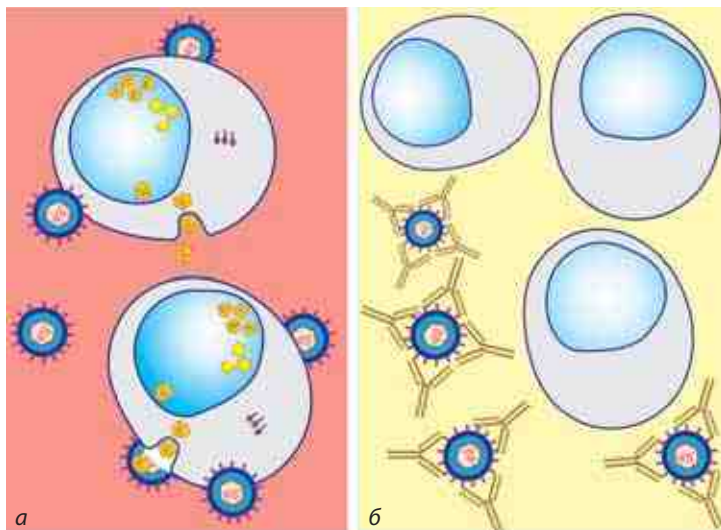


Рис. 12.9. Схема реакции нейтрализации вирусов в культуре клеток:

а — цитопатогенный эффект (ЦПЭ) в результате размножения вирусов, цвет питательной среды для клеток остается исходным (розовым); *б* — ЦПЭ отсутствует в результате нейтрализации вирусов антителами; цвет питательной среды изменяется с розового на желтый вследствие изменения pH индикатора среды живыми клетками

12.6. Реакции с использованием меченых антител или антигенов

12.6.1. Реакция иммунофлуоресценции — РИФ (метод Кунса)

Различают три основные разновидности метода: прямой, непрямой (рис. 12.10), с комплементом. Реакция Кунса служит методом экспресс-диагностики для выявления антигенов микробов или определения антител.

Прямой метод РИФ основан на том, что препараты тканей или мазки микробов, обработанные иммунными сыворотками с антителами, мечеными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Бактерии, присоединившие меченые антитела люминесцирующей сыворотки, светятся в виде каймы зеленого цвета.

Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген–антитело с помощью антиглобулиновой (противантительной) 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 + анти-

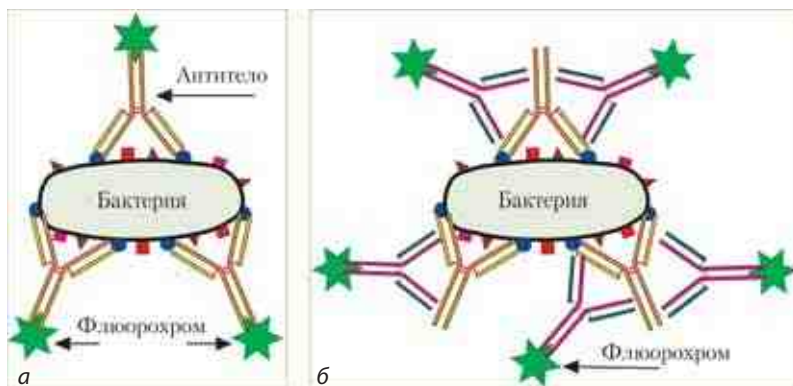


Рис. 12.10. Схема реакции прямой (а) и непрямой РИФ (б)

микробные кроличьи антитела+антикроличьи антитела, меченные флуорохромом), обнаруживаемый с помощью люминесцентного микроскопа, как и при прямом методе.

12.6.2. Иммуноферментный метод, или анализ

Иммуноферментный анализ (ИФА) — выявление антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом-меткой (антитела, меченные пероксидазой хрена, β -галактозидазой или щелочной фосфатазой). После соединения антигена с меченой 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. Реакцию прерывают путем добавления кислоты для денатурации фермента.

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 (рис. 12.11).

При определении антител в лунки планшеток с сорбированным антигеном последовательно добавляют сыворотку крови больного, антиглобулиновую (противочеловеческую) 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 сенсibilизировать 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.

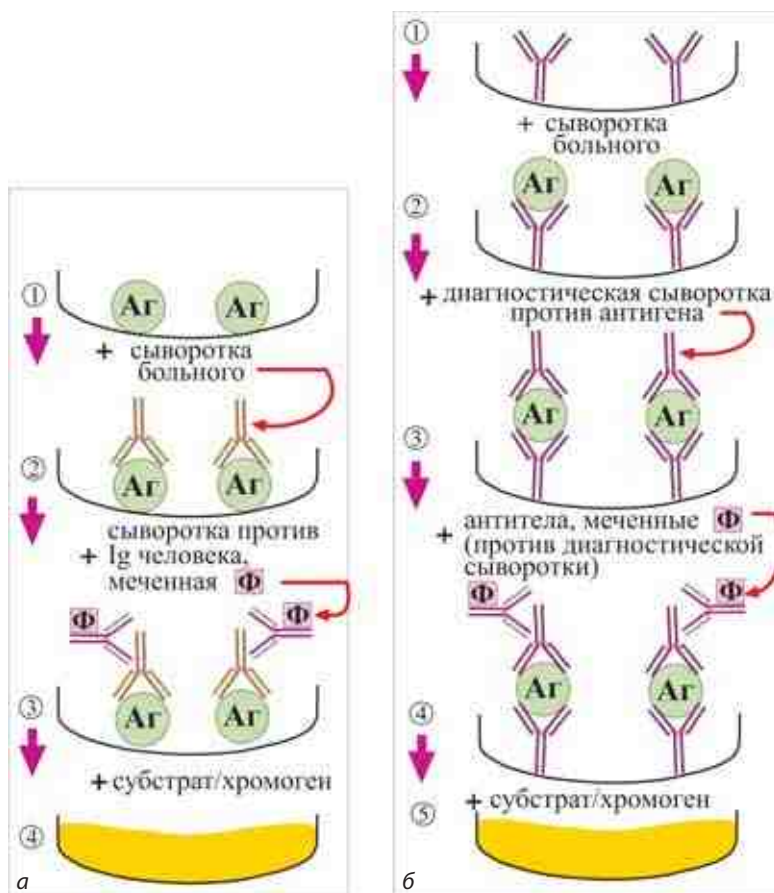


Рис. 12.11. Схема ИФА (твердофазного иммуферментного анализа):

а — антитела в сыворотке крови больного определяют в лунках планшетки с сорбированным антигеном (Ag); *б* — антигены в сыворотке крови больного определяют в лунках планшетки с сорбированными диагностическими антителами

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, гепатита В и др., а также определения гормонов, ферментов, лекарственных препаратов и других биологически активных веществ, содержащихся в исследуемом материале в минорных концентрациях — 10^{-10} – 10^{-12} г/л.

12.6.3. Радиоиммунный метод, или анализ

Высококчувствительный метод, основанный на реакции антиген–антитело с применением антигенов или антител, меченных радионуклидом (^{125}I , ^{14}C , ^3H и др.). После их взаимодействия отделяют образовавшийся радиоактивный иммунный комплекс и определяют его радиоактивность в соответствующем счетчике (β - или γ -излучение): интенсивность излучения прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител.

При **твердофазном варианте радиоиммунного анализа (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.

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.

12.6.4. Иммуноблоттинг

Иммуноблоттинг (ИБ, *вестернблоттинг*) — высококчувствительный метод, основанный на сочетании электрофореза и ИФА или РИА. Антигены разделяют по молекулярной массе с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, затем осуществляют блоттинг (от англ. *blot* — пятно), т.е. перенос антигенов из геля на нитроцеллюлозную мембрану, и проявляют невидимые «блоты» антигенов с помощью антител, меченных ферментами (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 (рис. 12.12). Метод используют при диагностике, например ВИЧ-инфекции и др.

12.6.5. Иммунная электронная микроскопия

Иммунная электронная микроскопия — электронно-микроскопическое изучение микробов, чаще вирусов, обработанных соответствующими антителами. Вирусы, обработанные иммунной сывороткой, образуют иммунные агрегаты — скопления вирионов, выявляемые при электронной микроскопии. Вокруг вирионов образуется «венчик» из антител, контрастированный электронно-оптически

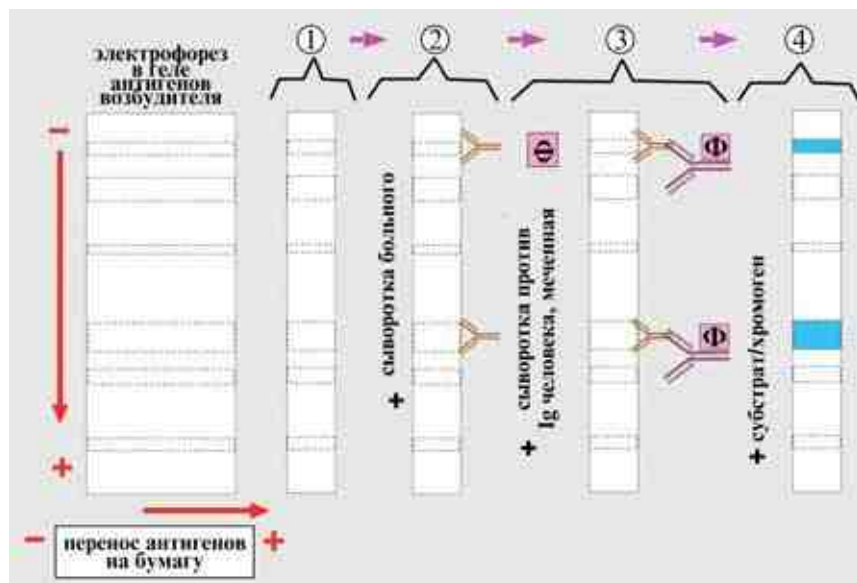


Рис. 12.12. Схема иммуноблоттинга

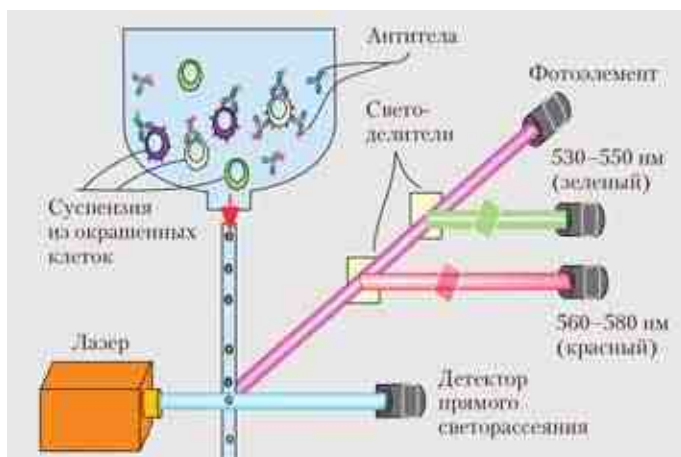


Рис. 12.13. Принцип проточной цитометрии

плотными веществами. Используют также антитела, меченные ферритином, — железосодержащим белком, что позволяет выявлять соответствующие антигены.

12.6.6. Проточная цитометрия

Клетки крови дифференцируют по их CD-антигенам с помощью лазерной цитофлуориметрии (рис. 12.13). Искомые клетки окрашивают флуоресцирующими

моноклональными антителами против их маркеров — CD-антигенов. Образец крови после обработки мечеными антителами, пропускают через тонкую трубку. Через исследуемый образец пропускают лазерный луч, который возбуждает свечение флюорохрома. Интенсивность флюоресценции коррелирует с плотностью антигенов на поверхности клеток и может быть количественно измерена с помощью фотоумножителя. Полученные результаты преобразуются в гистограмму.

Проточную цитометрию применяют для определения иммунного статуса (содержания основных популяций лимфоцитов и различных цитокинов; выявление активности NK-клеток, фагоцитоза; особенностей апоптоза, пироптоза и др.).

Тестовые вопросы и задания

А. В диагностических реакциях реакций антиген–антитело определяют:

- 1) антитела в сыворотке крови больных с помощью диагностикумов;
- 2) антитела в сыворотке крови больных с помощью иммунных сывороток;
- 3) микробы с помощью известных иммунных сывороток;
- 4) микробы с помощью известных диагностикумов.

Б. РНГА основана на использовании:

- 1) эритроцитов с адсорбированными на их поверхности антигенами или антителами;
- 2) латекса с адсорбированными на его поверхности антигенами или антителами;
- 3) нейтрофилов с адсорбированными на их поверхности антигенами или антителами;
- 4) тромбоцитов с адсорбированными на их поверхности антигенами или антителами.

В. Реакция преципитации — это:

- 1) формирование и осаждение комплекса растворимого молекулярного антигена с антителами;
- 2) формирование и склеивание комплекса корпускулярных антигенов с антителами;
- 3) формирование и осаждение комплекса в пробирке при реакции токсин–антитоксин или анатоксин–антитоксин.

Г. К вариантам реакции преципитации в полужидком геле агара или агарозы относят:

- 1) двойную иммунодиффузию по Оухтерлони;
- 2) радиальную иммунодиффузию;
- 3) иммуноэлектрофорез;
- 4) реакцию кольцепреципитации.

Д. Способы постановки реакции преципитации:

- 1) на лабораторных животных;
- 2) иммунодиффузия;
- 3) иммуноэлектрофорез;
- 4) иммуноблоттинг.

Е. Суть РСК заключается в определении:

- 1) титра комплемента;
- 2) неизвестного антигена по известным антителам;
- 3) титра анатоксина;
- 4) неизвестных антител по известному антигену.

Ж. Для определения неполных антител используется:

- 1) реакция Кумбса;
- 2) реакция нейтрализации;
- 3) реакция преципитации;
- 4) реакция радиальной иммунодиффузии.

З. К диагностическим реакциям с использованием меченых антител или антигенов относят:

- 1) РИФ;
- 2) метод Кунса;
- 3) реакцию Кумбса;
- 4) РИФ;
- 5) иммуноблоттинг.

13

Препараты для иммунопрофилактики, иммунотерапии и диагностики

13.1. Сущность и место иммунопрофилактики и иммунотерапии в медицинской практике

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, влияющих 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 антигенам в целях 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 здоровья.

Иммунопрофилактика и иммунотерапия применяются в случаях, когда необходимо:

- сформировать, создать адаптивный иммунитет или активизировать деятельность иммунной системы;
- подавить активность отдельных звеньев иммунной системы;
- нормализовать работу иммунной системы, если имеются нарушения ее функций.

Иммунопрофилактика и иммунотерапия находят широкое применение в различных областях медицины, в первую очередь в профилактике и лечении инфекционных болезней, аллергий, иммунопатологических состояний, в онколо-

гии, 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, полиомиелит на большинстве континентов, резко снижена заболеваемость корью, эпидемическим паротитом, краснухой.

В лечении токсинемических инфекций (ботулизма, столбняка и др.) ведущее значение имеет серотерапия, т.е. применение антитоксических сывороток и иммуноглобулинов. В лечении аутоиммунных, аллергических и онкологических болезней все более широкое применение находят цитокины и моноклональные антитела.

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 разработано множество средств, объединенных в группу под названием **иммунобиологические препараты**. В эту группу также входят диагностические иммунопрепараты — неотъемлемая часть врачебного арсенала в клиниках инфекционных и неинфекционных болезней.

Действующим началом в иммунобиологических препаратах являются антигены, антитела, микробные клетки и их дериваты, цитокины, иммунокомпетентные клетки и другие иммунореагенты.

В настоящее время выделяют пять групп иммунобиологических препаратов (А.А. Воробьев).

Первая группа — препараты, 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 и пробиотики.

Вторая группа — иммунобиологические препараты 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 (адьюванты, некоторые антибиотики, антиметаболиты, гормоны, индукторы интерферонов) 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 — препараты для специфической диагностики инфекционных и неинфекционных болезней, с помощью которых можно обнаруживать антигены, антитела, ферменты, продукты метаболизма, биологически активные пептиды, чужеродные клетки и т.д.

13.2. Вакцины

Термин «**вакцина**» произошел от французского *vacca* — корова (ввел Л. Пастер в честь Э. Дженнера, применившего вирус коровьей оспы для иммунизации людей против натуральной оспы человека).

Вакцины используют в основном для активной специфической профилактики, а иногда и для лечения инфекционных болезней. Кроме этого, появились вакцины для профилактики и лечения неинфекционных и онкологических болезней, наркозависимости, табакокурения и др. Действующим началом в вакцинах является специфический антиген.

Вакцина представляет собой сложный иммунобиологический препарат, 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 (1:10 000), формалин и другие antimicrobные препараты. Для повышения иммуногенности антигена в некоторые вакцины добавляют различные адъюванты (см. разд. 13.3).

Живые вакцины представляют собой препараты, в которых действующим началом являются ослабленные тем или иным способом, потерявшие вирулентность, но сохранившие специфическую антигенность штаммы патогенных микробов, получившие название аттенуированных штаммов. Аттенуация (ослабление) возможна путем длительного воздействия на штамм химических (мутагены) или физических (температура, радиация) факторов или же длительных пассажей через организм невосприимчивых животных или другие биообъекты (эмбрионы птиц, культуры клеток). В результате таких воздействий на культуры патогенных бактерий или вирусов селекционируются штаммы со снижен-

ной вирулентностью, но способные при введении в организм человека размножаться и вызывать вакцинный процесс (создавать адаптивный иммунитет), не вызывая инфекционного заболевания.

Аттенуацию патогенных бактерий в целях получения вакцинных штаммов впервые предложил Л. Пастер на примере вируса бешенства, холеры кур, бацилл сибирской язвы. Этот способ широко используется в вакцинологии. В качестве живых вакцин можно также 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.

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 возбудителю. Такие вакцины называют **векторными**. В качестве векторов для создания рекомбинантных штаммов чаще используют вирус осповакцины, непатогенные штаммы сальмонелл и другие микробы.

Дозируют вакцину числом живых бактерий или вирусов в зависимости от способа применения: подкожно, внутримышечно, перорально. Обычно живые вакцины применяют однократно с периодическими ревакцинациями.

В качестве примера живых вакцин можно назвать вакцины против кори, эпидемического паротита, краснухи, полиомиелита.

Инактивированные (убитые) вакцины в качестве действующего начала включают убитые химическим или физическим методом культуры патогенных бактерий или вирусов (цельноклеточные, целновирионные 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 формальдегид, спирт, фенол, температурное воздействие, УФ-облучение, ионизирующую радиацию.

Для выделения из бактерий и вирусов антигенных комплексов (гликопротеинов, ЛПС, белков) применяют трихлоруксусную кислоту, фенол, ферменты, изоэлектрическое осаждение, ультрацентрифугирование, ультрафильтрацию, хроматографию и другие методы. В вакцинный препарат обязательно добавляют консервант, иногда — адъюванты.

Дозируют вакцину в антигенных единицах; применяют, как правило, подкожно, внутримышечно в виде нескольких инъекций на курс вакцинации.

В практике применяют убитые вакцины против гриппа, полиомиелита, коклюша, бешенства и др.

Молекулярные вакцины. В молекулярных вакцинах антиген находится в молекулярной форме или же в виде фрагментов его молекул, определяющих специфичность антигенности, т.е. в виде эпитопов. Протективный антиген в виде молекул можно получить биологическим синтезом в процессе культивирования природных патогенных микробов или вирусов. Развитие генной инженерии, создание рекомбинантных микробов, 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 антигена вируса, продуцируемого рекомбинантным штаммом дрожжей. Наконец, антиген в молекулярной форме, особенно детерминанты антигена, можно получить химическим синтезом после расшифровки его структуры.

Анатоксины (токсоиды) являются примером молекулярных вакцин: дифтерийный, столбнячный, ботулинический, гангренозный (перфрингенс, нови и др.), стафилококковый, холерный анатоксины.

Принцип получения анатоксинов состоит в том, что образующийся при культивировании соответствующих бактерий токсин превращают в нетоксичную, но сохраняющую специфическую антигенность форму — анатоксин путем воздействия 0,4% формальдегида и тепла (37 °C) в течение 3–4 нед. Полученный анатоксин очищают и концентрируют 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 $\text{Al}(\text{OH})_3$ и $\text{Al}(\text{PO}_4)$. Полученные препараты назвали очищенными сорбированными (адсорбированными) анатоксинами.

Дозируют анатоксины в антигенных единицах: единицах связывания (ЕС) анатоксина специфическим антитоксином или в единицах флокуляции (Lf). 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.

Синтетические вакцины. Молекулы антигенов или их эпитопы сами по себе обладают низкой иммуногенностью, по-видимому, в связи с деструкцией их в организме ферментами, а также недостаточно активным процессом их адгезии иммунокомпетентными клетками из-за относительно низкой молекулярной массы антигенов. Поэтому ведутся поиски повышения иммуногенности

молекулярных антигенов путем искусственного укрупнения их молекул за счет химической или физико-химической связи (сшивки) антигена или его детерминанты с полимерными крупномолекулярными безвредными для организма носителями (типа поливинилпирролидона и других полимеров), который бы играл роль «шлеппера» и адъюванта.

Таким образом, искусственно создается комплекс, состоящий из антигена или его детерминанты + полимерный носитель + адъювант. Часто носитель исполняет и роль адъюванта. Благодаря такой композиции тимусзависимые антигены можно превратить в тимуснезависимые; такие антигены будут длительно сохраняться в организме и легче адгезироваться иммунокомпетентными клетками. Вакцины, созданные по такому принципу, получили название синтетических. Проблема создания синтетических вакцин довольно сложная, но она активно разрабатывается, особенно в нашей стране (Р.В. Петров, Р.М. Хаитов). Так, создана вакцина против гриппа с использованием полимера полиоксидония, а также ряд других экспериментальных вакцин.

Ассоциированные вакцины. С целью сокращения числа вакцин и инъекций при проведении массовой вакцинопрофилактики разработаны и совершенствуются ассоциированные вакцины, т.е. препараты, включающие несколько разнородных антигенов и позволяющие 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 инаktivированные, 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 является, например, АКДС-вакцина, состоящая из инаktivированной корпускулярной коклюшной вакцины, дифтерийного и столбнячного анатоксинов, или вакцина против кори, эпидемического паротита и краснухи.

13.3. Адъюванты

Как было сказано выше, для усиления иммуногенности вакцин применяют адъюванты (от лат. *adjuvant* — помощник). В качестве адъювантов используют: минеральные сорбенты (гели гидрата окиси и фосфата алюминия), полимер-

ные 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; инаktivированные коклюшные бактерии, липиды и эмульгаторы (ланолин, арлацел); вещества, вызывающие воспалительную реакцию (сапонин, скипидар). Большинство адъювантов являются чужеродными для организма веществами, имеют различный химический состав и происхождения; 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 иммунокомпетентных клеток и усиливают синтез защитных белков организма. Адъюванты усиливают иммуногенность антигенов в несколько раз, а такие растворимые молекулярные белковые антигены, как дифтерийный, столбнячный, ботулинический анатоксины, — до ста раз (А.А. Воробьев).

13.4. Общая характеристика вакцин; показания и противопоказания к вакцинации

Для вакцинопрофилактики применяется более 100 вакцин, позволяющих контролировать более 40 различных инфекций. Многолетний опыт применения вакцин доказал, что вакцинация — наиболее эффективный и экономичный способ борьбы с инфекционной заболеваемостью.

Длительное время шла дискуссия по вопросу, какие вакцины предпочтительнее — живые или инаktivированные. Сравнение этих двух групп вакцин по ряду показателей (иммуногенность, безвредность, реактогенность, простота применения, стандартность, экономичность производства и др.) привело к выводу о том, что предпочтительнее та вакцина (будь то живая или убитая), которая обеспечивает наиболее высокий защитный эффект, дает лучшие результаты по снижению инфекционной заболеваемости и не наносит при этом ущерба здоровью вакцинируемых.

Существуют общие требования ко всем вакцинам. Любой рекомендуемый для вакцинации препарат должен быть: иммуногенным, безопасным, нереактогенным, не 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.

Показания и противопоказания к вакцинации. 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 иногда могут быть нежелательные поствакцинальные осложнения у лиц с теми или иными отклонениями в состоянии здоровья. Общие противопоказания к вакцинации: 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 нарушений, указанных в наставлении по применению вакцины, не считаются противопоказанием к прививкам.

13.5. Календарь прививок

В каждой стране, в том числе и в России, действует календарь прививок, 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, эпидемического паротита, краснухи, коклюша, дифтерии, столбняка, гепатита В, а в эндемичных районах — дополнительно против особо опасных инфекций. В календарь прививок также внесена вакцинопрофилактика гриппа по эпидемиологическим показаниям.

В России принят Федеральный закон «О вакцинопрофилактике инфекционных заболеваний человека», который определяет права и обязанности граждан и отдельных групп населения в области вакцинопрофилактики, а также правовое регулирование государственных органов, учреждений, должностных лиц и установление их ответственности в области вакцинопрофилактики.

13.6. Бактериофаги

Бактериофаги применяют в диагностике, профилактике и терапии некоторых бактериальных инфекций (брюшной тиф, дизентерия, 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 направлены на уничтожение (лизис) бактерий. На этом же принципе основаны фагодиагностика, специфическая индикация и идентификация бактерий с помощью фагов (фаготипирование). Бактериофаги применяют наряду с другими иммунобиологическими препаратами 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. Активность бактериофага устанавливают путем титрования на соответствующих, чувствительных к фагу культурах бактерий, выращенных на плотных или жидких питательных средах.

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.

13.7. Пробиотики

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 (при дисбактериозах).

Пробиотики применяют как с профилактической, так и с лечебной целью при дисбактериозах различной этиологии (соматические и инфекционные болезни, экологические и профессиональные влияния на организм и его микрофлору, вторичные иммунодефициты, нерациональное питание и др.). Поскольку дисбактериозы широко распространены среди населения, так как полиэтиологичны, пробиотики относятся к числу препаратов массового применения, производятся в нашей стране в больших количествах и ими постоянно снабжается аптечная сеть.

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 от 1 до 100 млн живых бактерий. Пробиотики назначают перорально длительными курсами (от 1 до 6 мес.) по 2–3 раза в день и, как правило, в сочетании с другими методами лечения.

Учитывая, что пробиотики содержат живые микробные клетки, они должны храниться в щадящих условиях (определенный температурный режим, отсутствие солнечной радиации т.д.).

Сегодня широкое применение нашли пробиотики в виде молочнокислых продуктов, содержащих живые бактерии нормальной микрофлоры человека.

13.8. 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, 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 и иммуноглобулины. Иммунные лечебные и профилактические сыворотки известны уже более ста лет. Первые иммунные антитоксические противодифтерийные сыворотки получил Э. Беринг. К настоящему времени существуют не только **антитоксические сыворотки** для лечения и профилактики дифтерии, столбняка, газовой гангрены, ботулизма, но и **противобактериальные** (противотифозная, противочумная и др.), а также **противовирусные сыворотки** (против бешенства, клещевого энцефалита и др.).

Иммунные сыворотки получают путем гипериммунизации, т.е. многократной интенсивной иммунизации, животных (лошадей, ослов, иногда кроликов) специфическим антигеном 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 или специально иммунизированных людей-доноров либо сыворотки из плацентарной, а также абортной крови, содержащие антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней вследствие вакцинации или перенесенного заболевания. Гомологичные сыворотки дают гораздо меньше побочных реакций в ответ на их введение, чем гетерогенные.

Поскольку нативные иммунные сыворотки содержат в своем составе ненужные балластные белки, например альбумин, из них 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 молекул иммуноглобулина выделяют только антигенсвязывающие участки (Fab-фрагменты); такие иммуноглобулины получили название доменных антител.

Активность иммунных сывороток и иммуноглобулинов выражают в антитоксических единицах, в титрах (вируснейтрализующей, гемагглютинирующей, преципитирующей, агглютинирующей активности и т.д.), 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, куриных эмбрионах или животных.

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, сохраняясь 2–3 нед. после введения гетерологичных и в течение 4–5 нед. — гомологичных сывороточных препаратов.

После введения сывороточных препаратов возможны осложнения в виде анафилактического шока и сывороточной болезни. Поэтому перед введе-

нием препаратов ставят аллергическую пробу на чувствительность к ним пациента, а вводят их по методу Безредки дробно, небольшими порциями.

В некоторых случаях прибегают к пассивно-активной иммунизации, т.е. к одновременному введению сывороточных препаратов и вакцин, в результате чего быстронаступающий, но кратковременный пассивный иммунитет, обусловленный вводимыми антителами, подменяется через 2–3 нед. активным иммунитетом, возникающим в ответ на введение вакцины. К пассивно-активной иммунизации прибегают для профилактики столбняка у раненых, при профилактике бешенства и других инфекций.

Моноклональные антитела. Антитела по своей структуре и функциям гетерогенны. В ответ на введение антигена в крови появляются поликлональные антитела, т.е. смесь иммуноглобулинов, синтезированных множеством клонов активированных В-лимфоцитов.

Для получения иммуноглобулинов, синтезируемых только одним В-лимфоцитом или полученным от него клоном, т.е. моноклонального иммуноглобулина, необходимо иммунный В-лимфоцит (взятый от иммунизированного животного или человека) размножить в искусственных условиях (в культуре клеток) и добиться синтеза иммуноглобулинов. Однако практическое использование такого пути нереально, поскольку В-лимфоциты не размножаются *in vitro*. Учитывая это, немецкие ученые Г. Келлер и Ц. Мильштейн разработали метод получения моноклональных антител с помощью **гибридом**, т.е. гибридных клеток, образованных путем слияния иммунного В-лимфоцита с миеломной клеткой. Полученные таким образом гибридомы способны быстро размножаться *in vitro* в культуре клеток (что унаследовано от миеломной клетки) и продуцировать при этом иммуноглобулин, характерный только для этого В-лимфоцита.

Гибридомы, продуцирующие моноклональные антитела, размножают или в аппаратах, приспособленных для выращивания культур клеток или при введении их внутрибрюшинно особой линии мышей (асцитным). В последнем случае моноклональные антитела накапливаются в асцитной жидкости, в которой размножаются гибридомы. Разработаны методики, позволяющие получать гибридные моноклональные антитела, константная часть которых является человеческой, а переменная — мышьиной. Такие **гуманизированные антитела** уже можно применять не только для диагностики, но и для лечения некоторых заболеваний.

13.9. Иммуномодуляторы

Иммуномодуляторы — вещества, оказывающие влияние на функцию иммунной системы. Их подразделяют на экзогенные и эндогенные.

К экзогенным иммуномодуляторам относится большая группа веществ различной химической природы и происхождения, 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 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 (цитокины): интерлейкины, интерфероны (α , β , γ), миелопептиды, пептиды тимуса, ФНО, КСФ, ТФР, хемокины и др. И те 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); химические соединения (левамизол и др.), а также цитокины (интерлейкины, интерфероны, пептиды тимуса, миелопептиды и др.).

Иммуносупрессивным действием обладают все цитостатики, антагонисты пуринов (6-меркаптопурин), аминокислот, ферментов, а также кортикостероиды, антилимфоцитарная сыворотка, моноклональные антитела к рецепторам иммунокомпетентных клеток, облучение (рентгеновские лучи, γ -излучение и др.).

Иммуномодуляторы нашли широкое применение при лечении первичных и вторичных иммунодефицитов различного происхождения, онкологических болезнях, трансплантации органов и тканей, лечении иммунопатологических и аллергических болезней, в иммунопрофилактике и лечении инфекционных болезней и т.д. Для этого создано множество препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием. К ним относятся препараты интерферонов и их индукторов. На основе интерлейкинов создан ряд препаратов, в основном полученных генно-инженерным способом: IL-1 β (бета-лейкин), IL-2, -3, -6 и др. На основе пептидов тимуса, извлеченных из тимуса крупного рогатого скота или полученных генно-инженерным способом, разработаны препараты тактивин, тимозин, титулин, тимопоэтин. Получены из природного сырья (костного мозга) миелопептиды, а также рекомбинантные препараты на их основе.

Из экзогенных иммуномодуляторов следует упомянуть препараты, созданные на основе субстанций, извлеченных из микробных клеток: пирогенал (ЛПС *Pseudomonas aeruginosa*), продигиозан (ЛПС *B. prodigiosum*), сальмазан (ЛПС сальмонеллы), ликопид (модифицированный мурамилдипептид), рибомунил (рибосо-

мы клебсиелл, стрептококков, пневмококков с примесью мембранных протеогликанов), ЛПС, нуклеинат натрия (натриевая соль низкомолекулярной РНК дрожжей), вакцина ВП-4 и др.

Таким образом, медицинская служба располагает большим арсеналом иммуномодуляторов, которые могут быть использованы для иммунокоррекции при различных инфекционных и неинфекционных болезнях, протекающих с вовлечением в патологический процесс иммунной системы.

13.10. Диагностические препараты

Для иммунодиагностики инфекционных, а также неинфекционных болезней, связанных с изменением функции иммунитета, для оценки иммунного статуса (при выявлении влияния на организм неблагоприятных факторов) разработано и используется в медицинской практике множество диагностических препаратов и систем. Механизм их действия 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, антигенпредставляющих клеток);
- определение факторов врожденного иммунитета (комплемента, интерферонов, лизоцима и др.);
- определение цитокинов и других биологически активных веществ, принимающих участие в регуляции иммунитета;
- кожные пробы и реакции.

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.

Успешно развиваются биосенсорные тест-системы. Принцип работы биосенсоров основан на регистрации с помощью детекторов физических (опалесценция, агглютинация, тепловое и другие виды излучения) и химических (образование новых продуктов и соединений) эффектов, возникающих при осуществлении специфических реакций иммунитета. Например, если реакция антиген–антитело протекает с выделением тепла, то ее можно регистрировать по тепловому эффекту; если при действии фермента на детектируемый субстрат выделяется CO_2 , то по количеству углекислоты можно определить количество субстрата, и т.д.

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.); изучают 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, очищенных и специфических антигенов, совершенствование техники регистрации реакций еще более повысили специфичность и информативность диагностических препаратов.

Тестовые вопросы и задания

А. Иммунобиологические препараты для создания активного искусственного иммунитета:

- 1) иммунные сыворотки;
- 2) препараты иммуноглобулинов;
- 3) вакцины;
- 4) адъюванты;
- 5) анатоксины.

Б. Адъюванты применяют для:

- 1) усиления иммуногенности вакцин;
- 2) создания пассивного иммунитета;
- 3) усиления активности антитоксических антител;
- 4) выявления иммуноглобулинов.

В. Введение антитоксической сыворотки по Безредке необходимо для:

- 1) профилактики сывороточной болезни;
- 2) профилактики анафилактического шока;
- 3) создания активного искусственного иммунитета;
- 4) создания адаптивного иммунитета.

Г. Составьте логические пары вопрос-ответы:

1) пробиотики	А — молекулярные вакцины
2) анатоксины	Б — угнетают иммунный ответ
3) иммуносупрессоры	В — препараты для поддержания врожденного иммунитета

The background of the page is a detailed, artistic illustration of various microorganisms. It includes several large, oval-shaped cells with internal structures, numerous spherical bacteria with fine, radiating hair-like appendages (pili or flagella), and some elongated, rod-shaped organisms. The colors are muted, featuring shades of green, yellow, and brown against a dark, textured background.

Часть III

Частная микробиология

14

Микробиологическая диагностика

14.1. Методы микробиологической диагностики

Основная цель микробиологического исследования — установление или исключение этиологической роли микроорганизмов при возникновении заболевания. Важными показателями лабораторной диагностики являются чувствительность и специфичность методов.

Чувствительность показывает минимальное количество искомого объекта, которое можно обнаружить данным методом. Объектом могут быть микроорганизмы, их антигены, антитела, выработанные организмом в ответ на инфекцию, а также генетический материал возбудителя. Чем меньшее количество исследуемого объекта способен выявить метод, тем выше его чувствительность. Если метод не выявляет микроорганизмы, которые присутствуют в образце, результат считается ложноотрицательным. Чем выше чувствительность метода, тем меньше ложноотрицательных результатов.

Специфичность показывает способность метода определять тот объект, который мы ищем. Если метод показывает наличие в образце микроорганизмов, которые там не содержатся, результат считается ложноположительным. Чем выше специфичность метода, тем меньше ложноположительных результатов.

Ни один метод не гарантирует сочетания 100% чувствительности и специфичности. А значит, не дает 100% верного ответа. Поэтому для постановки диагноза нередко приходится использовать несколько различных методов.

Выделяют семь основных методов микробиологической диагностики: микроскопический, культуральный, серологический, аллергологический, биологический, молекулярно-генетический и физико-химический.

14.1.1. Микроскопический метод

Материал, полученный от больного, исследуют под микроскопом. При этом возможно использование различных микроскопических техник: световой, фа-

зово-контрастной, темнопольной, люминесцентной и электронной. Световая микроскопия применяется наиболее часто.

С помощью микроскопического метода можно определить морфологические признаки возбудителей, а также установить факт наличия или отсутствия микроорганизмов в изучаемых образцах. К достоинствам этого метода можно отнести простоту, экономичность и быстроту (получение результата в тот же день). Ложноположительные или ложноотрицательные результаты микроскопического метода могут быть связаны с субъективностью оценки результатов и низкой концентрацией возбудителя в клиническом материале.

При микроскопии бактерий (**бактериоскопический метод**) их окрашивают и изучают морфологические и тинкториальные свойства. При этом определяют форму, размер и взаимное расположение бактериальных клеток (например, кокки могут располагаться цепочками (стрептококки), в виде виноградной грозди (стафилококки), парами (диплококки) и др.). Используя различные методы окраски, выявляют тинкториальные особенности и отдельные структуры бактериальной клетки (при окраске по Граму — свойства клеточных стенок, по Бурри–Гинсу — наличие капсулы, по Аuesки — споры, при серебрении по Морозову и окраске по Леффлеру — жгутики, по Нейссеру — зерна волутина и др.). Использование бактериоскопического метода возможно только при высокой концентрации микробов в исследуемом материале (чувствительность метода — более 1000–100 000 клеток/мл). К тому же в связи с тем, что многие бактерии имеют сходную морфологию и тинкториальные свойства, метод не позволяет точно идентифицировать возбудитель и в большинстве случаев его результат носит лишь ориентировочный характер. Данный метод обладает диагностической значимостью лишь в том случае, если бактерия имеет специфические морфологические особенности и вызывает появление характерной клинической картины. Его можно использовать для диагностики туберкулеза (обнаружение кислотоустойчивых палочек), гонореи (присутствие в мазках гноя диплококков в цитоплазме нейтрофилов), ранней диагностики лептоспироза (микроскопия крови или осадка мочи в темном поле и выявление извитых микробов) и др. Специфичность метода всего 20–80%.

При микроскопии вирусов (**вирусоскопический метод**) чаще используют электронный микроскоп, реже — люминесцентный. Световая микроскопия из-за ничтожно малых размеров вирусов практически не применяется. Она может быть использована лишь для обнаружения крупных вирусов, размер которых превышает 200 нм, применяя окраску серебрением по Морозову (вирус натуральной оспы). Кроме того, с помощью светового микроскопа можно выявить цитопатическое действие вируса и внутриклеточные включения (внутридерные и внутрицитоплазматические), которые образуются в пораженных клетках при некоторых вирусных инфекциях.

Микроскопический метод наиболее эффективен при паразитарных заболеваниях (**паразитоскопический метод**). Простейшие и гельминты имеют

довольно крупное строение и обладают характерными морфологическими особенностями, на основании которых может быть поставлен точный диагноз. В частности, этот метод является основным при подтверждении диагноза заболеваний, вызванных простейшими (малярия, амебиаз, лямблиоз и др.) и гельминтами. Микроскопическое исследование патологического материала заключается в приготовлении нативных препаратов и мазков, окрашенных по методу Романовского–Гимзы.

Микроскопия грибов. Грибы микроскопируют как в нативном, так и в окрашенном состоянии. Довольно часто при микозах используют *гистологический метод*, заключающийся в обнаружении элементов гриба (гифы, споры 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 микроскопии.

14.1.2. Культуральный метод

Микроорганизмы, находящиеся в исследуемом материале, культивируют на питательных средах, культурах клеток, куриных эмбрионах в целях выделения чистой культуры и ее идентификации. В зависимости от объекта метод получил различные названия: бактериологический метод (культивирование бактерий), вирусологический метод (культивирование вирусов), микологический метод (культивирование грибов), паразитологический метод (культивирование простейших).

К достоинствам культурального метода можно отнести высокую информативность, так как он позволяет выделить, накопить и наиболее точно идентифицировать возбудитель, а к недостаткам — трудоемкость и длительность исследования (более 2–3 дней). Ложноотрицательные результаты культурального метода исследования могут быть обусловлены недоступностью возбудителя во время забора клинического материала, гибелью микроорганизма в процессе транспортировки образца, а также в случае некультивируемой формы микроба.

Бактериологический метод заключается в выделении чистой культуры бактерий и идентификации ее по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим, токсигенным и антигенным свойствам. Бактерии культивируют на питательных средах, культурах клеток, куриных эмбрионах. Большинство исследований включает определение чувствительности выделенного возбудителя к антимикробным препаратам и бактериофагам. Для эпидемиологического маркирования и установления источника инфекции проводят внутривидовую идентификацию с определением фаговаров, биоваров, сероваров, хемоваров, антибиотиковаров и т.д. Кроме того, данный метод позволяет определить количество бактерий в исследуемом материале, что имеет значение при оценке этиологической роли выделенного микроба (это особенно важно

при заболеваниях, вызванных условно-патогенными бактериями). Бактериологический метод является «золотым стандартом» в лабораторной диагностике бактериальных инфекций. Специфичность метода — 100%, чувствительность — 100–1000 бактерий/мл.

Вирусологический метод. Исследуемым материалом заражают чувствительную биологическую модель (лабораторное животное, куриный эмбрион или культуру клеток) с последующей индикацией и идентификацией вируса. При заражении лабораторных животных индикация вирусов производится по клинической картине и патолого-анатомическим изменениям. В культуре клеток наличие вируса определяют по цитопатическому действию, внутриклеточным включениям, гемадсорбции, феномену бляшкообразования, отсутствию изменения окраски индикатора питательной среды. Идентификация вируса осуществляется с помощью иммунных реакций (РПГА, РТГА, РН, РСК, ИФА и др.) или ПЦР. Вирусологический метод позволяет точно определить природу возбудителя, но он требует специализированной лаборатории и времени (более 7 дней).

Микологический метод. Материал от больного культивируют на специальных питательных средах, выделяют чистую культуру гриба и идентифицируют ее по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам с последующим определением чувствительности к противогрибковым препаратам. Микологический метод основной при диагностике микозов.

Паразитологический метод. Возможно культивирование отдельных простейших на питательных средах с их дальнейшей идентификацией. Метод используется редко.

14.1.3. Биологический метод

Данный метод основан на заражении исследуемым материалом чувствительных лабораторных животных (мышей, крыс, морских свинок, кроликов и др.).

Материал можно вводить перорально, в дыхательные пути, внутрибрюшинно, внутривенно, внутримышечно, внутрикожно и подкожно, в переднюю камеру глаза, через трепанационное отверстие черепа, субокципитально (в большую цистерну головного мозга). Выбор животного и способ введения зависит от биологических особенностей возбудителя. Этот метод используют для выделения возбудителя, определения вирулентности микроорганизмов, типа токсина, воспроизведения клинической картины заболевания, изучения иммунного ответа, активности антимикробных и биологических препаратов. Моделирование экспериментальных инфекций у чувствительных животных используют для изучения патогенеза заболевания и характера взаимодействий внутри системы микроорганизм–макроорганизм.

К достоинствам этого метода можно отнести возможность культивирования некоторых микробов, для которых не удалось подобрать питательной среды

(возбудители лепры, сифилиса и др.) и высокую чувствительность, а к недостаткам — невосприимчивость животных к большинству возбудителей антропонозных инфекций, высокую стоимость и необходимость содержания вивария.

14.1.4. Серологический метод

Серологический метод заключается в определении титров специфических антител или антигенов в сыворотке крови. Для этого используют реакцию агглютинации (РА), реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА), реакцию торможения гемагглютинации (РТГА), реакцию связывания комплемента (РСК), реакцию нейтрализации (РН), реакцию преципитации (РП), радиоиммунный анализ (РИА), иммуноферментный анализ (ИФА) и другие реакции иммунитета.

При выявлении специфических антител определяют нарастание их титра, для этого исследуют парные сыворотки. Первую сыворотку берут у больного в острый период в начале болезни (хранят при температуре 4–8 °С), а вторую — через 10–14 дней. Сыворотки исследуют одномоментно. О болезни свидетельствует сероконверсия, т.е. нарастание титра антител во второй сыворотке по отношению к первой в 4 раза и выше. В связи с тем что при данном исследовании результат становится известен только через две недели, он применяется в основном для ретроспективной диагностики. При некоторых заболеваниях достаточно однократного обнаружения высоких титров специфических антител.

Принадлежность антител к определенным классам иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA и др.) позволяет дифференцировать инфекционную болезнь от искусственной иммунизации, первичное заболевание от повторного и уточнить фазу инфекционного процесса. При острой инфекции в сыворотке крови пациента выявляют IgM и другие ранние антитела (IgG к предранним белкам вирусов, низкоавидные IgG). При вторичном инфицировании, хронической инфекции и носительстве в сыворотке обнаруживают IgG и IgA. Если болезнь перенесена давно, то регистрируют стабильно низкие титры IgG. В случае выраженной иммуносупрессии синтез антител может быть подавлен, что существенно затрудняет постановку диагноза.

Большое значение имеет обнаружение антигенов возбудителей с помощью иммунных методов. Это возможно уже на самых ранних этапах инфекционного процесса — экспресс-диагностика, а количественное определение антигенов в динамике заболевания служит критерием эффективности проводимого лечения.

При использовании иммунологических методов ложноположительные результаты связаны с неспецифическим связыванием антител с антигенами или перекрестным реагированием антигенов с антителами. Ложноотрицательные результаты возникают из-за недостаточного количества специфических антител или антигенов в пробе и недостаточной чувствительности методов определения. Специфичность метода — 70–90%.

14.1.5. Аллергологический метод

Аллергологический метод используют в качестве вспомогательного при небольшой группе инфекционных заболеваний.

Присутствие в организме возбудителя заболевания или вакцинного штамма приводит к сенсибилизации организма и развитию ГЗТ (реакции IV типа по Джеллу и Кумбсу), которую можно выявить постановкой кожно-аллергической пробы с соответствующим аллергеном. Примером могут служить внутрикожные пробы с туберкулином (туберкулез, проба Манту), бруцеллином (бруцеллез, проба Бюрне), тулярином (туляремия), токсоплазмином (токсоплазмоз), малеином (сап), антраксином (сибирская язва), пестином (чума), орнитином (орнитоз) и др. Инфекционные диагностические аллергены чаще всего вводят внутрикожно в среднюю треть сгибательной поверхности предплечья, реже на кожу путем втирания в царапины (скарификационная проба). Через 48–72 ч учитывают наличие и размер инфильтрата (папулы).

Аллергия к условно-патогенным и непатогенным микробам является важным, а иногда ведущим звеном в патогенезе некоторых хронических заболеваний дыхательных путей, почек, печени, ЖКТ, кожи, суставов. Для установления вида этих аллергизирующих микроорганизмов применяют постановку кожных проб с аллергенами стрептококка, стафилококка, пневмококка, эшерихии, протей, синегнойной палочки и др.

Используются также лабораторные аллергологические методы (реакция повреждения нейтрофилов, реакция бласт-трансформации с аллергенами и др.).

14.1.6. Молекулярно-генетический метод

Молекулярно-генетический метод базируется на выявлении специфичных нуклеотидных последовательностей ДНК и РНК возбудителей непосредственно в патологическом материале.

К молекулярно-генетическим методам относят: полимеразную цепную реакцию (ПЦР), обратную транскриптазную полимеразную цепную реакцию (ОТ-ПЦР), рестрикционный анализ, секвенирование, саузерн-блоттинг, определение плазмидного профиля и др. Наиболее часто применяется ПЦР. С помощью этого метода находят небольшой фрагмент ДНК (мишень), строго специфичный для конкретного возбудителя. ПЦР-тест-система может дифференцировать роды, виды, серотипы и даже патогенные и непатогенные штаммы микроорганизмов одного вида. В одном клиническом образце можно одновременно определять наличие сразу нескольких возбудителей (мультиплексные исследования). Кроме того, этот метод позволяет выявлять некультивируемые формы патогенов. ПЦР-методы широко используют в диагностике вирусных, паразитарных и бактериальных инфекций, чаще в качестве первичного скрининга, а также для контроля лечения в сочетании с другими методами лабораторной диагностики. С помощью ПЦР в режиме реального времени можно

определить количество нуклеиновых кислот. Это высокочувствительный метод. Специфичность метода также высока, но пока большинство тест-систем недостаточно надежны, чтобы вытеснить классические методики при диагностике даже абсолютных патогенов. Что касается оппортунистических инфекций, то значение молекулярно-генетических методов диагностики пока нельзя признать сколько-нибудь значимыми.

14.1.7. Физико-химические методы

К этим методам относятся газожидкостная хроматография и лазерная флюоресценция.

Газожидкостную хроматографию в основном используют для экспресс-диагностики анаэробной инфекции. Она основана на хроматографическом определении в исследуемом материале специфических продуктов метаболизма анаэробов — летучих жирных кислот, которые служат метаболическими маркерами наличия анаэробов.

Лазерно-флюоресцентный экспресс-метод используется для диагностики и прогнозирования эффективности лечения у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями, дисбиозами, кариесом, пародонтитом и другой патологией микробной природы. Метод основан на регистрации собственной флюоресценции материала при возбуждении его лазерным излучением. На исследуемый материал направляют пучок лазера и анализируют спектр аутофлюоресценции. Большинство микробов и продуктов их жизнедеятельности имеет свой спектр свечения, расшифровав который можно идентифицировать микроб. Специфичность метода низкая.

14.2. Организация микробиологической лаборатории

Микробиологическая лаборатория — учреждение, выполняющее экспериментальные, контрольные или аналитические исследования микроорганизмов.

Микробиологические лаборатории в зависимости от основных задач можно разделить на:

- клинико-диагностические, входящие в состав больниц, поликлиник, диспансеров и других лечебно-профилактических учреждений;
- лаборатории Госсанэпиднадзора;
- научно-исследовательские (проблемные, отраслевые, лаборатории вузов и др.);
- производственные;
- специализированные лаборатории (особо опасных инфекций и др.).

В настоящее время лаборатории и более крупные лабораторные учреждения (отделы, институты, производственные предприятия), как правило, специализированы и работают с одной группой микробов, в зависимости от чего их делят на: бактериологические, вирусологические, микологические и протозоологические.

Кроме того, существуют лаборатории, в которых работа проводится только с определенными группами бактерий, например риккетсиозные, хламидийные, туберкулезные, лептоспирозные, анаэробные и др.

В зависимости от используемых методов исследования выделяют микробиологические (бактериологические, вирусологические, микологические, протозоологические), иммунологические и молекулярно-генетические лаборатории.

В отдельных лабораториях могут использоваться несколько методов исследований, например серологическая диагностика инфекционных болезней может выполняться и в микробиологических лабораториях.

Работа с микроорганизмами должна проводиться в условиях, исключающих возможность заражения персонала и утечку микробов за пределы лаборатории.

Для регламентации условий работы с микробами с различной степенью опасности для сотрудников лабораторий, населения и окружающей среды разработана классификация микробов, в которой учитываются следующие их особенности: патогенность, инфицирующая доза, механизм и пути передачи, круг хозяев, наличие эффективных мер профилактики и действенных методов лечения.

В России патогенные микробы делят на следующие четыре группы.

Первая группа — высокий индивидуальный и общественный риск (чума, натуральная оспа, желтая лихорадка и др.). Высокая степень 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.

Вторая группа — высокий индивидуальный и низкий общественный риск (сибирская язва, сепсис, туляремия и др.). Высокая степень опасности для работников лабораторий, вызывают тяжелые заболевания у людей, но возможность передачи возбудителя от человека человеку является незначительной или приводит к заболеванию, поддающемуся излечению противомикробными или противопаразитарными препаратами.

Третья группа — умеренный индивидуальный и ограниченный общественный риск (туберкулез, дифтерия, брюшной тиф, дизентерия, гонорея и др.) — средняя степень опасности; микробы способны вызывать заболевания людей или животных, но в обычных условиях не представляют опасности для работников лабораторий и населения. Лабораторные заражения и заболевания редко

приводят к серьезным последствиям для заболевших, а наличие эффективных средств профилактики и лечения исключает возможность распространения инфекций.

Четвертая группа — низкий индивидуальный и общественный риск (возбудители оппортунистических инфекций — эшерихии, стафилококки, энтерококки и другие условно-патогенные микробы). Микробы с низкой степенью опасности, т.е. микробы, которые в обычных условиях, как правило, не вызывают заболеваний людей и животных.

Нумерация групп микробов, принятая в ВОЗ, отличается обратным порядком от российской классификации, здесь к 1-й группе отнесены микробы самой низкой патогенности, а к 4-й группе — особо опасные.

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.

Для обеспечения **биологической безопасности** при работе в микробиологических лабораториях используются следующие мероприятия.

При создании лабораторий микробиологического профиля учитывают **проектировочные решения** (местонахождение лаборатории и доступ в нее, отделка поверхностей (полов, стен, потолков, стыков) и режимное обеспечение: лабораторная мебель, отопление, вентиляция и кондиционирование воздуха, изолирующий периметр, инженерные системы лаборатории (водоснабжение, канализация, подводка газа, электричества и системы безопасности). Например, стены, потолок и пол должны иметь гладкую поверхность, легкомоющуюся, непроницаемую для жидкостей, устойчивую к дезинфектантам; полы должны быть нескользкими; поверхности рабочих столов должны быть водонепроницаемы, устойчивы к дезинфектантам, кислотам, щелочам, органическим растворителям и умеренному нагреванию; пространство под столами и между мебелью должно быть легкодоступным для уборки; в лаборатории должен находиться автоклав для обеззараживания лабораторных отходов; отработанный воздух должен выбрасываться в окружающую среду только после фильтрации через бактериальные фильтры, предусматривается работа в боксах и герметизация оборудования, а также обеззараживание жидких и твердых отходов и др.

Организационные и контрольные мероприятия включают: регламентацию порядка и правил работы; обучение приемам безопасной работы, учет и расследование нарушений, несчастных случаев; систему информирования при авариях, текущий контроль за соблюдением правил работы и охраны труда.

Должны соблюдаться профилактические и лечебные мероприятия (медицинские осмотры, вакцинация, лечение и др.).

14.3. Правила работы в микробиологической лаборатории

Выполнение правил работы в лаборатории способствует предупреждению распространения инфекционного материала.

Основные правила работы в лаборатории направлены на предупреждение заражения ее сотрудников, а также распространения заразного материала из лаборатории.

Мероприятия по предупреждению заражения исследователя:

- 1) допуск в рабочую зону только лиц, предупрежденных о потенциальной опасности и выполнивших специальные требования (например, вакцинация);
- 2) постоянное ношение в лаборатории спецодежды и других средств индивидуальной защиты, целевая санитарная обработка персонала при выходе из лаборатории; спецодежда перед стиркой подвергается обеззараживанию;
- 3) в лаборатории должна быть инструкция по технике безопасности;
- 4) при распаковке присланного инфекционного материала необходимо соблюдать осторожность (емкости с материалом при его получении обтирают снаружи дезинфицирующим раствором и ставят не прямо на стол, а на подносы или кюветы);
- 5) переливание жидкостей, содержащих патогенные микробы, производят над сосудом, наполненным дезинфицирующим раствором;
- 6) запрещен прием пищи, питье, курение, хранение пищи и применение косметических средств в рабочих помещениях;
- 7) проведение всех работ таким образом, чтобы свести к минимуму возможность образования аэрозоля;
- 8) запрещена работа с пипеткой при помощи рта;
- 9) работа с микробами должна проводиться вблизи зажженной горелки, при этом обязательно обжигают края пробирок, петли и шпатели, после работы зажженную горелку гасят, накрывая колпачком, нельзя переносить зажженную горелку.

Предупреждение заражения других сотрудников лаборатории:

- 1) немедленное сообщение руководителю лаборатории обо всех аварийных ситуациях, создающих угрозу биологической безопасности;
- 2) поддержание чистоты и порядка, дезинфекция рабочих поверхностей не реже 1 раза в день и после каждого попадания на них заразного материала и др.

Предупреждение распространения заразного материала из лаборатории:

- 1) запрет на использование лабораторной спецодежды и средств индивидуальной защиты вне лаборатории;
- 2) во время работы двери лаборатории должны быть закрыты;
- 3) обязательное мытье рук персоналом после работы с заразным материалом, животными, перед уходом из лаборатории;
- 4) обязательное обеззараживание всех инфицированных материалов перед выбросом или повторным использованием и др.

Тестовые вопросы и задания

А. Вид бактерий устанавливают с помощью:

- 1) бактериоскопического метода;
- 2) бактериологического метода;
- 3) аллергологического метода;
- 4) биологического метода.

Б. Бактериологический метод применяют для:

- 1) выделения чистой культуры бактерий;
- 2) идентификации чистой культуры;
- 3) определения титров специфических антител;
- 4) экспресс-диагностики.

В. В серологическом методе исследуют:

- 1) нарастание титра антител;
- 2) парные сыворотки крови пациента;
- 3) антитела в сыворотке крови пациента;
- 4) отделяемое гнойной раны.

15.1. Кокки

Кокки — круглые формы бактерий. К коккам относятся стафилококки, стрептококки, энтерококки, пневмококки, пептококки, пептострептококки, нейссерии, вейлонеллы и др. Среди кокков есть как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии; по типу дыхания встречаются аэробные, микроаэрофильные, факультативно-анаэробные и облигатные анаэробные кокки.

Кокки могут быть патогенными (например, менингококки и гонококки) и условно-патогенными; являются возбудителями гнойно-воспалительных заболеваний, поэтому их называют гноеродными, или пиогенными, кокками.

Большинство кокков относится к условно-патогенным микробам. Как правило, это представители нормальной микрофлоры организма человека и животных, колонизирующей различные биотопы организма. При снижении резистентности организма, у ослабленных больных с вторичными или первичными иммунодефицитами, кокки, как и все условно-патогенные микробы, нормофлоры, способны покидать свои нормальные биотопы, транслоцироваться в несвойственные им места обитания в организме и вызывать гнойно-воспалительные заболевания.

15.1.1. Аэробные грамположительные кокки

Аэробные грамположительные кокки представлены бактериями родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Gemella* и др. Многие из них входят в состав нормальной микрофлоры человека. Будучи условно-патогенными бактериями, могут вызывать инфекционные процессы у ослабленных людей.

Род *Aerococcus* состоит из неподвижных аспорогенных микроаэрофильных грамположительных кокков диаметром 1–2 мкм, образующих тетрады или ко-

роткие цепочки. Сапрофиты широко распространены в воздухе, овощах, мясных продуктах. В стационарах они могут вызывать гнойно-воспалительные процессы. Резистентны к солям желчи, нагреванию. Типовой вид — *A. viridans*.

Род *Leuconostoc* (от греч. *lekos* — бесцветный, *nostoc* — название сине-зеленых водорослей). Бактерии образуют переплетающиеся цепочки, состоящие из сферических клеток, окруженных толстой капсулой, напоминающих водоросли. Это грамположительные неподвижные кокки. Факультативные анаэробы; хемоорганотрофы. Широко распространены в природе, могут обсеменять пищевые продукты. Резистентны к желчи и ванкомицину. Типовой вид — *L. mesenteroides*.

Род *Pediococcus* — шаровидные грамположительные бактерии; могут образовывать скопления кубовидной формы (тетрады). Неподвижны, спор не образуют. Микроаэрофилы, хемоорганотрофы. Встречаются повсеместно в природе, особенно на пищевых продуктах. Типовой вид — *P. damnosus*.

Род *Lactococcus* включает грамположительные сферические или овальные бактерии, располагающиеся попарно или короткими цепочками. Неподвижны, спор не образуют. Факультативные анаэробы; хемоорганотрофы. Встречаются на растениях и пищевых продуктах. Типовой вид — *L. lactis*.

Род *Gemella* — грамположительные кокки, располагающиеся одиночно или парами. Факультативные анаэробы; хемоорганотрофы. На кровяном агаре вокруг колоний образуют зоны β -гемолиза. Обитают на слизистых оболочках полости рта и в верхних отделах ЖКТ человека и животных. Типовой вид — *G. haemolysans*.

15.1.1.1. Стафилококки (род *Staphylococcus*)

Стафилококки относятся к семейству *Staphylococcaceae* роду *Staphylococcus*, который насчитывает около 40 видов, из них наиболее часто встречающиеся и имеющие значение в патологии человека — *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* и *S. lugdunensis*.

Морфология. Стафилококки представляют собой округлые клетки диаметром около 1 мкм. В мазках располагаются несимметричными гроздьями («гроздья винограда»), но встречаются одиночные клетки и пары клеток. Грамположительны, с возрастом бактерии могут стать грамотрицательными. Легко окрашиваются анилиновыми красителями. Спор не образуют, неподвижны, некоторые образуют капсулу.

Культуральные свойства. Стафилококки нетребовательны к питательным средам, растут в широких температурных границах, оптимальная температура для них 35–37 °С. Размножаются в аэробных и анаэробных условиях (факультативные анаэробы) — на простых средах при pH 5,0–9,0, лучше при pH 7,2–7,4. На бульоне наблюдается диффузное помутнение, на агаре образуют колонии круглой формы от 1 до 5 мм, с блестящей поверхностью и ровными краями. Если стафилококки образуют пигмент, колонии приобретают соответствующий цвет: золотисто-желтый, лимонно-желтый и др. Пигменты нерастворимы в воде

и окрашивают только культуру, но не среду. Хорошо выдерживают повышенное осмотическое давление, поэтому селективной средой для них служат среды с высокой концентрацией соли — желточно-солевой агар (ЖСА) или молочно-солевой агар. На ЖСА образуют колонии, окруженные радужным венчиком за счет образования фермента *лецитовителлазы*. На кровяном агаре стафилококки, особенно вирулентные (*S. aureus*), дают ярко выраженный гемолиз.

Биохимические свойства. Стафилококки обладают значительной ферментативной активностью. Например, они расщепляют глюкозу, лактозу, сахарозу и другие углеводы с образованием кислоты, но без газа; выделяют сероводород, восстанавливают нитраты. Индол не образуют. Продуцируют каталазу, превращая перекись водорода в воду и кислород.

Антигенная структура стафилококков сложная и варибельная. Большинство веществ, продуцируемых стафилококками, обладает антигенной активностью. Протеин А клеточной стенки стафилококков неспецифически связывается с Fc-фрагментом IgG, при этом Fab-фрагмент молекулы остается свободным и может соединяться со специфическим антигеном, что используется в диагностике (реакция коаггутинации).

Антигенными свойствами обладают капсула и пептидогликан. Тейхоевые кислоты клеточной стенки являются видоспецифичными антигенами (для *S. aureus* — рибиттейхоевая, для *S. epidermidis* — глицеринтейхоевая, для *S. saprophyticus* — оба типа кислот).

Факторы патогенности. Стафилококки — условно-патогенные бактерии. Факторами патогенности являются капсула, компоненты клеточной стенки (белок А, пептидогликан, тейхоевые кислоты), токсины и ферменты. Чаще заболевания вызываются штаммами *S. aureus*, имеющего наибольший спектр факторов патогенности: токсины и экзотоксины.

S. aureus может выделять **токсины** (цитолитические, энтеротоксины и эксфолиативные):

- **гемолизины** (α -, β -, γ -, δ -) — мембранотоксины, токсичные для эритроцитов, лейкоцитов, макрофагов, фибробластов;
- **лейкоцидин** избирательно разрушает лейкоциты;
- **энтеротоксины** (9 серологических групп) — термостабильные экзотоксины (инактивируются при 100 °С в течение 30 мин), которые, накопившись в продуктах питания, вызывают пищевые интоксикации, сопровождающиеся рвотой и диареей;
- **токсин синдрома токсического шока** (TSST-1) обладает нейротропным и вазотропным эффектом;
- **эксфолиативный токсин**, разрушающий межклеточные контакты в гранулярном слое эпидермиса, вызывает синдром «ожоженной» кожи.

Энтеротоксины (особенно серологические группы В, С и G), токсин синдрома токсического шока и эксфолиативный токсин являются суперантигенами, стимулирующими выброс большого количества цитокинов.

Экзоферментами *S. aureus* являются:

- **плазмокоагулаза (коагулаза)**, превращающая фибриноген в фибрин, препятствующий контакту с фагоцитами; по способности коагулировать плазму стафилококки делятся на коагулазопозитивные (*S. aureus*) и коагулазонегативные (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus*);
- **каталаза**, защищающая от действия кислородзависимых бактерицидных механизмов фагоцитов;
- **гиалуронидаза**, разрушающая гиалуроновую кислоту соединительной ткани;
- **стафилокиназа (фибринолизин)**, разрушающая фибриновые сгустки;
- **дезоксирибонуклеаза**, расщепляющая ДНК, разжижающая гной.

Резистентность. Стафилококки переносят высушивание в течение 6 мес., сохраняя вирулентность; при прямом воздействии солнечного света погибают в течение 10–12 ч. Они устойчивы к нагреванию — при 70–80 °С погибают через 20–30 мин. Сухой жар убивает бактерии за 2 ч. Переносят повторное замораживание и размораживание. Чувствительны к действию применяемых антисептиков и дезинфектантов, например 15% раствор хлорамина уничтожает стафилококки через 2–5 мин, 3% раствор фенола — через 15–20 мин.

Стафилококки быстро формируют устойчивость к антибактериальным препаратам, в том числе к антибиотикам. Существенную роль в этом играют R-плазмиды, детерминирующие устойчивость к нескольким антибиотикам, в том числе за счет продукции β -лактамаз, разрушающих β -лактамное кольцо пенициллинов и цефалоспоринов.

Эпидемиология. Естественным резервуаром стафилококков являются человек и животные. Стафилококки густо колонизируют различные биотопы организма человека (кожу, особенно *S. epidermidis*, и слизистые оболочки носа, ротовой полости) и при определенных условиях могут вызывать эндогенную инфекцию.

Источником инфекции могут быть больные со стертыми формами стафилококковой инфекции, эндогенные очаги хронической инфекции (например, хроническая стафилодермия, хронический тонзиллит и др.) или бессимптомные носители. Реже источником инфекции являются больные животные, например больные маститом коровы при стафилококковых пищевых отравлениях. Наибольшую эпидемиологическую опасность представляет медицинский персонал лечебно-профилактических учреждений, который может быть носителем госпитальных штаммов стафилококка.

Стафилококки как условно-патогенные микробы не имеют органного тропизма, для них характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи.

Патогенез стафилококковой инфекции во многом зависит от характера инфицирования. При экзогенном попадании возбудителя (чаще всего в госпитальных условиях) входными воротами являются кожа, слизистые оболочки

ротовой полости, дыхательных путей и ЖКТ, конъюнктивы век, пупочная ранка и др. На месте внедрения развивается воспаление с некрозом и нагноением. Выраженность патологического процесса зависит от состояния факторов врожденного иммунитета (например, целостности кожных покровов и слизистых оболочек), активности секреторных иммуноглобулинов, патогенности стафилококка, количества возбудителя.

При достаточно напряженном иммунитете проникновение стафилококка в организм не сопровождается заболеванием или патологический процесс остается локализованным.

При сниженной резистентности организма возбудитель и его токсины проникают из очага инфицирования в кровь. Наступает бактериемия, развивается интоксикация. При развитии генерализованной стафилококковой инфекции могут поражаться различные органы и ткани, развиваться септицемия и септикопиемия. Большинство стафилококков поглощается макрофагами и гибнет. Если фагоцитоз оказывается незавершенным и возбудитель остается жизнеспособным, то возникает персистирующая бактериемия с образованием метастатических очагов во внутренних органах.

В патогенезе пищевых интоксикаций основное значение имеет массивность инфицирования. Патологический процесс обусловлен поступившим с пищей энтеротоксином.

Клиника. Инфекции, вызванные стафилококками, могут протекать в различных формах — от локализованных кожных поражений до септических генерализованных процессов с летальным исходом. Они способны поражать практически все органы и ткани. Стафилококки могут быть одной из причин пневмонии, эмпиемы, остеомиелита, артритов, менингита, послеоперационных гнойных осложнений, импетиго, фурункулеза, карбункулов и других гнойно-воспалительных заболеваний.

Стафилококки, продуцирующие энтеротоксин, вызывают пищевую интоксикацию при пищевых отравлениях, которые проявляются рвотой, болями в животе, диареей после употребления в пищу инфицированных кондитерских изделий с кремом, консервов, мясных и овощных салатов.

Стафилококки могут быть причиной следующих синдромов:

- **синдром «ошпаренных младенцев»** (болезнь Риттера) — возникает у новорожденных, инфицированных штаммами, продуцирующими эксфолиативный токсин; на коже образуются пузыри и мокнущие эрозированные участки;
- **синдром «ошпаренной кожи»** (синдром Лайелла) — наблюдается у более старших детей и взрослых; на коже образуются очаги эритемы, пузыри с отхождением субэпидермального слоя;
- **синдром токсического шока** — состояние, возникающее при инфицировании штаммами стафилококков, продуцирующих токсин синдрома токсического шока и реже энтеротоксины В и С. Проявляется повышенной

температурой, рвотой, диареей, скарлатиноподобной сыпью, гипотонией, вплоть до коллапса.

Иммунитет по механизму клеточный и гуморальный, нестойкий, как и при других оппортунистических инфекциях.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат кровь, гной из абсцессов, отделяемое воспалительных очагов и ран, жидкость из серозных полостей, мокрота, моча, слизь из зева и носа, а при подозрении на пищевое отравление — пищевые продукты, рвотные массы, промывные воды желудка, а также смывы с рук персонала и предметов окружающей среды.

Бактериоскопический метод: мазок из материала (чаще гной) окрашивают по Граму. Преобладание в препаратах стафилококка среди сопутствующей микрофлоры позволяет предположить его этиологическую значимость.

Бактериологический метод: посев исследуемого материала на желточно-солевой агар (выявление лецитовителлазы), кровяной агар (наличие гемолизина), плазму (выявление плазмокоагулазы) с последующим выделением чистой культуры и ее идентификацией, в том числе с помощью фаготипирования. Чувствительность к бактериофагам определяют для внутривидовой идентификации стафилококков и выявления источника инфекции. Так как стафилококки — это представители нормальной микрофлоры, необходимы количественные методы исследования, т.е. определение числа бактерий в исследуемой пробе. Важно определять чувствительность выделенных штаммов к антибиотикам, так как стафилококки, особенно внутрибольничные, во многом устойчивы к ним. Одним из показателей лекарственной резистентности стафилококков является их устойчивость к метициллину и оксациллину — метициллинрезистентные золотистый и эпидермальный стафилококки.

Серологический метод применяется главным образом при хронической форме стафилококковой инфекции. Чаще определяют титры антител против α -токсинов и компонентов клеточной стенки.

Лечение. Основная проблема в лечении стафилококковых инфекций — устойчивость к антимикробным препаратам, включая множественную резистентность стафилококков. Антибиотиком резерва при стафилококковых инфекциях считается ванкомицин (из группы гликопептидов), однако появились устойчивые к нему штаммы *S. aureus*.

Иногда для лечения применяют стафилококковый бактериофаг, антитоксическую противостафилококковую плазму или иммуноглобулин, полученные из крови доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином.

Профилактика. Неспецифическая профилактика заключается в строгом соблюдении правил асептики, антисептики, дезинфекции и стерилизации для профилактики внутрибольничной инфекции (особенно у иммунокомпрометированных людей), в плановом обследовании медицинского персонала на носительство стафилококков. Для специфической профилактики существует стафилококковый анатоксин.

15.1.1.2. Стрептококки (род *Streptococcus*)

Стрептококки относятся семейству *Streptococcaceae* роду *Streptococcus*, который включает 20 видов стрептококков: *S. agalactiae*, *S. anginosus*, *S. salivarium*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. sanguis* и др. Являясь условно-патогенными бактериями, они могут вызывать гнойно-воспалительные процессы у ослабленных людей. Наибольшее медицинское значение представляют *S. pyogenes* (от греч. *pyon* — гной, *genos* — рождать) и *S. pneumoniae* (пневмококки).

Морфология. Стрептококки — слегка вытянутые шаровидные клетки размером 0,5–2,0 мкм, располагающиеся попарно или цепочками. Клеточная стенка состоит из пептидогликанового, полисахаридного и протеинового слоев. Грамположительны, спор не образуют, неподвижны, многие образуют капсулу. Способны образовывать L-формы.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы, некоторые капнофилы. Оптимальная температура роста 35–37 °С. Лучше растут на средах, обогащенных углеводами с добавлением крови или сыворотки при pH 7,2–7,4. Образуют мелкие серовато-прозрачные колонии. Менее прозрачные, матовые колонии, продуцируют больше М-белка (нитевидные выросты на поверхности клетки) и более вирулентны, чем блестящие колонии. На кровяном агаре стрептококки вызывают гемолиз: α -гемолиз (характерен для зеленеющих стрептококков) — зеленовато-серый или коричневый гемолиз вокруг колоний; β -гемолиз — полный гемолиз вокруг колоний; γ -гемолиз — отсутствие видимого гемолиза.

Ферментативная активность. Представители *S. pyogenes* расщепляют сахара (глюкозу, мальтозу, лактозу, манит, сахарозу, салицин, трегалозу) с образованием молочной кислоты. Не ферментируют инулин, крахмал; не разжижают желатин; не восстанавливают нитраты в нитриты; растворяют фибрин; не лизируются в желчесодержащих средах, устойчивы к оптохину. Каталазо- и оксидазоотрицательны.

Антигенная структура сложная. Классификация по Р. Ленсфилд основана на наличии специфических полисахаридов в клеточной стенке стрептококков; выделяют 20 серогрупп от А до V. В патологии человека основная роль принадлежит стрептококкам группы А. По специфичности белковых антигенов клеточной стенки: М-протеина (нитевидные выросты), Т-протеина (термолабильный) и F-протеина (фибрoneктинсвязывающий белок) — стрептококки внутри групп подразделяются на серовары.

Факторы патогенности. Стрептококки серогруппы А, например *S. pyogenes*, вырабатывают свыше 20 внеклеточных веществ (ферментов и токсинов), обладающих антигенной активностью и играющих важную роль в патогенезе заболеваний как факторы патогенности. Наиболее значимыми **ферментами** стрептококков являются:

- *стрептокиназа (фибринолизин)* превращает плазминоген в плазмин — активный протеолитический фермент, разрушающий фибрин и другие про-

теины, тем самым разрушая кровяные сгустки, способствует распространению бактерий в тканях (ее используют для разрушения тромбов);

- *стрептодорназа* (*стрептококковая дезоксирибонуклеаза*) — деполимеризует ДНК гноя, разжижая его;
- *гиалуронидаза* (фактор распространения) — расщепляет гиалуроновую кислоту, основной компонент соединительной ткани, способствуя распространению стрептококков по макроорганизму;
- *С5а-пептидаза* — расщепляет и инактивирует С5а-компонент комплекса (хемоаттрактант).

Из **экзотоксинов** стрептококков важное значение имеют:

- *пирогенный экзотоксин* (*эритрогенный экзотоксин — эритрогенин*) продуцируется лизогенными стрептококками, вызывающими скарлатину и синдром стрептококкового токсического шока (*STSS*); является суперантигеном, действие которого подобно действию стафилококкового токсина синдрома токсического шока;
- *гемолизины* (*стрептолизины*) двух типов: *стрептолизин О* (О — англ. *oxygen*) и *стрептолизин S* (S — от англ. *stable*). Первый чувствителен к кислороду, вызывает гемолиз в глубине кровяного агара в условиях анаэробии, разрушает лейкоциты, тромбоциты и эритроциты. Против него вырабатываются антитела антистрептолизина О, блокирующие гемолиз, вызванный этим стрептококковым токсином. Стрептолизин S устойчив к кислороду, вызывает поверхностный гемолиз на кровяном агаре, разрушает эритроциты, лейкоциты, тромбоциты; неиммуногенен.

Из других факторов вирулентности необходимо отметить капсулу и М-белок, обладающие антифагоцитарной активностью, а также липотейхоевые кислоты — важный фактор адгезии стрептококков к эпителиальным клеткам.

Резистентность. Стрептококки устойчивы к физическим и химическим факторам окружающей среды. При температуре 56 °С их гибель наступает через 30 мин, при температуре 60 °С — через 15 мин, при кипячении — моментально. Хорошо переносят высушивание. Широко используемые дезинфектанты убивают стрептококки через 15–20 мин.

Эпидемиология. Стрептококки — представители нормофлоры организма человека и животных. Источник инфекции — человек или животные. Стрептококки как условно-патогенные микробы не имеют органного тропизма, для них характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи. Восприимчивость к стрептококкам повышена у иммунокомпромиссных лиц, при вторичном иммунодефиците.

Патогенез стрептококковой инфекции определяется сочетанием инфекционного, токсического и аллергического синдромов. С инфекционным синдромом связывают развитие на месте внедрения возбудителя инфекции очагов серозного, гнойного или некротического воспаления. Благодаря наличию факторов проницаемости возбудитель может преодолевать местные барьеры и про-

никать в регионарные лимфатические узлы, вызывая развитие лимфаденита. Наконец, возможно проникновение возбудителя в кровяное русло и возникновение гематогенных очагов: остеомиелита, эндокардита, менингита или септицемии с множественными гнойными очагами в различных органах и тканях.

Токсический синдром характеризуется лихорадкой, тахикардией, рвотой, головной болью, бредом. Он наиболее выражен при скарлатине, первичной роже, сепсисе. Аллергический синдром сопровождается развитием гиперчувствительности замедленного типа и проявляется при скарлатине поражением почек, сердца и суставов, а при роже — гиперергической воспалительной реакцией, склонностью к рецидивированию. Специфическая сенсибилизация к стрептококку играет роль пускового механизма в патогенезе острого диффузного гломерулонефрита, ревматизма и других диффузных заболеваний соединительной ткани.

Важное значение в развитии хронических (тонзиллит) и рецидивирующих (рожа) форм стрептококковой инфекции имеет способность возбудителя длительно сохраняться в организме, в частности в виде L-форм.

Клиника. Стрептококковые инфекции подразделяют на острые (скарлатина, рожа, ангина, импетиго, острый гломерулонефрит, острый эндокардит, послеродовый сепсис) и хронические заболевания (ревматизм, хронический тонзиллит). Клинические проявления зависят, главным образом, от пораженного органа. Перечисленные заболевания вызываются в основном *S. pyogenes* серогруппы А. Существуют также гнойно-воспалительные заболевания, при которых стрептококк является одним из множества возбудителей (отиты, гаймориты, эндометриты и др.).

Иммунитет. Иммунитет при стрептококковых инфекциях изучен недостаточно. Чаще он относительно типоспецифичен.

Микробиологическая диагностика. Выбор материала для исследования зависит от структуры стрептококковой инфекции: гной, мокрота, кровь, сыровороток. *Бактериоскопический метод* может иметь ориентировочное значение. *Бактериологический метод* предполагает посев материала на кровяной агар, в случае подозрения на анаэробы — на соответствующие среды в анаэробных условиях. Идентификация выделенных стрептококков завершается чаще по Р. Ленсфилд и с помощью биохимических тестов. Часто используется *серологический метод*: определяют титры антистрептолизина О, антитела против ДНКазы, гиалуронидазы, стрептокиназы, против М-антигенов и др. В редких случаях при пневмококковых инфекциях применяют *биологический метод*: в органах высокочувствительных к пневмококкам зараженных мышей их легко обнаружить и идентифицировать.

Лечение. При лечении учитывают чувствительность большинства стрептококков, особенно *S. pyogenes*, к пенициллинам, макролидам и хлорамфениколу. Однако лечение стрептококковых инфекций (это не только антимикробная терапия) затруднено из-за иммунопатологических нарушений, особенно при ревматизме, роже и гломерулонефрите.

Профилактика в основном неспецифическая: соблюдение санитарно-гигиенического режима, правил асептики, антисептики, дезинфекции и стерилизации в лечебных учреждениях. Наиболее опасный источник *S. pyogenes* — носители, больные с хроническим течением инфекции, выделяющие микробы в значительных количествах со слизью или гнойным отделяемым.

15.1.1.2.1. Пневмококки (*Streptococcus pneumoniae*)

Пневмококки относятся к виду *Streptococcus pneumoniae*. Они представляют собой овальные или lancetovидные кокки диаметром около 1 мкм, располагающиеся парами или короткими цепочками. В организме инфицированного человека, при культивировании на питательных средах пневмококки образуют полисахаридную капсулу. Грамположительны, спор не образуют, неподвижны. Клеточная стенка пневмококков подобна клеточной стенке других стрептококков. Капсульные полисахариды тесно примыкают к пептидогликану и полисахаридам клеточной стенки.

Культуральные свойства. Пневмококки — факультативные анаэробы, капнофилы. Оптимальная температура роста 36–37 °С. Растут на сложных питательных средах с добавлением крови или сыворотки при pH 7,6–7,8. На кровяном агаре вырастают мелкие, сероватые, прозрачные или матовые колонии, окруженные зоной позеленения (α -гемолиз). На жидких средах пневмококк растет в виде диффузного помутнения.

Ферментативная активность. Пневмококки расщепляют глюкозу, мальтозу, галактозу и др. Каталазо- и оксидазоотрицательны. Ферментируют инулин, лизируются в желчесодержащих средах. При культивировании с оптохином рост пневмококков угнетается.

Антигенная структура. Полисахариды различных типов пневмококков отличаются по антигенным свойствам. По капсульным антигенам различают около 90 сероваров (серотипов).

Факторы патогенности. Основной фактор патогенности пневмококков — капсула, обладающая антифагоцитарной активностью. Также имеют значение субстанция С (С-полисахарид) в составе теихоевых кислот клеточной стенки, активирующая комплемент по альтернативному пути.

Пневмококки продуцируют ряд ферментов:

- *лизозим (мурамидаза)* — фактор колонизации на слизистой оболочке дыхательных путей;
- *протеаза секреторного IgA* — разрушает секреторный иммуноглобулин А;
- *нейраминидаза* — фактор колонизации и инвазии, снижает вязкость муцина слизистых оболочек;
- *гиалуронидаза* — (фактор распространения) расщепляет гиалуроновую кислоту;
- *пневмолизин (β -гемолизин)* — вызывает β -гемолиз в анаэробных условиях. Обладает цитолитическим действием в отношении клеток: эритроци-

тов, нейтрофилов, моноцитов, эпителия и эндотелия. Фермент разрушает реснички мерцательного эпителия и активирует комплемент по классическому пути.

Резистентность. Пневмококки малоустойчивы во внешней среде. При температуре 60 °С погибают в течение 30 мин, при кипячении — моментально. В мокроте могут сохраняться до 10 дней. Широко используемые дезинфектанты быстро вызывают их гибель.

Пневмококк имеет природную устойчивость к полимиксину, многим аминокликозидам, а также множественную приобретенную устойчивость к антибиотикам.

Эпидемиология. Пневмококки — представители нормальной микрофлоры верхних дыхательных путей 40–70% людей и являются условно-патогенными стрептококками, вызывая у ослабленных людей инфекционные процессы различной локализации.

Источником инфекции является человек. Механизм передачи пневмококковой инфекции — аэрогенный, путь передачи — аэрозольный. Входные ворота — слизистая оболочка ротоглотки. В группу риска по возникновению пневмококковой инфекции входят маленькие дети, пожилые люди, иммунокомпрометированные лица, с застойными явлениями в легких, алкоголики, наркоманы. Пневмония может быть результатом внутрибольничного заражения при наличии предрасполагающих факторов (тяжелые операции, ингаляционный наркоз и др.).

Патогенез. Попадая во входные ворота, пневмококк адгезируется на эпителии и колонизируется. Дальнейшее продвижение возбудителя зависит от резистентности организма и наличия факторов патогенности. Так, продвижение пневмококка по слизистым бронхиального дерева и попадание в альвеолы приводит к развитию пневмонии. Главным фактором патогенности будет пневмолизин, способствующий размножению бактерий в альвеолах. При колонизации пневмококка на слизистых придаточных пазух носа и полости среднего уха возникает отит, фронтит, синусит. Продукция гиалуронидазы при подавлении местной и общей иммунологической защиты способствует проникновению пневмококка из очага воспаления в кровяное русло — возникает бактериемия. Циркуляция бактерий в крови служит предпосылкой развития гнойного менингита. Главная роль в преодолении пневмококками гематоэнцефалического барьера принадлежит гиалуронидазе.

Клиника. Пневмококковая инфекция может проявляться как в виде бессимптомного носительства, так и тяжелой пневмонией, отитом, бактериемией и менингитом.

Иммунитет. Видоспецифический. Напряженность и длительность зависят от антигенов и иммунной реактивности организма.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования зависит от формы заболевания: мокрота, гной, кровь, сыворотка, цереброспинальная жидкость. *Бактериоскопический метод* может иметь ориентировочное значе-

ние. В мазках из патологического материала, окрашенных по Граму, наблюдают диплококки ланцетовидной или овальной формы, окруженные толстой капсулой. *Бактериологический метод*: посев материала на кровяной агар с последующей идентификацией по биохимическим (в том числе по чувствительности к оптохину и желчи) и серологическим свойствам с определением чувствительности к антибиотикам.

В редких случаях при пневмококковых инфекциях применяют *биологический метод*: в органах высокочувствительных к пневмококкам зараженных мышей их легко обнаружить и идентифицировать.

Лечение. При лечении пневмококковых инфекций необходимо учитывать результат антибиотикограммы, так как уже описаны пневмококки с множественной устойчивостью к антибиотикам. Основу терапии составляют β -лактамы антибиотиков.

Профилактика. Специфическая профилактика пневмококковой пневмонии рекомендуется для лиц с повышенным риском заболевания и по эпидемиологическим показаниям. Она проводится химической вакциной, состоящей из 7 капсульных полисахаридных антигенов для детей и из 23 капсульных полисахаридов — для взрослых.

15.1.1.3. Энтерококки (род *Enterococcus*)

Энтерококки — условно-патогенные бактерии семейства *Enterococcaceae* рода *Enterococcus*, который включает 28 видов, из которых наиболее часто встречаются *E. faecalis* (>85%) и *E. faecium* (5%). Энтерококки ранее принадлежали к стрептококкам серогруппы D, так как обладают групповым полисахаридным антигеном стрептококков этой группы.

Морфология. Энтерококки — грамположительные кокки сферической или овальной формы, располагающиеся парами или короткими цепочками. Спор и капсул не образуют. Некоторые виды обладают жгутиками.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы; хемоорганотрофы. Растут при температуре 10–45 °C (оптимум 37 °C). Могут расти на простых питательных средах при pH 9,6. На кровяном агаре способны образовывать зоны неполного или иногда полного гемолиза; другие штаммы не вызывают гемолиза. Колонии около 1 мм в диаметре, сероватого цвета. В отличие от стрептококков энтерококки могут расти при повышенной концентрации соли (6,5% NaCl) и желчи. При росте в молоке с метиленовым синим вызывают его обесцвечивание.

Ферментативная активность. Различные виды отличаются по биохимическим свойствам. Расщепляют многие углеводы с образованием кислоты. Как и стрептококки, каталазоотрицательные.

Антигенная структура аналогична стрептококкам.

Факторы патогенности энтерококков изучены недостаточно, однако некоторые белки, протеаза и желатиназа *E. faecalis* способствуют их адгезии и колонизации на клапанах сердца и эпителии почек. Они могут продуцировать токсин — цитолизин.

Резистентность более высокая, чем у стрептококков. Энтерококки чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов. Обладают природной устойчивостью к большинству антибиотиков, особенно к цефалоспорином. Ранее отличались чувствительностью к гликопептидным антибиотикам (ванкомицин), однако в настоящее время появилось большое число штаммов, резистентных к ванкомицину.

Эпидемиология. Представители нормальной микрофлоры ЖКТ человека и животных: в 1 г фекалий в норме может быть от 10^5 до 10^7 бактерий. Входят в состав микрофлоры полости рта и мочеполовой системы. Источник инфекции — человек или животные. Энтерококки, являясь условно-патогенными микробами, не имеют органного тропизма, для них характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи.

Патогенез. Энтерококки как представители нормальной микрофлоры организма человека способны при снижении резистентности организма покидать свои нормальные биотопы, транслоцироваться в несвойственные им места обитания в организме и вызывать гнойно-воспалительные заболевания.

Клиника. Энтерококки вызывают оппортунистические инфекции, которые могут сопровождаться бактериемией. Например, у больных, находящихся на гемодиализе. Часто вызывают поражения мочеполовых путей, связанные с их катетеризацией и другими урологическими манипуляциями. Энтерококки могут быть причиной внутрибольничных инфекций у послеоперационных больных. Встречаются энтерококковые эндокардиты у пожилых людей, у больных с клапанными протезами сердца, после трансплантации органов.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — кровь, моча, раневое содержимое. *Бактериологический метод:* материал засевают на кровяные и селективные среды. Чистые культуры идентифицируют по культуральным и биохимическим (ферментативным) признакам. Определяют антибиотикограмму. Используют *молекулярно-генетические методы:* риботипирование, ПЦР.

Лечение энтерококковых инфекций основано на данных антибиотикограммы. Могут быть использованы, особенно если выделены β -лактамазопroduцирующие энтерококки, комбинации пенициллинов с ингибиторами β -лактамаз.

Профилактика — неспецифическая, как при стафилококковых и стрептококковых инфекциях.

15.1.2. Аэробные грамотрицательные кокки. Нейссерии (род *Neisseria*)

Нейссерии относятся к семейству *Neisseriaceae*, которое включает роды *Neisseria*, *Kingella*, *Eikenella* и др. Род *Neisseria* включает свыше 20 видов: *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *N. lactamica*, *N. flavescens*, *N. sicca* и др. Название получили в честь немецкого врача Альберта Нейссера (1855–1916 гг.).

Наиболее патогенные для человека виды нейссерий — *N. gonorrhoeae* (гонококки) и *N. meningitidis* (менингококки). Остальные нейссерии — условно-патогенные бактерии, нормальные обитатели верхних дыхательных путей. Гонококки и менингококки генетически имеют много общего — 70% ДНК гомологии. Они конкурируют с клетками человека за трансферрин для своих специфических поверхностных рецепторов.

Нейссерии — грамотрицательные неподвижные диплококки (располагаются парами) бобовидной почковидной формы, обращенные друг к другу вогнутой поверхностью. Аэробы. Требовательны к питательным средам, для их роста необходимо железо. На плотных питательных средах вырастают в виде мелких, прозрачных, непигментированных колоний. Не образуют гемолиз на кровяном агаре. Различаются по биохимическим и антигенным свойствам. Оксидазоположительны.

15.1.2.1. Менингококки (*Neisseria meningitidis*)

Neisseria meningitidis вызывает менингококковую инфекцию — острое инфекционное заболевание человека, которое передается воздушно-капельным путем; характеризуется локальным поражением слизистой оболочки носоглотки с последующей генерализацией в виде менингококковой септицемии (менингококцемия) и воспаления мягких мозговых оболочек (менингококковый менингит).

Морфология. Менингококки — диплококки в виде кофейных зерен или фасоли (размер около 1 мкм), вогнутые поверхности которых соприкасаются друг с другом. Они имеют пили, микрокапсулу, могут образовывать капсулу. Грамотрицательны.

Культуральные свойства. Аэробы и капнофилы, требовательные к питательным средам: необходимо включение в них аминокислот в качестве источников углерода и азота. Оптимум для роста: pH 7,2–7,6, температура 37 °C.

Биохимические свойства менингококков выражены слабо: из углеводов, например, расщепляют только глюкозу и мальтозу с образованием кислоты без газа и могут быть поэтому дифференцированы от других грамотрицательных кокков.

Антигенная структура неоднородна: имеют родовой антиген (белки и полисахариды), а также видовой (протеиновый), групповые (полисахаридные капсульные) и типоспецифические антигены (белки наружной мембраны).

По капсульным антигенам различают 13 серогрупп менингококков, среди которых наибольшее значение в патологии человека имеют серогруппы А, В, С, X, Y, W-135, отличающиеся друг от друга по строению. Серогруппа А, например, характеризуется наличием N-ацетилманнозоамина фосфата. Внутри вида штаммы *N. meningitidis*, циркулирующие в том или ином регионе, могут

отличаться по генетическим и антигенным свойствам, характеризуя возбудителя с точки зрения его вирулентности и определяя таким образом эпидемиологическую ситуацию этого региона.

Факторы патогенности. Основными факторами патогенности менингококков являются: **эндотоксин** (липоолигосахарид), ответственный за многие токсические эффекты при менингококковых инфекциях (кровоизлияния, кожные высыпания и др.); **капсула** с ее антифагоцитарной активностью; **белки наружной мембраны** и **пили**, усиливающие адгезию и инвазию возбудителя; **IgA-протеазы**, защищающие бактерию от действия антител.

Резистентность. Менингококки чувствительны к различным физическим и химическим факторам, плохо переносят высушивание, мгновенно погибают при кипячении. Довольно чувствительны к низким температурам, к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов. Чувствительны к большинству используемых в клинике антибиотиков, однако существуют и резистентные штаммы.

Эпидемиология. Менингококковая инфекция — антропоноз: единственным источником инфекции служит человек (больной и бактерионоситель). Входные ворота и место обитания менингококков чаще всего носоглотка. Заражение в основном происходит аэрогенным механизмом, путь — воздушно-капельный. Особую опасность представляют так называемые здоровые носители (бессимптомная инфекция), так как они часто остаются невыявленными. В межэпидемический период частота носительства колеблется в пределах 5–30%, в период эпидемии — до 70–80%. Подъем заболеваемости носит сезонный характер: ранней весной и поздней осенью, что, возможно, связано с нарушением резистентности макроорганизма. Распространению менингококковой инфекции способствует скученность (детские коллективы, казармы) и неблагоприятные гигиенические условия.

Патогенез. В большинстве случаев в месте внедрения менингококка не возникает каких-либо патологических явлений, формируется здоровое носительство. В других случаях появляются воспалительные изменения слизистой оболочки носоглотки — менингококковый назофарингит. В случае преодоления бактериями местных барьеров возбудитель попадает в кровь, развивается бактериемия (менингококкемия). *N. meningitidis* с током крови разносится в различные органы и ткани, может в том числе преодолеть гематоэнцефалический барьер и вызвать поражение мозговых оболочек и вещества мозга с развитием гнойного менингита или менингоэнцефалита.

Эндотоксин бактерий воздействует на эндотелий сосудов, вызывая микроциркуляторные расстройства (спазм капилляров, нарушение их проницаемости). Изменение гемокоагуляции может привести к синдрому генерализованного внутрисосудистого свертывания, с последующими кровоизлияниями в кожу и внутренние органы. В случае массивной эндотоксемии возможно развитие эндотоксического шока.

Клиника. Различают менингококконосительство, локализованные формы менингококковой инфекции — острый назофарингит, а также генерализованные формы (бактериемия и цереброспинальный эпидемический менингит). Наиболее тяжелые формы: бактериемия, сопровождающаяся высокой температурой, геморрагическими высыпаниями (петехиями); менингит, развивающийся внезапно, с сильной головной болью, рвотой, ригидностью мышц шеи и другими симптомами.

Иммунитет. После перенесения инфекции развивается приобретенный антибактериальный группоспецифический иммунитет. Человек обладает и стойким врожденным иммунитетом в отношении менингококков, о чем свидетельствует высокая частота носительства и относительно редкие заболевания менингитом после заражения. Иммунитет к менингококковой инфекции связан с наличием комплементсвязывающих антител. Их роль подтверждается успехом в серотерапии менингита при помощи антибактериальных лечебных иммунных сывороток. Менингитом чаще болевают дети (в возрасте от 6 мес. до 10 лет), у которых отмечается низкий уровень антител. У детей старшего возраста отмечается рост титра антител к белковому, полисахаридному и липополисахаридному антигенам. Важную роль в иммунитете при менингококковой инфекции играет фагоцитоз.

Микробиологическая диагностика. Выбор исследуемого материала определяется формой менингококковой инфекции. Для постановки диагноза цереброспинального менингита берется цереброспинальная жидкость. Исследованию подвергают также секрет из носоглотки у больных и носителей; кровь и пунктат из петехий при подозрении на сепсис; органы погибших людей. Материал исследуется *бактериоскопическим методом*. При бактериоскопии спинномозговой жидкости обнаруживают грамотрицательные бобовидные диплококки, располагающиеся как внутри лейкоцитов, так и вне их. При *бактериологическом методе* делают посев цереброспинальной жидкости на специальные среды, содержащие аминокислоты. Выделенную чистую культуру идентифицируют до вида по комплексу морфологических, тинкториальных, биохимических и антигенных свойств. С конца первой недели заболевания возможно использование *серологического метода* (РНГА, непрямой метод РИФ). При исследовании секрета из носоглотки следует иметь в виду присутствие двойников, морфологически и тинкториально идентичных *N. meningitidis*: в отличие от патогенов они растут на простых питательных средах, отличаются по ферментативным и антигенным свойствам (не агглютинируются антименингококковыми сыворотками). Возможны ускоренные методы диагностики с помощью обнаружения бактериальной ДНК в исследуемом материале посредством ПЦР, обнаружения антигенов в РИФ.

Лечение. Антибиотики выбора — пенициллины, цефалоспорины третьего поколения (цефотаксим, цефтриаксон), ципрофлоксацин и др.

Профилактика. Неспецифическая профилактика направлена на изоляцию больных и носителей. В очаге проводят дезинфекцию, УФ-облучение, прове-

тривание помещений. Следует избегать скученности людей. Для специфической профилактики разработана химическая полисахаридная вакцина, состоящая из антигенов наиболее часто встречающихся менингококков (серогрупп А, С и др.). Вакцина применяется по эпидпоказаниям: в группах риска, контактировавших с больными или носителями. Вакцины из полисахаридов серогрупп А и С не защищают против *N. meningitidis* группы В. Иногда возможна пассивная специфическая профилактика у детей, контактировавших с больным ребенком, с помощью антименингококковых сывороток.

15.1.2.2. Гонококки (*Neisseria gonorrhoeae*)

Гонококки относятся к виду *Neisseria gonorrhoeae*; вызывают антропонозное инфекционное заболевание, которое передается половым путем и характеризуется гнойным воспалением слизистых оболочек органов мочеполовой системы (гонорея), а также острым гнойным воспалением слизистой глаза (бленнорея). Возбудитель открыт Нейссером в 1879 г.

Морфология. Гонококки — грамотрицательные диплококки, спор не образуют, имеют пили. В гнойном отделяемом располагаются внутри лейкоцитов — незавершенный фагоцитоз. Могут наблюдаться и вне лейкоцитов.

Культуральные свойства. Аэробы, хемоорганотрофы; требовательны к питательным средам: обязательно добавление сыворотки или крови; растут на средах с добавлением асцитической жидкости или аминокислот (аргинин и другие добавки). Оптимум роста наблюдается при температуре 36–37 °С, pH 7,3–7,4 и повышенном содержании CO₂.

Биохимические свойства. Гонококки биохимически малоактивны; окисляют только глюкозу.

Антигенная структура. Основными антигенами гонококков являются пили, окружающие поверхность бактерии, состоящие из белка пилина. Последовательность аминокислот пилина у гонококков высоковариабельна, что делает их антигенно-различными не только между штаммами, но даже и внутри штамма.

Факторы патогенности гонококков включают пили и компоненты наружной мембраны клеточной стенки. **Пили** инициируют адгезию (прикрепление) гонококков к клеткам макроорганизма. Они ингибируют фагоцитоз нейтрофилами, участвуют в обмене генетическим материалом между отдельными особями. **Пориновые белки Por**, или **протеин I**, препятствуют слиянию лизосом с фагосомой, способствуя тем самым внутриклеточному выживанию гонококков. **Ора-белки** (от англ. *opacity* — мутность), или **протеин II**, усиливают адгезию гонококков к клеткам макроорганизма. **Протеин III** блокирует антибактериальное действие сыворотки. **Липоолигосахарид** наружной мембраны обладает свойствами **эндотоксина** — вызывает повреждение клеток и воспали-

тельную реакцию ткани. **IgA-протеазы** разрушают секреторный иммуноглобулин слизистых оболочек.

Резистентность. Гонококки высокочувствительны к высушиванию, солнечным лучам, дезинфицирующим средствам и другим физико-химическим факторам, что следует учитывать при заборе и транспортировке клинического материала. В конце XX в. появились пенициллиназо-продуцирующие гонококки, устойчивые к β -лактамным антибиотикам, а затем к тетрациклинам и фторхинолонам (ципрофлоксацину).

Эпидемиология. Гонококки паразитируют только в организме человека, являющегося единственным источником заражения, сопровождающегося заболеванием. Входные ворота чаще всего слизистые оболочки, выстланные цилиндрическим эпителием (слизистые мочеполового тракта, глаза), где происходит размножение гонококков. Встречаются аноректальные и орофарингеальные формы гонореи. Механизм передачи — контактный, путь — половой, при бленнорее — путем контакта конъюнктивы глаза новорожденного с инфицированной слизистой оболочкой половых путей матери. Восприимчивость к гонококкам очень высокая.

Патогенез. После прикрепления к клеткам, через 24–48 ч, гонококки освобождают липоолигосахарид и образуют ферменты, облегчающие их проникновение в подслизистый слой. В очаг инфекции привлекаются нейтрофилы, что приводит к отслойке эпителия и образованию гнойного отделяемого. Гонококки способны проникать в кровь и вызывать диссеминированную инфекцию с поражением суставов, мягких мозговых оболочек и других органов. Важную роль в патогенезе играет незавершенный фагоцитоз.

Клиника. Гонококковая инфекция проявляется в виде гнойного воспаления слизистой оболочки мочеполовых путей (гонорея), конъюнктивы глаз (бленнорей), других органов. **Инкубационный период** 2–4 дня. Заболевание характеризуется резью при мочеиспускании, выделением гноя из уретры. У мужчин заболевание обычно протекает в виде гонорейного уретрита, после которого частым осложнением является воспаление предстательной железы. У женщин гонорея в 70% случаях имеет бессимптомное течение, часто протекает в виде смешанной инфекции (например, с трихомонадами). При смешанной гонорейно-трихомонадной инфекции происходит фагоцитоз гонококков влагалищными трихомонадами (эндобациоцитоз), что приводит к «переживанию» гонококками антибиотикотерапии, а также их размножению в трихомонадах (резервуар гонококков). Частое осложнение у женщин — бесплодие.

Очень редки генерализованные формы гонорейной инфекции: артриты, эндокардиты, менингиты.

Иммунитет. Иммунитет после болезни не формируется: повторное заражение вызывает повторное заболевание — реинфекцию.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования: чаще гной из уретры, влагалища, шейки матки; реже — из прямой кишки, глотки, су-

ставной жидкости. *Бактериоскопический метод*: в мазках, окрашенных по Граму, видны грамтрицательные внутриклеточные диплококки в виде зерен кофе в большинстве случаев. Однако это не гарантия правильного диагноза, особенно у женщин, имеющих в составе микрофлоры диплококки-комменсалы. Поскольку уретриты и другие воспалительные заболевания мочеполовой системы могут быть и негонококковые, необходим *бактериологический метод*: исследуемый материал засеивается на среды с добавлением аминокислот. Посевы инкубируют в атмосфере с повышенным содержанием CO_2 . Выделенную культуру идентифицируют по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим, антигенным признакам. Реже используется *серологический метод* диагностики гонореи, чаще при хронических формах болезни. Используют также *молекулярно-биологические* (ПЦР) и *иммунологические методы* для идентификации гонококковых антигенов в материале от больного с помощью РИФ и коагутинации.

Лечение. Обычно применяют цефалоспорины, фторхинолоны и др. Однако, учитывая возрастающую устойчивость гонококков к антибиотикам, крайне желательна антибиотикограмма. При хронической гонорее иногда применяют иммунотерапию в виде убитой гоновакцины. Учитывая также то, что гонорея может быть одновременно с другими инфекциями, например с хламидиозом, желательно подбирать антибиотики, действующие и на гонококки, и на хламидии.

Профилактика. Из-за антигенного разнообразия гонококков специфическая профилактика не разработана. Должна соблюдаться неспецифическая профилактика: исключение случайных половых связей, контроль за излеченностью больных, использование презервативов, санитарно-просветительная работа и т.п.

15.1.3. Анаэробные грамположительные кокки

Анаэробные грамположительные кокки входят в состав таких родов, как *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Anaerococcus*, *Finegoldia*, *Peptoniphilus*, *Ruminococcus* и др. Они морфологически не отличаются от аэробных кокков.

Перечисленные анаэробы — представители нормальной микрофлоры полости рта, верхних дыхательных путей, кишечника, мочеполовых путей женщин, кожи. Являясь условно-патогенными бактериями, они могут вызывать абсцессы мозга и легких, менингит, аспирационную пневмонию, гнойно-воспалительные заболевания челюстно-лицевой области. Наибольшее значение в патологии человека имеют бактерии родов *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* и *Finegoldia*. Например, *Peptostreptococcus anaerobius* вызывает гнойно-воспалительные процессы вместе с другими микробами, в том числе с анаэробами, в ранах, при постродовых эндометритах, хронических нагноениях в легких. Гной при этом имеет неприятный запах. *Finegoldia magna* — наиболее частый вид из грамположитель-

ных анаэробных кокков, выделяемых в чистой культуре при оппортунистических инфекциях.

15.1.4. Анаэробные грамотрицательные кокки

Наибольшее значение в патологии человека имеют анаэробные грамотрицательные кокки рода *Veillonella*. Чаще всего встречаются виды *V. atypical*, *V. dispar* и *V. parvula*. Вейлонеллы — грамотрицательные кокковидные бактерии, располагающиеся парами, короткими цепочками или поодиночке; морфологически напоминают нейссерии. Неподвижны. Капсулы не имеют. Растут на сложных питательных средах. Некоторые виды продуцируют порфирины и выделяют CO_2 . Вейлонеллы входят в состав нормальной микрофлоры полости рта, носоглотки и, возможно, кишечника. При гнойно-воспалительных заболеваниях составляют часть полимикробных ассоциаций и редко являются единственной причиной анаэробной инфекции.

Микробиологическая диагностика инфекций, вызванных анаэробными кокками. Основной метод — *бактериологический* (в анаэробных условиях). Для экспресс-диагностики возможно применение ПЦР, лазерно-флуоресцентного метода, газожидкостной хроматографии.

Лечение. Основными препаратами для лечения инфекций, вызванных анаэробными кокками, являются β -лактамы антибиотики (пенициллины, цефалоспорины); метронидазол, клиндамицин.

15.2. Палочки грамотрицательные факультативно-анаэробные

15.2.1. Энтеробактерии (семейство *Enterobacteriaceae*)

Enterobacteriaceae — самое многочисленное семейство патогенных и условно-патогенных бактерий. Объединяет более 40 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).

Морфология и физиология. Семейство энтеробактерий представлено грамотрицательными палочками размером $1-5 \times 0,4-0,8$ мкм. Могут быть подвижными за счет перитрихальных 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. Оксидазоотрицательны. Каталазаположительны. Способны восстанавливать нитраты за счет наличия нитратредуктазы.

Энтеробактериям присущи два типа ферментации глюкозы муравьино-кислым брожением. При смешанном типе, выявляемом реакцией с метил красным, образуется большое количество кислот, в некоторых случаях — газ. При бутандиоловом типе основными продуктами являются 2,3-бутандиол и этанол, определяемые реакцией Фогеса–Проскауэра.

Энтеробактерии обладают широким спектром биохимической активности, который служит основой подразделения внутри семейства на роды, а внутри некоторых родов — на виды. Ключевыми 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 мочевины, 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. 15.1.

Таблица 15.1

**Дифференциация по биохимическим свойствам родов *Escherichia*,
Shigella и *Salmonella***

Тест	<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>	<i>Salmonella</i>
Реакция Фогеса–Проскауэра	–	–	–
Образование индола	+	±	–
Образование H ₂ S	–	–	+
Утилизация цитрата	–	–	+
Утилизация малоната	–	–	–
Гидролиз мочевины	–	–	–
Продукция лизиндекарбоксилазы	+	–	+
Продукция орнитиндекарбоксилазы	–	–	+
Газообразование при расщеплении глюкозы	+	–	+
Образование кислоты при ферментации			
Лактозы	+	–	–
Маннита	+	±	+

Распространение в природе. Энтеробактерии разнообразны по экологии и кругу хозяев. Они распространены повсеместно: в почве, воде, в составе

микрофлоры различных животных и человека. Могут вызывать заболевания у человека, животных, птиц, насекомых, растений.

Представители родов *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella* вызывают у человека острые кишечные инфекции, энтеропатогенные иерсинии (*Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*) — псевдотуберкулез и кишечный иерсиниоз соответственно, а *Y. pestis* — чуму. Представители родов *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* являются возбудителями внутрибольничных (нозокомиальных) инфекций, а некоторые из них вызывают пищевые токсикоинфекции, заболевания органов респираторного и мочевыделительного трактов.

Факторы патогенности. Все энтеробактерии содержат эндотоксин, который освобождается после их разрушения. Начальные этапы инфекции связаны со структурами, обеспечивающими взаимодействие бактерий с поверхностным эпителием кишечника. Этот процесс обеспечивается пиллями 4-го типа, а также филаментозными структурами, составляющими третий тип секреторной системы (TTCC).

Установлено четыре типа механизмов взаимодействия возбудителей острых кишечных инфекций с поверхностным эпителием кишечника (табл. 15.2). Среди большого разнообразия факторов патогенности можно выделить основные, которые в тех или иных комбинациях присутствуют у патогенных энтеробактерий, обеспечивая развитие вызываемого ими заболевания. К ним относятся **эндотоксин, пилли 4-го типа, TTCC, белковые токсины** специфического действия (**цито- и энтеротоксины**).

Синтез факторов патогенности опосредован генами, локализованными на островах патогенности, плаزمиде, конвертирующих бактериофагах.

Таблица 15.2

Механизмы взаимодействия возбудителей острых кишечных инфекций 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 апикальной поверхности эпителия
3-й тип	ЭИКП Род <i>Shigella</i>	Внедрение и размножение в эпителиальных клетках слизистой толстой кишки, цитотоксическое повреждение и гибель эпителиоцитов
4-й тип	Род <i>Salmonella</i> , род <i>Yersinia</i>	Трансцитоз эпителия тонкой кишки через М-клетки с инфицированием пейеровых бляшек, с последующим размножением в макрофагах

Антигенная структура энтеробактерий представлена О-антигеном. Могут также встречаться жгутиковый Н-антиген и поверхностный (капсульный) К-антиген. Антигенной активностью обладают также пили 4-го типа. Представители некоторых родов, в частности *Yersinia*, имеют дополнительные видоспецифические антигены.

Микробиологическая диагностика инфекционных процессов, вызванных представителями семейства *Enterobacteriaceae*, основана на *бактериологическом методе*. Используются также *серологический метод* и ПЦР.

15.2.1.1. 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* — прямые грамотрицательные палочки размером $0,4\text{--}0,6 \times 2,0\text{--}6,0$ мкм, подвижные за счет перитрихально расположенных жгутиков. Для некоторых характерно наличие микрокапсулы, построенной из гомополимера сиаловой кислоты; такие штаммы обозначаются как K^+ .

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. 15.1). 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* имеет О-, К- и Н-антигены. **О-антиген** (более 170 разновидностей) определяет серогруппу. Поверхностный **К-антиген** может быть представлен тремя 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. **Н-антиген** является типоспецифическим антигеном, определяющим серовары, которых насчитывается более 57. Антигенная структура обозначается формулами серогруппы как О:К, серовара — О:К:Н, например О12:В6:Н2.

Резистентность. В течение нескольких месяцев сохраняется в воде и почве. Погибает при нагревании до $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 60 мин, при $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ — в течение 15 мин. Эшерихии в окружающей среде способны переходить в некультивируемую форму.

Экология и патогенез. Вид *E. coli* не однороден: он включает условно-патогенные и патогенные эшерихии.

Условно-патогенные эшерихии. Основная масса эшерихий является облигатным представителем микрофлоры кишечника и влагалища человека, а также микрофлоры кишечника млекопитающих, птиц, рептилий, рыб. В составе микрофлоры толстой кишки они выполняют много полезных функций: являются антагонистами патогенных кишечных бактерий, гнилостных бактерий и грибов рода *Candida*; участвуют в синтезе витаминов группы В, Е и К; частично расщепляют клетчатку. Эти эшерихии рассматриваются как непатогенная флора. Хотя в редких случаях (у иммунодефицитных лиц) при попадании в другую экологическую нишу они могут вызывать развитие инфекционного заболевания, протекающего в виде сепсиса, вторичной пневмонии, нагноения ран. Из условно-патогенных *E. coli* могут формироваться полирезистентные к антибиотикам штаммы за счет приобретения R-плазмид, которые становятся возбудителями внутрибольничных инфекций.

Патогенные эшерихии отличаются от условно-патогенных возможностью синтеза факторов патогенности, которые генетически связаны с наличием островов патогенности, конвертирующих фагов и плазмид вирулентности. Патогенные эшерихии подразделяются на возбудителей **парентеральных** эшерихиозов и **диареогенные** эшерихии — возбудителей кишечного эшерихиоза, острых кишечных инфекций. Среди возбудителей парентеральных эшерихиозов выделяют **уропатогенные эшерихии**, являющиеся возбудителями воспалительных процессов мочевыводящей системы. Некоторые из них обладают гемолитическими свойствами. Другие возбудители парентеральных эшерихиозов способны вызвать генерализованные процессы в виде сепсиса и менингита. Около 80% менингитов связаны с *E. coli*, которой новорожденный заражается при прохождении через родовые пути. *E. coli*, вызывающая менингит у новорожденных, обладает микрокапсулой, состоящей из гомополимера сиаловой кислоты. Наличие микрокапсулы придает возбудителю антифагоцитарные свойства, так как микрокапсула перестает опсонизироваться из-за потери способности активировать комплемент.

Диареогенные *E. coli* не являются однородной группой. Они подразделяются на несколько категорий, исходя из наличия у них определенных факторов патогенности, их генетической детерминации, особенностей эпидемиологии, патогенеза и клинических проявлений вызываемого заболевания. В пределах каждой категории имеется определенный состав О-серогрупп или О:Н-сероваров.

По составу О-серогрупп проводится первичная дифференциация диареогенных *E. coli* от условно-патогенных. Основные категории диареогенных *E. coli*: энтеротоксигенные (ЭТКП), энтероинвазивные (ЭИКП), энтеропатогенные (ЭПКП), энтерогеморрагические (ЭГКП) и энтероаггративные кишечные палочки (ЭАГКП). Кроме них, имеется еще три недостаточно изученные категории диареогенных кишечных палочек.

ЭТКП служат возбудителями холероподобных заболеваний у детей и взрослых. Патогенность определяется выработкой термолabileного (LT), структурно и функционально связанного с холерным токсином, и термостабильного (ST) **энтеротоксинов**, детерминированных *Ent*-плазмидой, и **факторами колонизации** CF (от англ. *colonization factor*), синтез которых также детерминируется плазмидами. Благодаря CF ЭТКП размножаются на поверхности эпителия тонкой кишки. 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 O6:H16, O8:H9, O78:H11, O148:H28. 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 плазмиды 140 МД, идентичной таковой у шигелл, которая кодирует синтез **поверхностных белков**, **ИРА-антигенов**, опосредующих процесс инвазии в клетки слизистой толстого кишечника; и **белка VirG**, обеспечивающего сборку актина. Результатом действия этих факторов патогенности является развитие дизентериеподобного заболевания. Заражение ЭИКП происходит водным и алиментарными путями, возможны вспышки внутрибольничных инфекций, вызванных ЭИКП. С ЭИКП связаны серогруппы O124, O144, O152 (более 9 серогрупп).

ЭПКП вызывают диарею у детей первого года жизни. Возбудитель передается в основном контактно-бытовым путем, заболевание часто протекает как внутрибольничная инфекция в отделениях для новорожденных и грудных детей, находящихся на искусственном вскармливании. ЭПКП размножаются на поверхности эпителия тонкого кишечника с разрушением микроворсинок и повреждением апикальной поверхности эпителия (см. табл. 15.2). Этот процесс известен под названием «прикрепление и сглаживание» и обеспечивается **пилями 4-го типа**, синтез которых связан с плазмидой размером 60 мДа, а также **белком-интиминном** и эффекторными белками TTСС, белком наружной мембраны, детерминированными хромосомными генами. С ЭПКП связаны серогруппы O55, O111, O26, O18 (всего 13), некоторые серовары, например O55:H10, O111:H2, O26:HNМ, продуцируют Шига-подобные токсины.

ЭГКП вызывают у людей кровавый понос (геморрагический колит) с последующим осложнением в виде гемолитического уремического синдрома, тромботической тромбоцитопенической пурпуры. Наибольшее эпидемическое значение имеет ЭГКП серовара O157:H7 и O157:HNМ, а также O104:H4. 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. 15.2), благодаря наличию на хромосоме острова патогенности, кодирующего ТТСС и **белок-интимин**.

Развитие гемолитического колита и уремического гемолитического синдрома связано со способностью продуцировать **Шига-подобные токсины** (см. разд. 15.2.1.3), синтез которых опосредуется конвертирующими бактериофагами. В этом процессе принимают участие кодируемые плазмидой O157 **серинпротеаза**, которая нарушает процесс свертывания крови, действуя на V-фактор, и **гемолизин**, который также способствует нарушению барьерной функции кишечника. У ЭГКП обнаруживаются два типа Шига-подобных токсина. Серовар O157:H7 может синтезировать как один, так и оба типа. Серовар O157 не обладает способностью утилизировать сорбит, что используется при проведении бактериологического исследования.

ЕАГКП являются преобладающим этиологическим агентом персистирующей диареи в развивающихся странах и медленно текущей диареи в индустриально развитых странах. Особенность возбудителя заключается в том, что он прикрепляется к эпителиальным клеткам в характерной манере, напоминающей укладку кирпичей. Прикрепляясь к слизистой поверхности кишечника, они стимулируют продукцию слизи, приводя к образованию толстой слизистой биопленки, инкрустированной ЕАГКП. Образование биопленки усиливает персистенцию микроба и создает барьер, препятствующий проникновению антибиотиков и антибактериальных факторов хозяина.

В развитии патогенеза заболевания участвуют **адгезины** (AAF), синтез которых опосредуется плазмидой 65 МД, высокоиммуногенный белок **дисперзин**, который, связываясь с клеточной поверхностью, принимает участие в образовании биопленки; термостабильный **энтеротоксин** и токсины с цитотоксическим эффектом.

Иммунитет. Парентеральные эшерихиозы чаще возникают на фоне иммунодефицитных состояний. Надежный иммунитет к ним не вырабатывается. При кишечных эшерихиозах развивается местный иммунитет, опосредованный секреторным IgA. После кишечного эшерихиоза, вызванного ЭТКП, происходит выработка антител к субъединице В LT, иммунологически родственной субъединице В холерного токсина.

У детей первого года жизни пассивный трансплацентарный иммунитет к ЭИКП обеспечивается IgG. Врожденный иммунитет детей первого года жизни формируется колонизацией кишечника к 5-му дню жизни бифидобактериями и антителами, находящимися в материнском молоке.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к соблюдению санитарно-гигиенических правил, санитарному контролю за источниками водоснабжения, пищевыми продуктами, продуктами питания.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования при кишечных эшерихиозах служат испражнения, а при парентеральных — материал из соответствующего инфекционного очага (моча, отделяемое раны, кровь). Исследуемый материал (кроме крови) засеивается на дифференциальные лактозо-содержащие среды; после инкубации при 37 °С в течение 18 ч отбираются колонии, агглютинирующиеся поливалентной ОВ-агглютинирующей сывороткой, которые идентифицируются до вида по биохимическим тестам, с последующим определением их серологического варианта.

15.2.1.2. Клебсиеллы (род *Klebsiella*)

Род *Klebsiella* получил название в честь Э. Клебса, который впервые описал микроб в 1875 г. В патологии человека основная роль принадлежит трем видам: *K. pneumoniae*, состоящему из трех подвигов (*K. subsp. pneumoniae*, *K. subsp. ozaenae*, *K. subsp. rhinoscleromatis*); *K. oxytoca* и *K. granulomatis*, которые различаются по биохимическим и культуральным свойствам.

Морфология. Клебсиеллы — не образующие спор неподвижные палочки размером 0,3–1,5 × 0,6–6,0 мкм, располагающиеся единично, парами или короткой цепочкой. Обычно они локализованы в капсуле, которая служит характерным морфологическим признаком.

Культуральные свойства. За исключением вида *K. granulomatis*, который на искусственных питательных средах растет плохо (его культивируют в желточном мешке куриного эмбриона), остальные виды клебсиелл нетребовательны к питательным средам. На жидких средах вызывают диффузное помутнение. На плотных средах образуют блестящие выпуклые слизистые колонии.

Биохимические свойства. Клебсиеллы расщепляют лактозу, поэтому относятся к группе колиформных бактерий. Дифференциация внутри рода на виды и внутри вида *K. pneumoniae* на подвиды производится на основе биохимических свойств. Для клебсиелл характерно отсутствие продукции сероводорода. Они утилизируют цитрат, малонат, расщепляют мочевины. В отличие от других видов *K. oxytoca* продуцирует индол.

Антигенная структура. Обладают О-антигеном (более 12 серогрупп) и полисахаридным капсульным антигеном (более 85 групп).

Факторы патогенности. Полисахаридная капсула обеспечивает устойчивость к фагоцитозу и действию комплемента. Большинство клебсиелл обладают **пилями**, продуцируют термостабильный и термолабильный **энтеротоксины**, а также ферменты патогенности: **нейраминидазу**, **ДНКазу** и **фосфатазу**.

Экология и распространение. *K. pneumoniae* входит в состав факультативной микрофлоры кишечника, верхних дыхательных путей и влагалища; 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. Они погибают при температуре 65 °С через 60 мин, в растворах обычных дезинфицирующих веществ.

Патогенез и клиника. *K. pneumoniae* подвида *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. Обладая фактором множественной лекарственной устойчивости, *K. pneumoniae* занимает ведущее место среди возбудителей внутрибольничных инфекций, которые протекают с поражением дыхательных и мочевыводящих путей.

Возбудитель подвида *ozaenae* поражает слизистую оболочку носа и придаточных пазух, что сопровождается выделением зловонного секрета.

Klebsiella subsp. rhinoscleromatis вызывает риносклерому, при которой поражается слизистая оболочка верхних дыхательных путей с образованием гранул, в которых микроб находится как вне-, так и внутриклеточно. Болезнь может протекать хронически и заканчиваться склеротическими изменениями на месте гранул.

K. oxytoca вызывает внутрибольничную инфекцию в урологической клинике.

Klebsiella granulomatis является возбудителем **донованоза** — венерической паховой гранулемы, которая проявляется изъязвлениями грануломатозных поражений кожи и подкожной клетчатки. Заболевание передается половым, реже бытовым путями, и для него характерна эндемичность распространения в основном в странах тропического климата.

Иммунитет. Гуморальный иммунный ответ защитной активностью не обладает. В защите от инфекции главная роль принадлежит фагоцитозу клебсиелл, опсонизированных специфическими антителами. 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. *Серологический метод* проводится путем постановки РСК с О-антигеном.

Диагностику донованоза проводят *бактериоскопическим методом* путем обнаружения телец Донована в мазках из биоптата гранул, окрашенных по Романовскому–Гимзе.

Профилактика и лечение. Средств специфической профилактики не существует. Для лечения используют клебсиеллезный бактериофаг и антибиотики, чему предшествует определение антибиотикограммы.

15.2.1.3. Шигеллы (род *Shigella*)

Род *Shigella* получил название по имени К. Шига, который в 1898 г. детально изучил микроб, известный в настоящее время под названием *S. dysenteriae* 1 серовара.

Род *Shigella* включает четыре 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 грамотрицательными палочками размером $0,5\text{--}0,7 \times 2\text{--}3$ 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* при росте на плотных средах происходит S- и R-диссоциация.

Биохимические свойства. 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, продукции сероводорода, 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 в окружающей среде, на предметах обихода колеблется от нескольких дней до нескольких месяцев. Наиболее неустойчив вид *S. dysenteriae*. Шигеллы хорошо переносят высушивание, низкие температуры, но быстро погибают под воздействием прямых солнечных лучей и нагревании (при 60°C — через 30 мин; при 100°C — мгновенно). Благоприятной средой для шигелл служат 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. Шигеллы обладают соматическим O-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 K-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 четырех

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 **TTCC**, через которую проникают в клетку эффекторные **белки-инвазины**, **іра BCD** (invasion plasmid antigens), которые чувствительны к трипсину. Поэтому процесс инвазии шигелл в эпителий кишечника происходит в толстом кишечнике.

іра BCD-инвазины обеспечивают процесс инвазии эпителия слизистой толстого кишечника через М-клетки и последующее проникновение шигелл в эпителиоциты слизистой с базальной стороны. Помимо іра BCD-инвазинов, в патогенезе играют роль белки внутриклеточного распространения, которые вызывают лизис мембраны эукариотической клетки, обеспечивая внутри- и межклеточное распространение. Плазмидные гены начинают экспрессироваться при 37 °С в условиях осмотического давления кишечника.

Шигеллы продуцируют **Шига-токсин (ST)** и **Шига-подобные (SL-T) токсины**. Шига-токсин продуцируется *S. dysenteriae* 1 серовара, остальные шигеллы продуцируют Шига-подобные токсины. Это белковые токсины, состоящие из одной энзиматической субъединицы А и пяти рецепторных субъединиц В, имеющих сродство к рецептору Gb3 (globotriasylceramide), расположенному на мембранах эндотелия капилляров. Субъединица А, проникнув в клетку, взаимодействует с 60S-субъединицей рибосом, необратимо блокируя синтез белка. Эти токсины не имеют гомологии ни с холерным токсином, ни с LT-токсином ЭТКП. Шига- и Шига-подобные токсины накапливаются в периплазматическом пространстве бактерии и выделяются в окружающую среду ее гибели. У шигелл, отличных от *S. dysenteriae* 1 серовара, вырабатывается в 1000 раз меньше Шига-подобных токсинов, 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 почечной недостаточностью. Эндотоксин защищает шигеллы от действия низких значений рН и желчи.

Эпидемиология. Шигеллы вызывают заболевания, называемые *шигеллезами* (старое название — *бактериальная дизентерия*), которые являются антропонозными инфекциями с фекально-оральным механизмом передачи. Заболевание, вызываемое *S. dysenteriae*, имеет контактно-бытовой путь передачи, *S. flexneri* — водный, а *S. sonnei* — алиментарный. Естественная восприимчивость людей высокая, поэтому шигеллезы распространены повсеместно; чаще всего возникают в виде вспышек алиментарного и водного характера. Ежегодно шигеллезами болеют более 200 млн человек. Чаще болеют дети и жители городов, характерна летне-осенняя сезонность.

Патогенез и клиника. *Шигеллез* сопровождается поражением толстого кишечника с развитием колита и интоксикацией организма. Заболевание характеризуется сложными начальными этапами патогенеза. Шигеллы взаимодействуют с эпителием слизистой оболочки толстой кишки по 3-му типу (см. табл. 15.2). Проникнув через М-клетки в подслизистую, шигеллы взаимодействуют с макрофагами, вызывая их апоптоз. В результате происходит выделение цитокина IL-8, который инициирует развитие воспалительного процесса в подслизистой и как следствие воспалительной диареи. Взаимодействие шигелл с макрофагами приводит к их гибели, следствием чего является выделение IL-1, который инициирует воспаление в подслизистой. Апоптоз фагоцитов позволяет шигеллам проникнуть в эпителиальные клетки с базальной стороны. Межклеточное распространение шигелл приводит к развитию эрозий. При гибели шигелл происходит выделение Шига- и Шига-подобных токсинов, действие которых вызывает появление крови в испражнениях. Патологический процесс ограничивается толстым кишечником. Бактериемия при шигеллезах не наблюдается. Наиболее тяжело протекает шигеллез, вызванный *S. dysenteriae* 1-го серовара. *S. sonnei* вызывает развитие заболевания в легкой форме, часто в виде бактерионосительства. Осложнением шигеллезом 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 колоний, 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 метода используют *серологический метод* с постановкой РНГА.

Лечение и профилактика. Для лечения по эпидемиологическим показаниям используют бактериофаг орального применения, антибиотики после определения антибиотикограммы; в случае возникновения дисбактериоза — пробиотики для коррекции микрофлоры. Неспецифическая профилактика сводится к соблюдению санитарно-гигиенических правил приготовления, хранения и реализации пищевых продуктов, норм водоснабжения, соблюдению правил личной гигиены и других мероприятий, аналогичных таковым при кишечном эшерихиозе.

15.2.1.4. Сальмонеллы (род *Salmonella*)

Род *Salmonella* получил название в честь Д. Сальмона, который в 1885 г. описал микроб, выделенный из свиньи и известный в настоящее время под названием *S. Choleraesuis*. 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.

Морфологические и культуральные свойства. Подвижные грамотрицательные палочки размером $0,7 \times 1,5 \times 2-5$ 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 серовары, 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 материалов (фекалий, желчи, мочи), содержащих дополнительную микрофлору, — селенитовый бульон. На лактозосодержащих дифференциальных средах образуют бесцветные колонии, на висмут-сульфитном агаре — колонии черного цвета.

Биохимические свойства. Обладают выраженной биохимической активностью. По биохимическим свойствам род однороден. Основные биохимические свойства, необходимые для идентификации: **ферментация глюкозы** до кислоты и газа (за исключением серовара *S. Typhi*), **отсутствие ферментации лактозы, продукция сероводорода, отсутствие индолообразования**.

Антигенная структура и классификация. Сальмонеллы обладают соматическим O-антигеном и жгутиковым H-антигеном. Некоторые сальмонеллы имеют K-антиген.

O-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 служит общность конечного сахара, который по химической природе является 3,6-дидезоксигексозой.

H-антиген двухфазный. 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 связи с тем что по основным биохимическим свойствам представители рода *Salmonella* однотипны, дифференциация внутри рода проводится по антигенной структуре. Наиболее старой классификацией сальмонелл по антигенной структуре является **классификация по Кауфману–Уайту**, в основе которой лежит подразделение сальмонелл на серогруппы по общности строения O-антигена,

а внутри серогруппы — на серовары, в соответствии с различиями в строении Н-антигена. В таблице Кауфмана–Уайта (табл. 15.3) 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 — *S. enterica*, в который включены все возбудители человека и теплокровных животных, и *S. bongori*, который подразделяется на 10 сероваров и включает в себя сальмонеллы, изолированные от холоднокровных животных. Вид *S. enterica* разделен на шесть 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**, разновидность К-антигена. Vi-антиген по химической структуре является полимером N-ацетилгалактозоаминоуроново́й кислоты. Этот антиген служит рецептором для бактериофагов. По спектру чувствительности к набору Vi-фагов устанавливается фаговар *S. Typhi*, который необходим для эпидемиологического анализа вспышек брюшного тифа в целях определения источника инфекции. Vi-антиген может придавать бактерии явление О-инагглютинабельности.

Таблица 15.3

Классификация сальмонелл по антигенной структуре по Кауфману–Уайту

Название серовара	Серогруппа	Антиген		
		О	Н	
			фаза 1	фаза 2
<i>S. Paratyphi A</i>	A	1, 2, 12	a	—
<i>S. Derby</i>	B	1, 4, 5, 12	f, g	1, 2
<i>S. Haifa</i>		1, 4, (5), 12	z ₁₀	1, 2
<i>S. Paratyphi B</i>		1, 4, 5, 12	b	1, 2
<i>S. Typhimurium</i>		1, 4, 5, 12	i	1, 2
<i>S. Infants</i>	C ₁	6, 7	R	1, 5
<i>S. Choleraesuis</i>		6, 7	{c}	1, 5
<i>S. Virchow</i>		6, 7	R	1, 5
<i>S. Newport</i>	C ₂	6, 8	eh	1, 2
<i>S. Dublin</i>	D	1, 9, 12 (vi)	g, p	—
<i>S. Enteritidis</i>		1, 9, 12	g, m	—
<i>S. Panama</i>		1, 9, 12	e, v	1, 5
<i>S. Typhi</i>		9, 12 (vi)	d	—
<i>S. Anatum</i>	E ₁	3, 10	ch	1, 6

Патогенность и патогенез. Вид *S. enterica* является факультативным внутриклеточным паразитом, способным инвазировать нефагоцитирующие клетки эпителия слизистой оболочки кишечника и размножаться в макрофагах. Это

связано с тем, что в отличие от *S. bongori* вид *S. enterica* имеет в геноме шесть так называемых **островов патогенности** — SPI (*pathogenicity island*), детерминирующих синтез факторов патогенности, среди которых наибольшее значение в развитии патогенеза заболевания принадлежит первым двум: SPI-1 и SPI-2. Первый из них детерминирует синтез секреторной системы третьего типа (ТТСС-1), эффекторные белки которой вызывают инвазию эпителия слизистой кишечника путем реорганизации цитоскелета клетки хозяина и участвуют в развитии воспалительной диареи. SPI-2 контролирует синтез ТТСС-2, обеспечивающей размножение *S. enterica* в макрофагах и развитие системной инфекции. Эффекторные белки ТТСС-2 ингибируют процесс созревания фаголизосомы, т.е. слияние вакуоли, содержащей сальмонеллу с лизосомой. В результате чего предотвращается уничтожение сальмонеллы НАДФН-оксидазой фагоцита. Помимо функциональной активности SPI-2 на способность *Salmonella* сохраняться и размножаться в макрофагах влияет фермент **супероксиддисмутаза**, синтез которой кодируется лямбда-подобным конвертирующим фагом.

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 оболочку 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 мес., в комнатной пыли — от 80 до 550 дней. Хорошо переносят низкие температуры. В зараженных продуктах сохраняются: в колбасе — 3 мес., 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 течение 2–3 мин. При неблагоприятных условиях сальмонеллы могут переходить в некультивируемую форму.

15.2.1.4.1. 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.

Возбудитель брюшного тифа — *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, служат 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. Источник инфекции — 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 транзитозом 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. Они оседают в ретикулоэндотелиальных элементах паренхиматозных органов: печени, селезенке, легких, а также в костном мозге, где размножаются в макрофагах, и 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 сенсibilизированные 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 °С), ин-

токсикацией, 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 после перенесенного заболевания напряженный и длительный. В действии протективного клеточного иммунного ответа 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 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* типизируют Vi-фагами для определения источника инфекции. С конца 2-й недели заболевания производят выделение копро-, урино- и биликультур, т.е. материалом для исследования служат моча, испражнения, желчь.

Начиная со 2-й недели заболевания проводят серологическое исследование в целях определения наличия и типа антител в РНГА, которую 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.

Лечение — этиотропная антибиотикотерапия.

Профилактика. 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 употребляли продукты и воду, зараженные или подозрительные на заражение *S. Typhi*, назначают сухой брюшнотифозный бактериофаг.

Неспецифическая профилактика включает санитарно-бактериологический контроль за системами водоснабжения, соблюдение санитарно-гигиенических

правил при приготовлении пищи, обнаружение бактерионосителей среди работников пищеблоков, торговли, своевременное выявление и изоляцию больных.

15.2.1.4.2. Возбудители сальмонеллеза **(*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 септико-пиемической.

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 становятся серовары *S. Typhimurium*, *S. Dublin*, *S. Choleraesuis*. В настоящее время на территории России доминирует в качестве возбудителя сальмонеллеза серовар *S. Enteritidis*. Основной резервуар возбудителей в природе — сельскохозяйственные животные. Развитие промышленного животноводства способствует распространению сальмонелл среди животных (крупного рогатого скота, свиней), у которых сальмонеллез протекает как в форме клинически выраженной системной инфекции, так и в виде бактерионосительства, при этом животные выделяют возбудителя с мочой, испражнениями, слюной и молоком. Резервуаром сальмонелл служат также водоплавающие птицы и куры, у которых происходит трансвариальная 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 нед., иногда до 1 года.

Патогенез и клиника. Заболевание чаще протекает в локальной форме гастроэнтерита, ведущим синдромом которого является диарейный. **Инкубационный период** — 12–72 ч. Инвазивная слизистую тонкого кишечника через М-клетки и проникнув в подслизистую, сальмонеллы захватываются макрофагами. Некоторые макрофаги под действием эффекторных молекул ТТСС-1 подвергаются апоптозу, выделяя при этом провоспалительные цитокины IL-8 и IL-1 β , которые, стимулируя развитие воспалительной реакции, вызывают приток полиморфно-ядерных (ПМЯ) клеток. ПМЯ выделяют простогландины, которые увеличивают уровень цАМФ, что влечет за собой поступление в просвет кишечника ионов Na, Cl и как следствие потерю воды клетками слизистой

и развитие диарей. Из-за того что в подслизистой осмотическое давление ниже, чем в просвете кишечника, экспрессия эффекторных молекул ТТСС-1 снижается. Поэтому для развития симптомов заболевания требуется попадание в организм большой инфицирующей дозы сальмонелл. Добавочным накоплением простагландинов и активации ими аденилатциклазы клеток *lamina propria* является активация каскада арахидоновой кислоты эндотоксином, который накапливается в результате гибели сальмонелл и выделения из погибших клеток накопившегося в периплазматическом пространстве энтеротоксина. Энтеротоксин активирует Са-зависимую аденилатциклазу эпителиальных клеток крипт тонкого кишечника, в результате чего повышается уровень цАМФ, что влечет за собой поступление в просвет кишечника большого количества жидкости, К, Na и хлоридов.

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, серовароспецифический, опосредован секреторным IgA, который предотвращает процесс пенетрации сальмонеллами слизистой тонкого кишечника. В крови могут определяться антитела, которые являются свидетелями инфекционного процесса.

Микробиологическая диагностика. 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.

Лечение. Применяется патогенетическая терапия, направленная на нормализацию водно-солевого обмена. При генерализованных формах — этиотропная антибиотикотерапия.

Профилактика. Основную роль играет специфическая профилактика сальмонеллеза у сельскохозяйственных животных и птицы. Неспецифическая профилактика включает проведение ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на предупреждение распространения возбудителей среди сельскохозяйственных животных и птиц, а также соблюдение санитарно-гигиенических правил при приготовлении пищи.

15.2.1.4.3. Внутрибольничный (нозокомиальный) сальмонеллез

Возбудителями внутрибольничного сальмонеллеза являются полиантибиотикорезистентные штаммы *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Virchow*, *S. Infantis*, *S. Haife* и некоторые другие. Госпитальные штаммы сальмонелл представляют собой особую биологическую разновидность. Для них присуще наличие

криптической плазмиды с характерной для определенного серовара молекулярной массой; отсутствие типизируемости 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 (при вдыхании воздуха, содержащего пылевые частицы с адсорбированными на них сальмонеллами), контактно-бытовым (через предметы обихода, посуду, грязные руки персонала) и алиментарным путем. Заражающая доза — порядка от одной тысячи до десяти тысяч клеток.

Клиника. Характерен длительный *инкубационный период* от 8 до 43 сут. Проявление болезни варьирует от бессимптомного носительства до выраженных кишечных расстройств с развитием генерализованных форм инфекции с септическими осложнениями.

Иммунитет не формируется.

Лечение — этиотропная антибиотикотерапия.

Профилактика осуществляется поливалентным бактериофагом.

15.2.1.5. 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 $0,4\text{--}0,6 \times 1\text{--}3$ мкм, располагающиеся парно или цепочками. Капсулу не образуют, подвижны.

Культуральные свойства. Хорошо растет на обычных питательных средах. На плотных средах образует два типа колоний. В Н-форме (от нем. *hauch* — дыхание) колонии имеют вид «роения», с образованием дочерних отростков. Это типичная форма роста. При неблагоприятных условиях, в частности на средах с добавлением желчи, образуют О-формы (от нем. *ohne hauch* — без дыхания) колоний: крупные, с ровными краями.

Биохимические свойства. Обладают выраженной биохимической активностью. Основные биохимические признаки, дифференцирующие от других представителей семейства *Enterobacteriaceae*: продукция фенилаланиндезаминазы, уреазы, сероводорода, отсутствие расщепления лактозы, разжижение желатины.

Антигенная структура. Обладают О- и Н-антигенами.

Резистентность. Устойчивы к воздействию факторов окружающей среды. Переносят нагревание до 60 °С в течение 1 ч. Сохраняют 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 инфекций мочевыводящих путей, вызванных протеом, важную роль играет продуцируемая им уреазы, которая, расщепляя мочевину, вызывает освобождение аммиака, что ведет к повышению pH. Зашелачивание мочи снижает растворимость кальция и магния, создавая благоприятные условия для отложения кальциевых и магниевых солей и образования почечных камней.

Лечение и профилактика. Для лечения используют коли-протейный бактериофаг и антибиотики после определения антибиотикограммы. профилактика не разработана.

Иммунитет. Протективный иммунитет не формируется.

Микробиологическая диагностика. Используют *бактериологический метод* исследования. Посев материала проводится на лактозосодержащие дифференциальные среды и на скошенный агар по Шукевичу (в конденсационную воду в месте скоса агара). Выделенная культура идентифицируется по биохимическим свойствам.

15.2.1.6. Иерсинии (род *Yersinia*)

Род *Yersinia* включает 11 видов, из которых в патологии человека основное значение имеют три: возбудитель чумы *Y. pestis*, 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.

15.2.1.6.1. 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.

Морфология. *Y. pestis* представляет собой неподвижную грамтрицательную палочку овоидной формы размером $1,5 \times 0,7$ 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.

Биохимические свойства. Биохимическая активность достаточно высокая. Синтезирует плазмокоагулазу, фибринолизин, гемолизин, лецитиназу, РНКазу. Основные биохимические свойства, необходимые для идентификации: не разжижает желатину, не расщепляет мочевины, 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-й группы крови человека.

Резистентность. Микроб обладает психрофильностью; при понижении температуры увеличиваются сроки выживания бактерий. При температуре –22 °С бактерии сохраняют жизнеспособность 4 мес., 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, УФ-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 **пестигина** — детерминирует **pPst-плазида**; синтез **F1-антигена** гликопротеидной природы, который продуцируется при температуре 37 °С и препятствует поглощению микроба фагоцитами, детерминируется **pFra-плазмидой**; этой же плазмидой детерминируется синтез F2-фракции, «мышинного токсина», который не играет роли в развитии патологического процесса у людей, но необходим в процессе колонизации кишечника блохи. Плазида **pYV** (по-старому **pCad-плазида**) детерминирует синтез TTCC, эфektorные

Yops-белки (от англ. *Yersinia outer membrane proteins*), которые обладают антифагоцитарной активностью. К факторам патогенности, обеспечивающим антифагоцитарную активность микроба, относят также внеклеточную **аденилатциклазу** и **супероксиддисмутазу**, 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 служат 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.

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, 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. 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 зависят от пути заражения. При контактном, 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 формированием bubo, 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 септико-пиемические 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 — 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 случаи 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. Летальность до применения антибиотиков при диссеминированных формах чумы достигла 100%, при локальных формах — 70%; при антибиотикотерапии — 10%.

Иммунитет различной длительности и напряженности. Отмечены случаи повторных заболеваний. Протективная активность обеспечивается главным образом клеточным иммунным ответом, реализующимся через иммунные макрофаги.

Микробиологическая диагностика. Используют бактериоскопический, бактериологический, биологический и серологический методы исследования, которые проводят в специальных лабораториях, работающих в соответствии с инструкциями о режиме работы противочумных учреждений. Материалы для исследования: пунктаты бубонов, мокрота, отделяемое карбункулов и язв, кровь, моча, рвотные массы, трупный материал. Материал засевают на питательные среды (мясопептонный агар, 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 РНГА, ИФА с применением парных сывороток, в которых определяется нарастание титра антител к F1-антигену.

Лечение и профилактика. 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 мес. Вакцина вводится однократно подкожно или внутримышечно 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.).

Неспецифическая профилактика включает: предупреждение заболевания людей и возникновения эпизоотий в природных очагах, предупреждение завоза чумы на территорию страны, которое осуществляется согласно специальным «Международным санитарным правилам»; предупреждение заражения лиц, работающих с зараженным *Y. pestis* материалом, осуществляемое согласно регламенту работы противочумных учреждений. Вся работа с зараженным *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.

15.2.1.6.2. 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, обитающими 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. Размножаются даже при температуре 4 °С. Сохраняют жизнеспособность при температуре до –25 °С. Энтеропатогенные иерсинии способны размножаться в воде, почве, растениях, в которые они попадают из почвы через корневую систему. Размножение при низких температурах характеризуется стационарной фазой продолжительностью несколько месяцев (до полугода), 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 энтеропатогенных иерсиний из внешней среды к существованию внутри организма. Начальные этапы инфекции, а именно, транзитоз через М-клетки слизистой кишечника, 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 *pYV* (молекулярная масса 45 мДа), которые активны при температуре 37 °С. Эти гены детерминируют синтез цитотоксина, повреждающего клетки стенки кишеч-

ника, и синтез ТТСС, эффекторные белки которой **Yops** (от англ. *Yersinia outer membrane proteins*; по-старому V- и W-антигены) обеспечивают размножение микробов в фагоцитах, что вызывает незавершенный фагоцитоз.

15.2.1.6.2.1. Возбудитель псевдотуберкулеза (*Y. pseudotuberculosis*)

Псевдотуберкулез — инфекционное заболевание, характеризующееся полиморфностью клинической картины, затяжным течением, аллергизацией организма.

Возбудитель псевдотуберкулеза *Y. pseudotuberculosis* впервые был описан в 1883 г. Л. Маляссе и В. Виньялем.

Морфология. Палочка с биполярным окрашиванием размером $0,8\text{--}2 \times 0,4\text{--}0,6$ мкм, подвижная, т.е. имеет жгутики, при температурах ниже 37°C . Образует капсулу.

Культуральные свойства. Хорошо растет на простых питательных средах. Оптимум размножения $22\text{--}28^\circ\text{C}$. При температурах ниже 37°C на плотных средах образует колонии в S-форме. При 37°C — колонии в R-форме. На жидких средах формирует пленку.

Биохимические свойства. Биохимически активен. Основные биохимические признаки, необходимые для идентификации: продукция уреазы, ферментация рамнозы, отсутствие ферментации сахарозы и продукции индола, отрицательная реакция Фогеса–Проскауэра.

Возбудитель устойчив во внешней среде: в воде при комнатной температуре выживает до 1,5 мес., при 4°C — до полугода; в овощах (капуста, морковь, лук) и фруктах выживает несколько месяцев. Малоустойчив к нагреванию при 60°C , кипячению, УФ-свету, дезинфектантам.

Антигенная структура. Обладает О- и Н-антигенами. По О-антигену подразделяется на 8 сероваров.

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 накапливается микроб. Человек заражается водным и алиментарным путями. Основные факторы передачи — вода и овощи. Овощи заражаются *Y. pseudotuberculosis* в результате их загрязнения в хранилищах испражнениями инфицированных возбудителем мышей, а также непосредственно почвой и водой. 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. *Инкубационный период* — 3–10 дней. Заболевание протекает в виде локальной и генерализованной форм. Начало острое или подострое, сопровождается лихорадкой. Инвазивав слизистую кишечника транскитозом через М-клетки, выделяя при этом цитотоксин, *Y. pseudotuberculosis* вследствие незавершенности фагоцитоза попадает в мезентериальные лимфатические узлы, вызывая мезентериальный лимфаденит. В результате развития мезентериального лимфаденита отмечаются 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. При *бактериологическом методе* исследуют испражнения, кровь, желчь, суставную и бронхиальную 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 постановкой РНГА и ИФА. Диагностический титр 1:100.

Лечение — этиотропная антибиотикотерапия.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика включает постоянный санитарный контроль за водоснабжением, технологическим режимом обработки и хранения пищевых продуктов, борьбу с грызунами.

15.2.1.6.2.2. Возбудитель кишечного иерсиниоза (*Y. enterocolitica*)

Кишечный иерсиниоз — инфекционное заболевание с поражением тонкого и толстого кишечника и развитием мезентериального лимфаденита.

Этиология. Возбудитель кишечного иерсиниоза *Y. enterocolitica* впервые был описан Дж. Шлейфстейном и М. Калеманом в 1939 г. Заболевание стало широко распространяться с конца 1960-х годов.

Морфология. Грамотрицательные палочки размером $1,8\text{--}2,7 \times 0,7\text{--}0,9$ мкм, подвижные, капсулу не образуют.

Биохимические свойства. Хорошо растут на обычных питательных средах. Оптимум роста 22–28 °С. Обладают выраженной биохимической активностью. Внутри вида подразделяется на пять хемоваров по спектру биохимической ак-

тивности — индолообразованию, утилизации эскулина, реакции Фогеса–Проскауэра. Заболевания чаще вызывают биовары 2, 3 и 4. Основные биохимические признаки, необходимые для идентификации: расщепление мочевины, ферментация сахарозы, отсутствие ферментации рамнозы, продукция орнитин-декарбоксилазы.

Антигенная структура. Обладает О- и Н-антигенами. По строению О-антигена подразделяется более чем на 30 сероваров. Наиболее часто заболевание у человека вызывают серовары О3, О5, О8, О9.

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.

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, вследствие которой формируется генерализованная форма инфекции, которая протекает с поражением селезенки, развитием полиаденита, полиартрита, менингита, с аллергизацией организма. У иммунодефицитных лиц может начаться 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. 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, диагностический титр 1:100 и выше. Важное диагностическое значение имеет наблюдение за нарастанием титра антител в динамике.

Лечение — этиотропная антибиотикотерапия.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика аналогична таковой при псевдотуберкулезе.

15.2.2. Вибрионы (семейство *Vibrionaceae*)

Семейство *Vibrionaceae* включает патогенные для человека виды родов *Vibrio*, *Aeromonas* и *Plesiomonas*. Все они имеют вид изогнутых подвижных палочек размером $1,4\text{--}5,0 \times 0,3\text{--}1,3$ мкм. Подвижность их обеспечивается жгутиками, расположенными полярно. Хемоорганотрофы. Метаболизм — окислительный и бродильный. Температурный оптимум для большинства видов 37°C , для некоторых морских видов — 25°C . Оксидазоположительны (большинство видов). Глюкозу и другие углеводы ферментируют до кислоты и газа. Могут расти на средах, содержащих 2–3% NaCl. Распространены повсеместно в морской, пресной воде, в гидробионтах.

Род *Vibrio* представлен прямыми или изогнутыми палочками размером $(1,4\text{--}2,6) \times (0,5\text{--}0,8)$ мкм. Их подвижность обеспечивается одним или несколькими жгутиками. Хемоорганотрофы. Окислительный и бродильный метаболизм. Температурный оптимум для разных видов — от 20 до 30°C . Большинство видов оксидазоположительны. Углеводы ферментируют только до кислоты (мальтозу, маннозу, трегалозу). Вибрионы распространены в пресных и соленых водоемах, на дне, растительности, а также в гидробионтах. Часть вибрионов патогенна для человека. Наибольшее медицинское значение имеют *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*. Типовой вид рода — *V. cholerae*.

15.2.2.1. Возбудитель холеры (*Vibrio cholerae*)

Холера — острая особо опасная карантинная инфекция, характеризующаяся поражением тонкой кишки, нарушением водно-солевого обмена и интоксикацией.

Возбудителем холеры являются представители вида *Vibrio cholerae* серогрупп O_1 и O_{139} , которые относятся к роду *Vibrio* семейству *Vibrionaceae*. Внутри вида *Vibrio cholerae* различают два основных биовара: *cholerae classic*, открытый Р. Кохом в 1883 г., и Эль-Тор (El Tor), выделенный в 1906 г. в Египте на карантинной станции Эль-Тор Ф. и Е. Готшлихами.

Морфология. Холерный вибрион — грамтрицательная палочка в форме запятой, длиной 2–4 мкм, толщиной 0,5 мкм. Не образует спор и капсулы, мотрих, подвижен.

Культуральные свойства. Факультативный анаэроб, но предпочитает аэробные условия роста, поэтому на поверхности жидкой питательной среды образует пленку. Холерный вибрион неприхотлив — может расти на простых средах. Оптимальная температура роста 37°C и pH 8,5–9,0. Для оптимального

роста требует присутствия в среде 0,5% натрия хлорида. Средой накопления является 1% щелочная пептонная вода, на которой он образует пленку в течение 6–8 ч. Элективной средой служит TCBS (тиосульфатцитратный сахарозо-желчесодержащий агар), на которой *Vibrio cholerae* образует колонии желтого цвета. Щелочной и триптон-соевый агар (ТСА) используют для субкультивирования.

Биохимические свойства. Биохимически активен. Оксидазопозитивен. Обладает протеолитическими и сахаролитическими свойствами: продуцирует индол, лизиндекарбоксилазу, разжижает в воронковидной форме желатину, сероводород не продуцирует. Ферментирует глюкозу, сахарозу, маннозу, крахмал, лактозу (медленно). Не сбраживает рамнозу, арабинозу, дульцит, инозит, инулин. Обладает нитратредуктазной активностью.

Дифференциация биоваров возбудителей холеры проводится по биохимическим свойствам, а также способности гемолизировать эритроциты барана, агглютинировать куриные эритроциты, чувствительности к полимиксину и бактериофагам. Биовар Эль-Тор резистентен к полимиксину, агглютинирует куриные эритроциты и гемолизует эритроциты барана, обладает положительной реакцией Фогес–Проскауэра и гексаминовым тестом. Классический холерный вибрион лизируется бактериофагами IV группы по Mukerjee, а вибрион биовара Эль-Тор — бактериофагами V группы. *V. cholerae* O139 по фенотипическим признакам близок к биовару Эль-Тор.

Антигенная структура. Холерный вибрион обладает О- и Н-антигенами. В зависимости от строения О-антигена различают более 200 серогрупп, среди которых возбудителями холеры являются серогруппы O1 и O139. Внутри серогруппы O1 в зависимости от сочетания А-, В- и С-субъединиц происходит подразделение на серовары: Огава (АВ), Инаба (АС) и Гикошима (АВС). Вибрионы серогруппы O139 агглютинируются только сывороткой O139. Н-антиген — общеродовой.

Факторы патогенности. Главными факторами патогенности являются холерный энтеротоксин (СТ), токсинкорегулируемые пили, нейраминидаза и растворимая гемагглютининпротеаза.

Токсинко-регулируемые пили 4-го типа обеспечивают колонизацию микроворсинок тонкого кишечника, участвуют в образовании биопленок на поверхности панциря гидробионтов, а также являются рецепторами для конвертирующего бактериофага СТХ.

Холерный энтеротоксин представляет белок, синтез которого контролируется геном, локализованным на бактериофаге СТХ, которым лизогенизированы только серогруппы O1 и O139. Токсин состоит из одной субъединицы А и пяти субъединиц В. Субъединица А состоит из двух полипептидных цепочек А₁ и А₂, связанных между собой дисульфидными мостиками. В субъединичном комплексе В пять одинаковых полипептидов соединены друг с другом нековалентной связью в виде кольца. В-субъединицы ответственны за связывание всей молекулы токсина с клеточным рецептором — моносиаловым ганглиозидом GM1,

которым очень богаты эпителиальные клетки слизистой тонкой кишки. Для того чтобы В-субъединицы могли взаимодействовать с рецептором GM1, от него должна быть отщеплена сиаловая кислота, что осуществляется ферментом **нейраминидазой**, которая способствует реализации действия токсина. Прикрепление В-субъединичного комплекса к мембране кишечного эпителия позволяет субъединице А₁ проникнуть в клетку, где она активирует аденилатциклазу, переводя ее в постоянное активное состояние, следствием чего является усиление синтеза цАМФ. Под влиянием цАМФ в кишечнике изменяется активный транспорт ионов. В области крипт эпителиоцитами усиленно выделяются ионы Cl⁻, а в области ворсинок затрудняется всасывание Na и Cl, что составляет осмотическую основу для выделения в просвет кишечника воды.

Растворимая гемагглютенинпротеаза открепляет возбудитель от поверхности кишечника в результате деструктивного действия на рецепторы кишечного эпителия, ассоциированные с вибрионами, давая возможность возбудителю инфицировать новые участки тонкой кишки. Кроме того, у холерного вибриона имеется **эндотоксин**, который, активируя каскад арахидоновой кислоты, запускает синтез простагландинов, результатом действия которых является сокращение гладкой мускулатуры кишечника и развитие тенезмов. Образуются и **белковые токсины** (zonulo- и энтеротоксины), которые участвуют в увеличении проницаемости стенки кишечника.

Резистентность. Возбудители холеры чувствительны к УФ, высушиванию, дезинфектантам (за исключением четвертичных аминов), кислым значениям рН, нагреванию.

Эпидемиология. Источником инфекции являются больной человек, бактерионосители, а также водная среда и гидробионты. Носительство вибриона Эль-Тор встречается чаще, чем классического вибриона (на одного больного холерой приходится 10–1000 носителей). Возбудитель холеры, особенно биовар Эль-Тор, способен к существованию в воде в симбиозе с гидробионтами, водорослями, в неблагоприятных условиях может переходить в некультивируемую форму. Эти свойства позволяют отнести холеру к антропосапронозным инфекциям.

До начала XIX в. холера встречалась только в Индии (гиперэндемический очаг холеры в устье рек Ганга и Брахмапутра). В 1817 г. распространение холеры достигло Европы и Америки. С 1817 по 1926 г. человечество пережило шесть пандемий холеры, вызванных классическим биоваром. В 1961 г. началась 7-я пандемия, причиной которой послужил биовар Эль-Тор. В декабре 1992 г. в Бангладеш началась эпидемия холеры, вызванная *V. cholerae* O139 Bengal, который является генетическим дериватом пандемического штамма Эль-Тор с измененной антигенной структурой. Эпидемия, вызванная этим штаммом, в последующем распространилась на другие страны, sporadические случаи заболеваний были зафиксированы и в России.

Клиника. Инкубационный период — от 2 ч до 6 дней. Болезнь развивается остро, с повышением температуры тела до 38–39 °С, рвотой, диареей, болью в животе и тенезмами. Стул имеет вид «рисового отвара». Резкое обезвожи-

вание приводит к нарушениям со стороны деятельности сердечно-сосудистой и дыхательной систем, развитию почечной недостаточности. При отсутствии лечения болезнь переходит в стадию холерного алгида (от лат. *algidus* — холодный), характерным признаком которой является снижение температуры тела до 34 °С. Без лечения холерный алгид заканчивается летальным исходом.

Иммунитет. Непрочный, непродолжительный.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат испражнения, рвотные массы, пищевые продукты, вода, гидробионты, смывы с объектов окружающей среды. Материал засеивается на электролитную питательную среду, TCBS-агар с последующим субкультивированием на неселективных средах и идентификацией по антигенной структуре и биохимическим свойствам. Дополнительно факультативно можно сделать посев и на щелочную пептонную воду с последующим субкультивированием на TCBS-агаре. Для экспресс-диагностики используют РИФ и ПЦР.

Лечение — этиотропная антибиотикотерапия, регидроационная терапия.

Профилактика холеры направлена главным образом на выполнение санитарно-гигиенических требований и проведение карантинных мероприятий. Для специфической профилактики, имеющей вспомогательное значение, применяют холерную убитую вакцину и комплексный препарат, состоящий из холерогена-анатоксина и О-антигена сероваров Огава и Инаба.

15.2.2.2. Другие вибрионы (род *Vibrio*)

Негалофильные патогенные вибрионы *V. cholerae* по О1/О139 (не О1 и не О139) обитают в пресных и умеренно соленых водоемах. По строению О-антигена определено более 200 серологических групп. Холерные вибрионы не О1 и не О139 продуцируют термолабильный токсин (сходный, но не идентичный холерному энтеротоксину), цитолизин, гемолизин, термостабильные токсины, ответственные за развитие диарей.

Они вызывают заболевания, сопровождающиеся диареей, проявляющиеся в виде групповых вспышек или носящие спорадический характер, а также системные заболевания с внекишечной локализацией, включая септицемию.

Помимо вида *V. cholerae* еще 12 видов рода *Vibrio* способны вызвать заболевание у человека. Вибрионы многих видов являются **галофильными**, обитающими в морях, концентрация соли в воде которых колеблется от 5 до 30%, поэтому при культивировании в искусственных условиях они требуют присутствия в питательных средах 2–3% концентрации натрия хлорида. Эти вибрионы обладают выраженной биохимической активностью, по которой проводится дифференциация. Среди галофильных вибрионов по частоте и тяжести вызываемых ими заболеваний особое место занимают паразитические вибрионы.

V. parahaemolyticus — обитатель акваторий, омывающих Японию, Юго-Восточную Азию, Латинскую Америку. Заражение происходит при использовании в пищу термически не обработанных обитателей моря. Больной человек не

представляет опасности для окружающих, если исключена возможность инфицирования им пищевых продуктов. *V. parahaemolyticus* не ферментирует сахарозу (отличие от *V. cholerae*). Патогенность связана с продукцией энтеротоксина и гемолизина, которые обладают кардиотоксическим и энтеротоксическим действием. Антигенная структура представлена О-антигеном (12 сероваров) и К-антигеном (66 сероваров).

К группе галофильных вибрионов, которые вызывают преимущественно септицемии или раневые инфекции, относят *V. vulnificus*, *V. damsela*, *V. alginolyticus*.

V. vulnificus обитает в прибрежных водах и устьях рек Тихоокеанского и Атлантического побережья. Микроб вызывает у людей первичный сепсис, раневые инфекции, в основном у лиц, занимающихся ручной разделкой продуктов моря. Синдром первичного сепсиса может развиваться после употребления в пищу сырых моллюсков, как правило, у лиц с иммунодефицитом. Патогенность связана с наличием капсулы, выработкой коллагеназы, фосфолипазы, цитотоксина.

Микробиологическая диагностика. Бактериологический метод (основной): для идентификации галофильных вибрионов применяют те же среды, что и для возбудителей холеры, но с увеличением до 1,5–2% натрия хлорида. Материалы для исследования (в зависимости от характера заболевания): испражнения, рвотные массы, желчь, раневое отделяемое, кровь, спинномозговая жидкость.

15.2.2.3. Аэромонады (род *Aeromonas*)

Род *Aeromonas* включает 12 видов, из которых в патологии человека имеют значение *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii* подвид *sobria*.

Морфология. Аэромонады — подвижные грамтрицательные палочки (с полярным жгутиком), имеют капсулу. Некоторые виды при росте на плотных питательных средах образуют пучок жгутиков.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы. Растут на простых питательных средах, на щелочной пептонной воде. На кровяном агаре образуют прозрачный гемолиз, на лактозосодержащих дифференциальных средах — лактозонегативные колонии. Обладают природной устойчивостью к β-лактамам антибиотикам и вибрионоцидам, поэтому в качестве среды для их выделения используется кровяной агар с добавлением 15 мг/л ампициллина.

Биохимические свойства. Оксидазо- и каталазоположительны. Биохимически активны. Их дифференциация проводится по биохимическим тест-системам для представителей *Enterobacteriaceae*.

Антигенная структура. По строению О-антигена подразделяются на 44 серогруппы. В патологии человека важную роль играют серогруппы O11, O16, O34.

Факторы патогенности. **Адгезины** обеспечивают прикрепление к углеводным рецепторам на поверхности эритроцитов и энтероцитов. **Токсические**

субстанции: цитотоксин (аэролизин, цитолизин); термолabileный энтеротоксин; термостабильный энтеротоксин, имеющий антигенный перекрест с холерным токсином; гемолизин; термостабильные серинпротеаза и две металлопротеазы — фосфолипаза и хитиназа.

Эпидемиология. Естественная среда обитания — водная система. Вызываемая патология входит в группу эмергентных инфекций. У человека вызывают широкий спектр заболеваний: гастроэнтериты, раневую инфекцию, септицемию (у иммунодефицитных лиц).

Микробиологическая диагностика проводится *бактериологическим методом*. Делают посев фекалий на щелочную пептонную воду. После ночной инкубации проводится пересев на кровяной агар с ампициллином. Гной из раны засевают на кровяной агар с ампициллином и параллельно на щелочную пептонную воду. Колонии, выросшие на кровяном агаре и окруженные зоной гемолиза, исследуют на наличие оксидазы и каталазы и проводят биохимическую идентификацию для энтеробактерий.

Лечение — этиотропная антибиотикотерапия.

15.2.3. Семейство *Pasteurellaceae*

В семейство *Pasteurellaceae* входят гемофильные бактерии (род *Haemophilus*), пастереллы (род *Pasteurella*), бактерии рода *Actinobacillus* и некоторые другие виды. Они представляют собой мелкие граммотрицательные плеоморфные (кокковидные или палочковидные) неподвижные факультативно-анаэробные бактерии. Образуют нитриты из нитратов, обладают оксидазной и каталазной активностью.

15.2.3.1. Гемофильные бактерии рода *Haemophilus* (*H. influenzae*, *H. ducreyi* и др.)

В группу гемофильных бактерий объединены мелкие граммотрицательные бактерии, которые способны расти только на обогащенных питательных средах, содержащих цельную или лизированную кровь или ее производные в качестве факторов роста (табл. 15.4). В названии рода *Haemophilus* отражена зависимость этих бактерий от крови при росте на искусственных питательных средах (от греч. *haima* — кровь, *philos* — любить). Многие бактерии этого рода в норме обитают на слизистых оболочках дыхательных путей человека. Бактерии рода *Haemophilus* относятся к семейству *Pasteurellaceae* и насчитывают около 20 видов, 11 из которых имеют значение как представители нормофлоры человека и играют определенную роль в развитии у него инфекционных заболеваний.

H. parainfluenzae напоминает *H. influenzae* и является обычным обитателем респираторного тракта человека. Иногда выделяется от больных пневмонией, при инфекционном эндокардите и уретрите.

H. haemolyticus встречается в норме в носоглотке человека и может вызывать инфекции верхних дыхательных путей у детей.

H. aegyptius («бацилла Коха–Уикса») выделен Р. Кохом в 1883 г. в Египте от больного гнойным конъюнктивитом. Возбудитель вызывает гнойный конъюнктивит с высокой контагиозностью; 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 *H. aegyptius* вызывает пурпурную (красную) бразильскую лихорадку — тяжелое инфекционное заболевание детей, которое характеризуется лихорадкой, пурпурой, шоком и заканчивается гибелью больного. Механизм заражения бразильской лихорадкой — респираторный.

Таблица 15.4

Особенности бактерий рода *Haemophilus*

Вид	Потребность в факторах роста		Способность к гемолизу
	X-фактор	V-фактор	
<i>H. influenzae</i> (в том числе <i>H. aegyptius</i>)	+	+	—
<i>H. parainfluenzae</i>	—	+	—
<i>H. ducreyi</i>	+	—	—
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	+
<i>H. parahaemolyticus</i> (непатогенна для человека)	—	+	+

Примечание. «+» — наличие признака; «—» — отсутствие признака; X — гемин; V — никотинамидадениндинуклеотид (НАД).

Важное медицинское значение имеют *Haemophilus influenzae*, преимущественно типа b, вызывающие инфекции (сокращенно *Hib*-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., а 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 название «палочка инфлюэнцы» (от англ. *influenza* — грипп) или «палочка Пфейффера». Вид *H. influenzae* относится к роду *Haemophilus* семейства *Pasteurellaceae*.

Морфология и тинкториальные свойства. Представители *H. influenzae* представляют собой мелкие (0,3–0,5 × 0,5–3 мкм) грамотрицательные сферические, овоидные или палочковидные бактерии, иногда образующие пары, короткие цепочки или нити (т.е. они плеоморфны). Гемофильные бактерии неподвижны, спор не образуют, имеют пили. Образование капсулы является непостоянным признаком, и ее обнаружение может служить своеобразным маркером вирулентности штамма.

Культуральные свойства. Гемофильные бактерии — факультативные анаэробы, однако лучше растут в аэробных условиях. Оптимальная температура для их роста — 35–37 °С.

Практически все виды гемофилов нуждаются в готовых факторах роста, присутствующих в крови: Х-факторе (протопорфирин Х 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), который является кофактором окислительно-восстановительных ферментов.

На кровяном агаре гемофильные бактерии не растут или растут плохо, так как из необходимых им факторов Х и V только Х-фактор доступен из эритроцитов, а V-фактор разрушается ферментами НАД-азами, содержащимися в интактных эритроцитах. Поэтому для культивирования гемофильных палочек применяют шоколадный агар, получаемый прогреванием кровяного агара при 80 °С, в результате чего происходит гемолиз и высвобождение из эритроцитов гемина и НАД и инаktivация ферментов НАД-аз.

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 гемолиз. Для самих же гемофильных палочек способность вызывать гемолиз нехарактерна.

Идентификация гемофильных палочек основана на их потребности в факторах роста (см. табл. 15.4) и некоторых биохимических тестах: образование индола, уреазная активность и др.

Биохимическая активность. Гемофильные бактерии — хемоорганотрофы. Метаболизм дыхательный и бродильный. Утилизируют глюкозу до кислоты, редуцируют нитраты до нитритов. Другие углеводы ферментируют плохо.

Антигенные свойства. *H. influenzae* обладают О-антигеном и капсульным полисахаридным К-антигеном, в зависимости от строения которого различают шесть серотипов — *a, b, c, d, e, f*. Химический состав капсульного антигена гемофильной палочки серотипа *b* уникален: он представляет собой полимер рибозы и рибитола — полирибозорибитол фосфат (PRP). Капсульные варианты гемофилов могут быть типированы с помощью теста «набухания капсулы» или в РИФ со специфическими сыворотками. Большинство вариантов *H. influenzae*, входящих в состав нормальной микрофлоры верхних отделов респираторного тракта, являются бескапсульными формами, которые принято называть «нетипируемыми».

Факторы патогенности. Ведущим фактором патогенности *H. influenzae* является **капсула**, которая обладает антикомплементарным действием и защищает бактерии от фагоцитоза, обеспечивая их выживаемость в организме, а также определяет способность гемофильных палочек к инвазии. Штаммы, имеющие

капсулу (преимущественно типа *b*), вызывают наиболее тяжело протекающие инфекции, в том числе генерализованные.

Гемофильные бактерии могут продуцировать ***IgA-протеазу***, способную инактивировать секреторные антитела. ***Пили, компоненты наружной мембраны и IgA-протеаза H. influenzae*** играют ведущую роль в прикреплении бактерий к эпителию респираторного тракта и его колонизации. Бескапсульные штаммы гемофильных палочек обладают бóльшей адгезивностью, что объясняет их способность вызывать локальные (очаговые) воспалительные процессы, так как при этом они теряют способность к инвазии.

Эндотоксин (липоолигосахарид наружной мембраны) участвует в инвазии гемофильных бактерий, повышая проницаемость эпителия, эндотелия сосудов и гематоэнцефалического барьера. Эндотоксин может также вызывать паралич ресничек мерцательного эпителия респираторного тракта человека, способствуя тем самым микробной колонизации верхних дыхательных путей.

Резистентность. Гемофилы малоустойчивы в окружающей среде: быстро погибают, находясь вне организма человека. Они 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* патогенна только для человека. Источник инфекции — человек, больной или бактерионоситель. Бескапсульные мало-вирулентные штаммы способны в норме колонизировать слизистые оболочки верхних дыхательных путей здоровых детей (преимущественно посещающих детские дошкольные учреждения) и взрослых (около 35%). Вместе с тем и имеющие капсулу штаммы *H. influenzae* типа *b* выделяются из носоглотки у 2% бессимптомных носителей.

Ведущий механизм заражения при гемофильной инфекции — 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 мес. до 6 лет. Менингиты и септицемии, вызванные *H. influenzae* типа *b*, чаще встречаются у детей от 6 мес. до 2 лет. Пневмонии, синуситы и другие инфекции дыхательных путей встречаются также и у пожилых людей, пациентов с хронической легочной патологией, 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 гнойно-воспалительные заболевания — средний отит (поражение среднего уха), синусит (воспаление придаточных пазух носа), ларинготрахеит, бронхит, пневмонию.

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* вызывает также острый бактериальный эпиглоттит (воспаление надгортанника) у детей 2–5 лет, что приводит к нарушению проходимости дыхательных путей и асфиксии.

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 фульминантные (молниеносные) формы ларинготрахеита и эпиглоттита с отеком гортани, требующие срочной трахеотомии и интубации.

По данным мировой статистики, гемофильная инфекция (*Hib*-инфекция) занимает одно из первых мест среди причин детской смертности. Летальность при гнойном менингите, сепсисе и эпиглоттите при отсутствии адекватного лечения составляет 90%.

Иммунитет. В течение первых 3–6 мес. жизни дети защищены от инфекции материнскими IgG, полученными пассивно через плаценту. Поэтому в этом возрасте заболевания редки, а пик заболеваемости гемофильной инфекцией приходится на возраст от 6 мес. до 2 лет, когда концентрация материнских IgG снижается, а ребенок пока не может 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 изучен мало. Однако известно, что к 5–6 годам в сыворотке крови многих детей (даже неиммуни-

зированных и неперенесших) имеются естественно приобретенные протективные антитела против капсульного антигена *H. influenzae* типа *b* (анти-PRP антитела). Тем не менее пневмония и артрит, вызванные *H. influenzae*, могут развиваться у взрослых и при наличии таких антител в сыворотке крови.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования: мазок из носоглотки, кровь, мокрота, плевральная жидкость или ликвор. При отитах или синуситах исследуют также гнойный экссудат, а при септических артритах — суставную жидкость.

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 ПЦР и иммунодиагностические тесты в целях обнаружения капсульного антигена *H. influenzae*: встречный иммуноэлектрофорез, РИФ или реакцию латекс-агглютинации с анти-*Hib*-антителами. При высокой концентрации возбудителя в исследуемом материале возможна также постановка «теста набухания капсулы».

Бактериологический метод диагностики проводят путем посева исследуемого материала на шоколадный или кровяной агар с добавлением крови барана. *H. influenzae* дифференцируют от других близкородственных грамотрицательных палочек по потребности их в X- и V-факторах роста, отсутствию гемолиза на кровяном агаре и другим тестам.

Лечение проводят с помощью антибиотиков. В связи с возможным неблагоприятным исходом гемофильной инфекции, при которой смерть пациента может наступить в первые 24 ч от начала болезни, 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 β-лактамазу, которая контролируется трансмиссивной плазмидой.

При синуситах, отитах и других инфекциях дыхательных путей, вызванных гемофилами, назначают β-лактамы антибиотиков с ингибиторами β-лактамазы (например, амоксициллин с клавулановой кислотой) или бисептол.

Профилактика. Для создания искусственно приобретенного активного иммунитета против *H. influenzae* типа *b* разработана субкорпускулярная вакцина, содержащая очищенный капсульный антиген (PRP). Но полисахаридная *Hib*-вакцина обладает низкой иммуногенностью, так как содержит Т-независимый антиген. Поэтому вакцинацию детей проводят начиная с 1,5 лет жизни.

Для повышения эффективности вакцинации против *Hib*-инфекции предложено использовать конъюгированные вакцины, содержащие капсульный антиген (PRP) на белке-носителе. В качестве таких носителей применяют дифтерийный, столбнячный анатоксины или белки наружной мембраны менингококка группы В (комбинированная вакцина для профилактики менингококкового и гемофильного менингитов). Для уменьшения количества инъекций

вакцинных препаратов применяют комбинированные вакцины, сочетающие в своем составе капсультный антиген *H. influenzae b* с антигенами против дифтерии, коклюша и столбняка (АКДС) или с инаktivированными штаммами вируса полиомиелита, антигенами вируса гепатита В и другие варианты сочетания антигенов микробов в одной вакцине.

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. В 2011 г. вакцинация против *Hib*-инфекции была введена в Российский национальный календарь профилактических прививок.

Пассивная иммунизация с помощью донорских сывороточных препаратов, содержащих высокие концентрации IgM, может быть назначена детям со слабым иммунным ответом на вакцину и иммунодефицитным лицам.

Haemophilus ducreyi

Haemophilus ducreyi вызывает мягкий шанкр (син.: шанкроид) — венерическое (сексуально-трансмиссивное) заболевание, симптомы которого напоминают сифилис.

Возбудитель мягкого шанкра был выделен русским врачом О.В. Петерсеном (1887 г.), а подробно описан итальянским венерологом А. Дюкре (1890 г.).

Источник инфекции — больной человек. Механизм заражения — контактный, путь инфицирования — половой и контактно-бытовой. Заболевание распространено в странах Африки и Южной Америки.

Инкубационный период составляет 3–5 дней, правда, 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, генитальным герпесом и венерической лимфогранулемой.

Иммунитет после перенесенного заболевания не вырабатывается.

Микробиологическая диагностика основана на обнаружении мелких грамтрицательных 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 °C в CO₂-атмосфере. Возбудитель образует мелкие сероватые колонии без гемолиза. Для идентификации возбудителя применяют ПЦР.

Лечение. Назначают внутримышечно цефтриаксон, перорально триметоприм — сульфаметоксазол (бисептол) или эритромицин в течение 2 нед. Тетрациклин, сульфаниламиды и пенициллин не применяют из-за формирования у *H. ducreyi* устойчивости к ним.

Специфическая профилактика. Не разработана.

15.2.3.2. 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. Некоторые виды

пастерелл вызывают болезни человека. Это — бактериальные зоонозные инфекционные заболевания с контактным механизмом заражения, которые носят локальный характер и проявляются поражением наружных покровов и лимфаденитом.

Таксономическое положение. Пастереллы относятся к семейству *Pasteurellaceae* рода *Pasteurella*, который включает около 20 видов бактерий (*P. multocida*, *P. pneumotropica* и др.)

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 в основном 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 оксидазо- и каталазопозитивные, ферментируют глюкозу до кислоты (без газообразования), восстанавливают нитрат до нитрита. Внутри рода бактерии различаются по биохимической активности.

Антигенные свойства изучены мало. 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. *P. 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. Эти бактерии иногда обнаруживаются в составе нормальной микрофлоры человека. *P. multocida* может также вызывать заболевания различных органов у человека и является наиболее частым микроорганизмом, который обнаруживают в ране человека при укусе, нанесенном кошкой или собакой.

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 лимфаденопатия, 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 изучен недостаточно.

Микробиологическая диагностика. 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*, *Aggregatibacter*, *Actinobacillus*, *Yersinia* и *Francisella*.

Лечение. Проводят с помощью антибиотиков (например, тетрациклинов).

Специфическая профилактика. Не разработана.

15.3. Палочки грамотрицательные аэробные

15.3.1. Возбудители коклюша и паракоклюша (*B. pertussis* и *B. parapertussis*)

Возбудители коклюша *Bordetella pertussis* и паракоклюша *B. parapertussis* вызывают острые инфекционные заболевания человека, которые характеризуются поражением верхних дыхательных путей и приступами спазматического сухого кашля.

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 род *Bordetella* получил в честь Ж. Борде.

Таксономическое положение. Оба вида — *B. pertussis* и *B. parapertussis* — относятся к роду *Bordetella* семейства *Alcaligenaceae*. Другие виды бордетелл (*B. bronchiseptica* и *B. avium*) являются паразитами млекопитающих и птиц; локализуются и размножаются среди ресничек эпителия дыхательного тракта. Их свойства представлены в табл. 15.5.

Морфология и тинкториальные свойства. Бордетеллы — очень мелкие короткие грамотрицательные палочки и коккобактерии. Имеют микрокапсулу, неподвижны. При окраске толуоидиновым синим у них выявляются метакроматически окрашенные гранулы (липоиды), расположенные биполярно.

Культуральные свойства. Бордетеллы — строгие аэробы. Возбудители коклюша очень требовательны к условиям культивирования: для их выделения используют сложные питательные среды с добавлением сорбентов или веществ с высокой сорбционной способностью (активированный уголь, кровь, альбумин, крахмал), так как эти бактерии выделяют ненасыщенные жирные кислоты, сульфиды и перекиси, способные ингибировать их рост. Для выделения бордетелл из клинического материала применяют казеиново-угольный агар

(КУА) или среду Борде–Жангу (картофельно-глицериновый агар с добавлением 20% крови и пенициллина). Посевы инкубируют при температуре 35–37 °С в течение 3–7 дней при высокой влажности воздуха (например, в запечатанном пластиковом пакете). Другие виды бордетелл (*B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. avium*) могут расти на простых питательных средах, образуя видимые колонии уже через 24–48 ч культивирования. На среде Борде–Жангу *B. pertussis* образует мелкие сероватые блестящие колонии, напоминающие капли ртути или жемчужины, у вирулентных штаммов — с небольшой зоной гемолиза.

Для бордетелл характерна R–S-трансформация. Чистая культура бактерий, только что выделенная от больного, представляет собой вирулентную S-форму (I фаза), продуцирующую токсины. При дальнейшем культивировании на питательных средах бордетеллы, постепенно утрачивая поверхностные антигены, превращаются в авирулентную R-форму (IV фаза), проходя при этом ряд промежуточных стадий (фазы II и III). Бордетеллы IV фазы не продуцируют факторов патогенности, типичных для возбудителя коклюша.

Биохимическая активность низкая. Бордетеллы расщепляют глюкозу и лактозу до кислоты без газообразования и их принято считать биохимически инертными бактериями (см. табл. 15.5).

Таблица 15.5

Дифференциация различных видов бордетелл

Признак	Вид бордетелл			
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. bronchiseptica</i>	<i>B. avium</i>
Подвижность	–	–	+	+
Время культивирования на среде Борде–Жангу	3–5 суток	2–3 суток	1–2 суток	1–2 суток
Рост на МПА	–	+	+	+
Пигментообразование	–	+	–	–/+
Биохимическая активность:				
– тест на уреазу	–	+	+	–
– тест на оксидазу	+	–	+	+
– восстановление нитратов до нитритов	–	–	+	–
– тест на каталазу	+	+	+	+
Факторы патогенности:				
– пертуссис-токсин	+	–	–	–
– внеклеточная аденилатциклаза	+	+	+	–
– трахеальный цитотоксин	+	+	+	+

Антигенные свойства. Бордетеллы имеют термостабильный родоспецифический О-антиген, обнаруживаемый у S-форм всех видов бордетелл. Кроме того, у них имеются 16 поверхностных термолабильных капсульных К-антигенов, которые принято называть «факторами» и обозначать арабскими цифрами.

Фактор 7 является общим для всех представителей рода *Bordetella*, фактор 1 — основной у *B. pertussis*. Видовым антигеном *B. parapertussis* является фактор 14, а для *B. bronchiseptica* — фактор 12.

Серотипирование возбудителей коклюша осуществляют в реакции агглютинации с моноклональными антителами в целях эпидемиологического маркирования. Авирулентные R-формы бордетелл утрачивают капсулу и не агглютинируются К-сыворотками.

Разновидности (вариации) бордетелл. Бордетеллы, выделенные от больных, различаются по вирулентности, гемолитической активности и способности продуцировать токсины. Выделяют два механизма «превращения» бордетелл в авирулентные негемолитические и нетоксигенные формы. **Фенотипическая (модификационная) изменчивость** связана с появлением авирулентных разновидностей в результате культивирования *B. pertussis* в неблагоприятных для них условиях: при температуре 25–28 °С или при наличии $MgSO_4$. **Генотипическая изменчивость** обусловлена необратимыми изменениями (мутациями), возникающими в геноме бордетелл при длительном пассировании на искусственных питательных средах, т.е. вне человеческого организма, в результате чего происходит образование новых маловирулентных или авирулентных фаз возбудителя (фазы II, III и IV).

Факторы патогенности. *B. pertussis* обладает целым рядом факторов патогенности, которые вовлечены в патогенез развития коклюша.

Факторы адгезии: пили (фимбрии), филаментозный гемагглютинин, пертактин (белок наружной мембраны клеточной стенки с молекулярной массой 69 кДа) и **капсульные агглютиногены** играют роль в адгезии бактерий к мерцательному эпителию верхних дыхательных путей (bronхов, трахеи). Ведущая роль в процессе адгезии к эпителию респираторного тракта человека принадлежит **филаментозному гемагглютинину**, который является белком, способным избирательно связываться с гликолипидными рецепторами ресничек эпителия трахеи и бронхов.

Токсины бордетелл. Пертуссис-токсин (син.: пертуссин, коклюшный токсин, лимфоцитозстимулирующий фактор, гистаминсенсibiliзирующий фактор) стимулирует работу аденилатциклазы в клетках респираторного тракта путем ингибирования регуляторного белка трансдукции G_i , который имеется в клетке-мишени. Пертуссин представляет собой фермент, который относится к категории АДФ-рибозилтрансфераз и состоит из двух основных субъединиц: А (от англ. *active* — активная субъединица) и В (от англ. *binding* — связывающая субъединица). С помощью субъединицы В пертуссис-токсин прикрепляется к клеткам-мишеням. Субъединица А участвует в рибозилировании регуляторного белка G_i . Этот белок в норме ингибирует аденилатциклазу. Измененный под действием субъединицы А белок G_i не способен больше регулировать активность клеточной аденилатциклазы. В результате этого процесса происходит неконтролируемый синтез цАМФ. Накопление цАМФ в клетках приводит к их из-

вращенному функционированию. Пертуссис-токсин повышает проницаемость сосудов; усиливает чувствительность к гистамину и серотонину; стимулирует миграцию лимфоцитов, моноцитов; подавляет киллинг-активность фагоцитов; может вызывать повышение синтеза инсулина и как следствие снижение концентрации глюкозы в крови и др. Пертуссин является экзотоксином с высокой иммуногенностью. Под действием формалина он превращается в анатоксин.

Внеклеточная аденилатциклаза (син.: аденилатциклазный гемолизин) за счет поступления внутрь эпителиоцитов дыхательных путей еще более усиливает синтез и накопление цАМФ внутри клеток хозяина. Этот фактор патогенности бордетелл также подавляет хемотаксис фагоцитов, нарушает «переваривающую» способность фагоцитов за счет ингибирования «респираторного взрыва» внутри фаголизосомы.

Трахеальный цитотоксин, будучи фрагментом пептидогликана бордетелл, повреждает эпителиоциты респираторного тракта и ингибирует синтез ДНК в клетках-мишенях. Он стимулирует продукцию IL-1, в ответ на который вырабатывается оксид азота, обладающий цитотоксичностью. Считается, что трахеальный цитотоксин повреждает эпителиоциты респираторного тракта и вызывает *цилиостаз*. Это приводит к нарушению оттока слизи и способствует персистенции возбудителя.

Дерматонекротический токсин (син.: термолабильный токсин) инактивируется при нагревании до 56 °С в течение 15 мин. Наряду с трахеальным цитотоксином, дерматонекротический токсин оказывает повреждающее действие на эпителий респираторного тракта, вызывая местную воспалительную реакцию. При внутрикожном введении лабораторным животным вызывает некроз в месте инъекции. При внутривенном и внутрибрюшинном введении мышам приводит к их гибели.

Термостабильный эндотоксин — ЛПС клеточной стенки бордетелл, который стимулирует выработку цитокинов, участвующих в повреждении эпителиальных клеток верхнего отдела респираторного тракта, а также активирует комплемент.

Резистентность. Вне человеческого организма бордетеллы быстро погибают. Они довольно чувствительны к дезинфектантам, быстро инактивируются при высушивании и нагревании.

Эпидемиология. Коклюш и паракоклюш — антропонозные инфекции: болеют только люди. Источником инфекции является больной человек (особенно в катаральном периоде заболевания) и иногда — бактерионоситель. Возбудитель проникает в организм через дыхательные пути при кашле, разговоре, чихании (респираторный механизм заражения, путь передачи инфекции — воздушно-капельный).

Контагиозность коклюша очень высока: индекс контагиозности колеблется около 0,75–0,9, т.е. после контакта неиммунизированного человека с коклюшным больным вероятность развития заболевания составляет 75–90%.

Естественная восприимчивость людей высокая, поэтому коклюш распространен повсеместно и может быстро приобретать эпидемический характер среди неиммунных лиц. Болеют главным образом дети до 5 лет. Наиболее опасен коклюш для детей первого года жизни, у которых вследствие развития осложнений заболевание может закончиться летальным исходом.

Паракоклюш встречается значительно реже, носит эпизодический характер и, как правило, протекает легче коклюша.

Патогенез. Бордетеллы обладают тропизмом к мерцательному эпителию респираторного тракта человека. Они являются неинвазивными микробами, т.е. не проникают внутрь клетки-мишени, размножаясь на ее поверхности. Позднее могут возникнуть некроз отдельных участков эпителия и полиморфно-нуклеарная инфильтрация с развитием перибронхиального воспаления и интерстициальной пневмонии. В кровь бактерии не поступают. Однако токсины бордетелл обладают системным эффектом, так как проникают в кровь. Выделяя токсины и раздражая рецепторы клеток, микроб вызывает кашель.

Присоединение вторичной инфекции, вызванной *H. influenzae* или стафилококками, может провоцировать бактериальную пневмонию. Обструкция (закупоривание) мелких бронхиол слизистыми пленками (пробками) приводит к ателектазам и снижению насыщенности крови кислородом. Это, вероятно, способствует развитию судорог и затяжных приступов кашля у младенцев.

Клиника. *Инкубационный период* при коклюше составляет около 2 нед., после чего начинается *катаральный период*, характеризующийся легким кашлем и чиханьем. Температура тела повышается незначительно. В этом периоде возбудитель выделяется в большом количестве с каплями слизи и больной является опасным источником инфекции. Во время следующего, *пароксизмального периода* кашель усиливается и приобретает характер «петушиного крика» (от франц. *coqueluche*). Приступообразный спазматический кашель сопровождается тяжелой гипоксией, судорожным синдромом и нередко заканчивается рвотой. Частые продолжительные приступы сухого кашля могут приводить к перевозбуждению дыхательного центра, развитию апноэ и гипоксической энцефалопатии.

Тяжелые формы коклюша с развитием осложнений встречаются преимущественно у новорожденных детей; у детей же старшего возраста и иногда у взрослых людей заболевание обычно характеризуется периодическими приступами кашля. В формуле крови отмечается выраженный лейкоцитоз (16 000–30 000 в 1 мл) в сочетании с абсолютным лимфоцитозом. Выздоровление наступает очень медленно (иногда в течение 1–2 мес.). Характерно преобладание легких, стертых и атипичных форм течения коклюша.

Симптомы, напоминающие коклюш, могут вызывать также некоторые типы аденовирусов и *Chlamydomphila pneumoniae*.

Иммунитет. После перенесенного заболевания формируется прочный иммунитет. Повторные случаи заболевания встречаются очень редко и протекают

легко. Большое значение имеют антитела (IgA), препятствующие прикреплению возбудителя к цилиарному эпителию верхних дыхательных путей.

Следует подчеркнуть, что иммунитет видоспецифический, поэтому антитела против *B. pertussis* не защищают от заболеваний, вызванных *B. parapertussis* или *B. bronchiseptica*.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования (слизь с задней стенки глотки) забирают методом «кашлевых пластинок»: во время приступа кашля чашку Петри с питательной средой держат перед лицом пациента, в результате чего осуществляется посев на поверхность среды. Мазки из носоглотки исследуют редко, так как возбудитель коклюша быстро погибает на ватном тампоне при высушивании (хлопок подавляет рост бордетелл). При необходимости исследуют мазки с задней стенки глотки, используя специальные тампоны из альгината кальция, смоченные в растворе пенициллина.

Для ускоренной диагностики применяют РИФ со специфической флюоресцентной сывороткой и материалом из зева больного. Однако возможны ложноположительные и ложноотрицательные результаты. Применяют также ПЦР и ИФА.

Бактериологический метод позволяет выделить и отдифференцировать возбудителей коклюша и паракоклюша. Для этого делают посев на плотные питательные среды с антибиотиками (см. выше). Для идентификации возбудителя применяют реакцию агглютинации на стекле с К-сыворотками или моноклональными антителами.

Серологический метод диагностики малоинформативен, поскольку в процессе заболевания титр агглютининов и преципитирующих антител увеличивается лишь к 3-й неделе заболевания. Тем не менее для подтверждения клинического диагноза применяют развернутую реакцию агглютинации, РНГА и РСК с парными сыворотками, а также ИФА.

Лечение. Бактерии *B. pertussis* чувствительны ко многим антимикробным препаратам (кроме пенициллина). Антимикробную терапию (эритромицин, ампициллин) назначают лишь в тяжелых случаях коклюша и детям в возрасте до 1 года. Нормальный человеческий иммуноглобулин также применяют для лечения тяжелых или осложненных форм коклюша.

В качестве поддерживающей терапии назначают кислородные ингаляции и антигистаминные или седативные препараты.

Профилактика. В течение первого года жизни каждому ребенку необходима базовая трехкратная вакцинация убитой коклюшной вакциной в составе АКДС (адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакцины). Вакцина содержит инаktivированные нагреванием или мертиолатом *B. pertussis* I фазы (цельные микробные клетки) в комбинации с дифтерийным и столбнячным анатоксинами, сорбированными на гидроокиси алюминия. Иммунизацию проводят с 3-месячного возраста, трехкратно, с интервалами между введением препарата в 4–6 нед. При введении этой вакцины возможно развитие поствакцинальных осложнений, в том числе неврологических (энцефалопатия и даже

энцефалит). Вероятность и частота возникновения таких осложнений составляет 1 случай на 1 млн доз вакцины. Прекращение вакцинации против коклюша с помощью АКДС в некоторых регионах привело к значительному росту заболеваемости.

Разработаны и применяются *бесклеточные (ацеллюлярные, субкорпускулярные вакцины)*, содержащие очищенные антигены возбудителя коклюша (филаментозный гемагглютинин, пертактин, агглютиногены или пертуссис-анатоксин) в различных комбинациях. Однако применение ацеллюлярных вакцин привело к подъему заболеваемости коклюшем среди подростков и взрослых людей из-за слабой иммуногенности препаратов.

Для экстренной профилактики коклюша у контактировавших неиммунизированных лиц назначают нормальный человеческий иммуноглобулин и/или эритромицин в первые 5 дней после контакта с заболевшим.

15.3.2. Бруцеллы (род *Brucella*)

Бруцеллы вызывают *бруцеллез* (мальтийскую лихорадку) — инфекционно-аллергическое заболевание с тенденцией к хроническому течению, характеризующееся длительной лихорадкой, поражением опорно-двигательной, нервной, сердечно-сосудистой, мочеполовой и других систем организма.

Возбудители бруцеллеза у человека относятся к роду *Brucella*, в который входят 6 видов, в патологии человека основная роль принадлежит трем видам: *B. melitensis*, *B. abortus* и *B. suis*. Возбудитель был открыт Д. Брюсом в 1886 г.

Морфология. Бруцеллы — мелкие грамотрицательные коккобактерии размером $0,6\text{--}1,5 \times 0,5\text{--}0,7$ мкм. Спор не образуют, неподвижны, при росте на среде с сыывороткой формируют капсулу.

Культуральные свойства. Бруцеллы требовательны к питательным средам. Растут на средах с добавлением крови, печеночного отвара, триптозо-соевого экстракта. При выделении из организма посева инкубируют до 30 дней; аэробы. *B. abortus* для своего роста требует атмосферы с 5% CO₂. На плотных средах вирулентные формы бруцелл формируют колонии в S-форме, авирулентные штаммы образуют колонии в R-форме. В жидкой среде вызывают равномерное помутнение.

Биохимические свойства. Обладают оксидазной и каталазной активностью. Редуцируют нитраты. Углеводы утилизируют без образования кислоты и газа. Некоторые виды (*B. abortus*) продуцируют сероводород. Не обладают протеолитической и гемолитической активностью. Вырабатывают уреазу. Дифференциация на виды проводится по чувствительности к красителям (фуксину и тионину), по продукции сероводорода и антигенной структуре.

Антигенная структура. Содержат поверхностно расположенный капсульный Vi-антиген и соматические А- и М-антигены, количественное соотношение которых у разных видов различно. У *B. melitensis* преобладают М-антигены; у *B. abortus* и *B. suis* — А-антигены.

Резистентность. Бруцеллы длительно сохраняют жизнеспособность в окружающей среде, особенно при низкой температуре. В почве и воде сохраняются до 4 мес., в молоке до 45 дней, в козьем сыре, приготовленном из непастеризованного молока, — до 8 нед., в замороженном мясе — до 5 мес. Высокочувствительны к высоким температурам и дезинфицирующим веществам. При 60 °С погибают за 30 минут. При кипячении — мгновенно.

Эпидемиология. Бруцеллез — зоонозная инфекция. Основным источником инфекции для человека — животные. Больной человек не является источником инфекции. Возбудители разных видов циркулируют среди определенных видов животных, от которых заражаются люди. *B. melitensis* вызывает заболевание мелкого рогатого скота, *B. abortus* — крупного рогатого скота, а *B. suis* — среди свиней. У больных животных возбудитель выделяется с мочой, испражнениями, молоком, околоплодными водами. Основные пути заражения для человека: алиментарный через непастеризованное молоко и молочные продукты; контактный, воздушно-пылевой путем вдыхания загрязненных бактериями пылевых частиц с шерсти, навоза, земли. Возможность воздушно-пылевого пути заражения делает бруцеллы агентом бактериологического оружия и биотерроризма.

Факторы патогенности, патогенез и клиника. Бруцеллы — факультативные внутриклеточные паразиты. Они способны проникать, сохраняться и размножаться в фагоцитах и эпителиальных клетках, вследствие чего развивается хроническая инфекция. В процессе проникновения и размножения в фагоцитах и эпителиальных клетках принимают участие **белки наружной мембраны, ЛПС и секреторная система 4-го типа**, обеспечивающая проникновение эффекторных молекул возбудителя внутрь клетки-мишени.

Бруцеллы связываются с остатками сиаловой кислоты, расположенной на поверхности клетки-мишени. Белки наружной мембраны и эффекторные молекулы секреторной системы способствуют интернализации микроба внутрь клетки-мишени. При оральном пути заражения на развитие инфекционного процесса оказывает активность *уреазы*, вырабатываемой возбудителями.

Попав в организм, бруцеллы фиксируются органами ретикулоэндотелиальной системы: селезенкой, печенью, лимфатическими узлами, где вследствие способности к внутриклеточному паразитизму формируется очаг бактериемии. Заболевание характеризуется хроническим течением со сменой обострений и ремиссий. Сопровождается лихорадкой, развитием гранулем в опорно-двигательном аппарате, нервной и мочеполовой системах, сенсибилизацией организма и развитием ГЭТ. Возможно поражение сердца и головного мозга, заканчивающееся летально.

Иммунитет. Нестерильный, клеточно-гуморальный.

Микробиологическая диагностика. Материалом для *бактериологического метода* (проводится в специальных лабораториях) являются кровь, моча, костный мозг, пунктат лимфатических узлов, ликвор, синовиальная жидкость, отделяемое влагалища. Материал засевают в два флакона с жидкой питательной средой, один из которых помещают в CO_2 -инкубатор. Инкубируют при 37°C в течение 30 дней, каждые 5 дней делая пересев на плотную питательную среду. *Биологический метод* используется для выделения бруцелл из загрязненного посторонней флорой материала или материала, содержащего малое количество возбудителя.

Серологический метод состоит из комплекса серологических реакций. При острой форме заболевания и в лихорадочный период при активации хронической формы высокий титр антител определяется в реакции агглютинации Райта, РНГА, ИФА: IgM появляются уже на 1-й неделе при острой форме заболевания, а IgG — на 3-й неделе, достигая максимального титра к 6–8-й неделе. Реакция Кумбса позволяет определять антитела при латентных формах течения и в период ремиссии при хронической форме заболевания, так как в подостром периоде заболевания, а также в период персистенции в крови обнаруживаются неполные блокирующие антитела (IgA, IgG). Если у пациента с типичной клинической картиной заболевания реакция агглютинации Райта, РНГА, ИФА показывает отрицательный результат, рекомендуется ставить реакцию Кумбса для определения блокирующих антител. Пластинчатая реакция агглютинации Хеддельсона и кожно-аллергическая проба Бюрне проводятся при массовых обследованиях на бруцеллез.

Лечение. Используют этиотропную антибиотикотерапию. Ранее применялась иммунотерапия неживой вакциной.

Профилактика. По эпидемиологическим показаниям применяют живую вакцину, полученную П.А. Вершиловой из *B. abortus* (штамм ВА-19А). Вакцина создает перекрестный иммунитет против других видов бруцелл. Неспецифическая профилактика сводится к предупреждению бруцеллеза среди животных, санитарно-ветеринарным мероприятиям, предотвращающим проникновение возбудителя в пищевые продукты.

15.3.3. Возбудитель туляремии (*Francisella tularensis*)

Туляремия — зоонозная, природно-очаговая инфекция человека и животных (возбудитель *Francisella tularensis*), характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией, поражением лимфатических узлов и других внутренних органов в зависимости от способа попадания микроба в организм.

Возбудитель был открыт в местечке Туляре (Калифорния) в 1911 г. Г. Мак-Ком и Х. Чепином, детально изучен Э. Френсисом.

Вид *Francisella tularensis* подразделяется на четыре подвида: *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* и *novicida*, которые различаются по вирулентности, биохимической активности, антигенной структуре и географическому распространению. В патологии человека основная роль принадлежит подвидам *tularensis* и *holarctica*. Наиболее вирулентным для кроликов и человека является подвид *tularensis*. При заражении кроликов он вызывает летальный эффект и приводит к тяжелому течению заболевания у человека. Этот подвид распространен в Северной Америке. Подвид *holarctica* несмертелен для кроликов, у человека вызывает заболевание средней тяжести, распространен в Европе и Азии.

Морфология. Мелкие грамотрицательные палочки размером $0,2\text{--}0,5 \times 0,5\text{--}0,7 \times 2\text{--}5$ мкм, обладающие биполярностью. Неподвижны, спор не образуют, продуцируют капсулу и пили IV типа.

Культуральные свойства. Франциселлы — эробы. Культивируются в желточном мешке куриного эмбриона и на сложных питательных средах, содержащих цистеин, желток или гемин при температуре $35\text{--}37^\circ\text{C}$ в атмосфере 5% CO_2 в течение 2–5 суток, образуя мелкие колонии молочно-белого цвета.

Биохимические свойства. Все подвиды обладают слабой сахаралитической активностью. Протеолитические свойства не выявлены. Наиболее активен подвид *tularensis*, расщепляющий глицерин и обладающий цитруллинуреидазой.

Антигенная структура. Бактерии содержат соматический О-антиген и поверхностный полисахаридный антиген. Имеется перекрестная реактивность с антигенами бруцелл.

Факторы патогенности. *Francisella tularensis* — факультативный внутриклеточный паразит, способный избегать переваривания в фагоците и размножаться в нем, что составляет основу патогенеза заболевания. Антифагоцитарная активность связана с наличием ЛПС и поверхностной капсулы, которые предотвращают лизис микроба, способствуя его миграции из фаголизосомы и размножению в цитоплазме макрофага. У подвида *tularensis* в геноме имеется островок патогенности, продукт которого также предотвращает лизис микроба в фаголизосоме. По сравнению с другими грамотрицательными бактериями ЛПС франциселл имеет необычную структуру и обладает пониженной токсичностью, особенно у подвида *holarctica*.

Резистентность. Возбудитель обладает высокой устойчивостью, сохраняясь в окружающей среде до 8–10 мес., особенно при низких температурах и высокой влажности. Малоустойчив к высоким температурам. При 60°C гибнет через 10 мин; 100°C убивает микроб мгновенно. Чувствителен к солнечному свету, УФ и дезинфицирующим веществам.

Эпидемиология. Туляремия распространена на многих континентах. Носителями являются грызуны, водяные крысы, зайцы. Передача возбудителя среди животных осуществляется клещами, комарами, редко блохами. Человеку возбудитель передается непосредственно через поврежденную кожу и слизистые при контакте с инфицированными животными; трансмиссивно — через укусы

инфицированных клещей, комаров, слепней; через зараженную воду и пищу, респираторно при аспирации пыли или капель, загрязненных испражнениями грызунов. **От человека к человеку возбудитель туляремии не передается.** Высокая вирулентность подвида *tularensis*, низкая инфицирующая доза (10–50 бактериальных клеток), способность передаваться респираторным механизмом делает возбудитель туляремии агентом бактериологического оружия и биотерроризма.

Патогенез и клиника. *Инкубационный период* составляет 3–7 дней. На месте внедрения возбудителя возникает первичный очаг, характеризующийся воспалением, из которого возбудитель распространяется по лимфатическим сосудам в регионарные лимфатические узлы, где вызывает развитие воспаления и образование бубона. Заболевание начинается остро. Внезапно повышается до 38–40 °С температура тела, появляются резкая головная боль, озноб, другие симптомы зависят от пути передачи и формы инфекции. Различают бубонную, глазобубонную, ангиозно-бубонную и септическую форму заболевания. В отсутствие антибиотикотерапии летальность достигает 60%.

Иммунитет. После перенесенного заболевания формируется длительный иммунитет, ведущая роль в котором принадлежит клеточно-опосредованному иммунному ответу, сопровождающийся развитием гиперчувствительности замедленного типа.

Микробиологическая диагностика. Прямое бактериологическое исследование материала, взятого от больного, безуспешно. Для выделения и идентификации возбудителя материалом от больного (кровь, пунктат из бубона, отделяемое конъюнктивы, соскоб из язвы и др.) заражают морских свинок или мышей. Чистую культуру выделяют из органов погибших или забитых животных. Исследования проводят только в режимных лабораториях. *Серологический метод* является основным. Используются РА, РНГА, РИФ, ИФА. Проводится кожно-аллергическая проба с тулярином.

Профилактика и лечение. Неспецифическая профилактика направлена на борьбу с грызунами. Для специфической профилактики по эпидемическим показаниям используют живую вакцину, полученную Б.Я. Эльбертом, Н.А. Гайским из штамма № 15 *F. tularensis* подвида *holarctica*. Для лечения необходима этиотропная антибиотикотерапия (аминогликозиды, макролиды, фторхинолоны).

15.3.4. Легионеллы (род *Legionella*)

Легионеллы входят в класс *Gammaproteobacteria* порядок *Legionellales* семейство *Legionellaceae*, в котором только один род *Legionella*. Из известных в настоящее время более 50 видов легионелл в патологии человека значение имеют 22 вида; 95% случаев заболеваний связано с видом *L. pneumophila*, который является типовым. Название связано с первыми жертвами вызванного им за-

болевания среди участников конгресса «Американский легион», проходившего в Филадельфии летом 1976 г. В 1977 г. возбудитель был выделен из легких погибших Д. Мак-Дейдом и С. Шапардом. Среди других видов легионелл заболевание у человека чаще связано с *L. micdadei*, *L. dumaffui*, *L. bozemanii* и *L. longbeachae*.

Морфология. Грамотрицательные палочки размером $0,5\text{--}0,7 \times 2\text{--}5$ мкм, встречаются и нитевидные формы до 20 мкм в длину. Спор и капсул не образуют, подвижны.

Культуральные свойства. Аэробы. Размножаются только на сложных питательных средах (буферно-угольный дрожжевой агар) с обязательным добавлением цистеина, пироглутамата железа и кетоглутаровой кислоты, в связи с потребностями в этих веществах. Культивирование проводят при температуре 35°C , в атмосфере $2,5\text{--}3\%$ CO_2 , в течение 3–6 суток. Выросшие на питательной среде колонии имеют вросший центр с образованием коричневого пигмента, за исключением вида *L. micdadei*. Могут быть культивированы в желточном мешке куриного эмбриона и культурах клеток, в организме морской свинки.

Биохимические свойства. Каталазоположительны. Не ферментируют углеводы, не продуцируют уреазу, не восстанавливают нитраты. Некоторые виды разжижают желатину.

Антигенная структура сложная. Вид *L. pneumophila* подразделяется на 16 серогрупп, специфичность которых опосредована липополисахаридным антигеном.

Резистентность. Как и другие неспорообразующие бактерии, чувствительны к УФ, этиловому спирту, фенолу, 3% раствору хлорамина.

Эпидемиология. В природных условиях легионеллы обитают в пресноводных водоемах, где они являются симбионтами сине-зеленых водорослей, водных и почвенных амёб и других простейших. Высокие адаптационные способности легионелл позволяют им успешно колонизировать искусственные водоемы системы водоснабжения и кондиционирования воздуха, медицинскую аппаратуру. На синтетических и резиновых поверхностях водопроводного, промышленного и медицинского оборудования легионеллы образуют биопленку, в составе которой они более устойчивы к действию дезинфицирующих веществ.

Механизм передачи возбудителя — аспирационный. Основным фактором передачи — мелкодисперсный аэрозоль, содержащий легионеллы, образуемый бытовыми, медицинскими или промышленными водными системами. От человека к человеку заболевание не передается. Болезнь распространена повсеместно, в том числе и в России. Пик заболеваемости приходится на летние месяцы. Предрасполагающим фактором служит иммунодефицитное состояние.

Факторы патогенности и патогенез. Легионеллы — факультативные внутриклеточные паразиты. В организме человека они размножаются преимущественно в альвеолярных макрофагах, в которые попадают вследствие ингаляции микробного аэрозоля, а также в полиморфно-ядерных лейкоцитах и моноцитах

крови. Легионеллы активно размножаются в макрофагах, что приводит к разрушению последних и выходу большого количества бактерий в легочную ткань. Этот процесс обеспечивается следующими факторами патогенности: **цитотоксинам** и **супероксиддисмутазой**, подавляющими «респираторный взрыв» фагоцита; **цитолизин**, являющимся ферментом металлопротеазой, предотвращающим образование фаголизосомы, а также вызывающим геморрагический эффект. При гибели бактерий освобождается **эндотоксин**, обуславливающий интоксикацию.

Множественно повторяемый цикл взаимодействия легионелл с макрофагами легких приводит к накоплению возбудителя в высокой концентрации и развитию острого воспалительного процесса.

Клиника. Известны две клинические формы легионеллеза: **болезнь легионеров** (филадельфийская лихорадка) и **лихорадка Понтиак**. **Инкубационный период** при болезни легионеров 2–10 суток. Заболеванию сопровождается лихорадкой, ознобом, болями в груди, одышкой. В 20–30% случаев развивается острая дыхательная недостаточность. Могут развиваться инфекционно-токсический шок, почечная недостаточность, поражение ЦНС. Летальность — 8–25%, у больных с иммунодефицитом — 60%.

Лихорадка Понтиак — острое респираторное заболевание без пневмонии. **Инкубационный период** 36–48 ч. Заболевание характеризуется 1–2-дневной лихорадкой, катаральными явлениями в носоглотке, сухим кашлем. Летальные исходы не регистрируются. Болезнь поражает 95–100% лиц, находящихся в зоне распространения аэрозоля.

Риск возникновения внутрибольничного легионеллеза связан с возможностью контаминации легионеллами систем водоснабжения, кондиционирования воздуха и медицинского оборудования, а также наличием чувствительных к инфекции лиц с нарушением клеточного иммунитета. Помимо *L. pneumophila* внутрибольничную инфекцию нижних дыхательных путей вызывает *L. micdadei*.

Иммунитет клеточный. Антитела протективной активностью не обладают.

Микробиологическая диагностика проводится бактериологическим, серологическим и экспресс-методами. Материалом для выделения легионелл служат мокрота, материал бронхоскопии, плевральный экссудат, биопсийный материал легких, который хранят не более одних суток при 4 °С.

Серологический метод: определяют 4-кратное нарастание титра антител в парных сыворотках с помощью ИФА или непрямой РИФ. На 2–10-е сутки выявляют растворимый антиген в моче ИФА или иммунохроматографическим методом.

Прямую РИФ и ПЦР используют в качестве экспресс-диагностики. Однако специфический достоверный результат получается, только если объектом исследования являются материалы бронхоскопии и биопсии, а не мокрота. Мультилокусное секвенирование используют для мониторинга распространения легионелл.

Лечение. Антибиотики, способные к внутриклеточной пенетрации: макролиды (эритромицин, кларитромицин, азитромицин) и фторхинолоны.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к периодической очистке водных систем, выявлению водного резервуара возбудителя и его оздоровлению.

15.3.5. Коксиеллы. Возбудитель лихорадки Ку (*Coxiella burnetii*)

Возбудителем лихорадки Ку (Q) являются бактерии вида *Coxiella burnetii*, которые входят в класс *Gamma*proteobacteria порядок *Legionellales* семейство *Coxiellaceae* род *Coxiella*. Возбудитель был выделен в 1937 г. в Австралии Ф. Бернетом и М. Фрименом.

Морфология. Коксиеллы представляют собой короткие грамотрицательные плеоморфные коккобактерии размером $0,2 \times 0,7$ мкм. По Здродовскому и Романовскому–Гимзе окрашиваются в красный цвет.

Культуральные свойства. Облигатные внутриклеточные паразиты. Культивируются в культурах клеток, в желточном мешке куриных эмбрионов, в организме морской свинки. В клетках размножаются в цитоплазматических вакуолях, могут размножаться в фаголизосомах.

Антигенная структура и патогенность. Коксиеллы подвержены фазовым вариациям, которые различаются морфологией и антигенной специфичностью. Коксиеллы, находящиеся в I фазе, имеют в клеточной оболочке структурный полисахарид, гидрофильны, обладают большей иммуногенностью, не поглощаются фагоцитами в отсутствие антител. Коксиеллы во II фазе менее вирулентны, чувствительны к фагоцитозу. Наиболее патогенными для человека являются спороподобные формы, которые образуются в инфицированных клетках.

Резистентность. Высокоустойчивы в окружающей среде. Устойчивы к действию формалина, фенола. Устойчивость к высоким температурам и низким значениям pH, к высушиванию связана со способностью образования эндоспороподобных форм. Месяцами сохраняются в воде и на контаминированных микробом предметах. До двух лет сохраняются в высохших фекалиях.

Эпидемиология. Резервуаром в природе являются крупный и мелкий рогатый скот, лошади, грызуны, дикие птицы. Поддержание микроба в природе осуществляется циркуляцией возбудителя между животными и птицами с участием множественных видов иксодовых и аргасовых клещей. Возбудитель от человека к человеку не передается. У животных заболевание может протекать бессимптомно, возбудитель выделяется в больших количествах с мочой, испражнениями, околоплодными водами, молоком. Человек в основном заражается, вдыхая аэрозоли мочи и испражнений зараженных животных, а также употребляя молоко от зараженных животных, зараженную воду. Зараженные аэрозоли и пыль могут инфицировать конъюнктиву. Возможно заражение че-

рез поврежденную кожу при контакте с зараженными околоплодными водами животных. Выброшенные в атмосферу инфицированные коксииеллами аэрозоли могут вызвать инфекционный процесс на расстоянии в несколько километров от источника инфекции. Поэтому *C. burnetii* рассматривается как один из агентов биотеррора. Передача заболевания от человека к человеку не отмечена.

Клиника. Инкубационный период 18–21 день. Заболевание сопровождается лихорадкой, головной болью, симптомами острого респираторного заболевания, которое протекает как «атипичная пневмония». Может наблюдаться тошнота и рвота. У половины больных пневмонией, вызванной *Coxiella burnetii*, наблюдается поражение печени с развитием гепатолиенального синдрома. Иногда заболевание сопровождается развитием эндокардита. Летальность не более 1%.

Иммунитет. В начале заболевания в крови появляются антитела ко II фазе, а в разгаре заболевания и у реконвалесцентов обнаруживаются антитела к I фазе.

Микробиологическая диагностика проводится серологическим методом совместно с диагностикой других «атипичных пневмоний» (хламидиозной, легионеллезной и микоплазменной этиологии), постановкой РСК, ИФА, непрямой РИФ.

Лечение. Используются антибиотики тетрациклинового ряда и фторхинолоны.

Профилактика. Живая вакцина из штамма М-44 (П.Ф. Здродовский, В.А. Гениг) используется по эпидемическим показаниям. Неспецифическая профилактика осуществляется санитарно-ветеринарными мероприятиями.

15.3.6. Бартоanelлы (род *Bartonella*)

Бартоanelлезы — заболевания, которые вызываются бактериями, относящимися к роду *Bartonella* семейства *Bartonellaceae*, входящего в класс *Alphaproteobacteria*.

Морфология. Бартоanelлы — грамотрицательные палочки, обладающие плейоморфностью, подвижны (имеют однополюсный жгутик или пучок жгутиков).

Культуральные и биохимические свойства. Культивируются на сложных питательных средах, содержащих кровь, для этих целей может использоваться шоколадный агар, при температуре 37 °С, в атмосфере 5% CO₂ в течение 7 суток. Культивируются также в куриных эмбрионах. Протеолитическая и сахаролитическая активность не выражена.

Факторы патогенности и патогенез. Факторы патогенности изучены недостаточно. Бартоanelлы являются эритроцитарными паразитами, а также паразитами кожи и костной ткани. Клетками-мишенями для бартоanelл служат

эритроциты и эндотелий сосудов. В месте прикрепления бартофель к чувствительным клеткам происходит образование скопления микробов и развитие воспалительной реакции с ангиоматозом или лимфаденопатией. В процессе инвазии микроба в эритроциты принимает участие водорастворимая фракция, выделяемая бартофелями, — «**деформин-фактор**». «Деформин-фактор» вызывает деформацию и инвагинацию мембраны эритроцитов и принимает участие в образовании внутриклеточной вакуоли. *B. bacilliformis* обладает гемолитической активностью. В пораженных тканях бартофель располагаются цепочками.

Эпидемиология. Резервуаром и источником инфекции является больной или носитель. Для возникновения заболевания необходимо проникновение возбудителя в кровяное русло в результате нарушения целостности кожных покровов (болезнь кошачьих царапин) или через укусы кровососущих членистоногих (вольинская лихорадка, болезнь Карриона).

Клиника. Клиническая картина разнообразна в зависимости от возбудителя и вызываемого им заболевания.

B. henselae вызывает болезнь кошачьих царапин, источником инфекции при которой являются кошки. Человеку заболевание передается контактным путем через нанесенные кошкой укусы или царапины либо укусы кошачьих блох. В патологический процесс вовлекаются кожные покровы и периферические лимфатические узлы с развитием локального лимфаденита.

B. quintana — возбудитель окопной (син.: траншейной, вольтинской) лихорадки. Источник инфекции — человек. Передача осуществляется фекалиями платяных вшей через расчески. Клиническая картина характеризуется чередующимися приступами лихорадки, сыпью, неврологическими симптомами, головной болью, миалгией. После перенесенного заболевания наблюдается длительное носительство возбудителя. Прогноз при этих заболеваниях благоприятный.

B. bacilliformis — возбудитель болезни Карриона, которая распространена в странах Южной Америки. Болезнь протекает в двух клинических формах: 1) лихорадка Ороя — острое заболевание, характеризующееся развитием тяжелой анемии, с летальностью до 40%; 2) перуанская бородавка, которая возникает через 1–2 мес. после острой формы и характеризуется появлением на коже множественных кровотокающих папул. Резервуар возбудителя — мышевидные грызуны. Переносчики — москиты.

Микробиологическая диагностика. Основной — *серологический метод* (непрямая РИФ, ИФА). *Бактериологический метод* можно использовать в лихорадочный период, проводя посев крови больных на специальные питательные среды. При гистологическом исследовании биопсийного материала в пораженных тканях можно при окраске по Романовскому–Гимзе обнаружить ярко-красные бартофель, расположенные цепочками.

Лечение проводят антибиотиками тетрациклинового ряда, макролидами, фторхинолонами.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к санации кошек, уничтожению переносчиков (блох, вшей, москитов) и санитарно-гигиеническим мероприятиям.

15.3.7. Аэробные неферментирующие грамотрицательные палочки

Группа аэробных неферментирующих бактерий включает оксидазоположительные грамотрицательные палочки, окисляющие, а не ферментирующие углеводы (см. ниже). К неферментирующим бактериям относят представителей родов *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Eikenella*, *Flavobacterium*, *Kingella*, *Moraxella* и некоторые другие. Многие из них 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.

15.3.7.1. Псевдомонады (род *Pseudomonas*). *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка)

Псевдомонады относятся к семейству *Pseudomonadaceae*. Типовой вид рода *Pseudomonas* — *P. aeruginosa* (синегнойная палочка — возбудитель многих гнойно-воспалительных заболеваний). Сравнительно недавно некоторые бактерии рода *Pseudomonas* были отнесены к роду *Burkholderia* семейства *Burkholderiaceae* (см. ниже).

В 1862 г. А. Люкке было впервые описано нагноение раны с характерным сине-зеленым окрашиванием повязок, вызванное синегнойной палочкой. В чистой культуре *P. aeruginosa* была выделена лишь в 1882 г. С. Жессаром. Этот вид относится к семейству *Pseudomonadaceae*.

Морфологические и тинкториальные свойства. Эти бактерии — грамотрицательные прямые палочки размером $0,5\text{--}1 \times 1,5\text{--}5$ мкм, расположенные одиночно, попарно или в виде коротких цепочек. Они подвижны за счет наличия одного, редко двух полярно расположенных жгутиков. Спор не образуют, имеют пили (фимбрии). Могут продуцировать капсулоподобную внеклеточную слизь полисахаридной природы. Встречаются также так называемые мукоидные штаммы, образующие повышенное количество слизи. Такие бактерии выделяются чаще всего из мокроты больных муковисцидозом.

Культуральные свойства. Псевдомонады — облигатные аэробы, которые хорошо растут на простых питательных средах. Возбудитель довольно часто находится в патологическом материале в ассоциации с другими микроорганизмами, поэтому для выделения чистой культуры синегнойной палочки применяют селективные или дифференциально-диагностические питательные среды с добавлением антисептиков — малахитовый агар с добавлением бриллиантового зеленого или ЦПХ-агар с ацетамидом или N-цетипиридоний хлоридом.

Оптимальная температура роста 37 °С, синегнойная палочка способна расти при 42 °С, что позволяет отличать ее от других псевдомонад. На поверхности жидкой питательной среды бактерии образуют характерную серовато-серебристую пленку, а на плотной среде они формируют гладкие округлые суховатые колонии или слизистые у капсульных штаммов. Культуры синегнойной палочки, выделенные от больных муковисцидозом, продуцируют мукоидные колонии вследствие избыточной продукции альгината и экзополисахаридов. На кровяном агаре вокруг колоний синегнойной палочки наблюдаются зоны полного гемолиза.

При культивировании на плотных питательных средах *P. aeruginosa* продуцирует триметиламин, придающий культурам этих бактерий своеобразный сладковатый запах жасмина, земляничного мыла или карамели. Характерным признаком синегнойной палочки является способность синтезировать водорастворимые пигменты, окрашивающие повязки больных или питательные среды при их культивировании. Чаще всего они вырабатывают феназиновый пигмент — пиоцианин сине-зеленого цвета, но могут образовывать и зеленый флюоресцирующий в УФ-лучах пигмент флюоресцеин (пиовердин), а также красный (пиорубин), черный (пиомеланин) или желтый (α -оксифеназин) пигменты.

Биохимические свойства. Синегнойная палочка обладает низкой сахаролитической активностью: не ферментирует углеводы, однако для получения энергии способна их окислять. Для дифференциальной диагностики, позволяющей отличать псевдомонады от других грамотрицательных палочек, применяют OF-тест (тест окисления-ферментации глюкозы) на среде Хью–Лейфсона. С этой целью делают посев чистой культуры псевдомонад в две пробирки с этой средой. Одну пробирку инкубируют в аэробных условиях, другую — в анаэробных. Псевдомонады способны только окислять глюкозу (цвет индикатора меняется в пробирке после аэробного инкубирования). *P. aeruginosa* восстанавливает нитраты в нитриты, редуцируя их до газообразного азота, а также обладает протеолитической активностью: разжижает желатин, гидролизует казеин. Синегнойная палочка имеет каталазу и цитохромоксидазу (псевдомонады оксидазопозитивны), участвующую в переносе электронов при дыхании.

Многие штаммы синегнойной палочки продуцируют бактериоцины, называемые пиоцинами, — протеины, обладающие бактерицидными свойствами. Для эпидемиологического маркирования и внутривидовой идентификации *P. aeruginosa* проводят пиоцинотипирование штаммов, выделенных от больных и из окружающей среды. С этой целью определяют спектр продуцируемых исследуемым штаммом пиоцинов или чувствительность этого штамма к пиоцинам других псевдомонад.

Антигенные свойства. Синегнойная палочка имеет О- и Н-антигены. Липополисахарид клеточной стенки является тип- или группоспецифическим термостабильным О-антигеном, на основе которого проводят серотипирование штаммов *P. aeruginosa*. Термолабильный жгутиковый Н-антиген бывает двух

типов и обладает протективным действием, поэтому на его основе создаются вакцинные препараты. На поверхности клеток синегнойной палочки обнаружены также антигены пилей (фимбрий). Кроме того, *P. aeruginosa* продуцирует целый ряд внеклеточных продуктов, обладающих антигенными свойствами: экзотоксин А, протеазу, эластазу, внеклеточную слизь, которые вместе с тем являются и ее факторами патогенности.

Факторы патогенности. *P. aeruginosa* обладает большим набором факторов патогенности, которые вовлечены в патогенез синегнойной инфекции.

Адгезивные свойства *P. aeruginosa* определяются наличием **пилей (фимбрий)** на поверхности их клеток. Синегнойная палочка обладает тропизмом к эпителию мочевого пузыря, респираторного тракта, конъюнктивы глаз. **Экстрацеллюлярная слизь** синегнойной палочки покрывает поверхность микробной клетки, но в отличие от капсулы не имеет четких границ и легко выделяется во внешнюю среду. **Гликолипопротеид**, входящий в состав внеклеточной слизи *P. aeruginosa*, также принимает участие в процессе адгезии (преимущественно на мушине эпителия дыхательных путей). Это капсулоподобное вещество обладает антигенными и токсическими свойствами, защищает бактерии от фагоцитоза, вызывает лейкопению. Мукоидные штаммы синегнойной палочки, продуцирующие большое количество слизи, обуславливают хроническое течение заболевания, в особенности при муковисцидозе, остеомиелите, хроническом отите. Синегнойные палочки образуют биопленки на различных поверхностях, что часто приводит к хроническому течению заболеваний.

Токсины. ЛПС наружной мембраны клеточной стенки *P. aeruginosa* обладает свойствами **эндотоксина** и участвует в развитии лихорадки, олигурии, лейкопении у больных.

Экзотоксин А синегнойной палочки — цитотоксин, который вызывает глубокие нарушения клеточного метаболизма в результате подавления синтеза белка во всех клетках и тканях. Подобно дифтерийному токсину, он является АДФ-рибозилтрансферазой, которая ингибирует фактор элонгации EF-2 и поэтому вызывает нарушение синтеза белка. Он также подавляет синтез иммуноглобулинов, вызывает нейтропению. Токсинообразование у различных штаммов синегнойной палочки контролируется структурным геном в составе хромосомы, а также регуляторным геном-репрессором при участии ионов железа. Экзотоксин А продуцируется в неактивной форме и активируется в организме различными ферментами. Экзотоксин А является протективным антигеном: антитоксические антитела защищают клетки от его повреждающего действия, а также препятствуют развитию бактериемии и синегнойного сепсиса.

Экзоэнзим S (экзотоксин S) обнаруживается только у высоковирулентных штаммов синегнойной палочки. Механизм его повреждающего действия на клетки пока неясен, однако известно, что инфекции, обусловленные экзоэнзим-S-продуцирующими штаммами синегнойной палочки, нередко заканчиваются летально. Экзотоксины А и S нарушают также активность фагоцитов.

Лейкоцидин является цитотоксином с выраженным токсическим воздействием на гранулоциты крови человека.

Энтеротоксин и **факторы проницаемости** играют определенную роль в развитии местных тканевых поражений при кишечных формах синегнойной инфекции, вызывая нарушения водно-солевого обмена.

Ферменты агрессии. Нейраминидаза синегнойной палочки участвует в колонизации муцина респираторного тракта, поэтому играет важную роль в патогенезе бронхолегочных заболеваний синегнойной этиологии и муковисцидоза.

P. aeruginosa продуцирует **гемолизины** двух типов: термолабильную **фосфолипазу С** и термостабильный **гликолипид**. Фосфолипаза С разрушает фосфолипиды в составе сурфактантов альвеол легких, вызывая развитие ателектазов (bronхоэктазов) при бронхолегочной патологии.

Различные протеолитические ферменты (**протеазы** трех типов, **эластаза**), а также **экзотоксин А** вызывают геморрагии, деструкцию тканей и некроз в очагах поражения при инфекциях глаз, пневмониях, септицемии синегнойной этиологии. **Эластаза** синегнойной палочки расщепляет эластин, казеин, фибрин и гемоглобин. С помощью **IgA-протеазы** псевдомонады разрушают секреторные IgA.

Резистентность. Отличительная особенность *P. aeruginosa* — очень ограниченная потребность в питательных веществах, что обеспечивает ей сохранение жизнеспособности в условиях почти полного отсутствия источников питания. Синегнойная палочка хорошо сохраняется в пресной, морской и даже дистиллированной воде. В водопроводной воде *P. aeruginosa* живет и размножается более 2,5 мес. Доказано также, что культуры синегнойной палочки сохраняют жизнеспособность даже в растворах антисептиков и дезинфектантов (например, фурацилина), предназначенных для хранения катетеров и различных медицинских инструментов, промывания ран в ожоговых и хирургических стационарах. В то же время *P. aeruginosa* чувствительна к высушиванию, действию хлорсодержащих дезинфицирующих препаратов. Она легко инактивируется при воздействии высоких температур (при кипячении, автоклавировании).

Довольно высокая устойчивость *P. aeruginosa* к антибиотикам объясняется плохой проницаемостью наружной мембраны бактерий из-за врожденного дефекта поринов, а также способностью синтезировать β -лактамазы.

Экология псевдомонад. Естественной средой обитания псевдомонад являются почва и различные пресные и соленые водоемы. Однако они широко распространены не только в природе. Около 5–10% здоровых людей являются носителями различных штаммов *P. aeruginosa* (они в норме колонизируют кишечник) и около 70% пациентов, находящихся в стационаре. В клинике псевдомонады могут встречаться повсеместно, образуя биопленки: в водопроводных и вентиляционных системах, на фруктах и овощах, комнатных растениях, на поверхности мыла, щетках для мытья рук, полотенцах, в дыхательных аппаратах

и т.д. Способность псевдомонад расти в очень слабых водных растворах веществ и в дистиллированной воде, применяемой для приготовления различных растворов, объясняет их возможное присутствие в препаратах антисептиков, детергентов и даже в растворах для инъекций.

Эпидемиология. Заболевание может развиваться в результате аутоинфицирования (эндогенное заражение) или экзогенно. Источником инфекции являются люди (больные или бактерионосители), а также естественные резервуары природы. Поэтому синегнойную инфекцию можно считать сапроантропонозом. Механизмы и пути заражения: контактный, респираторный, кровяной или фекально-оральный.

Синегнойная инфекция может возникнуть как у иммунодефицитных лиц с тяжелой сопутствующей патологией (сахарный диабет, ожоговая болезнь, лейкоз, муковисцидоз, иммуносупрессия при онкологических заболеваниях и трансплантации органов), так и на фоне нормальной иммунологической реактивности организма. Адгезивная активность *P. aeruginosa* усиливается при повышении температуры и влажности окружающей среды, поэтому посещение бассейна, бани, принятие лечебных ванн также могут спровоцировать синегнойную инфекцию.

Синегнойная палочка является возбудителем внутрибольничных (госпитальных) инфекций, т.е. заболеваний, возникающих у людей, находящихся на лечении в стационаре. Заражение в клинике возможно в результате проведения медицинских манипуляций через грязные руки персонала, инструменты, при использовании контаминированных растворов (катетеризация мочевого пузыря, эндоскопическое исследование, промывание ран, перевязка, обработка антисептиками ожоговой поверхности, применение аппарата для искусственной вентиляции легких и др.).

Патогенез. Синегнойная палочка проникает в организм человека через поврежденные ткани. Прикрепляясь, бактерии заселяют раневую или ожоговую поверхность, слизистые оболочки или кожу и размножаются. При отсутствии у человека иммунных механизмов против синегнойной инфекции локальный процесс (инфекция мочевыводящих путей, кожи, респираторного тракта) может генерализоваться. Бактериемия способствует диссеминации возбудителя и развитию сепсиса, часто приводящего к формированию вторичных гнойных очагов инфекции. Под воздействием факторов патогенности нарушается функционирование органов и систем; может развиваться синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания, шок, а также респираторный дистресс-синдром.

Клиника. Синегнойная палочка вызывает гнойно-воспалительные заболевания различной локализации: раневые инфекции, ожоговую болезнь, менингит, инфекции мочевыводящих путей, кожи (гангренозная эктима — *ecthyma gangrenosum*), заболевания глаз (кератит), некротическую пневмонию, сепсис. Она является возбудителем злокачественного наружного отита у диабетиков. Смертность от синегнойного сепсиса составляет около 50%.

Иммунитет. В сыворотке крови здоровых людей, а также переболевших инфекциями синегнойной этиологии обнаруживают антитоксические и антибактериальные антитела, однако эти антитела типоспецифические и их роль в защите от повторных заболеваний мало изучена.

Микробиологическая диагностика. *Материал для исследования:* кровь (при септицемии), спинномозговая жидкость (при менингите), гной и раневое отделяемое (при инфицированных ранах и ожоговых поражениях), моча (при инфекциях мочевыводящих путей), мокрота (при муковисцидозе и инфекциях респираторного тракта) и др. *Бактериоскопия* мазков из исследуемого материала малоинформативна из-за отсутствия у синегнойной палочки морфологических и тинкториальных особенностей. Основной метод диагностики — *бактериологическое исследование* клинического материала, которое позволяет не только идентифицировать возбудитель, но и определить чувствительность бактерий к антимикробным препаратам. При идентификации *P. aeruginosa* учитывают их рост на ЦПХ-агаре, возможное пигментообразование, наличие специфического запаха при росте культуры на плотной питательной среде, положительный цитохромоксидазный тест, выявление термофильности (рост при 42 °С), а также способность окислять глюкозу в OF-тесте. Для внутривидовой идентификации бактерий применяют серотипирование, пиоцинотипирование, а также определяют чувствительность выделенной культуры к бактериофагам.

Серологический метод исследования направлен на обнаружение специфических антител к антигенам синегнойной палочки (обычно экзотоксину А и ЛПС) с помощью РСК, РПГА, опсонофагоцитарной реакции и некоторых других тестов. Разработана также ПЦР-диагностика для идентификации возбудителя.

Лечение. Применяют антибиотики, причем рекомендуется использование комбинации препаратов из разных групп. Антимикробная терапия назначается только после получения результатов антибиотикограммы. При ургентных инфекциях антибиотики назначаются эмпирически. Препаратами выбора являются цефалоспорины (цефтазидим, цефоперазон) и другие β-лактамы препараты (тикарциллин, мезлоциллин, пиперациллин, имипенем), аминогликозиды (гентамицин, тобрамицин, амикацин), а также азтреонам и ципрофлоксацин.

Для лечения тяжелых форм синегнойной инфекции применяют также гипериммунную плазму, полученную из крови добровольцев, иммунизированных поливалентной корпускулярной вакциной из *P. aeruginosa*.

При местном лечении инфекций кожи (трофических язв, эктимах, ожоговых ранах), вызванных *P. aeruginosa*, применяют антисинегнойный гетерологичный иммуноглобулин, получаемый из сыворотки крови баранов, гипериммунизированных взвесью убитых культур синегнойных палочек различных иммунотипов.

Кроме того, для лечения гнойных инфекций кожи, абсцессов и других заболеваний синегнойной этиологии (кроме сепсиса) можно применять синегной-

ный бактериофаг (бактериофаг пиоцианеус) или поливалентный жидкий пио-бактериофаг.

Профилактика. Эффективная стерилизация, дезинфекция и антисептика, а также соблюдение правил асептики — основные меры неспецифической профилактики синегнойной инфекции в стационаре. Следует контролировать обсемененность объектов окружающей среды и соблюдать правила личной гигиены.

Пациентам с ослабленным противоинфекционным иммунитетом показана пассивная специфическая иммунизация гипериммунной плазмой или нормальным человеческим иммуноглобулином в профилактических целях.

Для создания активного иммунитета разработаны вакцины из ЛПС, полисахаридные субкорпускулярные (химические) вакцины, рибосомные вакцины, препараты из жгутиковых антигенов и компонентов внеклеточной слизи, а также анатоксины из внеклеточных протеаз и экзотоксина А. В нашей стране применяются поливалентная корпускулярная синегнойная вакцина (из 7 штаммов *P. aeruginosa*) и стафило-протейно-синегнойная вакцина.

15.3.7.2. Буркхольдерии (род *Burkholderia*); возбудители сапа и мелиоидоза

Буркхольдерии относятся к роду *Burkholderia* семейства *Burkholderiaceae*. Патогенными для человека являются *Burkholderia mallei* — возбудитель сапа, *Burkholderia pseudomallei* — возбудитель мелиоидоза, и некоторые другие.

15.3.7.2.1. *Burkholderia cepacia*

Burkholderia cepacia — условно-патогенный возбудитель, вызывающий гнойно-воспалительные заболевания, а также вспышки внутрибольничных инфекций. Она была открыта У. Буркхолдером в 1949 г.; входит в состав так называемого комплекса *B. cepacia*, который включает девять видов, или геномвариантов: *B. cepacia*, *B. multivorans*, *B. cenocepacia*, *B. vietnamiensis*, *B. stabilis*, *B. ambifaria*, *B. dolosa*, *B. anthina* и *B. pyrrocinia*.

Биологические свойства. *B. cepacia* — мелкая подвижная (лофотрих) грам-отрицательная палочка. Строгий аэроб. Культивируют на селективной среде, содержащей полимиксин и бацитрацин, которые подавляют рост сопутствующей микрофлоры. Оптимальная температура роста 30–35 °С. **Пили** и **жгутики** бактерий участвуют в адгезии; вместе с экзополисахаридом **сепацианом** они участвуют в стабилизации биопленки.

Начальные стадии инвазии бактерий обеспечиваются участием четырех железосвязывающих **сидерофоров**: салициловой кислоты, орнибактина, пилхелина и сепабактина. Бактерия продуцирует **липазу**, **металлопротеазы** и **серинпротеазы**, секреция которых контролируется системой *quorum sensing*, т.е. продукция факторов вирулентности усиливается при достижении ими высоких концентраций в ткани. Липазы и металлопротеазы участвуют в инвазии легоч-

ной ткани, подвергая гидролизу коллаген и фибронектин внеклеточного матрикса альвеолярных клеток и повреждая альвеолярные макрофаги.

Резистентность. *B. ceracia* хорошо сохраняется во влажной среде, чувствительна к высушиванию. Продуцирует индуцибельную β -лактамазу. По сравнению с *P. aeruginosa* она еще менее чувствительна к β -лактамным антибиотикам.

Экология возбудителя. *B. ceracia* — свободноживущая бактерия: обнаруживается в почве, воде, на поверхности растений.

Биопрепараты на основе *B. ceracia* широко применяются в биотехнологии и сельском хозяйстве для ускорения созревания урожая и для борьбы с фитопатогенами растений — патогенных грибов и нематоды. Препараты, содержащие *B. ceracia*, используются для биodeградации токсических веществ, загрязняющих окружающую среду, — хлорсодержащих пестицидов и гербицидов. Вместе с тем *B. ceracia* полипатогенна — вызывает болезни растений, животных и человека.

Патогенез и клиника. *B. ceracia* является возбудителем респираторных инфекций и инфекций мочевыводящих путей; вызывает ожоговую болезнь, менингит, перитонит и другие гнойно-воспалительные заболевания. При внутрибольничных инфекциях источником заражения обычно служат емкости с жидкостями и влажные поверхности предметов больничной обстановки.

B. ceracia проходит через барьеры слизистых оболочек путем подавления защитных механизмов хозяина. **Липополисахарид** клеточной стенки инициирует воспалительную реакцию в легких, приводящую к некрозу легочной ткани. Описан так называемый сераси́а-синдром, патогномоничным признаком которого является некротическая пневмония, не поддающаяся лечению.

Микробиологическая диагностика. Исследуют мокроту, плевральную и бронхоальвеолярную лаважную жидкость, мочу, раневое отделяемое, экссудат и др. Применяют бактериологическое исследование, в ходе которого дифференцируют *B. ceracia* от *P. aeruginosa*.

Лечение. Вследствие высокой устойчивости *B. ceracia* к антибиотикам этиотропное лечение следует назначать после определения антибиотикограммы. При эмпирическом лечении могут быть эффективны фторхинолоны, триметоприм/сульфометоксазол.

Специфическая профилактика не разработана. Для неспецифической профилактики применяют мероприятия, описанные для синегнойной палочки в разд. 15.3.7.1.

15.3.7.2.2. Возбудитель сапа — *Burkholderia mallei*

Сап — зооантропонозная особо опасная инфекция, которая характеризуется острым или хроническим течением с образованием гранулем, пустул и абсцессов в различных органах. Возбудитель (*Burkholderia mallei*) был открыт в 1882 г. Ф. Леффлером и Х. Шутцем.

Биологические свойства. *Burkholderia mallei* — 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 служит эндотоксин (**маллеин**), который действует на клетки гладкой мускулатуры различных органов, вызывает лихорадку и снижение массы тела.

Резистентность. Возбудитель чувствителен к высушиванию, нагреванию и многим дезинфектантам (кроме лизола). Во влажной среде и гниющих материалах сохраняется около месяца.

Эпидемиология. Основным резервуаром возбудителя и источником инфекции для человека являются лошади, ослы, мулы, верблюды, зебры, а также хищники, поедающие мясо этих животных. Случаи заражения человека от животных в основном связаны с профессиональной деятельностью (ветеринарные врачи, работники животноводства). Возбудитель 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 (пищевой путь заражения) 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 в специализированных лабораториях с соблюдением правил работы с возбудителями особо опасных инфекций. Применяют ПЦР, *бактериоскопический* (ориентировочный), *бактериологический* и *серологический* (РСК, реакция агглютинации) методы. Кожно-аллергическая проба с маллеином (фильтратом бульонной культуры возбудителя) также позволяет поставить диагноз сапа.

Лечение. Применяют аминогликозиды, тетрациклины.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика сапа включает соблюдение правил индивидуальной

защиты при уходе за больными животными и при работе с инфекционным материалом, а также ветеринарный надзор в целях выявления больных животных и инфицированных продуктов животного происхождения.

15.3.7.2.3. Возбудитель мелиоидоза — *Burkholderia pseudomallei*

Мелиоидоз (ложный сепс) — зоонозное инфекционное заболевание, протекающее по типу септикопиемии. Возбудитель (*Burkholderia pseudomallei*) был выделен в 1913 г. английским врачом Р. Уитмором в Бирме.

Биологические свойства. *Burkholderia pseudomallei* — мелкая подвижная неспорообразующая грамотрицательная палочка. Окрашивается биполярно. Аэроб. Хорошо растет на простых питательных средах, образуя кремовые или оранжевые колонии, гладкие или шероховатые. Растет медленно (около 72 ч). Может расти при температуре 42 °С. Окисляет глюкозу, лактозу и некоторые другие углеводы. Имеет О- и Н-антигены. Факторы патогенности: **летальный и дерматонекротический токсины, ЛПС, протеазы и гемолизин.**

Резистентность. *B. pseudomallei* довольно устойчива в окружающей среде: сохраняет жизнеспособность при высушивании; в течение месяца сохраняется в моче, фекалиях и трупах животных. Однако весьма чувствительна к различным дезинфектантам.

Эпидемиология. Возбудитель распространен в природе: его выделяют из образцов почвы, воды, на рисовых полях, с поверхности овощей и фруктов. Мелиоидоз — эндемичное заболевание, встречается преимущественно в странах Юго-Восточной Азии и Австралии.

Источник инфекции — грызуны, сельскохозяйственные (свиньи, лошади, крупный и мелкий рогатый скот) и дикие животные. Заражение человека от человека не установлено.

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.

Патогенез и клиника. Патогенез мелиоидоза малоизучен. Из первичного очага возбудитель быстро попадает в кровь, вызывая бурную интоксикацию. Оседая во 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. Ме-

тоды исследования: *бактериоскопический* (обнаруживают биполярно окрашенные палочки), *бактериологический* (выделение и идентификация возбудителя), *биологический* (биопроба на мышах или морских свинках) и *серологический* (РА, РСК, РПГА). Разработана ПЦР-диагностика.

Лечение. Применяют сульфаниламидные препараты и антибиотики.

Профилактика. Основные профилактические мероприятия сводятся к ветеринарному надзору и санитарно-разъяснительной работе в очагах возникновения болезни.

15.3.7.3. Кингеллы (род *Kingella*)

Бактерии рода *Kingella* получили свое название в честь американского бактериолога Э. Кинг, которая впервые подробно описала их. Кингеллы являются представителями нормофлоры полости рта и носоглотки, однако способны вызывать оппортунистические инфекции. Их относят к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий. Род *Kingella* относится к семейству *Neisseriaceae* и включает три вида, из которых наибольшее медицинское значение имеет *K. kingae*.

Биологические 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. Неподвижны, но могут иметь фимбрии (пили), благодаря которым способны передвигаться рывками, особенно по поверхности твердого субстрата.

Аэробы или факультативные анаэробы, лучше культивируются в аэробных условиях. Плохо растут на простых питательных средах (нуждаются в факторах роста животного происхождения). На кровяном агаре образуют зоны β-гемолиза. R-формы колоний — плоские, распространяются по поверхности и вызывают коррозию плотной питательной среды. Этот тип колоний связан со способностью бактерий к движению благодаря наличию фимбрий. S-формы — гладкие, выпуклые; они характерны для неподвижных кингелл, не имеющих фимбрий.

Кингеллы обладают слабо выраженной биохимической активностью. Оксидазоположительны. Имеют O-антиген. Патогенность кингелл, вероятно, определяется наличием эндотоксина, а также фимбриями, которые обеспечивают способность бактерий к адгезии.

Резистентность. Кингеллы быстро погибают при высоких температурах: уже при температуре 45 °С их гибель наступает через 10–15 мин. Они высокочувствительны к антисептикам и антибиотикам.

Эпидемиология и клиника. Кингеллы считают представителями нормальной микрофлоры полости рта и носоглотки человека. Они вызывают оппортунистические инфекции у лиц со сниженным иммунитетом. Например, *K. kingae* является возбудителем менингитов, артритов и остеомиелитов, а также септических эндокардитов, в особенности у людей с искусственными клапанами сердца.

Микробиологическая диагностика основана на *бактериологическом* исследовании крови (при септическом эндокардите или септицемии), спинномозговой жидкости (при менингите), синовиальной жидкости (при септическом артрите) и др.

Лечение. Кингеллы высокочувствительны к β-лактамным антибиотикам и макролидам, поэтому против них эффективны пенициллин, ампициллин и эритромицин.

Специфическая профилактика не разработана.

15.3.7.4. Моракселлы (род *Moraxella*)

Моракселлы были выделены офтальмологами В. Мораксом и К. Аксенфельдом в 1896 г. Род *Moraxella* относится к семейству *Moraxellaceae*. Типовым видом является *Moraxella lacunata*.

Биологические свойства. Моракселлы — мелкие полиморфные грамотрицательные палочки или кокки, расположенные попарно (соприкасающиеся стороны уплощены) или в виде коротких цепочек. Клеточная стенка моракселл имеет истинные воски. Бактерии неподвижны, образуют

капсулу. Так же как и у кингелл, у моракселл имеется способность к движению рывками по твердой поверхности благодаря наличию фимбрий.

Моракселлы — аэробы. Оптимальная температура роста 33–35 °С. Бактерии требовательны к составу питательных сред, нуждаются в добавлении аминокислот, биотина, лактата (сукцината) в качестве источника углерода и энергии. На плотных питательных средах они могут образовывать два типа колоний: 1) шероховатые с неровными краями, иногда с коррозией питательной среды у фимбриеобразующих штаммов; 2) очень мелкие гладкие с ровными краями у штаммов без фимбрий.

Моракселлы относятся к неферментирующим бактериям, поэтому при утилизации углеводов кислотообразование не наблюдается. Могут восстанавливать нитраты. Имеют каталазу и оксидазу.

Патогенность моракселл определяется наличием эндотоксина, фимбрий и ДНКазной активностью.

Резистентность. Моракселлы малоустойчивы в окружающей среде.

Эпидемиология и клиника. Моракселлы обнаруживаются в норме на слизистых оболочках верхних дыхательных путей человека и животных. Однако способны вызывать заболевания (эндогенные оппортунистические инфекции), преимущественно у людей со сниженной иммунологической реактивностью. Моракселлы могут вызывать у человека эндокардит, конъюнктивит, менингит, уретрит и респираторные инфекции (бронхит, пневмонию, фарингит, отит, синусит).

Микробиологическая диагностика основана на *бактериологическом* исследовании материала, взятого от больных. *M. catarrhalis* продуцирует бутиратэстеразу, обнаружение которой используется при экспресс-диагностике заболеваний, вызываемых этими бактериями.

Лечение. Большинство моракселл чувствительны к β-лактамным антибиотикам. Учитывая способность *M. catarrhalis* продуцировать β-лактамазу, для лечения инфекций, вызванных моракселлами, рекомендуется применять антибиотики других групп.

Профилактика. Для профилактики и иммунотерапии острых и рецидивирующих инфекционных заболеваний верхних и нижних дыхательных путей разработана лечебная вакцина (бронхо-мунал, бронховакс), содержащая лизаты восьми видов микроорганизмов, в том числе *M. catarrhalis*.

15.3.7.5. Ацинетобактеры (род *Acinetobacter*)

Бактерии рода *Acinetobacter* вызывают госпитальные инфекции. Наибольшее медицинское значение имеют *A. baumannii*, *A. kwoffii*, *A. haemolyticus*; типовой вид *A. calcoaceticus*.

Морфология и тинкториальные свойства. Короткие толстые полиморфные грамтрицательные 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. Ацинетобактерии — строгие аэробы. Они хорошо растут на обычных питательных средах, при температуре 30–35 °С и pH 7. На плотных средах образуют мелкие блестящие колонии. При росте на кровяном агаре возможно образование зоны β-гемолиза. Биохимические свойства ацинетобактерий выражены слабо. Полисахариды не разлагают, но некоторые виды способны ферментировать моносахариды с образованием кислоты. Индол и сероводород не образуют, лизин не декарбоксилируют.

Факторы патогенности: ЛПС клеточной стенки, капсула, препятствующая фагоцитозу, и адгезины, обеспечивающие прикрепление микроба к эпителию.

Эпидемиология и клиника. Ацинетобактерии 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 биохимическим свойствам.

Лечение. Микроб чувствителен к неомицину и полимиксину.

Специфическая профилактика не разработана.

15.4. Палочки грамотрицательные анаэробные

Грамотрицательные анаэробные палочки относятся к облигатным неспорообразующим анаэробам (или неклостридиальным анаэробам), которые принадлежат к различным таксономическим группам. Будучи условно-патогенными бактериями, входящими в состав микрофлоры кишечника человека, слизистых полости рта и влагалища, они способны вызывать гнойно-септические заболевания различной локализации.

Облигатные анаэробные грамотрицательные бактерии относятся к семействам *Bacteroidaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Prevotellaceae* родам *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Bilophila*, *Porphyromonas*, *Prevotella* и др. Детальная информация о видовом составе различных микроорганизмов, в том числе облигатных анаэробов, затруднительна, так как многие из них либо не культивируются, либо культивируются с трудом. В результате применения молекулярно-генетических методов выделены новые роды семейства *Bacteroidaceae*, которые получили название *Alistipes*, *Barnesiella*, *Odoribacter* и др.

Патогенез. Подавляющее большинство анаэробных (неклостридиальных) инфекций имеет эндогенную природу. При снижении резистентности организма анаэробы могут вызывать гнойно-септические процессы различной локализации. Сахарный диабет, лейкопения, спленэктомия, повреждение и некроз тканей, расстройство кровообращения и многие другие нарушения способствуют развитию анаэробной инфекции. В ряде случаев, например при аспирационной пневмонии, анаэробы могут быть занесены из полости рта или верхних дыхательных путей в легкие и вызвать гнойно-воспалительный процесс.

Клиника. Облигатные неклостридиальные анаэробы как условно-патогенные бактерии не обладают органным тропизмом, поэтому клиника разнообразна и тяжесть течения определяется прежде всего состоянием иммунного статуса макроорганизма.

Наиболее частые клинические признаки инфекции, вызванной облигатными неклостридиальными бактериями: резкий запах гнойного отделяемого из-за продукции летучих жирных кислот; локализация очага воспаления около места повреждения; образование газа в тканях (крепитация тканей при пальпации); черное окрашивание экссудата в результате продукции некоторыми бактериями черного или темно-коричневого пигмента; некротические изменения тканей вокруг места поражения.

Микробиологическая диагностика. Бактериоскопический метод малоинформативен. Бактериологическое исследование предполагает использование анаэробной техники культивирования, в том числе правильного забора, транспортировки исследуемого материала в анаэробных условиях. Идентификацию облигатных анаэробных бактерий проводят по биохимическим, антигенным свойствам и по изучению конечных продуктов бактериального метаболизма с помощью газожидкостной хроматографии. В материале могут определять ле-

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы. На кровяном агаре образуют разнообразные колонии — гладкие, крупные, блестящие, с темным оттенком, усиливающимся с периферии к центру колонии (из-за продукции протогема).

Биохимические и антигенные свойства. Различные виды отличаются по протеолитическим и сахаролитическим свойствам. Все виды образуют индол. Бактерии имеют О-антиген.

Факторы патогенности: *эндотоксин, пили* (адгезия к субстрату), *летучие жирные кислоты, нейраминидаза, IgA-протеаза*.

Резистентность. При попадании на воздух погибают мгновенно. Обладают природной устойчивостью к канамицину, чувствительны к желчи.

15.4.3. Превотеллы (род *Prevotella*)

Превотеллы относятся к семейству *Prevotellaceae* роду *Prevotella*, насчитывающего свыше 20 видов. Типовой вид *P. melaninogenica*. Обитают во рту, толстой кишке, мочеполовом тракте. Вызывают гнойно-воспалительные заболевания челюстно-лицевой области, органов брюшной полости и мочеполового тракта.

Морфология. Грамотрицательные, не образующие спор палочки, неподвижные, плеоморфные.

Культуральные и антигенные свойства. облигатные анаэробы. На кровяном агаре образуют непрозрачные, серые, коричневые или темные пигментированные колонии. Проявляют умеренную сахаролитическую активность. Бактерии имеют О-антиген.

Факторы патогенности: *эндотоксин, пили (адгезия к субстрату), летучие жирные кислоты, нейраминидаза, IgA-протеаза*.

Резистентность. При попадании на воздух погибают мгновенно. Обладают природной устойчивостью к пенициллинам и цефалоспорином; чувствительны к желчи.

15.4.4. Лептотрихии (род *Leptotrichia*)

Лептотрихии относятся к семейству *Fusobacteriaceae* роду *Leptotrichia*. Известны несколько видов, из которых *L. buccalis* — типовой. Основное место обитания — полость рта. Могут вызывать гнойно-воспалительные заболевания различной локализации.

Морфология. Неподвижные грамотрицательные палочки, иногда в виде длинных нитей.

Культуральные и антигенные свойства. облигатные анаэробы. Растут на сложных питательных средах, необходимо присутствие CO₂. Главные продукты ферментации углеводов — молочная и уксусная кислоты. Бактерии имеют О-антиген.

Факторы патогенности: *эндотоксин* и *пили*.

Резистентность. При попадании в воздух погибают мгновенно. Нагревание бактерий до 60 °С в течение 10 мин приводит к их гибели. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

15.4.5. Фузобактерии (род *Fusobacterium*)

Фузобактерии относятся к семейству *Fusobacteriaceae* роду *Fusobacterium*. Включает около 15 видов: *F. nucleatum* (типовой вид), *F. mortiferum*, *F. necrophorum* и др. Обитают на слизистых рта, главным образом в десневых карманах, в кишечнике, гениталиях.

Морфология. Полиморфные, часто веретеновидные, неподвижные, грамтрицательные палочки. Спор не образуют.

Культуральные и антигенные свойства. Облигатные анаэробы. На кровяном агаре образуют мелкие колонии, окруженные зоной α -гемолиза. Образуют большое количество масляной кислоты и индола, что придает культурам гнилостный запах. Бактерии обладают лецитиназной активностью, имеют О-антиген.

Факторы патогенности: *эндотоксин, пили, летучие жирные кислоты, нейраминидаза, фосфолипаза, лейкоцидин.*

Резистентность. При попадании в воздух бактерии погибают мгновенно. Они чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

15.4.6. Селеномонады (род *Selenomonas*)

Селеномонады относятся к семейству *Acidaminococcaceae* роду *Selenomonas*. Типовой вид *Selenomonas sputigena*. Обитают в ЖКТ млекопитающих, загрязненных водоемах.

Морфология. Полиморфные, от изогнутых до спиральных, грамтрицательные палочки с зауженными концами. Подвижны (лофотрихи).

Культуральные и антигенные свойства. Облигатные анаэробы. Растут на сложных питательных средах, с добавлением факторов роста. Сбраживают лактозу с образованием кислоты и газа. Имеют О-антиген.

Резистентность. При попадании в воздух бактерии погибают мгновенно. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

15.5. Палочки спорообразующие грамположительные

Палочки спорообразующие грамположительные принадлежат к семейству *Bacillaceae* роду *Bacillus*, который насчитывает около 100 видов, объединяет обширную группу строго аэробных или факультативно анаэробных хемоорганотрофных бактерий палочковидной формы, образующих термоустойчивые эндоспores. Представителями рода являются *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. coagulans* и др. *B. anthracis* вызывает сибирскую язву человека и жи-

вотных, а *B. cereus* — условно-патогенные бактерии, способные вызывать пищевую токсикоинфекцию, менингит, остеомиелит, пневмонию и т.д. Остальные представители рода редко вызывают заболевания у человека.

15.5.1. Возбудитель сибирской язвы (*Bacillus anthracis*)

Bacillus anthracis (от греч. *anthrax* — уголь, образуется сибиреязвенный карбункул угольного цвета) вызывает острую зоонозную инфекцию, характеризующуюся серозно-геморрагическим воспалением кожи, лимфатических узлов, внутренних органов и тяжелой интоксикацией.

Во времена Гиппократы сибирская язва была известна под названием «священный огонь» или «персидский огонь». Впервые название «сибирская язва» было дано при изучении этого заболевания во время эпидемии на Урале С.С. Андриевским в 1786–1788 гг. Чистую культуру возбудителя выделил Р. Кох в 1876 г.

Морфология. Бактерии — крупные неподвижные грамположительные палочки размером $5-10 \times 1-2$ мкм с обрубленными концами. В мазках чистой культуры образуют длинные цепочки, напоминающие «бамбуковую трость». В препаратах из патологического материала располагаются поодиночке, парно или короткими цепочками. В организме или на среде с нативной сывороткой образуют капсулу. При неблагоприятных условиях (вне организма, при свободном доступе кислорода и т.п.) образуют овальные споры, расположенные центрально; диаметр споры не превышает толщину клетки.

Культуральные свойства. *B. anthracis* — аэроб или факультативный анаэроб. Хорошо растет на простых питательных средах при 35–37 °С. Оптимум pH 7,2–7,6. На мясопептонном агаре образует крупные, шероховатые, матовые, серовато-белые колонии с неровными краями, с отходящими от них волнистыми отростками, напоминающими при просмотре в микроскопе «гриву льва» или «голову медузы» (R-колонии). На мясопептонном бульоне возбудитель растет в виде «ватных хлопьев», без помутнения среды.

Биохимические свойства. *B. anthracis* биохимически активен. Ферментирует углеводы (глюкозу, фруктозу, декстран, крахмал, мальтозу) с образованием кислоты без газа; разжижает желатину (при посеве растет в виде «перевернутой елочки»), казеин, фибриноген, фибрин, альбумин; выделяет H_2S ; не образует лецитиназу и щелочную фосфатазу (в отличие от сапрофитных бацилл).

Антигенная структура. Имеет видоспецифический капсульный антиген, представленный полипептидом D-глутаминовой кислоты, не обладающий иммуногенными свойствами. Родоспецифический соматический антиген представлен полисахаридами клеточной стенки. Это термостабильный антиген-гаптен, используемый при постановке реакции термопреципитации по Асколи,

неиммуногенен. Протективный антиген, входящий в состав сибиреязвенного экзотоксина, отвечает за формирование в организме защитных антител.

Факторы патогенности. Основной фактор патогенности возбудителя — **экзотоксин**, синтез которого кодируется плазмидами. Экзотоксин содержит три фактора: летальный фактор, протективный антиген и фактор, вызывающий отек. Эти компоненты по отдельности не способны проявлять токсическое действие. Летальный фактор представлен цинкзависимой металлопротеазой, инактивирует протеинкиназы и избирательно поражает макрофаги. Протективный антиген координирует сборку отечного и летального факторов. Отечный фактор является кальмодулинзависимой аденилатциклазой, вызывающей повышение уровня АМФ в клетке-мишени и нарушение проницаемости клеточной стенки. Экзотоксин начинает вырабатываться при попадании в организм и в питательных средах, содержащих компоненты животных или человека.

Капсула препятствует фагоцитозу, способствует адгезии на тканях, снижает бактерицидную активность сыворотки крови.

Споры сибирской язвы могут быть использованы в качестве биологического оружия. Преимущественным способом распространения спор является ингаляционный, с помощью аэрозоля, так как легочная форма болезни отличается высокой степенью тяжести, сложной симптоматикой, скоротечностью и высокой летальностью. Защита от аэрозоля надежно обеспечивается противогазами и респираторами.

Резистентность. Вегетативные формы возбудителя чувствительны к 5% раствору карболовой кислоты, 1% сулемы, 5% хлорной извести, формалину (гибель в течение 2–3 мин). Инактивируются при 60 °С в течение 15 мин, при кипячении через 1–2 мин.

Споры *B. anthracis* отличаются очень высокой устойчивостью: в почве сохраняются десятки лет, в воде — несколько лет; под действием прямых солнечных лучей выдерживают до 20 сут; замораживание в жидком азоте (–190 °С) не нарушает их жизнедеятельности. Инактивация спор достигается автоклавированием при 160–170 °С и обработкой текучим паром (110 °С) в течение 5 мин.

B. anthracis обладает высокой чувствительностью к широкому спектру антибиотиков, а также к сибиреязвенным бактериофагам. Чувствительность к пенициллину используется в тесте «жемчужного ожерелья»: при выращивании на среде с пенициллином возбудитель образует сферопласты, расположенные цепочкой в виде «жемчужного ожерелья», выявляемого при микрокопии мазка.

Эпидемиология. Сибирская язва распространена повсеместно, особенно в районах с развитым животноводством. Источник инфекции — больные животные (лошади, коровы, козы, ослы, овцы, олени, верблюды, свиньи и др.). Резервуаром возбудителя служит инфицированная почва. Животные заражаются при проглатывании спор (не исключен трансмиссивный путь передачи), выделяя в последующем возбудителя во внешнюю среду с мочой, калом, кровянистыми выделениями. После их гибели заразными считаются все органы

или ткани, кровь, шкура, шерсть, кости, рога, копыта. Человек заражается аэрогенным, фекально-оральным, контактным и редко кровавым механизмом через укусы членистоногих (слепней, мух, комаров). Сам человек является биологическим тупиком.

Патогенез. Входными воротами для возбудителя сибирской язвы чаще всего служит поврежденная кожа, реже слизистые оболочки дыхательных путей и ЖКТ. Споры *B. anthracis* поглощаются макрофагами, прорастают в них, превращаются в инкапсулированные вегетативные формы. Продуцируя отечный и летальный факторы, они вызывают местные отеки, выпот и некротические повреждения. В результате размножения в лимфатических узлах развивается региональный лимфаденит с последующим выходом возбудителя в кровь (бактериемия). Выработка экзотоксина в крови приводит к токсинемии с последующим шоком и гибелью инфицированного организма.

Клиника зависит от пути проникновения возбудителя. Кожная форма характеризуется развитием сибиреязвенного карбункула, сопровождающегося общей интоксикацией. Карбункул черного цвета, плотный, с серозно-геморрагическим отделяемым. Характерный симптом — отсутствие боли в зоне карбункула и безболезненный отек вокруг него.

Легочная форма сопровождается одышкой, цианозом, болями при дыхании, хрипами, выделением ржаво-красной мокроты. Часто заканчивается шоком и смертью больного.

Гастроинтестинальная форма сопровождается поражением лимфатического аппарата кишечника с последующим прорывом лимфоузлов, выходом возбудителя в кровь и развитием сепсиса. Клинически проявляется поносом с кровью, болями в животе, парезом кишечника. Нередко наступает летальный исход.

Иммунитет. После перенесенного заболевания развивается стойкий клеточно-гуморальный иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат отделяемое пустул, карбункулов, язв; кровь, мокрота, испражнения, а также шерсть, кожа и мех животных. Для диагностики используют все методы. *Бактериоскопический метод:* мазки из исследуемого материала окрашивают по Граму и для выявления капсулы. *Бактериологический метод:* проводят посев исследуемого материала на мясопептонный агар с последующей идентификацией по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим свойствам и определением чувствительности к сибиреязвенному бактериофагу. Важно дифференцировать *B. anthracis* от сапрофитных бацилл по неподвижности, наличию капсулы, положительному тесту «жемчужного ожерелья», продукции фосфатазы, отсутствию лецитиназы и гемолитической активности. Ставят реакцию термопреципитации по Асколи на наличие в исследуемом материале (шкуры, органы павшего животного, экстракты из струпов больного, органов умерших) сибиреязвенного термостабильного антигена. *Биологический метод:* пробы с исследуемым материалом ставят на белых мышах или морских

свинках в целях обнаружения возбудителя. *Аллергологический метод* включает постановку кожно-аллергической пробы с антраксином (сибиреязвенным аллергеном). Реакция положительна с первых дней заболевания. Широко используют методы *экспресс-диагностики*: РИФ, ПЦР.

Лечение. Наряду с антибиотикотерапией возможно применение противосибиреязвенного иммуноглобулина.

Профилактика. Неспецифическая профилактика очень важна и включает: контроль за сырьем животного происхождения, особенно шкурами; сжигание трупов погибших животных и зараженных объектов, при невозможности сжигания необходима правильная организация скотомогильников с соблюдением всех санитарных требований; обеззараживание мест содержания больных животных; экстренную изоляцию больных и подозрительных животных.

Для специфической профилактики используют живую сибиреязвенную вакцину (СТИ — Санитарно-технический институт). Для экстренной профилактики, в первые 5 дней после контакта с инфицированным материалом, показано введение противосибиреязвенного иммуноглобулина.

15.5.2. Спорообразующие бактерии рода *Clostridium*

Род *Clostridium* включает в себя подвижные палочки, образующие овальные или круглые споры, придающие им веретенообразную форму (от греч. *kloster* — веретено). На ранних стадиях культивирования они грамположительны, а на более поздних сроках могут быть грамотрицательными. Хемоорганотрофы; проявляют сахаролитическую и протеолитическую активность. 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 являются облигатными анаэробами; существуют аэротолерантные виды. Род *Clostridium* включает в себя виды, обитающие в почве, на дне пресных и соленых водоемов, в кишечнике человека и животных; отдельные виды патогенны для человека.

15.5.2.1. Клостридии столбняка (*Clostridium tetani*)

Столбняк — острая раневая токсинемическая инфекция, сопровождающаяся клоническими и тоническими судорогами. Вызывается видом *Clostridium tetani*, относящимся к роду *Clostridium* семейству *Clostridiaceae*.

Возбудитель открыт Н.Д. Монастырским (1883), Э. Николайером (1884), чистая культура выделена С. Китагато (1889).

Морфология. Вегетативные клетки — прямые палочки с закругленными концами размером $4-8 \times 0,3-0,8$ мкм, подвижны (перитрихи), с характерным

терминальным расположением спор, диаметр которых превышает толщину клетки, вследствие чего бактерия принимает форму «барабанной палочки». Располагаются беспорядочно или цепочками. По Граму окрашиваются положительно.

Культуральные свойства. Возбудитель столбняка — облигатный анаэроб. На МПА и желатине образует R-колонии (шероховатые, серовато-желтые) или S-колонии (гладкие, прозрачные). В столбике сахарного агара R-колонии имеют вид пушинок с плотным центром, а S-колонии — чечевицеобразные. На поверхности кровяного агара *C. tetani* образует зону гемолиза. На среде Китта–Тароцци (мясопептонный бульон с добавлением кусочков печени или мяса) происходит медленный рост с равномерным помутнением и неприятным запахом. Длительность культивирования — 24–48 ч, оптимум pH для роста — 6,8–7,4. Температурный оптимум роста — 37 °C.

Биохимические свойства. Биохимическая активность низкая. Большинство штаммов инертно к углеводам. Возбудитель проявляет слабые протеолитические свойства, медленно расщепляет белки и пептоны до аминокислот. Последние разлагаются до угольной кислоты, водорода, аммиака, индола и летучих кислот (уксусной, масляной, пропионовой). *C. tetani* образует желатиназу и рениноподобный фермент, вызывающий появление затемненных зон вокруг колоний на молочном агаре.

Антигенная структура. У *C. tetani* выявляют О- и Н-антигены. По жгутиковым антигенам выделяют 10 сероваров, которые продуцируют идентичные по своим антигенным свойствам экзотоксины.

Фактор патогенности возбудителя — столбнячный экзотоксин, состоящий из двух субстанций: **тетаноспазмина** (нейротоксина), ведущего в патогенезе столбняка, и **тетанолизина** (тетаногемолизина). Столбнячный токсин относится к белку из класса металлопротеиназ, действующих на специфические белки аппарата нейроэктоцитоза клеток ЦНС; высвобождается в процессе лизиса бактерий. Является одним из самых сильных биологических ядов после ботулинического токсина (смертельная доза для человека — 1 нг/кг массы тела).

Резистентность. Споры устойчивы к низким температурам (выдерживают –40...–60 °C), нагреванию (выдерживают кипячение до 6 ч), 5% раствору фенола (в течение 14 ч), 1% раствору сулемы в течение 8–10 ч и к γ -облучению. Споры инактивируются при автоклавировании при 130 °C в течение 20 мин. Резистентность вегетативных форм возбудителя низкая: они разрушаются при кипячении через 5 мин.

Эпидемиология. Возбудитель столбняка распространен повсеместно. Будучи нормальным обитателем кишечника человека и животных, он попадает в почву, где в виде спор может сохраняться годами, десятилетиями. Столбняк — сапронозное заболевание; основным источником инфекции является почва. Механизм передачи — контактный, путь — раневой (загрязнение раны обсемененной землей либо через загрязненные перевязочный материал, медицинские

инструменты и др.). В зоне риска по заболеваемости столбняком находятся лица, участвующие в боевых действиях, работники сельского хозяйства, жители регионов с теплым климатом. Возможно развитие столбняка у новорожденных при инфицировании пуповины. Больной столбняком незаразен для окружающих.

Патогенез. Входные ворота инфекции — рана с наличием анаэробных условий, в которой споры *C. tetani* превращаются в вегетативные палочки, выделяющие экзотоксин. Бактерии редко покидают пределы первичного очага инфицирования. Экзотоксин далее распространяется с током крови, а также по периневральному и эндоневральному щелям. Тетаноспазм связан с нервно-мышечным соединением и путем эндоцитоза попадает в двигательный нерв; происходит ретроградный аксональный транспорт этого токсина к мотонейронам спинного, продолговатого мозга и ретикулярной формации ствола, где он начинает препятствовать выходу тормозных нейромедиаторов. В результате блокируется расслабление противоположных групп мышц-антагонистов и как следствие возникают клонические и тонические судороги. Тетанолизин вызывает лизис эритроцитов, оказывает мембранотоксическое действие на ткани мозга, сердца, легких, печени, почек, тем самым утяжеляя течение процесса.

Клиника. Инкубационный период длится от одного дня до нескольких недель, в среднем 6–14 дней. Чем короче инкубационный период, тем тяжелее протекает столбняк. При посттравматическом столбняке летальность составляет 45–50%. Заболевание начинается остро. Первым симптомом выступает спазм жевательных мышц (тризм) и затылочных мышц. Далее развивается спазм мимической мускулатуры в виде «сардонической улыбки». И наконец, происходит спазм мускулатуры туловища и конечностей (опистотонус). При постабортном, постоперационном столбняке чаще бывают молниеносные формы с летальностью 70%. Наиболее тяжелая форма столбняка с летальностью до 90% встречается у новорожденных.

Иммунитет. Иммунитет не формируется, так как токсическая доза тетанотоксина во много раз ниже дозы иммуногенной.

Микробиологическая диагностика. Исследуют содержимое раны (гной, кусочки тканей, экссудат), перевязочный материал, кетгут, кровь; при постабортной инфекции — содержимое матки, при столбняке новорожденных — материал из пупочного канатика. Токсины клостридий обнаруживают с помощью *биологического метода* (постановка РН с соответствующими антитоксическими сыворотками на белых мышах) или *серологического метода* (постановка РНГА, ИФА, латекс-агглютинации, коагглютинации). Для поиска возбудителя применяют *бактериоскопический метод*: обнаружение в мазках из исследуемого материала прямых грамположительных палочек с терминальным расположением спор позволяет ориентировочно сделать заключение о присутствии клостридий. *Бактериологический метод*: выделение возбудителя проводят путем посева на среду Китта–Тароцци для накопления возбудителя с последующим

пересевом на кровяной агар и в столбик сахарного агара. Выделенную чистую культуру идентифицируют по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим свойствам, а также определяют ее токсигенность. Для экспресс-диагностики используют РИФ.

Лечение. Для нейтрализации токсина вводят гетерологическую противостолбнячную сыворотку по Безредке или противостолбнячный иммуноглобулин человека. Антибактериальные препараты: метронидазол, тинидазол.

Профилактика. При травмах обязательна хирургическая обработка раны. Экстренная профилактика проводится при травмах, ожогах, обморожениях, укусах животных, при внебольничных абортах. Для экстренной профилактики ранее привитым вводят 0,5 мл АС-анатоксина (адсорбированного столбнячного анатоксина). Непривитым вводят 1 мл АС-анатоксина и 250 МЕ противостолбнячного иммуноглобулина человека или 3000 МЕ противостолбнячной антитоксической сыворотки (по Безредке). Для создания активного искусственного иммунитета детям с 3-месячного возраста вводят: АКДС (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина), АДС (адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин), АДС-М (адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин с уменьшенным содержанием антигенов), АС-М (адсорбированный столбнячный анатоксин с уменьшенным содержанием антигенов). Ревакцинация после последней иммунизации — каждые 10 лет. Для иммунизации военнослужащих по эпидемиологическим показаниям используют секстанатоксин (смесь столбнячного анатоксина, противогангренозных анатоксинов *C. perfringens*, *C. novyi* и ботулинических анатоксинов типов А, В, Е).

15.5.2.2. Клостридии ботулизма (*Clostridium botulinum*)

Ботулизм (от лат. *botulus* — колбаса, поскольку первые описанные случаи заболеваний были обусловлены употреблением колбас) — тяжелое инфекционное заболевание, вызываемое токсигенными штаммами *Clostridium botulinum*, с преимущественным поражением центральной и вегетативной нервной системы. Возбудитель относится к роду *Clostridium* семейству *Clostridiaceae*.

Морфология. Вегетативные клетки — палочки с закругленными концами размером 4–8 × 0,6–0,8 мкм, подвижны (перитрихи). При неблагоприятных условиях клетка образует эндоспору, расположенную субтерминально, диаметр ее превышает толщину клетки, вследствие чего бактерия принимает форму «теннисной ракетки». Молодые клетки грамположительны, при старении культуры (через 4–5 суток роста) палочки окрашиваются грамотрицательно.

Культуральные свойства. Возбудитель ботулизма — строгий анаэроб и хорошо растет без доступа воздуха на плотных и жидких питательных средах. На кровяном агаре образуют мелкие линзообразные колонии серовато-желтовато-

го цвета, окруженные зоной гемолиза. На печеночном агаре — рост полиморфных колоний звездчатой формы. В столбике сахарного агара видны R-колонии в виде пушинок с плотным центром и чечевицеобразные S-колонии. На жидких питательных средах типа среды Китта–Тароцци вызывают помутнение среды и газообразование. Культура бактерий во время роста приобретает запах прогорклого масла. Длительность культивирования — 24 ч. Оптимум pH для роста — 7,2–7,4, а для прорастания спор — 6,0–7,2. Температурный оптимум роста — 28–35 °C.

Биохимические свойства. Все типы *C. botulinum* образуют желатиназу, лецитиназу и H₂S, проявляют широкий спектр сахаролитической активности (бактерии типов А, В, Е и F ферментируют глюкозу, левулезу, фруктозу, мальтозу и сахарозу; типов С и D — глюкозу и мальтозу; тип G инертен к углеводам). *C. botulinum* типов А и В обладают выраженными протеолитическими свойствами, разлагают свернувшийся яичный белок и гидролизуют желатин. По биохимическим свойствам выделяют четыре группы бактерий:

- 1) бактерии I группы проявляют выраженные протеолитические свойства, гидролизуют желатин и эскулин, ферментируют глюкозу и мальтозу, проявляют липазную активность на яичном агаре;
- 2) бактерии II группы проявляют сахаролитическую активность, но лишены протеолитической;
- 3) для бактерий III группы характерны липазная активность и гидролиз желатина;
- 4) бактерии IV группы гидролизуют желатин, но не проявляют сахаролитических свойств и липазной активности, что послужило основанием для предложения выделить их в отдельный вид — *C. argentiense*.

Антигенная структура. Серологическая идентификация *C. botulinum* основана на выявлении токсинов, по их структуре бактерии разделяют на 8 сероваров — А, В, С₁(α), С₂(β), D, Е, F, G. Антигенная структура бактерий остается малоизученной, показано наличие жгутиковых H-антигенов и типоспецифических антигенов. Оптимальная температура для токсинообразования переменна: 35 °C для бактерий типов А, В, С и D; 28–30 °C для бактерий типов Е и F.

Факторы патогенности. Ботулинический **экзотоксин** — самый сильный в природе бактериальный токсин (смертельная доза для человека 0,005 мг). Для человека патогенны токсины бактерий типов А, В, Е, F, самый сильнодействующий — тип А. Ботулинический токсин представляет собой смесь различных белков, из которых основными являются **нейротоксин** (биологически активный компонент ботулотоксина) и нетоксичные протеины, стабилизирующие молекулу нейротоксина. Ботулинический токсин термолабилен, при 80 °C он разрушается в течение 30 мин. Используется для идентификации возбудителя.

Ботулотоксин нашел применение в медицине:

- в неврологии — при фокальных дистониях (неврологический синдром, характеризующийся продолжительными мышечными сокращениями), при

детском церебральном параличе и гипергидрозе (повышенной потливости);

- в урологии — при детрузорно-сфинктерной диссинергии у больных с повреждением позвоночника и нарушением мочеиспускания вследствие недостаточного расслабления поперечно-полосатого сфинктера уретры;
- в косметологии — введение ботулотоксина в мимические мышцы лица в целях их расслабления.

Ботулинический токсин может быть использован в качестве биологического оружия, например в виде аэрозоля. Дезактивировать его можно только с помощью водных растворов активного хлора (например, 0,1–0,2% растворами хлораминов или гипохлоритов) или растворов формальдегида. Защита от аэрозоля надежно обеспечивается противогазами и респираторами.

Резистентность. Возбудитель ботулизма обитает в почве. Превращаясь в споры, *C. botulinum* может долгие годы сохраняться в окружающей среде. Инактивация спор достигается автоклавированием при 160–170 °С в течение 60–120 мин, обработкой формалином в течение 24 ч или этиловым спиртом в течение 2 ч. Вегетативные формы возбудителя устойчивы в консервантах, при высокой концентрации NaCl. Они инактивируются при 80 °С в течение 30 мин или 3–5% щелочью через 3–5 мин.

Эпидемиология. Ботулизм — сапронозное заболевание. Резервуаром и источником инфекции являются почва и травоядные животные, в кишечнике которых *C. botulinum* накапливаются в огромном количестве. Механизм передачи — фекально-оральный, путь — алиментарный. Из почвы споры могут попадать на продукты питания (консервы домашнего приготовления, рыба домашнего копчения, свиная колбаса, овощные консервы и др.), где при возникновении анаэробных условий прорастают и выделяют токсин. В зоне риска находятся жители регионов с теплым климатом.

Патогенез. Ботулизм — токсинемическая инфекция, ведущим фактором патогенности микроба является ботулинический экзотоксин, вызывающий **пищевую интоксикацию**. Всасывание токсина происходит в желудке и частично в верхних отделах тонкой кишки. С током крови токсин попадает в органы и ткани, вызывая их поражение. Наиболее чувствительна к действию ботулинического токсина нервная ткань. Механизм действия заключается в пресинаптической блокаде выброса ацетилхолина в нервно-мышечных окончаниях двигательных нервов и в любых других холинергических синапсах. Поражаются главным образом мотонейроны спинного и продолговатого мозга, вследствие чего возникают паралитический синдром и бульбарные расстройства (нарушение глотания, речи и др.).

Клиника. **Инкубационный период** длится от нескольких часов до 10 суток, чаще составляет 24 ч. Его продолжительность зависит от дозы токсина, реактивности организма и др. Первые симптомы болезни, с которыми чаще всего больной обращается к врачу, это нарушение акта глотания, расстройства зрения

(диплопия) и речи. При прогрессировании заболевания возникает нарушение дыхания. Возможен паралич дыхательной мускулатуры с остановкой дыхания и смертью.

Иммунитет. Иммунитет не формируется, так как токсическая доза ботулинического экзотоксина во много раз ниже иммуногенной дозы.

Микробиологическая диагностика. Для обнаружения токсина или возбудителя исследуют кровь, рвотные массы, промывные воды желудка, фекалии, мочу, а также пищевые продукты. Ботулинический экзотоксин и его тип определяют с помощью постановки РН на мышах, которым внутрибрюшинно вводят смесь исследуемого материала с диагностическими ботулиническими сыворотками А, В, Е, F. Ботулинический токсин также определяется с помощью РНГА (РОНГА). Разработан способ обнаружения возбудителя ботулизма и его токсина методами РИФ и ИФА.

При *бактериологическом методе* проводится посев на среду Китта–Тароцци для накопления возбудителя с последующим пересевом в столбик сахарного агара и на кровяной агар.

Лечение. Для нейтрализации токсина вводят противоботулиническую сыворотку. Поскольку в первые дни болезни тип *C. botulinum* неизвестен, назначают поливалентную противоботулиническую сыворотку, содержащую антитела против токсинов бактерий типов А, В и Е. С установлением типа бактерий переходят к использованию специфической моновалентной сыворотки. Сыворотку вводят по Безредке. Одновременно назначают левомицетин.

Профилактика. Решающее значение имеет санитарно-гигиенический контроль за продуктами питания, особенно при производстве консервов. Вздутые консервные банки бракуют. Важно предохранять мясопродукты, рыбу, овощи и другие продукты от загрязнения почвой. При групповых заболеваниях ботулизмом лицам, употреблявшим подозрительный продукт, с профилактической целью вводят поливалентную противоботулиническую сыворотку. Для специфической профилактики используют трианатоксин (смесь ботулинических анатоксинов типов А, В, Е) или тетранатоксин (смесь ботулинических анатоксинов типов А, В, Е и столбнячного анатоксина).

15.5.2.3. Клостридии газовой гангрены

Газовая гангрена — тяжелая раневая инфекция, вызываемая бактериями рода *Clostridium* семейства *Clostridiaceae* и характеризующаяся острым тяжелым течением с интоксикацией, некрозом тканей и их распадом. Преимущественную роль играют возбудители четырех видов: *C. perfringens* (70–80% случаев), *C. novyi* (*C. oedematiens*) (20–30% случаев), *C. septicum* (10–15% случаев) и *C. histolyticum* (5–10% случаев).

В 1562 г. Амбруаз Паре впервые описал анаэробную инфекцию, назвав ее госпитальной гангреной. Н.И. Пирогов в 1848 г. подробно описал ее клиническую

картину. Синонимами термина «анаэробная инфекция» являются: газовая гангрена, анаэробная гангрена, госпитальная гангрена, антонов огонь, голубая либо бронзовая рожа. В настоящее время выражение «анаэробная инфекция» может означать инфекцию, вызываемую не только представителями рода *Clostridium*, но и так называемыми неклостридиальными анаэробами.

Морфология. Vegetативные клетки — крупные прямые палочки с обрубленными или закругленными (*C. histolyticum*) концами. Клетки разных штаммов могут отличаться друг от друга по своей толщине (0,4–2,0 мкм) и длине (4,0–15,0 мкм). Располагаются клостридии парами или цепочками. Из дополнительных факторов дифференцирующим признаком служит наличие капсулы и отсутствие жгутиков только у *C. perfringens*. Клостридии хорошо окрашиваются анилиновыми красителями. Они грамположительные, имеют овальные или сферические споры, расположение которых зависит от вида: центральное расположение у *C. perfringens*, субтерминальное у *C. novyi* и *C. septicum* или терминальное у *C. histolyticum*. Диаметр превышает толщину клетки, вследствие чего бактерии принимают различные формы (булавовидную или веретенообразную).

Культуральные свойства. Возбудители газовой гангрены — строгие анаэробы, поэтому необходимо обеспечить должный анаэробизм при культивировании. Для этого используют различные методы: физический (регенерация сред — кипячение среды с последующим быстрым охлаждением и заливанием поверхности вазелиновым маслом или парафином; посев в «высокий столбик» питательной среды; применение анаэростатов); химический (использование газогенераторных систем типа Gas-Pack, добавление в питательные среды кислородредуцирующих веществ — тиогликолевой кислоты, тиогликолята натрия, цистеина и др.); биологический (совместное выращивание анаэробов и аэробов — метод Фортнера).

В жидких питательных средах (например, среда Китта–Тароцци) клостридии дают помутнение и газообразование. Особенно интенсивно растут *C. perfringens* (при 43 °C) в течение 1–3 ч, а другие виды — через 12–18 ч. При посеве возбудителей газовой гангрены в «высокий столбик» сахарного агара могут наблюдаться три варианта колоний: гладкие (S), шероховатые (R) и слизистые (M). S-колонии — чечевицеобразные или дискообразные, R-колонии растут в виде пушинок с плотным центром. На поверхности плотных сред S-колонии в начале роста напоминают пенные капли росы, затем теряют свою прозрачность и становятся серовато-белыми, куполообразными, с гладкой блестящей поверхностью и ровными краями. R-колонии имеют неправильную форму с фестончатыми краями и бугристой поверхностью. M-колонии похожи на S-колонии, отличаясь более высоким куполом и слизистой консистенцией. На кровяном агаре колонии всех видов клостридий, кроме *C. histolyticum*, окружены зоной гемолиза.

Сульфитредуцирующие свойства возбудителей газовой гангрены выявляются на «высоком столбике» железосульфитной среды Вильсона–Блера, где проис-

ходит почернение среды с множественными разрывами агара (*C. perfringens* через 4–6 ч). Для *C. perfringens* также характерен рост на лакмусовом молоке: через 2–4 ч инкубации при температуре 43 °С в среде появляются кирпично-красный пронизанный пузырьками газа творожистый осадок казеина и прозрачная сыворотка. На желточно-молочно-лактозном агаре (среда Виллиса–Хоббса) находят липолитические свойства клостридий в виде появления белых опалесценций вокруг колоний, лецитиназные свойства в виде перламутровой (жемчужной) опалесценции, а также рост лактозоположительных колоний. Оптимум роста: pH 7,0–7,4, температура 37 °С (для ускоренной диагностики 42–43 °С).

Биохимические свойства. Все штаммы сбраживают многие углеводы с образованием кислоты и газа, не ферментируют манит; некоторые штаммы могут разлагать глицерин, инулин и крахмал. Большинство штаммов *C. perfringens* обладают слабыми протеолитическими свойствами, вырабатывают ферменты, разжижающие желатин.

Антигенная структура. Основу классификации возбудителей газовой гангрены по антигенному признаку составляют тип и характеристики экзотоксинов, вырабатываемых бактериями. У *C. perfringens* выделяют шесть сероваров (А, В, С, D, Е, F), все они образуют α -токсин (лецитиназу). У *C. novyi* обнаружено четыре серовара (А, В, С, D), в патологии человека значимы только возбудители типа А. Другие возбудители газовой гангрены не классифицированы по признаку продуцируемых токсинов.

Факторы патогенности. Бактериями *C. perfringens* продуцируется наиболее сложный токсический комплекс, состоящий из нижеперечисленных токсинов (ферментов):

- **α -токсин**, или лецитиназа С, интенсивно продуцируемый бактериями типа А, оказывает дерматонекротизирующее, гемолитическое и летальное действие (убивает лабораторных животных при внутривенном введении);
- **β -токсин**, продуцируемый бактериями типов В и С, проявляет некротизирующее и летальное действие, вызывает некротический энтерит;
- **δ -токсин**, в основном продуцируемый бактериями типов В и С, оказывает летальное и гемолитическое действие;
- **θ -токсин**, в основном продуцируемый бактериями типа С, вызывает дерматонекротизирующее, летальное и гемолитическое действие;
- **ϵ -токсин**, продуцируемый бактериями типа В, оказывает летальное и дерматонекротизирующее действие;
- **κ -токсин** (коллагеназа и желатиназа), продуцируемый бактериями типов А, С, разрушает ретикулярную ткань мышц и коллагеновые волокна соединительной ткани, оказывает летальное и некротизирующее действие;
- **λ -токсин** (протеиназа), обуславливающий некротические свойства, расщепляющий денатурированный коллаген и желатину;
- **γ - и η -токсины**, оказывающие летальное действие на лабораторных животных; их биохимическая природа остается неизвестной;

- **μ-токсин**, ответственный за повышенную проницаемость тканей;
- **ν-токсин** (дезоксирибонуклеаза), расщепляющий нуклеиновые кислоты.

Для человека патогенны токсины *C. perfringens* типов А, В, С. Мишени для основных токсинов — биологические мембраны в различных тканях. Поражения обусловлены ферментативными процессами, катализирующими гидролитическое расщепление и нарушение клеточной проницаемости с последующим отеком и аутолизом тканей, характерными для газовой гангрены. Другие виды клостридий (*C. novyi*, *C. septicum*, *C. histolyticum*) продуцируют токсины, представляющие собой различные по структуре и функциям белки, обладающие летальными, некротизирующими и гемолитическими свойствами. *C. novyi* вырабатывает восемь токсинов, определяющих патогенность, *C. septicum* — пять токсинов, а *C. histolyticum* — четыре токсина.

Клостридии *C. perfringens* типов А и С образуют **энтеротоксин**, вызывающий пищевые токсикоинфекции. Это термолабильный протеин, образующийся при споруляции бактерий в толстой кишке; его практически не образуют лабораторные культуры, он быстро разрушается при термической обработке пищевых продуктов. Также у *C. perfringens* в качестве фактора патогенности имеет значение капсула, препятствующая фагоцитозу бактерий.

Резистентность. Возбудители газовой гангрены чувствительны к температуре 80 °С в течение 30 мин, инактивируются 1% раствором хлорамина, 6% раствором перекиси водорода. Споры устойчивы к кипячению в течение 20–160 мин. Инактивация спор достигается автоклавированием при 130 °С в течение 20 мин. В почве и воде споры могут сохраняться десятки лет. Токсины *C. perfringens* относительно быстро (несколько часов) разрушаются под влиянием различных факторов внешней среды. Наибольшей устойчивостью отличаются предшественники экзотоксина — протоксины, которые в неактивной форме могут выдерживать даже кипячение в течение 30 мин.

Эпидемиология. Газовая гангрена — сапронозное заболевание. *C. perfringens* является нормальным обитателем кишечника человека и животных, в почву попадает с испражнениями. Механизм передачи — контактный, путь — раневой (загрязнение раны обсемененной землей либо через контаминированный перевязочный материал, медицинские инструменты, руки). В зоне риска по заражению находятся лица, участвующие в боевых действиях.

Патогенез. Входные ворота инфекции — рана с наличием анаэробных условий. Предрасполагающими факторами для развития газовой гангрены служат повреждение костей, некроз и разрушение мягких тканей. В благоприятных условиях споровые формы возбудителей газовой гангрены превращаются в вегетативные, продуцирующие экзотоксины и ферменты, определяющие клиническую картину заболевания. Экзотоксины с током крови попадают в мышцы, повреждая их. Газовая гангрена является полимикробной инфекцией: в ране присутствуют различные клостридии и другие бактерии.

Клиника. Инкубационный период — 1–3 дня. В начале заболевания в области раны появляется сильная боль с нарастающим холодным безболезненным отеком. Кожа в зоне отека становится напряженной с сине-багровыми и зелеными пятнами. Через несколько часов к отеку присоединяется крепитация вследствие газообразования. Рана зияет, отделяемое незначительное, грязно-серого или коричнево-красного цвета, с неприятным гнилостным запахом. Пораженные мышцы цвета вареного мяса в дальнейшем приобретают черно-бурую окраску. Общее состояние тяжелое, выраженная интоксикация.

C. perfringens серотипов А и С могут вызывать пищевые токсикоинфекции. Заболевание начинается остро, с болями в животе, рвотой, диареей, общей интоксикацией.

Иммунитет. Иммунитет после перенесенного заболевания не формируется.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служит содержимое раны — гной, кусочки тканей, экссудат, кровь. При пищевых отравлениях исследуют рвотные массы, фекалии, кровь, остатки продуктов. *Бактериоскопический метод:* в мазках из исследуемого материала, окрашенных по Граму, выявляют крупные грамположительные палочки с капсулами. *Бактериологический метод:* материал от больного засевают на среды обогащения (среда Кита–Тароцци), с последующим пересевом на кровяной агар. Выделенную чистую культуру идентифицируют по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и токсигенным свойствам. Используют также ускоренные методы обнаружения клостридий — посев материала и инкубация при 43 °С на лакмусовом молоке и среде Вильсона–Блэра. Токсины клостридий обнаруживают в реакции нейтрализации с соответствующими антитоксическими сыворотками на белых мышах или с помощью РНГА, ИФА. Используют также метод *газожидкостной хроматографии* для обнаружения летучих метаболитов анаэробов (пропионовой, масляной и других летучих жирных кислот).

Лечение. Первая помощь заключается в радикальной обработке очага инфекции (раны). Путем широкого иссечения кожи, начиная от границы измененной ее окраски, а также тканей пораженной зоны с удалением патологически измененной подкожной клетчатки, фасции, мышцы. Обязательно проводят антибактериальную терапию. Параллельно для нейтрализации токсина вводят по методу Безредки противогангренозную поливалентную лошадиную сыворотку (содержит антитела против токсинов *C. perfringens* типа А, *C. novyi* типа А и *C. septicum*). Гипербарическая оксигенация помогает добиться ограничения процесса, дополняя хирургическое и антибактериальное воздействие.

Профилактика. Для активной иммунизации предназначен секстанатоксин (смесь анатоксинов *C. perfringens* и *C. novyi*, столбнячного анатоксина, ботулинических анатоксинов типов А, В, Е). Для экстренной профилактики вводят противогангренозную поливалентную антитоксическую сыворотку.

15.5.2.4. Клостридии диффициле (*Clostridium difficile*)

Clostridium difficile вызывает энтеральный клостридиоз — острое инфекционное заболевание, вызываемое антибиотикоиндуцированными штаммами, проявляющееся симптомами токсикоза, диарейным синдромом с развитием *псевдомембранозного колита*.

Морфология. *C. difficile* — грамположительные палочки с овальными субтерминальными спорами. Перитрихи.

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы. Хорошо растут на кровяном агаре.

Биохимические свойства. Проявляют низкую биохимическую активность. Ферментируют белки и углеводы. Основные продукты метаболизма: изовалериановая, изокапроновая, изомасляная, масляная и уксусные кислоты.

Факторы патогенности. *C. difficile* продуцируют токсин А (энтеротоксин), вызывающий диарею, и токсин В (цитотоксин), нарушающий функцию мембран и синтез белка.

Резистентность. В споровой форме *C. difficile* устойчивы в окружающей среде, сохраняясь до 110–180 дней, в кишечнике человека могут выживать даже при высоких концентрациях антибиотиков.

Эпидемиология. *C. difficile* — условно-патогенные бактерии. Источником инфекции является больной или бактерионоситель. Механизм передачи фекально-оральный. *C. difficile* могут принимать участие в развитии газовой гангрены и в гнойно-воспалительных процессах. Их обнаруживают в почве, воде, испражнениях домашних животных. В кишечнике людей частота обнаружения 2–5%.

Патогенез и клиника. Заболевание развивается, как правило, на фоне приема антибиотиков. Антибиотики, подавляя нормальную микрофлору кишечника, способствуют его колонизации *C. difficile*, что сопровождается появлением токсинов, поражающих толстую кишку с образованием пленки из фибрина и слизи. Заболевание проявляется приступообразными болями в животе, диареей, повышенной температурой.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — фекалии. *Бактериологический метод*: выделяют на специальных селективных средах чистую культуру, которую тестируют на токсигенность. Возможна идентификация культуры с помощью ПЦР; токсин в материале определяют с помощью ИФА.

Лечение. Применяют метронидазол, ванкомицин. Показана эффективность пробиотиков.

Профилактика. Специфическая профилактика отсутствует. Неспецифическая профилактика: соблюдение санитарно-гигиенического режима и рациональная антибиотикотерапия.

15.6. Палочки грамположительные правильной формы

15.6.1. Лактобациллы (род *Lactobacillus*)

Лактобациллы, или лактобактерии, — бактерии семейства *Lactobacillaceae* рода *Lactobacillus*, насчитывающего около 100 видов.

Морфология. Грамположительные плеоморфные палочки, часто собирающиеся в короткие цепочки. Спор не образуют, большинство видов неподвижны.

Культуральные и биохимические свойства. Аэротолерантные анаэробы, лучше растут в анаэробных условиях. Культивируют на сложных питательных средах с добавлением аминокислот. На кровяном агаре образуют колонии, окруженные зоной α -гемолиза. Обладают высокой сахаролитической активностью. Сбраживают углеводы с образованием кислот. Практически не проявляют патогенных свойств.

Эпидемиология. Лактобациллы широко распространены в природе; составляют важную часть нормальной микрофлоры человека: преобладают во влагалище, в большом количестве обитают в ЖКТ людей, во рту. Выделяя в процессе метаболизма молочную кислоту, они играют важную роль в поддержании нормального состояния влагалища, в том числе pH 3,8–4,5, препятствуя чрезмерному размножению других бактерий — *Mobiluncus spp.*, *Prevotella spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma spp.* и других обитателей, способных вызвать бактериальный вагиноз и вагинит при дисбиозах влагалища.

Лактобациллы редко вызывают заболевания: описаны бактериемии, эндокардиты, внутрибрюшинные абсцессы, менингиты, конъюнктивиты и другие заболевания у иммунодефицитных пациентов.

Резистентность. При попадании в воздух быстро погибают. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов. Многие лактобактерии устойчивы к ванкомицину, а также к цефалоспорином.

Лечение. Для лечения используют пенициллин и аминогликозиды.

15.6.2. Листерии (род *Listeria*)

Листерии вызывают зоонозную природно-очаговую инфекцию — листериоз, характеризующийся полиморфизмом клинической картины с поражением лимфатической системы, часто с септициемией и поражением нервной системы.

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.

Морфология. Листерии — мелкие грамположительные палочки ($0,5\text{--}2 \times 0,4\text{--}0,5$ 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 узкой зоной гемолиза. Некоторые штаммы образуют желтый или красноватый пигмент. Будучи микроаэрофилами, листерии лучше растут в атмосфере 5–10% CO₂. Температура культивирования 37 °С. Могут сбраживать глюкозу и некоторые другие сахара с образованием кислоты. H₂S и индол не продуцируют, желатину не разжижают. Каталазаположительны.

Антигенная структура. Обладают О- и Н-антигенами. Установлено семь 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: **интерналином** — богатым лейцином белком, связанным с клеткой бактерии, который обеспечивает поглощение микроба фагоцитами и эндотелиальными клетками; **листериолизином** — ферментом-металлопротеазой, вызывающим разрушение мембраны фагосомы и способным вызвать гемолиз 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 распространена в природе. Микроб способен 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* способна 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 гиб-

нут, но и размножаются. Они 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 клиника. Листериоз характеризуется 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 нед. 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 алергизацией 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 листерии можно обнаружить также с помощью ПЦР.

Для *серологической диагностики* используют РСК, РНГА, ИФА, исследуя нарастание титра антител в парных сыворотках. Определяют также содержание IgM.

Лечение. Этиотропная антибиотикотерапия (тетрациклин, левомецетин и др.).

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к санитарно-ветеринарным мероприятиям в эндемическом очаге.

15.7. Палочки грамположительные неправильной формы, ветвящиеся бактерии

15.7.1. Коринебактерии (род *Corynebacterium*) и коринеформные бактерии

Коринебактерии — грамположительные, прямые или слегка изогнутые тонкие палочки неправильной формы размером $0,3\text{--}0,8 \times 1,5\text{--}8,0$ мкм с заостренными или булабовидными концами. В микропрепаратах располагаются поодиночке или парами, 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 образуются метакроминовые гранулы полиметафосфата (зерна волютина). Коринебактерии неподвижны, спор не образуют, не кислотоустойчивы. Факультативные анаэробы, при культивировании они нуждаются в богатых питательных средах, таких как сывороточная или кровяная среда. Хемоорганотрофы с метаболизмом бройдильного типа, каталазоположительные. Широко распространены на растениях; у животных и человека преимущественно являются нормальными обитателями кожи и слизистых оболочек верхних дыхательных путей, ЖКТ и мочеполовых путей. Род включает более 60 видов, большинство из которых являются условно-патогенными. Типовой вид — *Corynebacterium diphtheriae*, патогенный для человека.

Коринеформные бактерии, или дифтероиды, представлены коринебактериями и бактериями, сходными с ними по морфологическим и культуральным свойствам. Они представляют собой неподвижные грамположительные аспорогенные палочки, имеющие неправильную, часто булабовидную форму и содержащие в цитоплазме метакромиатические гранулы. Помимо представителей рода *Corynebacterium* к коринеформным бактериям относятся бактерии, входящие в состав родов *Arthrobacter*, *Cellulomas*, *Kurthia* и др. По ряду признаков к ним близки актиномицеты и пропионибактерии. Данные бактерии широко распространены в воде, воздухе, почве, а также в некоторых пищевых продуктах, например молоке. 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 — комменсалы; некоторые виды патогенны для животных и растений.

C. pseudodiphtheriticum (*C. hofmannii*) имеет вид коротких и толстых прямых палочек. В мазках бактерии располагаются параллельно в виде равномерного частокола, практически не содержат зерен волютина. Факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых питательных средах. На теллуритовых средах образуют сухие мелкие серовато-белые S-формы колоний, цвет которых может варьировать, что обусловлено разной способностью восстанавливать теллур. Углеводов не ферментируют. Разлагают мочевины. Могут вызывать эндокардит или оппортунистические инфекции.

C. xerosis — представитель нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек глаз, носа и носоглотки человека. Непатоген. Имеет бочкообразную форму. Хорошо растет при 22 и 37 °С, образуя через сутки на МПА мелкие гладкие колонии. На теллуритовых средах образует выпуклые влажные серого или коричневого цвета колонии. Ферментирует ряд углеводов, мочевины не разлагает, дает отрицательную пробу на цистиназу. На коже человека обитают липофильные варианты (для роста нуждаются в липидах). Могут вызывать оппортунистические инфекции.

C. ulcerans вызывает дифтериеподобные поражения, фарингит у лиц с иммунодефицитами, кожные поражения; выделяется от здоровых лиц, а также от больных дифтерией. Патогенен для крупного рогатого скота. Может контаминировать молочные продукты и тары для их перевозки, а также вызывать заболевания при употреблении сырого молока (ангина у лиц с иммунодефицитами). По основным свойствам *C. ulcerans* сходен с биоваром *gravis* *C. diphtheriae*, но отличается по антигенной структуре. Некоторые штаммы данной бактерии продуцируют токсин, аналогичный по свойствам и антигенной структуре токсину *C. pseudotuberculosis* (*C. bovis*), вызывающему казеозные и гнойные лимфадениты у овец и язвенные поражения у домашних животных.

C. jeikeium — представитель нормальной микрофлоры кожных покровов человека. Чаще обнаруживается у мужчин, что обусловлено наличием у них на коже большого количества свободных жирных кислот, необходимых для роста данной бактерии. Может вызывать кожные поражения, пневмонию, эндокардит, перитонит, воспаление раны.

C. cystitidis наиболее часто колонизирует кожу и слизистые оболочки, особенно в области промежности; разлагает мочевины, вызывает повышение pH мочи и образование камней в мочевыводящих путях. Чаще инфицирует женщин. Обуславливает развитие цистита, пиелонефрита и бактериурию у пациентов старшего возраста, имеющих в анамнезе урологическую патологию или принимавших антибиотики широкого спектра действия.

C. minutissimum — возбудитель эритразмы, характеризующейся поражением кожных покровов в виде красновато-коричневой сыпи, локализующейся преимущественно в подмышечной и паховой областях. Характерно кораллово-красное свечение пораженных участков, облучаемых лампой Вуда. В мазках из очагов поражения выявляются плеоморфные грамположительные палочки. *C. minutissimum* способна вызывать также абсцесс легких, эндокардит и септикопиемию.

Arcanobacterium haemolyticum (ранее *C. haemolyticum*) является возбудителем хронического тонзиллита, хронических кожных поражений, целлюлита, септицемии, абсцесса головного мозга, остеомиелита. Основной путь передачи — воздушно-капельный. Факультативный анаэроб. На МПА растет медленно, лучший рост наблюдается на агаре с кровью, где образуются мелкие выпуклые прозрачные колонии, окруженные зоной полного гемолиза. По морфологическим и тинкториальным свойствам сходен с возбудителями дифтерии.

15.7.1.1. Возбудитель дифтерии (*Corynebacterium diphtheriae*)

Дифтерия — острое антропонозное инфекционное заболевание, вызываемое токсигенными штаммами *Corynebacterium diphtheriae*, характеризующееся местным фибринозным воспалением преимущественно зева и носа, а также интоксикацией, поражением сердечно-сосудистой, нервной системы, почек и надпочечников.

Возбудитель заболевания впервые был описан Э. Клебсом в 1883 г., в 1884 г. Ф. Леффлер выделил его в чистой культуре.

Таксономия. Возбудитель дифтерии относится к роду *Corynebacterium* виду *C. diphtheriae* (от греч. *coryne* — булава и *diphthera* — пленка).

Морфологические и тинкториальные свойства. *C. diphtheriae* — прямые или слегка изогнутые, тонкие грамположительные полиморфные палочки размером $0,3\text{--}0,8 \times 1,5\text{--}8,0$ мкм. Бактерии неподвижны, спор не образуют. Многие штаммы имеют микрокапсулу с входящим в ее состав корд-фактором. Клеточная стенка у *C. diphtheriae* содержит большое количество липидов, в том числе некислотоустойчивые коринеформные миколовые кислоты. Бактерии утолщены на концах за счет наличия зерен волютина (зерен Бабеша–Эрнста) на одном или обоих полюсах клетки, что придает им вид булавки или булавы. Зерна волютина окрашиваются анилиновыми красителями более интенсивно, чем цитоплазма клетки. Вследствие метакромазии они приобретают необычный цвет. Их выявляют при окраске метиленовым синим по Леффлеру, по Нейссеру или корифосфином (при люминесцентной микроскопии).

Благодаря разламывающему механизму деления клетки *C. diphtheriae* располагаются под углом, напоминая латинские буквы L, X, V, Y или «растопыренные» пальцы рук. Такое расположение более характерно для патогенных дифтерийных палочек, тогда как коринеформные бактерии, являющиеся представителями нормальной микрофлоры, чаще располагаются в микропрепаратах в виде «частокола» из нескольких параллельно лежащих клеток.

Культуральные и биохимические свойства. Возбудитель дифтерии — факультативный анаэроб, культивируется при 37°C (pH 7,4–8,0), хемоорганогетеротроф, каталазоположителен. Он требователен к условиям культивирования, растет на питательных средах с добавлением гемолизированной крови, лошадиной или бычьей сыворотки, обогащенных аминокислотами, пуриновыми и пиримидиновыми основаниями. Для культивирования *C. diphtheriae* используют дифференциально-диагностические и элективные кровяные теллуритовые среды Клауберга II или среду Тинсдаля (сывороточный агар с теллуритом калия и цистином), а также элективную среду Ру (свернутая лошадиная сыворотка) и др.

Выделяют четыре биовара возбудителя: *gravis*, *mitis*, *intermedius* и *belfanti*, но в практических лабораториях два последних биовара не идентифицируют.

Биовар *gravis* (тяжелый) на плотных питательных средах образует R-форму колоний серого цвета диаметром 1,5–2,0 мм с радиальной исчерченностью и волнистыми краями, что напоминает цветок маргаритку. Для **биовара *mitis*** (облегченный) характерна S-форма колоний черного цвета диаметром 0,5–1,0 мм с ровными краями, выпуклой гладкой поверхностью, окруженных зоной гемолиза. Возбудитель дифтерии резистентен к высоким концентрациям теллурита калия, ингибирующим рост сопутствующей микрофлоры. Теллурит калия благодаря восстановлению металлического теллура и его соединению с образующимся H_2S придает колониям черный цвет.

На жидких питательных средах бактерии биовара *gravis* образуют пленку на поверхности или крошкообразный осадок, а бактерии биовара *mitis* — равномерное помутнение и мелкозернистый осадок.

Биовары *C. diphtheriae* ферментируют глюкозу и мальтозу и не разлагают сахарозу. Наиболее ферментативно активен биовар *gravis*. В практических лабораториях для дифференциации биоваров используют только тест на крахмал, по которому *C. diphtheriae*, ферментирующие крахмал, относятся к биовару *gravis*, а не ферментирующие крахмал, — к биовару *mitis*.

Важнейшим дифференциальным биохимическим признаком *C. diphtheriae* является наличие фермента **цистиназы**, выявляемого на среде Пизу (сывороточный агар с цистином и уксуснокислым свинцом), которая темнеет в виде «облачка» по ходу посева «уколом». В отличие от других коринебактерий *C. diphtheriae* не продуцирует уреазу.

Поверхностные антигены возбудителя дифтерии вариабельны. Более четкую внутривидовую идентификацию *C. diphtheriae* можно получить с помощью фаготипирования. Однако единых схем фаготипирования не разработано.

Факторы патогенности. Коринебактерии дифтерии имеют широкий спектр факторов патогенности, обеспечивающих адгезивные, инвазивные и токсические свойства. Основными из них являются ферменты, токсины, а также поверхностные структуры липидной и белковой природы, к которым относится **корд-фактор**, вместе с **К-антигенами** и **миколовыми кислотами** входящий в состав микрокапсулы. Поверхностные структуры способствуют адгезии бактерий в месте входных ворот инфекции, препятствуют их фагоцитозу, оказывают токсическое воздействие на клетки макроорганизма, разрушают митохондрии.

C. diphtheriae образует ферменты агрессии и инвазии: нейраминидазу и N-ацетилнейраминатлиазу, гиалуронидазу, гемолизин и дермoneкротоксин. **Нейраминидаза** отщепляет N-ацетилнейраминовую кислоту от гликопротеинов слизи и поверхности клеток, а **N-ацетилнейраминатлиаза** расщепляет ее на N-ацетилманнозамин и пируват, который служит источником энергии, стимулируя рост *C. diphtheriae*. **Гиалуронидаза** повышает проницаемость кровеносных сосудов и выход плазмы за их пределы, что ведет к отеку окружающих тканей. **Дермoneкротоксин** вызывает некроз клеток в месте локализации возбудителя. Вышедший за пределы сосудов фибриноген плазмы, контактируя с тромбокиназой некротизированных клеток макроорганизма, превращается в фибрин, что и является сущностью дифтеритического воспаления. Находясь внутри дифтеритической пленки, коринебактерии дифтерии находят отличную защиту от действия эффекторов иммунной системы макроорганизма и антибиотиков. Размножаясь, они образуют в большом количестве основной фактор патогенности — дифтерийный гистотоксин.

Дифтерийный гистотоксин — главный фактор патогенности. Это экзотоксин, синтез которого обусловлен наличием профага в геноме. В зависимости от способности синтезировать данный токсин возбудители дифтерии подразде-

ляются на токсигенные и нетоксигенные штаммы. Дифтерию вызывают лишь токсигенные штаммы. При этом все биовары возбудителя образуют токсин, идентичный по своим антигенным свойствам и механизму действия. Молекула дифтерийного гистотоксина состоит из А- и В-фрагментов, соединенных дисульфидными мостиками. А-фрагмент обладает энзиматической активностью, а В-фрагмент обуславливает взаимодействие гистотоксина с рецепторами мембран чувствительных клеток и участвует в образовании транспортного канала для фрагмента А. Дифтерийный гистотоксин синтезируется в виде **протоксина**, который активируется под действием протеаз возбудителя, сопутствующей микрофлоры либо под действием протеаз макроорганизма, что ведет к образованию бифункциональной А–В-структуры токсина. Восстановление дисульфидных групп в сульфгидрильные ведет к завершению фрагментирования цепи, но расхождение образовавшихся фрагментов А и В происходит только после контакта с рецепторами чувствительной клетки. Таким образом, рецепторы связывают дифтерийный гистотоксин, который находится в интактном состоянии. Попад в цитозоль клетки, он становится недостижимым для антител, так как последние через мембрану клетки не проникают. Проникновение гистотоксина в клетку влечет за собой нарушение синтеза белка, приводящее к ее гибели. В основе ингибиции синтеза белка лежит блокада А-фрагментом фактора элонгации EF-2, что вызывает нарушение процессов трансляции на рибосомах. Дифтерийный гистотоксин обладает строгой специфичностью действия, поражая клетки миокарда и сердечно-сосудистой системы, нервной системы, почек, надпочечников.

Из лабораторных животных к дифтерийному гистотоксину чувствительны морские свинки, кролики, обезьяны, а также собаки, кошки, цыплята и голуби. Определение токсигенности *C. diphtheriae* также проводят на куриных эмбрионах и культурах клеток.

Резистентность. Благодаря наличию липидов *C. diphtheriae* обладает значительной устойчивостью в окружающей среде. Бактерии достаточно устойчивы к высушиванию и действию низких температур. Выживаемость их на предметах окружающей среды может достигать 5,5 мес. Они хорошо размножаются в молоке, что имеет эпидемиологическое значение. В то же время при кипячении бактерии погибают в течение 1 мин, в 10% растворе перекиси водорода — через 3 мин, в 5% карболовой кислоте — через 1 мин.

Эпидемиология. Дифтерия — антропонозное заболевание. Источником инфекции являются больные и носители токсигенных штаммов *C. diphtheriae*. Основной механизм заражения аэрозольный, а путь передачи воздушно-капельный. Не исключены контактно-бытовой и алиментарный пути передачи инфекции. Восприимчивость к дифтерии высокая. Возбудитель дифтерии поражает в основном детей, однако в последние десятилетия дифтерией стали болеть и взрослые, у которых заболевание протекает тяжело и может закончиться летальным исходом.

Патогенез. Дифтерия — *токсинемическая инфекция*, входными воротами которой служат слизистые оболочки зева и носа, дыхательных путей, глаз, половых органов, раневая поверхность. В месте входных ворот развивается фибринозное воспаление, образуется пленка, которая с трудом отделяется от подлежащих тканей. Размножаясь в месте входных ворот инфекции, возбудитель продуцирует дифтерийный гистотоксин, который, оказывая местное воздействие на ткани, также поступает в кровь, что ведет к развитию токсинемии. Дальнейшее развитие инфекционного процесса может быть различным. Возникновение классической клинической картины дифтерии чаще наблюдается у пациентов с отсутствием антитоксического иммунитета. К формированию легких форм дифтерии и бактерионосительства токсигенных штаммов *C. diphtheriae* предрасполагает наличие антитоксических антител в высоких титрах.

Клиника. Существуют разные по локализации формы заболевания. Чаще встречается дифтерия ротоглотки, чему способствуют воздушно-капельный путь передачи инфекции, тропизм микробов к слизистой оболочке и барьерная функция лимфоидного глоточного кольца. *Инкубационный период* чаще равен 2–5 дням, иногда удлиняясь до 10 дней. Заболевание начинается с повышения температуры тела, боли при глотании, появления на поверхности миндалин пленки сероватого или желтоватого оттенка, увеличения лимфатических узлов. Фибринозная пленка плотно спаяна с подлежащими тканями и не снимается тампоном при осмотре. При попытке ее снять слизистая оболочка кровоточит.

Дифтерия зева может протекать как локализованная, распространенная и токсическая. Наибольшее значение в генезе осложнений имеет прямое действие токсина на различные органы и ткани, в первую очередь на сердце, нервную систему, почки и надпочечники.

Иммунитет. После перенесенного заболевания формируется длительный и напряженный гуморальный антитоксический иммунитет. В отличие от него антибактериальный иммунитет ненапряженный, серовароспецифичный. Наличие антитоксического иммунитета не препятствует формированию носительства токсигенных штаммов *C. diphtheriae*.

Микробиологическая диагностика. Основным методом диагностики дифтерии *бактериологический*. Материалом для исследования служит слизь или отделяемое пораженного органа (зев, носоглотка, нос, глаз, ухо, кожа и др.), которые собирают сухим ватным тампоном в течение 3–4 ч (не позднее 12 ч) с момента обращения больного и до назначения антибиотиков. При транспортировке материала применяют тампоны, смоченные 5% раствором глицерина.

Дифференциальную диагностику необходимо проводить с коринеформными бактериями, которые у лиц с иммунодефицитами могут вызывать оппортунистические инфекции — фарингит, артрит, эндокардит. Наибольшее значение среди них имеют *C. pseudodiphthericum* (*C. hoffmani*), *C. xerosis*, *C. striatum*, *C. jeikeium* и др. Самым распространенным видом является ложнодифтерий-

ная палочка (обнаруживается в зеве у 70% людей). В микропрепаратах *C. pseudodiphthericum* образует одинаковые по размеру мелкие клетки, располагающиеся в виде «частокола»; обладает уреазой.

Для ускоренного выявления дифтерийного токсина в материале от больных дифтерией или бактерионосителей, а также в культурах, выделенных от них, применяют РНГА и ИФА. С помощью ПЦР определяют наличие *tox*⁺-гена в ДНК *C. diphtheriae*.

Метод риботипирования предназначен для установления источников и путей распространения дифтерийной инфекции, слежения за структурой популяции возбудителя и прогнозирования эпидемиологического процесса.

Для оценки антитоксического иммунитета у людей, дифференциации дифтерии от других заболеваний применяют РНГА с антигенным эритроцитарным диагностикумом и ИФА.

Лечение. Используют пенициллин, эритромицин, цефалоспорины, тетрациклин и др. Однако главным в лечении является нейтрализация дифтерийного токсина введением антитоксической противодифтерийной лошадиной сыворотки или иммуноглобулина человека противодифтерийного для внутривенного введения. Для предотвращения возможных аллергических реакций перед введением лошадиной сыворотки ставят кожную пробу с лошадиной сывороткой в разведении 1:100 для определения чувствительности больного к белкам сыворотки лошади. Противодифтерийную сыворотку вводят дробно по Безредке.

При лечении бактерионосителей, кроме назначения антибиотиков, стимулируют антибактериальный иммунитет с помощью субклеточной вакцины Кодивак (антигены клеточных стенок нетоксигенных штаммов *C. diphtheriae*).

Профилактика. Применяют вакцины, содержащие дифтерийный анатоксин: АКДС, адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин (АДС), адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин с уменьшенным содержанием компонентов (АДС-М) и их зарубежные аналоги, а также АД-М.

Согласно рекомендации ВОЗ, лицам, имевшим тесный (семейный, половой) контакт с больным дифтерией, до получения результатов посева проводится антибиотикопрофилактика для предупреждения заболевания и ограничения распространения инфекции носителями. Назначают оральные препараты (феноксиметилпенициллин, эритромицин или другие макролиды), а при невозможности обеспечить дальнейший прием препарата — инъекцию бензатинпенициллина.

15.7.2. Микобактерии (сем. *Mycobacteriaceae*)

Микобактерии относятся к семейству *Mycobacteriaceae* роду *Mycobacterium* (от греч. *myces* — гриб и *bacteria* — палочка), в состав которого входит более 160 видов микобактерий. Это полиморфные бактерии, образующие прямые или слегка изогнутые палочки размером 0,2–0,7 × 1,0–10 мкм, иногда ветвящиеся; возможно образование нитей, распадающихся на палочки или кокки. Микобактерии

кислото-, спирто- и щелочеустойчивы, что обусловлено наличием большого количества липидов в клеточной стенке. По Граму окрашиваются с трудом, слабо грамположительны. Неподвижные, спор и капсул не образуют, аэробы и хемоорганотрофы. Растут медленно. Кatalаза- и арилсульфатазоположительные, устойчивы к лизоциму.

Различают патогенные микобактерии, условно-патогенные и сапрофиты. Микобактерии классифицируют по скорости роста, оптимальной температуре культивирования, способности к образованию пигмента, а также по клинически значимым комплексам, которые объединяют виды микобактерий с одинаковой клинической значимостью. Среди микобактерий встречаются возбудители туберкулеза, лепры, микобактериозов и язвы Бурули.

15.7.2.1. Возбудители туберкулеза (*Mycobacterium tuberculosis* и др.)

Туберкулез (от лат. *tuberculum* — бугорок) — первично-хроническое заболевание человека и животных, сопровождающееся поражением органов дыхания, лимфатических узлов, кишечника, костей и суставов, глаз, кожи, почек и мочевыводящих путей, половых органов, ЦНС.

Возбудителя туберкулеза — *Mycobacterium tuberculosis* — открыл в 1882 г. Р. Кох, за что в 1905 г. ему была присуждена Нобелевская премия.

Таксономия. Возбудители туберкулеза относятся к семейству *Mycobacteriaceae* роду *Mycobacterium*. Они объединены в комплекс *Mycobacterium tuberculosis*, включающий *M. tuberculosis* — человеческий вид, *M. bovis* — бычий вид, *M. africanum* — промежуточный вид, *Mycobacterium bovis* BCG, *M. microti*, *M. canettii*, *M. caprae*, *M. pinnepedii* и др.

M. tuberculosis вызывает туберкулез у человека в 92% случаев, *M. bovis* — в 5% случаев, а *M. africanum* — в 3% случаев. Вариантом *M. tuberculosis*, адаптированным к организму мышей-полевков, является *M. microti*. Другой вариант — *M. canettii*. Они считаются непатогенными для человека, однако могут обнаруживаться при инфекциях у лиц с иммунодефицитами.

Микобактерии комплекса *M. tuberculosis* обладают большой консервативностью генома. Вместе с тем в геноме у *M. tuberculosis* обнаружена уникальная область RD1 (region of difference 1), которая отсутствует у *M. bovis* BCG и большинства других микобактерий, не входящих в комплекс *M. tuberculosis*. Она кодирует синтез двух секреторных белков — ESAT6 (early secreted antigenic target) и CFP10 (culture filtrate protein 10), которые формируют длительный иммунный ответ, что важно для диагностики. Синтез этих белков прямо коррелирует с размножением возбудителей туберкулеза, а также развитием специфической патологии.

Родовой признак микобактерий — кислото-, спирто- и щелочеустойчивость, что обусловлено наличием миколовых кислот в клеточной стенке бактерий.

Морфология. Возбудители туберкулеза характеризуются выраженным полиморфизмом. Они имеют форму длинных тонких (*M. tuberculosis*) или коротких толстых (*M. bovis*) прямых или слегка изогнутых палочек различной величины с гомогенной или зернистой цитоплазмой, содержащей от 2 до 12 зерен; грамположительны, неподвижны, спор не образуют, имеют микрокапсулу (поверхностный слой микозидов). Клеточная стенка микобактерий содержит пептидогликан, арабиногалактан и липоарабиноманнан. Наружные слои клеточной стенки представлены липидами. Из-за большого количества липидов в клеточной стенке, содержащей миколовую кислоту, микобактерии плохо воспринимают анилиновые красители. Для их выявления применяют окраску по Цилю–Нильсену: в препаратах микобактерии образуют скопления из ярко-красных кислотоустойчивых палочек, располагающихся поодиночке, парами или в виде групп, напоминающих римскую цифру V. Уникальность миколовых кислот делает их мишенью для химиотерапевтических препаратов. Данные микобактерии могут образовывать различные морфовары, в том числе L-формы бактерий, длительно персистирующие в организме.

Культуральные свойства. Возбудители туберкулеза характеризуются медленным ростом, требовательны к питательным средам. Им нужны факторы роста: витамины группы B, аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты. Стимулятором роста микобактерий является лецитин. Для нейтрализации токсического действия жирных кислот, образуемых в процессе метаболизма, к средам добавляют активированный уголь, сыворотки животных и альбумин. Рост сопутствующей микрофлоры подавляется добавленными к средам малахитовым зеленым и антибиотиками, не действующими на микобактерии. Оптимальные pH 6,8–7,2 и температура культивирования 37–38 °C.

M. tuberculosis является аэробом, глицеринзависима. На жидких питательных средах через 5–7 дней растет в виде сухой морщинистой пленки кремового цвета. При внутриклеточном развитии, а также при росте на жидких средах (метод микрокультур Прайса) через 48–72 ч у вирулентных штаммов выявляется характерный корд-фактор (от англ. *cord* — жгут, веревка), благодаря которому микроколонии микобактерий растут в виде «кос» или «жгутов». На плотных средах рост отмечается на 3–4-й неделе культивирования в виде светло-кремового морщинистого сухого чешуйчатого налета с неровными краями (R-формы), напоминающего манную крупу. По мере роста колонии приобретают бородавчатый вид (похожи на цветную капусту). Под влиянием антибактериальных средств возбудитель изменяет культуральные свойства, образуя влажные гладкие колонии (S-формы).

M. bovis — микроаэрофил, устойчив к пиразинамиду, растет на средах медленнее, чем *M. tuberculosis*, пируватзависим. На плотных питательных средах образует мелкие шаровидные серовато-белые колонии (S-формы). Из лабораторных животных к *M. tuberculosis* наиболее восприимчивы морские свинки, а к *M. bovis* — кролики.

M. africanum — промежуточный по свойствам вид, малопатогенный для человека, выделяется от больных туберкулезом в тропической Африке. Устойчив к тиоцетазону. В наших лабораториях данный вид не идентифицируют.

Для культивирования возбудителей туберкулеза, определения чувствительности к антибиотикам и для выделения чистой культуры ВОЗ рекомендует использовать среду Левенштейна–Йенсена и среду Финна 2. В отличие от условно-патогенных микобактерий возбудители туберкулеза растут только при 37 °С и не дают роста при 22, 45 и 52 °С. Они образуют бесцветные колонии.

Ферментативная активность. Возбудители туберкулеза обладают высокой каталазной и пероксидазной активностью. Каталаза термолabile, инактивируется при 68 °С в течение 30 мин. *M. tuberculosis* в большом количестве синтезирует ниацин (никотиновая кислота), который накапливается в культуральной среде и определяется в пробе Конно. В отличие от *M. bovis* *M. tuberculosis* редуцирует нитраты в нитриты (положительный нитратредуктазный тест) и обладает пиразинамидазой (пиразинамидазный тест).

Химический состав, антигенная структура и факторы патогенности. На долю липидов микобактерий приходится 10–40% сухой массы клетки. Они представлены *фосфатидами*, *восками* (воск *D* и др.), *корд-фактором* (димиколат трегалозы), *миколовой*, *туберкулостеариновой кислотой* и др. На долю полисахаридов приходится 15% сухого вещества клетки, туберкулопротеиды составляют 56% сухой массы клетки. Основные патогенные свойства возбудителей туберкулеза обусловлены прямым или иммунологически опосредованным действием липидов и их комплексов с туберкулопротеинами и полисахаридами. Возбудители туберкулеза размножаются медленно, поэтому поражают долгоживущие клетки — макрофаги. Находясь внутри клетки, они становятся недоступными для гуморальных факторов иммунной системы. Окруженные «броней» из воска, они подавляют фагоцитоз на всех его стадиях. Микроб чаще всего выбирает макрофаги легких, обладающих низкой микробоцидной активностью. Проникновение микобактерий в макрофаги не сопровождается активацией последних. Липиды, липоарабиноманнан, гликолипиды представляются МНС-подобными рецепторами (CD1) антигенпредставляющей клетки определенным Т-лимфоцитам и НКТ-лимфоцитам, что важно при микобактериальных заболеваниях.

Фагоцитоз носит «неагрессивный» характер, так как не сопровождается образованием перекисных радикалов кислорода и азота. Проникнув внутрь макрофагов, микобактерии включают механизмы (продукцию аммония; синтез сульфоллипидов, образующих вместе с корд-фактором цитотоксические мембранные комплексы), препятствующие образованию фаголизосомы. Микобактерии блокируют активность лизосомальных ферментов (благодаря мощной клеточной стенке, аммонии, защелачивающему среду) и подавляют киллерную активность макрофагов за счет сульфоллипидов, гемоглобиноподобных белков и ферментов с каталазной и пероксидазной активностью. Используя железосо-

державшие соединения макрофагов для своих ферментных систем, микобактерии блокируют иммуноспецифические функции макрофагов (снижение антигенпредставляющей функции, ослабление чувствительности к активирующим сигналам Т-лимфоцитов). Токсическое действие на макрофаги микобактерии осуществляют за счет веществ с эндотоксиноподобным действием и неспецифических факторов, поражающих дыхательную систему макрофагов, — митохондрии. К первым относят миколовые арабинолипиды, угнетающие дыхание митохондрий, а ко вторым — фтиеновые и фтионовые кислоты, вызывающие разобщение окислительного фосфорилирования.

Резистентность. Благодаря наличию липидов микобактерии более устойчивы к действию неблагоприятных факторов окружающей среды, чем другие неспорообразующие бактерии. Высушивание мало влияет на их жизнеспособность в патологическом материале (мокрота и др.). При кипячении они погибают через 5 мин, а при пастеризации — в течение 30 мин. Под воздействием УФ-лучей микобактерии погибают через 2–3 мин. Снизить степень инфицированности помещения позволяет адекватная его вентиляция и воздействие УФ-лучей. Для дезинфекции используют активированные растворы хлорамина и хлорной извести, вызывающие гибель микобактерий в течение 3–5 ч.

Эпидемиология. Туберкулез распространен повсеместно и является социальной проблемой. Основным источником инфекции — человек, больной туберкулезом органов дыхания, выделяющий микобактерии в окружающую среду с мокротой. Больные сельскохозяйственные животные и больные люди, выделяющие возбудители с мочой и калом, играют второстепенную роль. Основные пути передачи возбудителя — *воздушно-капельный* и *воздушно-пылевой*. Реже заражение может происходить *пищевым путем* при употреблении не обработанных термически мясомолочных продуктов и контактным путем, через поврежденные кожные покровы и слизистые оболочки. Трансплацентарный путь передачи возможен, но, как правило, не реализуется вследствие тромбоза кровеносных сосудов плаценты в местах поражения. Внутриутробное заражение плода может происходить не только через пупочную вену и плаценту, но и при заглатывании амниотической жидкости, содержащей микобактерии.

Для инфицирования и развития возбудителей туберкулеза имеет значение массивность инфицирования и длительность контакта с источником инфекции, а также состояние резистентности макроорганизма. Человек высокоустойчив к возбудителям туберкулеза, поэтому инфицирование не всегда ведет к развитию болезни. Первичный туберкулез в результате экзогенного заражения возникает лишь у 10% инфицированных лиц. Остальные переносят первичную туберкулезную инфекцию без клинических проявлений и спонтанно излечиваются. Наступившее заражение проявляется лишь в виде туберкулиновых проб (переход отрицательной туберкулиновой реакции в положительную).

Патогенез и клиника. В основе патогенеза туберкулеза лежит способность медленно размножающихся микобактерий к длительному переживанию в дол-

гоживущих макрофагах и подавление всех стадий фагоцитоза. Возникновению заболевания способствует генетическая предрасположенность и наличие иммунодефицита. **Инкубационный период** составляет от 3–8 нед. до 1 года и более (даже до 40 лет). В развитии болезни выделяют первичный, диссеминированный и вторичный туберкулез, который чаще всего является результатом эндогенной реактивации старых очагов. Развитие вторичного туберкулеза возможно также в результате нового экзогенного заражения возбудителями туберкулеза (суперинфекция) вследствие тесного контакта с бактериовыделителем.

В зоне проникновения микобактерий или участках, наиболее благоприятных для размножения микробов, возникает **первичный туберкулезный комплекс**, состоящий из воспалительного очага (в легких это пневмонический очаг под плеврой), пораженных регионарных лимфатических узлов и «дорожки» измененных лимфатических сосудов между ними. Диссеминация микробов может происходить бронхогенно, лимфогенно и гематогенно. При заживлении очаг воспаления рассасывается, некротические массы уплотняются, а вокруг формируются соединительнотканная капсула (очаг Гона), микобактерии трансформируются в L-формы. Активация этих очагов ведет к развитию вторичного туберкулеза.

В основе специфического воспаления при туберкулезе лежит гиперчувствительность IV типа — образование гранулемы, что препятствует распространению микробов по организму. В то же время развитие гранулемы сопровождается выраженным повреждением тканей вследствие гибели макрофагов и развития некроза. Развитие фиброзной ткани ведет к снижению или полной утрате функций пораженного органа.

Различают **три клинические формы** заболевания: первичная туберкулезная интоксикация у детей и подростков, туберкулез органов дыхания, туберкулез других органов и систем. Чаще возникает туберкулез органов дыхания (легких и внутригрудных лимфатических узлов), поскольку микробы обладают сродством к хорошо аэрируемой легочной ткани, а лимфатическая система бедна ферментами, обуславливающими устойчивость к микобактериям. Основными симптомами легочного туберкулеза являются субфебрильная температура тела, кашель с мокротой, кровохарканье и одышка.

Иммунитет нестерильный; обусловлен наличием в организме L-форм микобактерии. Исход болезни определяется активностью клеточных факторов иммунитета. Микобактерии индуцируют развитие гиперчувствительности IV типа.

Микробиологическая диагностика. К основным методам диагностики туберкулеза относится бактериоскопическое и бактериологическое исследование, а также туберкулинодиагностика. Бактериоскопическое и бактериологическое исследование направлено на обнаружение микобактерий в патологическом материале (мокроте, промывных водах бронхов, плевральной и цереброспинальной жидкостях, кусочках тканей из органов и др.).

Бактериоскопический метод: исследуют мазки нативной мокроты, окрашенные по Цилю–Нильсену, или мазки, окрашенные флюорохромными краси-

телями (аурамином/родамином), для люминесцентной микроскопии. Исследование проводится трижды. Бактериоскопия позволяет обнаружить единичные микобактерии, если в 1 мл мокроты содержится не менее 10 000–100 000 бактерий. При отрицательных результатах в специализированных лабораториях применяют методики обогащения, к которым относится метод флотации. Для этого мокроту гомогенизируют, затем добавляют ксилол, толуол или бензин и встряхивают в течение 10–15 мин. Добавляют дистиллированную воду и оставляют стоять на 1–2 ч. Капельки углевода адсорбируют микобактерии и всплывают, образуя кольцо, из которого готовят микропрепараты, окрашенные по Цилю–Нильсену.

Бактериологический метод позволяет выявить возбудителей туберкулеза при наличии в исследуемом материале всего нескольких десятков жизнеспособных микобактерий. Для освобождения от сопутствующей микрофлоры и слизистых веществ мокроту и другие сходные материалы перед посевом подвергают деконтаминации, разжижению и гомогенизации. Рекомендуются засеивать исследуемый материал на 2–3 различные по составу питательные среды одновременно. Колонии микобактерий, видимые невооруженным глазом, появляются через 3–6 нед. Предварительное заключение о выделении *M. tuberculosis* может быть сделано по его культуральным свойствам (медленный рост в течение 3 нед. и более, характерная форма колоний и отсутствие пигментообразования), а также по выраженной кислотоустойчивости при окраске. Окончательное заключение дается на основании изучения дополнительных лабораторных тестов. После выделения чистой культуры микобактерий определяют их чувствительность к антибиотикам. Для ускоренной бактериологической диагностики возможно использование автоматизированных систем (системы Bactec, MB/BacT и др.), основанных на флюориметрическом определении накопившегося в процессе размножения микобактерий CO_2 или на уменьшении количества используемого бактериями O_2 , с последующей идентификацией в ПЦР.

Среди молекулярно-генетических методов диагностики широкое применение получила ПЦР. Результаты этих методов являются дополнительными и должны сопоставляться с данными клинического обследования, рентгенографии, микроскопии мазка, посева и даже ответа на специфическое лечение.

К дополнительным методам диагностики туберкулеза относится выявление антител к антигенам микобактерий туберкулеза в РНГА и ИФА. Они позволяют определить степень активности процесса, оценить эффективность лечения и решить вопрос о проведении иммунокоррекции.

Биологический метод диагностики имеет значение в том случае, если материал сильно загрязнен или получен в ходе операции (одноразовый материал).

Экспресс-диагностика туберкулеза может быть основана на комплексном применении бактериоскопического метода и ПЦР, что позволяет назначить своевременную противотуберкулезную терапию.

Туберкулинодиагностика основана на определении специфической сенсибилизации организма к возбудителям туберкулеза. Она применяется при массовых обследованиях населения на туберкулез и для индивидуальных обследований. При **массовой туберкулинодиагностике** применяют только внутрикожную туберкулиновую пробу Манту с 2 ТЕ (туберкулиновыми единицами) очищенного туберкулина в стандартном разведении. Данный препарат (**ППД**, от англ. *Purified Protein Derivate*) изготавливают из смеси убитых нагреванием фильтратов культур *M. tuberculosis* и *M. bovis*. У нас в стране он получен М.А. Линниковой в 1939 г (**ППД-Л**). Цель массовой туберкулинодиагностики заключается в своевременном выявлении первичного инфицирования детей и подростков, а также отбора для ревакцинации БЦЖ неинфицированных лиц. Это метод ранней диагностики туберкулеза у детей и подростков. Проба свидетельствует не о заболевании, а об инфицировании. **Индивидуальная туберкулинодиагностика** проводится в противотуберкулезных диспансерах и стационарах. Для этого используют как ППД-Л, так и ППД. В связи с тем что применяемый в реакции Манту туберкулин содержит полный набор микобактериальных антигенов, данная реакция не позволяет выявлять различий между активной формой заболевания и бессимптомным носительством, а также перекрестной сенсибилизацией другими видами микобактерий. Она дает положительный результат у вакцинированных лиц. Поэтому в дополнение к ней применяют **диаскин-тест**, в основе которого лежит использование туберкулезного рекомбинантного аллергена. Препарат содержит два антигена — CFP10 и ESAT6, присутствующих в вирулентных штаммах микобактерий туберкулеза, в том числе *M. tuberculosis* и *M. bovis*. Эти антигены отсутствуют в вакцинных штаммах БЦЖ *M. bovis*, а также у большинства нетуберкулезных микобактерий, за счет чего тест обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Диаскин-тест предназначен для диагностики туберкулеза и оценки его активности, дифференциальной диагностики туберкулеза и поствакцинальной и инфекционной аллергии, наблюдения за эффективностью лечения в комплексе с другими методами. У вакцинированных лиц, а также у лиц, не инфицированных возбудителями туберкулеза, реакция на данный препарат отсутствует. Поскольку препарат не вызывает ГЗТ, связанную с вакцинацией БЦЖ, проба с ним не может быть использована вместо туберкулинового теста для отбора лиц на первичную вакцинацию и ревакцинацию БЦЖ.

Лечение. Противотуберкулезные препараты разделяют на две основные группы. К первой группе относят изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол, стрептомицин. Их называют основными, или препаратами первого ряда, так как используют у больных с впервые выявленным туберкулезом, а возбудитель чувствителен к действию данных препаратов. К препаратам второго ряда относят протионамид, этионамид, канамицин, флоримицин, циклосерин, фторхинолоны и др. Их называют резервными, так как применяют для лечения туберкулеза, вызванного микробами, устойчивыми к препаратам первого ряда,

или при непереносимости последних. Лечение направлено на уничтожение как активно размножающихся форм микробов, расположенных внеклеточно, так и длительно персистирующих, расположенных внутриклеточно «дремлющих форм» микробов. При раннем и своевременном выявлении больных прогноз благоприятный. Эффект комплексной терапии достигается только при организации строго контроля приема противотуберкулезных препаратов медицинским персоналом. Комплексная терапия туберкулеза включает также применение иммуномодуляторов, туберкулинотерапию и БЦЖ-терапию.

Профилактика туберкулеза заключается в своевременном выявлении больных, а также проведении вакцинации. Специфическую профилактику проводят с помощью живой вакцины BCG (БЦЖ), полученной А. Кальметтом и К. Гереном путем длительного культивирования *M. bovis* на картофельно-глицериновом агаре с добавлением бычьей желчи (штамм BCG-1). Препарат вводят внутрикожно на 2–5-й день после рождения ребенка с последующей ревакцинацией. У новорожденных со сниженной резистентностью применяют менее реактогенную вакцину BCG-M. Кроме туберкулеза, БЦЖ защищает организм человека от возбудителя лепры и микобактериоза, вызванного *M. ulcerans*.

Химиопрофилактика заключается в применении противотуберкулезных препаратов в целях предупреждения инфицирования, развития заболевания и генерализации инфекции у лиц, подвергающихся опасности заражения туберкулезом.

15.7.2.2. Возбудитель лепры (*Mycobacterium leprae*)

Лепра (от греч. *lepros* — шероховатый, шелушащийся) — генерализованное первично-хроническое заболевание человека, сопровождающееся гранулематозными поражениями слизистой оболочки верхних дыхательных путей, кожи, а также периферической нервной системы и внутренних органов.

Таксономия. Возбудитель лепры относится к семейству *Mycobacteriaceae* роду *Mycobacterium* виду *M. leprae*. Он открыт Г.А. Гансеном в 1874 г.

Биологические свойства. *M. leprae* сходен по морфологии с возбудителями туберкулеза: бактерии имеют вид прямых или слегка изогнутых кислото- и спиртоустойчивых палочек. Спор и капсул не образуют. Имеют микрокапсулу. Для их выявления применяют окраску по Цилю–Нильсену. Микобактерии лепры отличаются полиморфизмом. Помимо гомогенно окрашенных форм, у них выявляют фрагментированные и зернистые формы. Клеточная стенка *M. leprae* ригидна, устойчива к деформации и химическим воздействиям. Цитоплазма возбудителя, кроме липидных включений, зерен волютина, содержит спороподобные тельца, которые чаще определяются у лиц, безуспешно лечившихся противолепрозными препаратами. В отличие от истинных спор эти обра-

зования даже после полного лизиса клетки окружены только трехслойной мембраной. Предполагается, что они могут дать начало новой вегетативной клетке.

Микобактерии лепры — облигатные внутриклеточные паразиты макрофагов. На искусственных питательных средах не растут. При микроскопическом исследовании они обнаруживаются в цитоплазме клеток в виде шаровидных скоплений, в которых отдельные микобактерии располагаются параллельно друг другу, напоминая «сигары в пачках». Продукция фибронектинсвязывающего белка способствует их проникновению в клетку, а наличие микрокапсулы и клеточной стенки, содержащей большое количество липидов, делает данные бактерии устойчивыми к действию фаголизосомальных ферментов. Они содержат **воск** — лепрозин и лепрозиновую кислоту. Незавершенности фагоцитоза способствуют также генетические дефекты макрофагов.

Микобактерии лепры — аэробы; утилизируют глицерин и глюкозу, имеют специфический фермент О-дифенолоксидазу. Окисляя ДОФА, синтезируемый меланоцитами кожи, данный фермент участвует в развитии таких клинических проявлений лепры, как гипопигментация кожи. В тканях бактерии размножаются очень медленно. Время их генерации (скорость одного деления) — около 12 суток, что объясняет наличие длительного инкубационного периода при лепре (от 3–5 до 20–30 лет). Данный возбудитель обладает тропизмом к тканям с низкой температурой (кожа, слизистая носа, поверхностно расположенные периферические нервы). У него обнаружен видоспецифический фенольный **глицолипид** (ФГЛА).

Экспериментальные модели по изучению лепры разработаны на мышах (метод Шепарда — заражение мышей в подушечку лапки) и девятипоясных броненосцах, которые имеют низкую температуру тела. Это делает их восприимчивыми к *M. leprae*. Клиническое течение заболевания и морфологические изменения у девятипоясных броненосцев соответствуют лепроматозному типу лепры у человека.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Лепра относится к малоконтагиозным антропонозным заболеваниям. Резервуаром и источником возбудителя является больной человек, который при разговоре, кашле и чихании выделяет в окружающую среду вместе со слизью или мокротой большое количество бактерий. Основной механизм заражения **аэрогенный**, а путь передачи воздушно-капельный. Возможен **контактный** механизм заражения, поскольку возбудитель заболевания обнаружен в отделяемом язв, образовавшихся при распаде лепром, и в биологических жидкостях (менструальная кровь, семенная жидкость и т.д.). Обязательным условием возникновения заболевания является массивное инфицирование, чему способствует тесный и длительный контакт с больными лепрой. Входными воротами служат слизистые оболочки верхних дыхательных путей, а также поврежденные кожные покровы. Возбудитель не вызывает видимых изменений в месте входных ворот инфекции. Распространяясь по организму лимфогематогенным путем, он поражает клетки кожи

и периферической нервной системы, которые обладают низкой фагоцитарной активностью. Тропизм микобактерий лепры к шванновским клеткам обусловлен их связыванием с С-доменом ламинина 2, который является компонентом базальных слоев шванновских клеток. Проникнув внутрь шванновских клеток, микобактерии медленно, годами размножаются. На какой-то из стадий внутриклеточного существования возбудителя Т-лимфоциты распознают присутствие их антигенов внутри нерва и инициируют хроническую воспалительную реакцию. Нарастающий отек внутри переневрия ведет к ишемии, поражению нерва и в конечном итоге к фиброзу с гибелью аксонов, что сопровождается потерей всех видов чувствительности. Развитие заболевания определяется состоянием резистентности макроорганизма.

При высокой устойчивости макроорганизма возникает **туберкулоидная форма** заболевания. Она имеет доброкачественное течение и характеризуется появлением на коже гипопигментированных пятен или эритематозных бляшек с измененной тактильной, температурной и болевой чувствительностью. Образовавшиеся в тканях гранулемы имеют эпителиоидный характер. *M. leprae* выявляется только при гистологическом исследовании биоптатов. Лепроминовая проба положительная.

При низкой резистентности макроорганизма возникает **лепроматозная форма** заболевания. Она характеризуется злокачественным течением и сопровождается длительной бактериемией, большим разнообразием кожных поражений, образованием кожных инфильтратов, в области которых появляются бугорки и узлы (лепромы). В патологический процесс вовлекаются слизистые оболочки верхних дыхательных путей. В высыпаниях обнаруживается большое количество возбудителя лепры. Лепроминовая проба отрицательная. Эта форма лепры эпидемиологически опасна.

Существуют также **пограничные формы** лепры (могут переходить как в туберкулоидную, так и в лепроматозную форму заболевания) и **недифференцированная форма** лепры. Предполагается, что недифференцированная форма лепры — наиболее раннее проявление заболевания, которое в дальнейшем трансформируется в направлении одного из полюсов лепры.

Иммунитет при лепре носит относительный характер. Важную роль играют клеточные факторы иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Возбудитель лепры не выделяется в чистой культуре. Поэтому микробиологическая диагностика лепры основана на **бактериоскопическом исследовании** тканевой жидкости (получаемой при соскобе с боков небольшого надреза кожи скальпелем или при соскобе со слизистой оболочки перегородки носа), мокроты, пунктатов лимфатических узлов, гистологических биоптатов. Скарификаты следует брать с шести участков: мочек ушей, надбровных дуг, подбородка и нескольких пораженных высыпаниями участков кожи. Проводится окраска по Цилю–Нильсену. Для *M. leprae* характерна тенденция к группированию, образованию скоплений, а также внутрикле-

точное расположение в макрофагах. Проводится также гистологическое исследование биоптата кожи с мест ее поражения, что служит основным критерием излечения больного.

Перспективно использование моноклональных антител для обнаружения лепрозных антигенов в тканях и ПЦР.

Вспомогательное значение имеет **серологическая диагностика**, основанная на обнаружении антител к видоспецифическому фенольному гликолипиду с помощью ИФА, а также постановка внутрикожной лепроминовой пробы. Она ставится с **лепромином А**, полученным из тканей зараженных лепрой броненосцев (взвесь убитых автоклавированием *M. leprae*). Данная проба применяется для дифференциации клинических форм лепры и свидетельствует не об инфицировании, а о способности макроорганизма отвечать на лепромин.

Лечение. Основными противолепрозными средствами являются препараты сульфонового ряда (дапсон, солюсульфон, диуцифон), а также рифампицин, клофазимин (лампрен) и фторхинолоны. Длительность курса лечения по схемам ВОЗ многобактериальных форм лепры составляет не менее 2 лет (до исчезновения *M. leprae* в кожных биоптатах), а малобактериальных форм не менее 6 мес. Лечение комбинированное. При развитии устойчивости к одному из препаратов или токсичности его для больного производится замена препарата.

Превентивное лечение назначается лицам от 2 до 60 лет, проживающим в одной семье с первично выявленными больными открытыми формами лепры, а также при рецидиве заболевания с появлением *M. leprae* в соскобах со слизистой оболочки носа или скарификатах кожи с мест поражения. Превентивное лечение проводится одним из препаратов сульфонового ряда в течение 6–12 мес.

Профилактика. Препараты для специфической профилактики не разработаны. У населения эндемичных районов для профилактики лепры используется вакцина БЦЖ, составной частью которой является лепромин А.

15.7.2.3. Нетуберкулезные микобактерии

Нетуберкулезные микобактерии широко распространены в окружающей среде как сапрофиты. В некоторых случаях они могут вызывать сходные с туберкулезом заболевания — **микобактериозы**. Их также называют микобактериями окружающей среды, оппортунистическими и атипичными микобактериями.

Таксономия и биологические свойства. Данные бактерии относятся к роду *Mycobacterium*. По своим биологическим свойствам они сходны с возбудителями туберкулеза, но обладают устойчивостью к основным противотуберкулезным препаратам. В отличие от микобактерий туберкулезного комплекса они практически не передаются от человека к человеку.

Для практической работы используют классификацию Е. Раньона, согласно которой нетуберкулезные микобактерии по скорости роста на искусственных питательных средах, пигментообразованию, морфологии колоний и биохимическим свойствам делятся на четыре группы:

- 1-я — медленнорастущие фотохромогенные микобактерии (*M. kansasii*, *M. marinum* и др.), образующие каратиновый пигмент на свету;
- 2-я — медленнорастущие скотохромогенные микобактерии (*M. scrofulaceum*, *M. goodii* и др.), образующие желтый пигмент в темноте, а на свету — оранжевый или красный пигмент;
- 3-я — медленнорастущие нехромогенные микобактерии (*M. avium complex* и др.), образующие бесцветные колонии;
- 4-я — быстрорастущие ското- и фотохромогенные микобактерии (*M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. smegmatis* и др.), образующие колонии в срок от 1–2 до 7 дней.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Нетуберкулезные микобактерии обитают на объектах окружающей среды. Их можно обнаружить в воде, почве, пыли и т.д. Они также являются представителями нормальной микрофлоры тела человека, например *M. smegmatis*. Заражение происходит из окружающей среды аэрогенно, контактным путем при повреждении кожных покровов, пищевым и водным путем. Наличие заболеваний, ведущих к развитию иммунодефицита, прием иммунодепрессантов и другие причины способствуют развитию микобактериозов. Микобактерии вызывают поражения легких, кожи, лимфатических узлов, мочеполовой системы. В пораженных тканях образуются гранулемы.

Микробиологическую диагностику проводят так же, как и при соответствующих формах туберкулеза. В основном используется **бактериологический метод**. Первоначально решается вопрос о принадлежности выделенной чистой культуры к возбудителям туберкулеза или нетуберкулезным микобактериям. Затем применяют комплекс исследований, позволяющих определить вид микобактерий, степень вирулентности и группу по Раньону. Первичная их идентификация проводится в базовых лабораториях противотуберкулезных диспансеров. Она основана на таких признаках, как скорость роста, образование пигмента, морфология колоний и способность роста при различных температурах. Окончательная идентификация проводится в специализированных лабораториях. В большинстве случаев предпочтение отдается идентификации по биохимическим свойствам. Данные бактерии патогенны для цыплят, мышей и крыс. Обязательно определяется чувствительность выделенной чистой культуры к антибиотикам.

Бактериоскопическое исследование, а также обнаружение антител с помощью серологических реакций и постановка кожно-аллергических проб имеют вспомогательное значение.

Лечение и профилактика. Лечение микобактериозов часто не дает желаемого результата, так как они обладают множественной лекарственной устойчивостью к антибиотикам. Данные бактерии чувствительны к циклосерину, этамбутолу и рифампицину. Специфическая профилактика не разработана.

15.7.3. Актиномицеты (род *Actinomyces*)

Актиномицеты вызывают *актиномикоз* — хроническое гнойно-воспалительное заболевание с образованием гранулем.

В род *Actinomyces* входят *A. israelii*, *A. bovis*, *A. odontolyticus*, *A. naeslundii*, *A. viscosus* и другие виды (около 30). Актиномицеты из-за морфологических особенностей ранее относили к грибам, что отразилось в их названии (от греч. *actis* — луч, *mykes* — гриб). Однако в отличие от грибов (эукариот) они не содержат оформленного ядра, являясь прокариотами, т.е. бактериями.

Морфология. Актиномицеты — ветвящиеся грамположительные неокислостойчивые неспорообразующие бактерии. Они полиморфны и могут быть палочковидной неправильной формы, прямыми или слегка изогнутыми с утолщениями на концах. В мазках располагаются одиночно, парами Y-, V-образно или в виде палисада. Часто образуют нити длиной 10–50 мкм и хорошо развитый истинный несептированный мицелий (у одних видов — длинный редковетвящийся, у других — короткий и сильноветвящийся). Все морфологические формы способны к истинному ветвлению, особенно в жидкой среде (на полужидкой тиогликолевой среде, содержащей 0,5–0,7% агара).

Культуральные свойства. Облигатные и факультативные анаэробы, капнофилы (6–10% CO₂). Для хорошего роста необходимы среды, содержащие витамин К₃, гемин, 5% CO₂. Растут на тиогликолевой среде, сердечно-мозговом бульоне, агаре Шелдона. Культивируют в анаэробных условиях при 35–37 °С; зрелые колонии появляются через 7–14 дней (минимум 48 ч). Образуют шероховатые бугристые колонии, напоминающие коренные зубы, рыхлые, пастообразные или гладкие (*A. naeslundii*, *A. israelii*, *A. odontolyticus*, *A. bovis*), срастающиеся со средой, бесцветные. У *A. odontolyticus* колонии красные с зоной β-гемолиза. 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.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы. Ферментируют углеводы с образованием кислоты без газа. Продуктами ферментации углеводов являются уксусная, муравьиная, молочная и янтарная кислоты (но не пропионовая). Индол не образуют.

Антигенная структура. Выделяют шесть серогрупп: А, В, С, D, Е и F.

Экологическая ниша. У человека и животных преимущественно обитают в ротовой полости и ЖКТ.

Эпидемиология. Источник инфекции — человек. Наиболее часто отмечается эндогенный путь инфекции. Характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи. Восприимчивость к актиномицетам, как ко всем условно-патогенным микробам, низкая.

Клиника и патогенез. Актиномикоз — хроническая гнойно-воспалительная оппортунистическая инфекция человека и животных, наиболее частым возбудителем которой является *A. israelii*. В зависимости от локализации различают шейно-лицевую, торакальную, абдоминальную, мочеполовую, костно-суставную, кожно-мышечную, септическую и другие формы болезни. При шейно-лицевой форме воротами инфекции обычно служат кариозные зубы, при легочной — аспирация содержимого ротовой полости, при абдоминальной — возбудитель проникает через поврежденную слизистую оболочку аппендикса или кишечного дивертикула. В редких случаях распространяется гематогенно. Вокруг возбудителя формируются уплотнения, которые постепенно размягчаются с образованием множественных абсцессов, сливающихся между собой. В гное и тканях образуются «серные» гранулы (тельца Боллингера) — сферические бледно-желтые сыровидные частицы диаметром 1–2 мм, содержащие дру́зы микроба. Характерно распространение воспалительного процесса по направлению к поверхности кожи с образованием свищей. Одновременно отмечается фиброз. В образовании нагноений также играет роль присоединение вторичной, преимущественно стафилококковой инфекции. Антигены актиномицетов приводят к специфической сенсибилизации и аллергической перестройке организма.

Иммунитет изучен недостаточно.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат гной из свищей, пунктаты не вскрытых очагов размягчения, соскобы с грануляций, биопсия тканей, при легочной форме — мокрота. Материал транспортируют в анаэробных условиях в специальных транспортных средах или анаэробных коллекторах. Диагноз ставят бактериоскопически по обнаружению в исследуемом материале массы переплетенных, ветвящихся или неветвящихся извитых волокон или «серных» гранул. В последних под малым увеличением видны образования округлой формы с бесструктурным центром и периферией радиального строения, а под большим — сплетения тонких нитей с пигментированными зернами в центре, по периферии от этого клубка мицелия радиально отходят гифы булавовидной формы. Для постановки окончательного диагноза проводят бактериологическое исследование. Актиномицеты обычно встречаются в ассоциации с другими сопутствующими бактериями. Для выявления антител ставят РСК и РНГА, однако они недостаточно специфичны, поскольку положительные результаты могут отмечаться при раке легкого и тяжелых нагноительных процессах. Возможно проведение аллергической пробы с актинолизатом. Диагностическое значение имеют лишь положительные и резко положительные результаты. При висцеральном актиномикозе аллергическая проба часто отрицательная.

Лечение. Лучшие результаты дает сочетание этиотропной терапии (антибиотики) и иммунотерапии актинолизатом. Бактерии чувствительны к пенициллину, тетрациклину и эритромицину.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика направлена на борьбу с иммунодефицитами.

15.7.4. Нокардии (род *Nocardia*)

Нокардии вызывают *нокардиоз* — оппортунистическую, хронически протекающую инфекцию.

В род *Nocardia* входят *N. asteroides*, *N. brasiliensis*, *N. brevicatena*, *N. carneae*, *N. farcinica*, *N. nova*, *N. transvalensis*, *N. otitidiscaviarum* и другие виды. Нокардии впервые были выделены Нокаром в 1888 г.

Морфология. Нокардии образуют разветвленные нити диаметром 0,5–1,2 мкм и конидии. Относительно кислотоустойчивы, окрашиваются методом Киноина (модификация окраски по Цилю–Нильсену). По Граму красятсяvariably. В первые часы мицелий несептированный, далее в нитях (гифах) формируются септы с образованием фрагментов (от палочковидных до коккобациллярных форм), которые размножаются бинарным делением или почкованием. В старых культурах можно обнаружить многоклеточные нити, образующиеся в результате неполного разделения фрагментирующегося мицелия.

Культуральные свойства. Для культивирования используют среду Сабуро, мясопептонный агар и среду Колумбия с колизином и налидиксовой кислотой. Образцы крови после центрифугирования сеют на тиогликолевый бульон. Культивируют до трех недель. Большинство видов нокардий растут в течение 7–9 дней. Оптимальная температура роста от 25 до 35 °С. Могут присутствовать или отсутствовать воздушные гифы. Колонии могут различаться по цвету, форме, запаху. Колонии *N. asteroides* — ярко-розовые, *N. brasiliensis* — оранжево-коричневые, *N. otitidiscaviarum* — светло-коричневые, *N. transvalensis* — от бледно-коричневого до фиолетового, колонии *N. farcinica* могут иметь белый меловой налет.

Экологическая ниша. Почвенный сапрофит. Устойчивость в окружающей среде высокая.

Эпидемиология. Источник инфекции — почва. Механизмы передачи — аэрогенный, контактный и редко алиментарный. Восприимчивость к нокардиям низкая. В половине случаев заболевание развивается у лиц с иммунодефицитами. Относительно редкое заболевание (1,5–2,0 тыс. случаев в год). Чаще болеют мужчины. Наиболее распространены *N. asteroides* и *N. brasiliensis*.

Патогенез и клиника. Обычно нокардиоз начинается как легочная инфекция. При вдыхании микроб захватывается альвеолярными макрофагами, в цитоплазме которых он сохраняет жизнеспособность, блокируя слияние фагосомы с лизосомами и ингибируя синтез лизосомальных ферментов. Размножение возбудителя ведет к развитию гнойно-гранулематозного воспаления с форми-

рованием множественных сливных абсцессов и гранулем в легких. Возможно образование абсцессов в головном мозге, почках и других органах. Поражение подкожной клетчатки сопровождается развитием неглубоких пустул, которые переходят в абсцессы и гранулемы, напоминающие кожный актиномикоз.

Иммунитет изучен недостаточно.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат мокрота, гной, биоптаты тканей. При *бактериоскопическом методе* в исследуемом материале обнаруживают мелкие гранулы (25–150 мкм), мягкие, белые или желтые, разделенные на дольки, содержащие разветвленные несептированные гифы. Окончательный диагноз устанавливают на основании *бактериологического метода*.

Лечение. Нокардии чувствительны к сульфаниламидам, амикацину, гентамицину. Лечебный эффект достигается медленно, антибактериальную терапию проводят несколько месяцев.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана.

15.7.5. Бифидобактерии, эубактерии, пропионибактерии, гарднереллы, мобилункусы

15.7.5.1. Бифидобактерии (род *Bifidobacterium*)

Таксономия. Род *Bifidobacterium* включает 32 вида. Наиболее часто в ЖКТ человека выявляют *B. bifidum*, *B. breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*.

Морфология. Бифидобактерии — грамположительные палочки размером 0,5–1,3 × 1,5–8 мкм, неподвижны, спор не образуют, не кислотоустойчивы. Полиморфны: они могут быть короткими правильной формы, тонкими с булаво-видными утолщениями на концах или ветвящимися клетками. Бактерии располагаются поодиночке, парами, V-образно, в виде «китайских иероглифов», иногда в виде цепочек или розеток.

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы и капнофилы. Хорошо растут в газовой смеси (85% N₂, 10% CO₂, 5% H₂). Оптимальные условия роста: температура 37–40 °С, pH 6,5–7,0. Их культивируют на сложных питательных средах в течение 24–48 ч. На поверхности плотной питательной среды (Бактофок) бифидобактерии образуют гладкие, ровные, выпуклые колонии белого или кремового цвета диаметром 1–1,5 мм. На полужидких питательных средах (тиогликолевая среда, среда Блаурокк) растут в виде «гвоздиков» или «комет», возможно равномерное помутнение.

Биохимическая активность. Ферментируют различные углеводы с образованием уксусной и молочной кислот с выделением CO₂. Синтезируют фруктозо-6-фосфатфосфокетотлазу.

Резистентность. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Факторы патогенности не выявлены.

Экологическая ниша. Бифидобактерии колонизируют тело человека и животных. Основное место обитания — ЖКТ. Большая часть бифидобактерий находится в толстой кишке (в пристеночном муцеле 10^5 – 10^9 КОЕ/г и в фекалиях 10^6 – 10^{10} КОЕ/г). Кроме того, они входят в состав нормальной микрофлоры кожи, ротовой полости (*B. dentinum*) и влагалища. Они обладают высокой антагонистической активностью по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам за счет выработки уксусной и молочной кислот. Участвуют в утилизации пищевых субстратов и активизации пристеночного пищеварения, синтезируют аминокислоты и белки, витамин К, пантотеновую кислоту, витамины группы В: В₁ — тиамин, В₂ — рибофлавин, В₃ — никотиновую кислоту, В₆ — пиридоксин и В₁₂ — цианокобаламин, способствуют усилению процессов всасывания через стенки кишечника ионов кальция, железа, неорганических фосфатов, витамина D. При недостатке бифидобактерий может развиваться комплекс белково-витаминно-минеральной недостаточности. К тому же бифидобактерии обладают иммуномодулирующим действием: регулируют функции гуморального и клеточного иммунитета, препятствуют деградации секреторного IgA, усиливают фагоцитарную активность макрофагов. Они препятствуют микробному декарбоксилированию пищевого гистидина и повышению количества гистамина. Таким образом, бифидобактерии обладают антианемическим, антирахитическим и антиаллергическим действием.

Препараты, содержащие живые бифидобактерии (Бифидумбактерин, Бифидумбактерин форте, Бифилиз, Линекс и др.), используют для восстановления нормальной микрофлоры.

Микробиологическая диагностика. Бифидобактерии культивируют на питательных средах в анаэробных условиях. Важный этап диагностики — постановка теста на фруктозо-6-фосфатфосфокетотлазу. В связи с большим количеством видов бифидобактерий и сходностью их ферментативной активности, а также трудоемкостью, связанной с необходимостью поддержания анаэробных условий, идентификация бактерий на основе их ферментативных свойств используется редко. В основном для определения видовой принадлежности бифидобактерий используется молекулярно-генетический метод — ПЦР.

15.7.5.2. Эубактерии (род *Eubacterium*)

Таксономия. Род *Eubacterium* включает виды *E. limosum*, *E. brachy*, *E. moniliforme* и др.

Морфология. Эубактерии — грамположительные палочки (0,2–2,0 × 0,3–10 мкм). Иногда образуют нити. Клетки неправильной формы с утолщенными или заостренными концами, иногда изогнутые. Располагаются одиночно, в парах или цепочками. Спор не образуют. Некоторые подвижны.

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы. Культивируют на специальных средах при температуре 37 °С и pH 7,0. Колонии плоские или слегка выпуклые.

Биохимическая активность. Из глюкозы или пептона образуют смеси органических кислот, часто с большим количеством масляной, уксусной или муравьиной кислот с выделением водорода. Каталазу не образуют.

Экологическая ниша. Входят в состав нормальной микрофлоры ЖКТ человека и животных. Встречаются в почве. Могут вызывать гнойно-воспалительные заболевания.

15.7.5.3. Пропионибактерии (род *Propionibacterium*)

Таксономия. Род *Propionibacterium* включает виды *P. acnes*, *P. acidopropionici*, *P. avidum*, *P. granulosum*, *P. jeisenii*, *P. thoenii* и др.

Морфология. Пропионибактерии — грамположительные неспорообразующие неподвижные плеоморфные, дифтероидные или булавовидные палочки с одним концом округленным и другим — конусообразным или заостренным, окрашивающимся менее интенсивно. Клетки могут быть кокковидными, удлиненными, раздвоенными и даже разветвленными. В мазках располагаются поодиночке, парами, в виде латинских букв V и Y, короткими цепочками или группами в виде «китайских иероглифов».

Культуральные свойства. Анаэробные или аэротолерантные бактерии; лучше растут в анаэробных условиях. Для культивирования используют среды с пептоном, дрожжевым экстрактом и глюкозой. Большинство штаммов растет в глюкозном бульоне с добавлением 20% желчи или 6,5% NaCl. Колонии могут быть белого, серого, розового, красного, желтого или оранжевого цвета. Оптимальные условия культивирования: температура 30–37 °C, pH — 7,0.

Биохимическая активность. В процессе брожения углеводов, лактата, пировата образуют пропионовую (от чего получили свое название) и другие органические кислоты (уксусную, изовалериановую, муравьиную, янтарную и молочную кислоты). Ферментируют глюкозу до кислоты. Большинство штаммов выделяют аммиак, CO₂ и синтезируют каталазу.

Факторы патогенности. Продуцируют целый ряд ферментов агрессии: липазу, протеазу, нейраминидазу, гиалуронидазу и фосфатазу.

Экологическая ниша. Пропионибактерии являются частью нормальной микрофлоры кожи, полости рта, кишечника, дыхательных путей, слизистой женских половых органов, встречаются в животных молочных продуктах. Могут быть этиологическим фактором воспалительных заболеваний различной локализации, вызывая конъюнктивиты, абсцессы, перитониты, паротиты, пневмонию и др. *P. acnes* колонизируют волосяные фолликулы и потовые железы и способны вызывать местные воспалительные заболевания. Их обнаруживают при угревой сыпи (*acne vulgaris*).

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к эритромицину и клиндомицину, а также к действию антисептиков и дезинфектантов.

15.7.5.4. Гарднереллы (род *Gardnerella*)

Гарднереллы являются возбудителями *гарднереллеза* (бактериального вагиноза) — антропонозной оппортунистической инфекции, вызываемой *Gardnerella vaginalis* в ассоциации с облигатными анаэробами.

Gardnerella vaginalis — единственный вид бактерий рода *Gardnerella*. Впервые бактерии были выделены S. Leopold в 1953 г. из мочи мужчины с неспецифическим уретритом, а затем из цервикального канала женщины — его половой партнерши.

Морфология. Гарднереллы — мелкие палочки или коккобациллы размером $1-2 \times 0,3-0,6$ мкм, часто образуют скопления, имеют зерна волютина. Спор и капсул не образуют, жгутиков не имеют. В мазках располагаются поодиночке, парами, иногда в виде палисада или латинской буквы V, что делает их сходными с коринебактериями. Грамвариабельны: молодые 8–12-часовые культуры окрашиваются грамотрицательно, а культуры, выращенные на оптимальной среде, грамположительны. Структура клеточной стенки соответствует грамположительным бактериям; в ее составе отсутствуют арабиноза (имеется у коринебактерий), тейхоевые и диаминопимелиновая кислоты.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы, капнофилы. Растут на сложных питательных средах: КДС-1 (содержит казеин, дрожжи и сыворотку крови), шоколадный агар, вагиналис-агар и др. На кровяном агаре образуют очень мелкие (0,25–0,44 мм в диаметре) колонии с зоной α - или β -гемолиза, при дальнейшем культивировании среда приобретает шоколадный цвет. На КДС-1 и вагиналис-агаре через 24–48 ч образуют мелкие круглые выпуклые гомогенные гладкие бесцветные колонии. При дальнейшем культивировании колонии достигают 1 мм в диаметре, становятся тусклыми и матовыми. На жидких средах дают равномерное помутнение и осадок. Оптимальные условия культивирования: температура 35–37 °С и pH 4,5–4,0.

Биохимическая активность. Метаболизм бродильного типа, главный продукт брожения — уксусная кислота, кроме того, некоторые штаммы могут продуцировать молочную, янтарную и муравьиную кислоты. Разлагают гипсурат, гидролизуют крахмал, расщепляют мальтозу до кислоты. Дифференцируют по тестам расщепления углеводов, наличию оксидазы, каталазы, гемолиза. По биохимическим показателям гарднереллы классифицированы на шесть биотипов. В процессе метаболизма гарднерелла вырабатывает летучие амины (путресцин, кадаверин, триэтиламин). Эти амины служат причиной неприятного запаха, напоминающего запах гнилой рыбы.

Антигенная структура. Выделяют семь серогрупп гарднерелл. Общий антиген, представляющий гликопептид, определяют в развернутой РА и ИФА. Имеются общие антигены с *Candida albicans*.

Факторы патогенности. Отдельные штаммы *Gardnerella vaginalis* синтезируют нейраминидазу, разрушающую гликопротеиды слизистой оболочки влагалища.

Резистентность невысокая; чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. *G. vaginalis* представитель микрофлоры влагалища и мочевых путей. Частота встречаемости *G. vaginalis* у здоровых женщин составляет от 12 до 53%, у мужчин — менее 10%. Гарднеллез развивается при избыточном росте эндогенных штаммов, входящих в микрофлору влагалища. Может передаваться половым путем, в этом случае **инкубационный период** составляет 3–10 дней (до 5 нед.). Восприимчивость к гарднереллам низкая.

Патогенез. Широкое распространение *G. vaginalis* в половых путях здоровых женщин разного возраста позволяет рассматривать эти микроорганизмы как комменсалы, которые только при определенных условиях проявляют патогенные свойства. Предрасполагающими факторами являются сахарный диабет, воспалительные заболевания половых органов, нарушения менструального цикла, беременность, менопауза, ослабление местного иммунитета, стрессы, а также применение антибиотиков, гормональных средств и иммунодепрессантов. Механизм развития заболеваний урогенительного тракта заключается в развитии дисбиоза влагалища, который проявляется резким снижением количества лактобацилл, а в ряде случаев их полным исчезновением и одновременным избыточным ростом *G. vaginalis* (до 10^{10} – 10^{12} КОЕ/мл) обычно в ассоциации с другими анаэробами (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*) и *Mycoplasma hominis*. Поскольку в ассоциации с гарднереллами выделяются самые разные виды неспорообразующих анаэробов, то гарднеллез часто называют бактериальным вагинозом.

Клиника. Заболевание проявляется обильными, часто пенящимися выделениями из влагалища серовато-белого цвета, гомогенными, без комков, с резким неприятным «рыбным» запахом, обусловленным образованием летучих аминов. Часто наблюдаются зуд, жжение в области наружных половых органов, неприятные ощущения при половом акте, боли в области влагалища и промежности. У мужчин развиваются баланит, неспецифический уретрит или воспалительные процессы полового члена, протекающие сочетанно с вагинитом у женщины — полового партнера. Гарднеллез может приводить к преждевременным родам, снижению массы тела новорожденных, воспалительным заболеваниям органов малого таза.

Иммунитет не формируется.

Микробиологическая диагностика. Материалы для исследования: отделяемое цервикального канала, сводов и стенок влагалища, моча, отделяемое уретры, взятое после массажа. В основном диагноз ставят бактериоскопически по обнаружению **«ключевых» клеток** — клеток влагалищного эпителия, сплошь или частично покрытых грамвариабельной, но чаще грамотрицательной фло-

рой. При этом наблюдается отсутствие лейкоцитоза влагалищных выделений, $\text{pH} > 4,5$ и усиление «рыбного» запаха при добавлении к выделениям 10% раствора КОН.

Другие методы диагностики (бактериологический, РИФ, ИФА, ПЦР и др.) используют редко. При их применении особое внимание уделяют концентрации *G. vaginalis*, так как в небольших количествах эти микробы присутствуют в норме.

Лечение. Лечение комплексное — этиотропное, патогенетическое и симптоматическое. *G. vaginalis* чувствительна к пенициллину, ванкомицину, линкомицину, клиндамицину. Эффективны препараты группы метронидазола. Препаратами выбора являются нитроимидазолы. После применения антибактериальных препаратов восстанавливают микрофлору влагалища с помощью пробиотиков (ацилакт, лактобактерин и др.).

Профилактика. Специфической профилактики нет.

15.7.5.5. Мобилункусы (род *Mobiluncus*)

Таксономия. Род *Mobiluncus* включает виды *M. curtisi* и *M. mulieris*.

Морфология. Тонкие изогнутые палочки размером $0,4\text{--}0,6 \times 1,2\text{--}4,0$ мкм с суженными концами. Располагаются одиночно или парами в виде «крыла чайки». Структура клеточной стенки характерна для грамположительных бактерий, но по Граму окрашиваются вариабельно. Подвижны, имеют латеральные или субполярно расположенные жгутики. Спор не образуют.

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы. Культивируют на сложных питательных средах при температуре 37°C . Колонии бесцветные, прозрачные, выпуклые, гладкие.

Биохимическая активность. Метаболизм бродильного типа. Каталаза-отрицательные, индолотрицательные, оксидазаотрицательные, сбраживают глюкозу.

Резистентность. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Экологическая ниша. Входят в состав нормальной микрофлоры влагалища и прямой кишки человека. При избыточном росте могут способствовать развитию бактериального вагиноза.

15.8. Спирохеты и другие спиральные, изогнутые бактерии

Спирохеты и другие спиральные, изогнутые бактерии относятся к типу *Spirochaetes* порядку *Spirochaetales*. Другие спиральные, изогнутые бактерии (хеликобактерии, кампилобактерии и спириллы) относятся к типу *Proteobacteria*.

Морфология. Представляют собой подвижные спиралевидные бактерии размером $0,1\text{--}0,3 \times 5\text{--}250$ мкм. Спирохеты имеют многослойную наружную

клеточную оболочку, покрывающую протоплазматический цилиндр, который 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 три типа движения в жидкой среде: перемещение, вращение вокруг продольной оси и изгибание.

По Граму спирохеты окрашиваются отрицательно. Дифференциальным является метод окраски Романовского–Гимзы.

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 три рода: *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*.

15.8.1. Трепоне́мы (род *Treponema*)

Морфология. Род *Treponema* включает более 10 видов и подвидов. Клетки трепонем имеют форму спиралевидных палочек размером $0,1\text{--}0,4 \times 5\text{--}20$ 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 трепоне́мы — 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 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 имеет значение вид *T. pallidum*, разделенный на три подвида: *pallidum* (возбудитель сифилиса), *endemicum* (возбудитель эндемического сифилиса), *pertenue* (возбудитель фрамбезии), и *T. carateum* (возбудитель пинты).

15.8.1.1. Возбудитель сифилиса (*T. pallidum*)

Сифилис — венерическая антропонозная инфекционная болезнь, характеризующаяся первичным аффектом, высыпанием на коже и слизистых оболочках с последующим поражением различных органов и систем.

Возбудитель сифилиса *T. pallidum* подвид *pallidum* был открыт в 1905 г. Ф. Шаудином и Э. Гоффманом.

Морфология. Типичные по морфологии трепонемы размером 0,09–0,5 × × 5–20 мкм, имеющие 8–12 завитков. Двигательный аппарат представлен идущими от каждого полюса клетки тремя периплазматическими фибриллами. Слабо воспринимает анилиновые красители. По Граму не окрашивается, по Романовскому–Гимзе окрашивается в бледно-розовый цвет. Выявляется при импрегнации серебром, а также с помощью фазово-контрастной и темнопольной микроскопии.

Культуральные свойства. Вирулентные штаммы на питательных средах не растут. Для накопления культуры заражают кролика в яйцо. Невирулентные штаммы можно культивировать на средах, содержащих мозговую и почечную ткань, в анаэробных условиях при 35 °С. Культивирование приводит к потере вирулентных и изменению антигенных свойств.

Биохимические свойства. Возбудитель сифилиса является микроаэрофилом. Биохимические свойства вследствие некультивируемости изучены плохо.

Антигенная структура. Обладает сложной антигенной структурой. Имеет специфический термолабильный белковый антиген и неспецифический липоидный антиген, идентичный кардиолипину, экстрагированному из бычьего сердца, представляющего по химической структуре дифосфатил глицерин.

Кардиолипидный антиген используется в микробиологической диагностике.

Факторы патогенности изучены плохо. Считают, что в процессе прикрепления к клеткам принимают участие адгезины, синтез которых происходит, вероятно, только при попадании возбудителя в организм человека. Липопротейны участвуют в развитии иммунопатологических процессов.

Резистентность. Чувствительна к высушиванию, солнечным лучам, дезинфицирующим веществам, нагреванию. При нагревании до 55 °С гибнет в течение 15 мин, при 100 °С — мгновенно. На предметах домашнего обихода сохраняет заразительность до высыхания. При неблагоприятных условиях образует цисты и L-формы.

Эпидемиология. Сифилис является антропонозной инфекцией. В естественных условиях болеет только человек. Заболевание распространено повсеместно. Заражение происходит, как правило, контактно-половым, реже — контактно-бытовым и трансплацентарным путями. Возможно заражение кровью, собранной у инфицированных лиц на раннем этапе инфекции.

Патогенез и клиника. Проникшие в организм трепонемы из места входных ворот попадают в регионарные лимфатические узлы, где размножаются. Из лимфатических узлов возбудитель попадает в кровяное русло, где прикрепляется к эндотелиальным клеткам, вызывая развитие эндартериитов, ведущих к развитию васкулитов и последующему тканевому некрозу. С кровью трепонемы разносятся по всему организму, обсеменяя различные органы и ткани: печень, почки, костную, нервную и сердечно-сосудистую системы.

Болезнь протекает в несколько циклов. **Инкубационный период** составляет 3–4 нед. **Первичный период** характеризуется появлением *твердого шанкра* (язвочки с твердыми краями на месте внедрения возбудителя — слизистых оболочках половых органов, рта, ануса), увеличением и воспалением лимфатических узлов. Первичный период длится 6–7 нед. Затем наступает **вторичный период**, который характеризуется появлением на коже и слизистых оболочках папулезных, везикулярных или пустулезных высыпаний, а также поражением печени, почек, костной, нервной и сердечно-сосудистой систем. В элементах сыпи содержится большое количество живых трепонем, в этот период больной наиболее заразен. Вторичный сифилис длится годами. Высыпания могут самопроизвольно исчезать, а при ослаблении защитных сил организма появляются вновь. Такие рецидивы могут повторяться несколько раз. После вторичного сифилиса, который длится 2–4 года, наступает **третичный период**, который длится десятилетиями и характеризуется образованием сифилитических бугорков (*гумм*). Гуммы являются результатом развития в организме иммунопатологического процесса в ответ на сохранившиеся в организме трепонемы. Бугорки и гуммы склонны к распаду с последующими обширными деструктивными изменениями в пораженных органах и тканях. Без лечения может наступить **четвертичный период** — *спинная сухотка*, которая характеризуется развитием прогрессирующего паралича вследствие поражения ЦНС.

Иммунитет. Защитный иммунитет после перенесенной инфекции не формируется. В ответ на антигены возбудителя в организме образуются антитела, которые являются свидетелями инфекционного процесса; развиваются ГЗТ и аутоиммунные процессы. Гуморальный иммунный ответ характеризуется первичным образованием неспецифических антител, называемых исторически «реагинами» и представляющих собой смесь IgM- и IgG-антител, на липоидный антиген возбудителя. Титр этих антител в процессе уменьшения в организме количества трепонем падает. Специфические антитела на белковый антиген появляются позже. Они длительно сохраняются независимо от присутствия трепонем в организме.

Микробиологическая диагностика. *Бактериоскопический метод* применяют при первичном сифилисе и в период высыпаний при вторичном сифилисе. Материалом для исследования служат отделяемое твердого шанкра, пунктаты лимфатических узлов, материал из кожных высыпаний. *Серологический метод* включает **отборочные неспецифические тесты**, использующие кардиолипиновый антиген и применяемые для обследования населения на сифилис, и **диагностические специфические подтверждающие тесты** (использующие трепонемальный антиген), которыми подтверждается диагноз.

К отборочным тестам относится реакция микропреципитации или ее аналог: VDRL (от англ. *venereal disease research laboratory*) и RPR (от англ. *rapid plasma regain*) — флокуляционные тесты и РНГА с кардиолипиновым антигеном. Эти реакции бывают позитивными на ранних этапах заболевания. Ранее ставилась РСК (реакция Вассермана) с кардиолипиновым и трепонемным антигенами. Отборочные тесты с кардиолипиновым антигеном в количественном варианте используют для контроля эффективности лечения. Их недостатком являются ложноположительные результаты у лиц, страдающих заболеваниями, сопровождающимися деструкцией тканей (онкологические заболевания, сахарный диабет, коллагенозы).

В диагностических подтверждающих тестах при постановке ИФА, РНГА, РИФ, РИТ (реакция иммобилизации трепонем) в качестве антигена используют ультразвуковой экстракт трепонем, выращенных в яичке кролика. Это высокочувствительные и высокоспецифичные реакции на сифилис. В связи с длительным сохранением специфических антител в организме эти реакции не могут быть использованы для оценки эффективности лечения. Кроме того, они будут положительны у больных фрамбезией и беджель.

Лечение. Для лечения используют антибиотики пенициллинового ряда и висмутсодержащие препараты.

Профилактика. Специфическая профилактика не проводится. Неспецифическая профилактика сводится к борьбе за здоровый образ жизни, своевременному выявлению и лечению больных, серологическому исследованию, проводимому у доноров, беременных, больных в стационарах, у лиц групп риска (наркоманы, проститутки, гомосексуалисты).

15.8.1.2. Другие патогенные трепонемы

T. pallidum подвид *endemicum* — возбудитель эндемического сифилиса, именуемого как беджель. Заболевание распространено на Среднем Востоке, в Африке и Юго-Восточной Азии. Характерно появление сыпи на коже и слизистых оболочках с последующими поражениями, напоминающими гуммы при сифилисе. Путь передачи — контактно-бытовой.

T. pallidum подвид *pertenue* — возбудитель фрамбезии, встречающейся 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, встречающейся 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.

Лечение — антибиотики пенициллинового ряда.

Диагностика проводится теми же методами, что и при сифилисе.

15.8.2. Боррелии (род *Borrelia*)

Спирохеты рода *Borrelia* вызывают как антропонозные (возвратный тиф), так и зоонозные (болезнь Лайма) инфекционные болезни с трансмиссивным механизмом передачи возбудителей (клещи, вши). Род *Borrelia* включает более 20 видов, большинство из которых непатогенны для человека.

Боррелии представляют собой тонкие спирохеты размером $0,3\text{--}0,6 \times 2\text{--}20$ 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% CO₂, а также в куриных эмбрионах при заражении в желточный мешок. Они чувствительны к высыханию и нагреванию. При действии температуры 45–48 °С гибнут в течение 30 мин. Устойчивы к низким температурам и замораживанию.

15.8.2.1. Возбудители болезни Лайма (*B. burgdorferi*, *B. garini*, *B. afzelii*)

Болезнь Лайма (син.: хроническая мигрирующая эритема, клещевой иксодовый боррелиоз) — хроническая инфекция с поражением кожи, сердечно-сосудистой и нервной систем, суставов.

Возбудителем болезни Лайма в Северной Америке является вид *Borrelia burgdorferi*, впервые открытый в 1975 г. при обследовании детей, больных артритом, в городке Лайма (Lyme) в США. В 1982 г. он был выделен из иксодового клеща У. Бургдорфером. Впервые заболевание было описано в 1909 г. Афцелиусом (Afzelius). На евро-азиатском континенте возбудители этого заболевания — *B. garini* и *B. afzelii*. Эти виды различаются между собой по антигенной структуре.

Морфология и культуральные свойства. Возбудители болезни Лайма — типичные по морфологическим и тинкториальным свойствам боррелии. Они хорошо культивируются на питательных средах, при выделении из клещей. Выделить возбудитель из материала от больного (крови, ликвора) удастся редко.

Антигенная структура. Возбудители болезни Лайма имеют **белковые антигены фибриллярного аппарата** (р41, или флагеллин) и **цитоплазматического цилиндра** (р93), 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** (от англ. *Outer surface protein*) **A, B, C, D, E, F**, синтез которых детерминирует группа плазмид. *OspA-протеин* обладает антигенной вариабельностью, подразделяясь на семь сероваров. Он видоспецифичен. Антигенный состав подвержен вариациям в процессе жизненного цикла боррелий. При их культивировании на питательных средах и нахождении в организме человека на поздних стадиях заболевания у боррелий 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 боррелий прикрепляться и проникать в клетки хозяина. В результате взаимодействия боррелий с макрофагами происходит выделение ИЛ-1, который индуцирует воспалительный процесс. *OspA-протеин* принимает участие в иммунопатологических реакциях, приводящих к развитию артритов. В этом процессе участвует также белок теплового шока, который начинает синтезироваться бактериями при температуре 37 °С. По своей структуре и молекулярной массе он идентичен таковому у человека.

Распространение в природе и эпидемиология. Резервуаром возбудителей в природе являются мелкие млекопитающие, главным образом лесные белопалчатые 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. Заболевание протекает доброкачественно. Прогноз благоприятный. **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 три стадии:

- 1) мигрирующая эритема, которая сопровождается развитием гриппоподобного симптомокомплекса, лимфаденита и появлением в месте укуса клеща кольцевидной эритемы, быстро увеличивающейся 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 нед. и более от начала заболевания.

Иммунитет гуморальный, видоспецифический к антигенам клеточной стенки боррелий.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат биоптаты кожи, синовиальная жидкость суставов, ликвор, сыворотка крови. На 1-й стадии заболевания проводится *бактериоскопическое исследование* биоптатов кожи из эритемы. Начиная со 2-й стадии заболевания применяют *серологический метод*: определение IgM или нарастания титра IgG в сыворотке крови методом ИФА или непрямой РИФ. Для определения наличия боррелий в ликворе, суставной жидкости применяют ПЦР.

Лечение. Этиотропное, антибиотиками тетрациклинового ряда.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к использованию защитной одежды и борьбе с клещами.

15.8.2.2. Возбудители возвратных тифов (*B. recurrentis*, *B. duttoni*, *B. persica*)

Возвратные тифы — группа вызываемых боррелиями острых инфекционных заболеваний, характеризующихся острым началом, приступообразной лихорадкой и интоксикацией. Различают эпидемический и эндемический возвратные тифы.

Эпидемический возвратный тиф — антропонозная инфекция. Возбудителем является *B. recurrentis*, впервые описанный в 1868 г. О. Обермейером. Единственным источником возбудителя служит лихорадящий больной, в периферической крови которого находятся боррелии. 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 гемо-

лимфы раздавленных вшей в кожу при расчесывании места укуса. Заболевание встречается во время социальных бедствий, войн. На территории РФ в настоящее время не регистрируется.

Эндемический возвратный тиф (син.: клещевой возвратный тиф, аргасовый клещевой боррелиоз) — зоонозное природно-очаговое заболевание, спорадически встречающееся в отдельных субтропических, тропических географических зонах. К возбудителям эндемического возвратного тифа относят более 20 видов боррелий, среди которых наиболее часто вызывают заболевание африканская *B. duttoni* и азиатская *B. persica*. Резервуаром в природе служат 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. Попадая во внутреннюю среду организма, боррелии внедряются в клетки лимфоидно-макрофагальной системы, где размножаются и поступают в большом количестве в кровь, вызывая лихорадку (повышение температуры тела до 39–40 °C), головную боль, озноб. Каждая такая атака заканчивается подъемом титра антител. Взаимодействуя с ними, боррелии 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 происходят 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 к эпидемическому возвратному тифу гуморальный, непродолжительный. В эндемических очагах коренное население располагает иммунитетом к возбудителю эндемического возвратного тифа, циркулирующему в очаге.

Микробиологическая диагностика. Используют *бактериоскопический метод* — обнаружение возбудителя в толстой капле крови, взятой на высоте лихорадочной реакции и окрашенной по Романовскому–Гимзе. Также используют микроскопию «висячей капли» крови в темном поле; негативный метод Бурри, состоящий в просмотре исследуемой капли крови, смешанной с тушью; серебряные боррелии в мазках крови или мазках-отпечатках из органов. *Биологическую пробу* 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.

15.8.3. Возбудитель лептоспироза (*Leptospira interrogans*)

Лептоспироз — острая зоонозная инфекция, вызываемая различными сероварами *Leptospira interrogans*, характеризующаяся волнообразной лихорадкой, интоксикацией, поражением капилляров печени, почек, ЦНС.

Возбудитель *L. interrogans* относится к семейству *Leptospiraceae* роду *Leptospira* и включает более 200 сероваров.

Морфология. Лептоспиры представляют собой тонкие спирохеты размером $0,07\text{--}0,15 \times 6\text{--}24$ мкм с изогнутыми концами. Двигательный аппарат представлен идущими от каждого полюса клетки одиночными фибриллами. 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 фазовом контрасте. Цист не образуют.

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. Цист не образуют.

Антигенная структура. Имеют сложную антигенную структуру. Содержат общеродовой антиген белковой природы, обнаруживаемый в РСК, а также вариантоспецифический поверхностный антиген липополисахаридной природы, выявляемый в реакции агглютинации. Таксономическим критерием для лептоспир служит антигенный состав. Основной таксон — серовар. Серовары объединены в серогруппы (насчитывается более 25 серогрупп).

Резистентность. *L. interrogans* чувствительна к высушиванию, 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. Среди лептоспир встречаются свободноживущие в почве и водоемах виды. Патогенен для человека и животных вид *L. interrogans*, вызывающий лептоспироз, — природно-очаговый зооноз 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. interrogans* характеризуются гемолитической и липазной активностью, продуцируют плазмокоагулазу, фибринолизин, цитотоксины.

Патогенез и клиника заболевания. *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 геморрагий 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, серовароспецифический 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 (реакция агглютинации-лизиса, реакция микроагглютинации с эталонным набором живых культур лептоспир, ИФА). Также применяют ПЦР и *биологическую пробу* на кроликах-сосунках.

Лечение. Используют антибиотики (пенициллин, тетрациклин) в сочетании с лептоспирозным гетерологичным иммуноглобулином, получаемым из крови иммунизированных волов.

Профилактика. Специфическая профилактика проводится вакцинацией по эпидемическим показаниям убитой нагреванием корпускулярной вакциной, содержащей четыре основные серогруппы возбудителя. Неспецифическая профилактика сводится к борьбе с грызунами, вакцинации сельскохозяйственных

животных, проведению зооветеринарных мероприятий, соблюдению личной гигиены.

15.8.4. Кампилобактерии (род *Campylobacter*)

Кампилобактерии относятся к возбудителям зоонозных бактериальных инфекций с фекально-оральным механизмом передачи и преимущественным поражением пищеварительного тракта.

Таксономия. Род *Campylobacter* (от греч. *campylos* — кривой, изогнутый). Известно около 18 видов возбудителя, из них наибольшее значение в патологии человека имеют *C. jejuni*, *C. fetus*, *C. coli*.

Морфология, антигенные и культуральные свойства. Кампилобактеры — граммотрицательные 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 «летающей 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 °C. 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 четыре группы заболеваний: 1) диарею (энтероколит), генерализованные поражения (сепсис); 2) локальные внекишечные инфекции (менингиты, энцефалиты, эндокардиты); 3) гнойно-воспалительные заболевания новорожденных; 4) заболевания ротовой полости. Гастроэнтерит возникает в результате действия энтеро- и цитотоксина, выделяемых некоторыми штаммами бактерий, размножающихся в ЖКТ. **Инкубационный 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 желудка посевом на кровяной или эритролитный 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 «летающей 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 противоэпидемические мероприятия, как при сальмонеллезах.

15.8.5. Хеликобактерии (род *Helicobacter*)

Хеликобактериоз — хроническое инфекционное заболевание, вызываемое бактериями рода *Helicobacter*, характеризующееся преимущественным поражением слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки с формированием стойкого воспаления, образованием язв и опухолей. Возбудитель был впервые обнаружен Г. Биддозеро (1893 г.) в слизистой желудка человека и животных. Как самостоятельный род описан Р. Уорреном и Б.Д. Маршаллом (1983 г.). Внешне сходен с бактериями рода *Campylobacter*, поэтому первоначально были названы *CLO* (от англ. *Campylobacter-like organisms* — кампилобактер-подобные микроорганизмы). Окончательное название получил в 1989 г. За открытие микроба Р. Уоррен и Б.Д. Маршалл в 2005 г. были удостоены Нобелевской премии в области физиологии и медицины.

Таксономия. Возбудитель хеликобактериоза относится к роду *Helicobacter* (от греч. *helios* — солнце) семейству *Helicobacteriaceae*. Описано более 20 видов хеликобактерий, из которых наибольшее значение в патологии человека имеет *H. pylori*.

Морфологические, культуральные и биохимические свойства. Хеликобактерии — мелкие ($2\text{--}5 \times 0,5\text{--}1$ мкм) неспорообразующие полиморфные бактерии.

В живых тканях *H. pylori* имеют изогнутую S-образную или слегка спиральную форму, при культивировании на искусственных питательных средах — палочковидную, а при неблагоприятных условиях кокковидную. Микроб подвижный — на одном из полюсов имеет от 2 до 6 жгутиков.

Микроаэрофил (содержание O_2 — 3–15%) и капнофил (содержание CO_2 — 10–15%). Оптимальная температура роста 37 °С. Требователен к питательным средам, не способен утилизировать высокомолекулярные соединения. Растет на сложных питательных средах с добавлением цельной крови или ее сыворотки, растворимого крахмала, активированного угля, низкомолекулярного гидролизата белков, некоторых аминокислот (аргинин, лейцин, валин, серин, фенилаланин и др.) и ряда других факторов. Источником энергии служат трикарбоновые кислоты.

Бактерии продуцируют высокоактивный фермент уреазу, алкогольдегидрогеназу, каталазу, оксидазу, липазы (в том числе фосфолипазу А) и другие ферменты. Сахара не сбраживают.

Хеликобактерная уреаза — важнейший видовой признак и маркер хеликобактерной инфекции. Это многокомпонентный металлосодействующий фермент, наиболее мощный среди всех бактериальных уреаз. Объем его бисинтеза достигает 15% общего белка.

Микроб обладает высоким генетическим разнообразием. Мутациям подвержены гены, ответственные в основном за адаптацию к макроорганизму хозяина. В организме человека происходит селективный отбор штаммов, наиболее приспособленных к определенной ткани или органу.

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 и др.), многочисленные адгезины, которые осуществляют прикрепление микроорганизма к тканям, эндотоксин, а также белковые цитотоксины VacA и CagA.

Хеликобактерная уреаза создает в кислой среде «облако» аммиака вокруг бактерии, снижая тем самым кислотность среды. Выступает в качестве хемоаттрактанта для лейкоцитов. Ионы аммония провоцируют лизис эпителиоцитов, разрушение межклеточных контактов и провоспалительную активацию лейкоцитов. При защелачивании среды включаются хеликобактерные оксидазы, закисляющие ее.

«Вакуолизирующий» цитотоксин VacA — полипептид, полимеризующийся на поверхности фосфолипидного слоя в канал, нарушающий целостность цитоплазматической мембраны клетки. Запускает образование в клетке вакуолей и апоптоз, ассоциируется с резистентностью к кларитромицину.

Полипептидный цитотоксин CagA стимулирует выработку IL-1 β и IL-8, ассоциируется с резистентностью к кларитромицину и островком патогенности

Cag-PAI. CagA-положительные штаммы колонизируют межклеточные пространства, CagA-отрицательные — апикальную часть эпителиоцитов.

Хеликобактерии обладают широким набором видовых антигенов. Штаммоспецифичных и протективных антигенов не имеют.

Резистентность невысокая — бактерии чувствительны к факторам окружающей среды: к pH ниже 5,0 и выше 8,0, нагреванию, дезинфектантам, метронидазолу и кларитромицину.

Эпидемиология. Антропоноз или зооантропоноз. Источником инфекции чаще является инфицированный человек. Не исключается роль в эпидемиологическом процессе обезьян и кошек, от которых были выделены хеликобактерии. Микроорганизм передается фекально-оральным (вода, пища) или контактно-бытовым (загрязненные руки, предметы) механизмом. Возможна передача возбудителя через медицинские инструменты (эзофагогастродуоденоскоп и др.) и аэрозоли.

Установлено, что *H. pylori* является этиологическим фактором более чем половины всех гастритов; его обнаруживают более чем у 95% больных, страдающих язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, у 70–80% больных с язвенной болезнью желудка и в 60–70% случаев при раке желудка.

Патогенез. Хеликобактерии вызывают интенсивную воспалительную реакцию в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки с нарушением целостности эпителиального слоя и образованием микроэрозий. Интенсивность патоморфологических проявлений и тяжесть клинического течения хронического гастрита коррелируют с массивностью обсеменения тканей возбудителем.

Клиника. Различают желудочную и внежелудочную локализацию процесса. Типичными формами являются хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, аденокарцинома и лимфома желудка. Хеликобактеры способны персистировать в макроорганизме в течение всей жизни, но лишь у небольшой части инфицированных лиц заболевание имеет манифестную форму.

Иммунитет. У инфицированных хеликобактериями пациентов в сыворотке крови появляются специфические антитела классов M, G и A, не имеющие защитного действия.

Микробиологическая диагностика. Проводят микроскопию и бактериологические исследования (выделение чистой культуры и ее идентификация) и ПЦР биопсийного материала, взятого при эндоскопии желудка и двенадцатиперстной кишки, определяют специфические антитела в сыворотке крови к уреазе и цитотоксину.

Лечение антибактериальными препаратами (метронидазол, кларитромицин и др.) и солями висмута по определенной схеме.

Специфическая профилактика не разработана.

15.9. 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 и чешский врач-микробиолог С. Провачек, которые погибли от сыпного тифа при изучении возбудителя этой болезни. Бразильский исследователь Роха Лима предложил назвать возбудителей семейства в честь этих ученых риккетсиями: возбудителя пятнистой лихорадки Скалистых гор — *Rickettsia rickettsii*, а возбудителя сыпного тифа — *Rickettsia prowazekii*.

Таксономия. Семейство *Rickettsiaceae* относится к классу *Alphaproteobacteria* и включает два рода бактерий, имеющих значение в патологии человека: *Rickettsia* и *Orientia*. Эти бактерии различаются по клинико-эпидемиологическим связям с переносчиком (табл. 15.6). Выделена группа болезней, передающихся вшами и блохами (сыпной и крысиный тиф, риккетсиоз кошачьих блох), а также клещами (группа клещевых лихорадок, ориентии). Кроме того, в природных биоценозах циркулирует еще не менее 10–12 видов и подвидов риккетсий, связанных с клещами (*R. slovaca*, *R. belli*, *R. helvetica*, *Candidatus R. tarasevichae* и др.). Их роль в инфекционной патологии человека ничтожна; в данном разделе они не рассматриваются.

Таблица 15.6

Клинико-эпидемиологические связи риккетсий, патогенных для человека

Представитель	Болезни людей	Резервуар	Переносчик
<i>Группа тифов, связанных со вшами и блохами</i>			
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Эпидемический сыпной тиф (вшивый)	Человек, возможно белки-летяги	Платяные вши и эктопаразиты белок-летяг
<i>Rickettsia typhi</i>	Эндемический (крысиный) сыпной тиф	Блохи, крысы, домовые мыши и другие грызуны	Блохи 10 видов
<i>Rickettsia felis</i>	Блошиная пятнистая лихорадка (син.: риккетсиоз кошачьих блох)	Блохи, клещи, опоссумы, дикобразы, ежи и другие грызуны	Пять видов блох и пять видов клещей
<i>Группа пятнистых лихорадок (клещевых риккетсиозов)</i>			
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Пятнистая лихорадка Скалистых гор	Клещи, грызуны	Клещи трех родов

Представитель	Болезни людей	Резервуар	Переносчик
<i>Rickettsia conorii</i> (4 генотипа)	Марсельская (син.: средиземноморская, израильская, астраханская и кенийская) лихорадка	Клещи, грызуны, собаки	Клещи четырех доминантных видов
<i>Rickettsia australis</i>	Квинслендская клещевая лихорадка	Клещи, грызуны	Иксодовые клещи
<i>Rickettsia akari</i>	Осповидный риккетсиоз	Клещи, мыши	Клещи-гамазиды
<i>Rickettsia sibirica</i> (генотип <i>R. mongolotimonae</i>)	Североазиатский клещевой риккетсиоз (син.: сибирский клещевой тиф)	Клещи, грызуны (суслики, хомяки и др.), птицы	Клещи (не менее 12 видов)
<i>Rickettsia japonica</i>	Японская (восточная) лихорадка	Клещи	Клещи
<i>Rickettsia honei</i>	Лихорадка острова Флиндерс	Клещи, грызуны, рептилии	Клещи родов <i>Ixodes</i> , <i>Rhipicephalus</i> , <i>Amblyomma</i> и др.
<i>Gywna Orientia</i>			
<i>Orientia tsutsugamushi</i> (6 генотипов)	Лихорадка цуцугамуши (син.: кустарниковая лихорадка)	Клещи, мышевидные грызуны	Краснотелковые клещи

Морфологические и тинкториальные свойства. Риккетсии представляют собой мелкие короткие палочки размером $0,2-0,5 \times 0,8-2$ мкм; неподвижны, есть фимбрии и пили. Размножаются бинарным делением. Для них характерен слизистый и микрокапсулярный слой, они имеют наружную мембрану клеточной стенки, цитоплазматическую мембрану, внутриплазматические включения и вакуоли. Поверхностный слой клеточной стенки имеет дискретную глобулярную структуру, представленную протеинами с молекулярной массой от 17 до 190 кДа, ЛПС и пептидогликаном. У ориенций цуцугамуши отсутствуют некоторые составные компоненты пептидогликана и ЛПС.

Риккетсии не окрашиваются обычными бактериальными красителями, но окрашиваются по Романовскому–Гимзе и по Здродовскому. При окраске по Романовскому–Гимзе риккетсии приобретают голубовато-пурпурный цвет и расположены в протоплазме клеток. При окраске по Здродовскому ярко-красные риккетсии расположены на голубом фоне клеток, а при окраске по Гименесу — на зеленом фоне. Они также могут быть выявлены методом серебрения.

Культуральные свойства. Риккетсии не растут на бактериальных средах. Для их культивирования используют куриные эмбрионы, культуры клеток, членистоногих переносчиков и органы чувствительных животных.

Риккетсии группы сыпного тифа хорошо растут в 7-суточных куриных эмбрионах при $36,5^\circ\text{C}$, а возбудители клещевых риккетсиозов и ориенции — в 4–5-суточных куриных эмбрионах при $32-34^\circ\text{C}$ в случае заражения в желточный мешок.

Для культивирования риккетсий используют культуры фибробластов белых мышей, почек сирийских хомячков, макрофагов крови собак, 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, белые и хлопковые крысы, морские свинки, кролики, собаки, некоторые виды обезьян.

В процессе культивирования риккетсии свои энергетические потребности удовлетворяют в основном за счет глутамата, что обеспечивает синтез АТФ, играющего ключевую роль в цикле Кребса. Дополнительно в энергетическом балансе используются глутамин, смесь α -кетоглутаровой и аспарагиновой и других органических кислот.

Риккетсии Провачека и Риккетса обладают фосфолипазой A2, играющей ключевую роль в процессе инфицирования клеток. Предполагается, что риккетсии получают из инфицированной клетки достаточный баланс метаболических посредников и энергии. В отличие от хламидий (облигатные внутриклеточные паразиты) они не зависят от энергетического обмена клетки-мишени или от ее макромолекулярного синтеза.

После проникновения в клетку риккетсии размножаются в ее цитоплазме или ядре, накапливаясь в течение нескольких суток до инфицирующей дозы (10^8 – 10^9), в результате чего клетка гибнет, а высвободившиеся бактерии поражают здоровые клетки.

Резистентность. Риккетсии относительно малоустойчивы к воздействию внешних факторов (температура, влажность, ультрафиолетовое и другие виды излучений), а также к дезинфектантам. Могут длительно сохраняться в высушенном состоянии, а также переживать в организме переносчиков (клещи, вши). *R. prowazekii* сохраняются в фекалиях вшей до 10 лет.

Антигенная структура риккетсий обусловлена гликопротеинами, ЛПС и протеином OmpV наружной мембраны клеточной стенки. Протеин OmpV обнаружен у риккетсий группы сыпного тифа и клещевой, тогда как протеин OmpA — только у риккетсий клещевой группы. При этом спектр антигенных детерминант между отдельными представителями риккетсий настолько близок, что их нельзя идентифицировать с помощью поликлональных антител. 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 и молекулярно-генетические методы исследования по секвенсу отдельных генов ДНК.

Факторы патогенности и патогенез. Факторами патогенности у риккетсий служат фимбрии и пили, ЛПС клеточной стенки, поверхностные белки, играющие роль адгезинов, фосфолипаза A2.

С помощью пилей и крупных протеинов (адгезины) наружной мембраны клеточной стенки риккетсии прикрепляются к клетке-мишени (эндотелию, эритроциту, макрофагу и др.), затем с помощью собственной фосфолипазы действуют на липиды клеточной мембраны, разрыхляя ее. Освобождающаяся при этом арахидоновая кислота преобразуется в физиологически активные соединения (простагландины и лейкотриены), которые изменяют проницаемость и тонус сосудов. Риккетсии же через дефекты в клеточной мембране уже через несколько минут проникают внутрь клетки, где формируется фагосома с находящимися в ней риккетсиями. В результате нескольких циклов деления (один цикл — 6–14 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, бактерии выходят за пределы клетки, попадают в лимфу, кровь и распространяются по всему организму, поражая новые клетки-мишени. Возможен также выход риккетсий из клетки путем «почкования», при котором они «одеваются» в клеточную оболочку «хозяина». Инфицирование реально происходит тогда, когда на одну клетку-мишень приходится не менее 10 риккетсий.

Для некоторых риккетсий, так же как и для коксиелл, характерна персистенция, т.е. длительное переживание в организме без видимого патологического процесса. Это приводит к рецидивам болезни, например рецидиву сыпного тифа (болезни Брилла–Цинссера).

При риккетсиозах поражаются высокоспециализированные клетки (эритроциты, макрофаги, эндотелий), происходит дезорганизация и нарушение морфологической целостности выполняемых ими функций, особенно в системе свертывания крови. Процесс выражается в образовании периваскулитов, кровоизлияний, тромбоза капилляров, т.е. возникает панваскулит. Одновременно нарушается каскад цитокинов, 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 отека 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, сохраняясь в них многие годы путем трансвариальной передачи из поколения в поколение. В значительных количествах риккетсии выделяются с фекалиями переносчиков в окружающую среду. Таким образом, формируются очаги риккетсий и риккетсиозов.

Платяные вши, передающие возбудитель сыпного тифа, выступают лишь как переносчики риккетсий, но не их хранители. В этом случае резервуаром риккетсий является человек.

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 и содержимым коксальных желез, препятствующим свертыванию крови. Заражение риккетсиями сыпного тифа при укусе инфицированной платяной вошью не происходит. Человек инфицируется исключительно путем втирания фекалий вшей, содержащих огромное количество возбудителя, через расчески на коже.

Возбудители крысиного сыпного тифа и риккетсиоза кошачьих блох передаются несколькими видами блох через их укусы, контактным или респираторным путем. Кроме того, заражение человека данными риккетсиями происходит также путем вдыхания аэрозолей, сформированных из инфицированных высохших фекалий блох и клещей или из микрокапель гемолимфы клещей после их раздавливания.

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 Мексике и Перу. Заболеваемость наиболее значимыми клещевыми риккетсиозами в РФ и США находится на уровне 1000–3000 человек в год. Среди населения России встречаются клещевой тиф Азии, марсельская (астраханская) лихорадка, болезнь Брилла–Цинсера.

Клинические проявления не отражают видовой принадлежности риккетсий. Болезнь сопровождается развитием лихорадки с появлением озноба, недомогания, болей в мышцах и суставах. Развиваются гипертермия, гипотония, сыпь (следствие нарушения проницаемости стенок кровеносных сосудов, баланса цитокинов, нарушения гомеостаза). Развиваются также десквамативно-пролиферативные воспалительные процессы, отек тканей, 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, пятнистая лихорадка Скалистых гор, марсельская лихорадка и др.). Вследствие нарастающей функциональной недостаточности жизненно важных органов (сердце, почки, головной мозг) и активации микрофлоры наступает гибель больных.

При клещевых риккетсиозах, за исключением пятнистой лихорадки Скалистых гор, 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 играет иногда решающую роль (атипичные и стертые формы болезни). Она включает выделение возбудителя, а также обнаружение специфических антител, антигенов и фрагментов ДНК риккетсий. Исследуемым материалом (кровь, биоптаты из высыпаний на коже и др.) заражают чувствительных к риккетсиям лабораторных животных (белых мышей, крыс, морских свинок, хомяков) или куриные эмбрионы и культуры клеток.

Возможно также иммуногистологическое исследование биоптатов и применение ПЦР. Однако основой специфической диагностики риккетсиозов является *серологический метод*: на второй неделе болезни в сыворотке крови определяют специфические антитела с помощью РСК, РА, РНГА, РИФ, ИФА. Максимальных величин титры антител достигают на 15–30-е сутки (в отсутствие 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 (доксциклин) оказывают терапевтический эффект уже после однократного или двукратного введения. При отсутствии тетрациклинов возможно применение хлорамфеникола.

Профилактика. Неспецифические меры профилактики риккетсиозов сводятся к уничтожению переносчиков (вшей, блох, клещей) наиболее эффективным способом (дезинсекция) и устранению условий для контакта с ними (периодические осмотры на педикулез, на носительство клещей, ношение одежды, защищающей от клещей, и др.).

Специфические меры профилактики возможны путем проведения вакцинаций. В прошлом были разработаны живая и инактивированные вакцины против сыпного тифа и инактивированная вакцина против пятнистой лихорадки Скалистых гор. Однако вакцинопрофилактика утратила свое значение как способ предупреждения риккетсиозов, поскольку заболеваемость ими в отсутствие переносчика исключена, заболевания неконтагиозны, имеются эффективные средства борьбы с переносчиком, риккетсиозы хорошо лечатся антибиотиками, возможна также их химиопрофилактика.

15.9.1. Риккетсии группы сыпного тифа

15.9.1.1. Возбудитель эпидемического сыпного тифа и болезни Брилла–Цинссера — *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 петехиальной сыпи.

Таксономия и общая характеристика возбудителя. Бактерия *R. prowazekii*, открытая С. Провачеком в 1914 г., — типичный представитель возбудителей группы сыпного тифа. Относится к роду *Rickettsia* семейству *Rickettsiaceae* классу альфа-протеобактерий. Паразитирует только в цитоплазме чувствительных клеток. Хорошо культивируется в организме платяных вшей, желточных мешках куриного эмбриона, легких белых мышей и в культурах перевиваемых линий клеток. Обладает гемолитическими свойствами. Способна формировать негативные колонии («бляшки») в культуре клеток. Вызывает токсикоз в организме белых мышей. При окраске по Здродовскому окрашивается в красный цвет. Неустойчива к действию факторов внешней среды. Длительно сохраняется в высушенных фекалиях инфицированных вшей, в других препаратах — нестабильна, легко инактивируется под влиянием положительных температур и дезинфектантов (растворы щелочи, хлорамина, первомура и др.). Имеет общие антигены с риккетсиями Музера и протеом OX19.

Эпидемиология. Природный резервуар сыпного тифа в РФ практически отсутствует (регистрируются единичные случаи). В восточных штатах США в конце XX в. открыт «лесной цикл» циркуляции *R. prowazekii*, связанный с белками-летягами и их эктопаразитами. Его эпидемиологическое значение изучается.

Заражение реализуется путем втирания фекалий инфицированных вшей через расчески кожи или посредством вдыхания пылевидного аэрозоля из высушенных инфицированных риккетсиями фекалий.

Сыпной тиф известен с древних времен. Значительные 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 случаи сыпного тифа отсутствуют. Эндемические районы сохранились на горных плато Бурунди и, возможно, Перу и Мексики.

Клиника. Инкубационный период варьирует, составляя в среднем 10–14 дней. Начало заболевания острое, клинические проявления обусловлены генерализованным поражением эндотелиальных клеток кровеносных сосудов в их микроциркуляторной части. Это приводит к нарушению каскада тромбо- и антитромбообразования, 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 темпера-

турой, симптомами поражения сердечно-сосудистой и нервной систем (падение артериального давления, бред, психоз и т.д.).

После ранее перенесенного эпидемического сыпного тифа (спустя от 3 до 60 лет) возможен рецидив (болезнь Брилла—Цинссера) вследствие активации латентно «дремлющих» риккетсий. Возбудитель тот же — *R. prowazekii*. Клинически протекает как эпидемический тиф легкой и средней тяжести.

Болезнь Брилла—Цинссера (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 эту же форму сыпного тифа изучал Цинссер. Представляет собой рецидив после ранее перенесенного эпидемического сыпного тифа (спустя от 3 до 60 лет) вследствие активации латентно «дремлющих» риккетсий. Возбудитель тот же — *R. prowazekii*. В России в последние десять лет регистрируется ежегодно на уровне 2–10 случаев среди лиц старших возрастных категорий, перенесших эпидемическую форму в годы Великой Отечественной войны и в первые послевоенные годы.

Микробиологическая диагностика подкрепляется лабораторным исследованием на специфические антитела (РСК, РНГА, ИФА и др.).

Лечение. Назначают препараты 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 бутадiona. Для специфической профилактики в прошлом была разработана живая вакцина из штамма Е, а также инактивированная вакцина из растворимого антигена.

15.9.1.2. Возбудитель эндемического (крысиного) сыпного тифа (*R. typhi*)

Крысиный сыпной тиф (син.: эндемический, блошиный, маньчжурский, корабельный, малайский, городской сыпной тиф) — острое инфекционное заболевание риккетсиозной природы, связанное с эктопаразитами крыс, опоссумов, кошек, домовых мышей и других грызунов.

Болезнь приурочена к территориям с тропическим и субтропическим климатом, благоприятствующим существованию в природе тропических блох, блох кошек и грызунов.

Она 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).

R. typhi — типичный представитель риккетсий группы сыпного тифа со сниженной по сравнению с *R. prowazekii* в отношении человека вирулентностью. Возбудитель обнаружен, выделен и идентифицирован Г. Музером и соавт. в 1926–1928 гг. Паразитирует внутриклеточно. Морфологические, ростовые, тинкториальные характеристики идентичны таковым для возбудителя вшивого сыпного тифа. Имеет общие антигены с *R. prowazekii* и протеем OX19.

Эпидемиология. Больной в отсутствие блох не заразен, заболеваемость носит спорадический характер с незначительным подъемом в осенне-зимнее время. Болезнь распространена в странах тропического и субтропического пояса. 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 одного из переносчиков (*X. cheopis*). Инфицированность блох *R. typhi* достигает 50–70%. Они остаются пожизненными носителями *R. typhi* и передают их трансвариально. В организме грызунов, в частности домовых мышей, возбудитель персистирует до 5 мес., при этом он выделяется с мочой. Инфицирование человека происходит через укусы зараженных блох, контаминацию расчесов кожи или респираторного тракта высохшими фекалиями таких блох или пылевидных частиц, загрязненных мочой грызунов.

Патогенез болезни в отличие от риккетсиоза Провачека отличается более умеренными морфологическими изменениями в пораженных органах и микроциркуляторном русле сосудистой системы. Первичный аффект на месте входных ворот инфекции встречается редко. Болезнь возникает остро после инкубационного периода 5–15 дней, сопровождается общими явлениями инфекционного токсикоза (озноб, лихорадка, головная боль, миалгия, недомогание, бессонница и др.). Характерна сыпь розеолезно-папулезного или макулопапулезного характера, часто (45–62%) распространяющаяся на ладони и подошвы. Лихорадочный период при среднетяжелом течении длится примерно 14 дней. Рецидивы и повторные заболевания не отмечены.

Микробиологическая диагностика. В сыворотке крови больного выявляют специфические антитела в РНГА, ИФА и др.

Лечение. Эффективны антибиотики тетрациклинового ряда, в том числе и однократный прием доксициклина.

Профилактика. Вакцинопрофилактика нерациональна. Неспецифическая профилактика достигается дезинсекционно-дератизационными мероприятиями в очагах инфекции и повышением социально-гигиенических стандартов жизни населения.

15.9.1.3. Возбудитель тифа кошачьих блох (*R. felis*)

Риккетсиоз кошачьих блох (син.: блошиная пятнистая лихорадка) — острое инфекционное заболевание риккетсиозной этиологии.

Возбудитель — *R. felis*, выделен и идентифицирован Абду Ф. Азадом и соавт. в 1990–1995 гг. в США. По молекулярно-генетическим характеристикам и наличию протеина OmpA в наружной мембране он рассматривается в группе пятнистых лихорадок, связанных с клещами. Обнаружен на территории 20 стран на пяти континентах. В природе циркулирует в циклах различных видов блох кошек, ежей, собак, дикобразов, мышей, кур и других животных. Инфицированность кошачьих блох на эндемичных территориях достигает 5–46%.

Заболевание у людей протекает в легкой форме как денгеподобная или сходная с крысиным тифом лихорадка, сопровождается сыпью, иногда первичным аффектом. Истинные размеры заболеваемости неизвестны, к 2007 г. подтверждено 68 случаев заболевания людей. Экология возбудителя, эпидемиология и клиника заболевания изучаются. Эпидемиологическое значение для России неясно. Принципы диагностики, лечения и профилактики те же, что и для других риккетсиозов.

15.9.2. Риккетсии группы клещевых риккетсиозов

15.9.2.1. Возбудитель североазиатского риккетсиоза (*R. sibirica*)

Североазиатский клещевой риккетсиоз (син.: клещевой сыпной тиф Азии, сибирский клещевой тиф) — природно-очаговый, облигатно трансмис-

сивный, 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 1936 г. под названием *клещевая пятнистая лихорадка Приморья*. Возбудитель выделен из крови больного в 1936 г. О.С. Коршуновой.

Таксономия и общая характеристика возбудителя. *R. sibirica* (иначе *sibirica*) — типичный представитель риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок, серологически имеет общие антигены с другими риккетсиями данной группы, отнесен к роду *Rickettsia* семейству *Rickettsiaceae*; паразитирует в цитоплазме и ядре чувствительных клеток. Хорошо культивируется в клещах надсемейства *Ixodoidea*, несколько хуже в перевиваемых линиях клеток и желточных мешках куриного эмбриона. 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 риккетсии Риккетса и риккетсии Конори, однако вирулентность для человека и экспериментальных животных более низка.

Эпидемиология и клиника. 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 и Иркутская области, Тыва, Хакасия) и сопредельных государств (Казахстан, Китай, Монголия). Заражение человека происходит в результате нападения и присасывания клеща на всех стадиях его развития. Заболеванию подвержены люди всех возрастов независимо от пола и профессии; четко выражена сезонность (март–сентябрь) болезни с пиком в апреле–мае.

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, реже 10–14 дней. Заболевание протекает как острая лихорадка с недомоганием, ознобом, головной болью, развитием генерализованной сыпи; продолжается 7–12 дней. Для клинической картины характерна триада признаков: первичный аффект на месте укуса клеща, сыпь, лихорадка.

Микробиологическая диагностика. Исследуется сыворотка крови больного со специфическим групповым антигеном (РСК, РНГА, РИФ).

Лечение и профилактика. Лечение эффективно тетрациклинами. Вакцинопрофилактика не разработана. Экстренная профилактика может осущест-

вляться по факту укуса клеща одно-, двукратным приемом доксициклина или других эффективных антибиотиков; неспецифическая — противоклещевыми мероприятиями (защитная одежда, репелленты группы синтетических пиретроидов) и информированием врачей и населения на эндемичных территориях об опасности заболевания клещевыми инфекциями.

15.9.2.2. Возбудитель марсельской лихорадки (*R. conorii*)

Марсельская лихорадка (син.: прыщевидная лихорадка, болезнь Кардуччи–Ольмера, средиземноморская лихорадка, астраханская лихорадка и др.) — острая инфекционная болезнь, вызываемая *R. conorii*, поддерживаемая и распространяемая в природе клещами-иксодидами, основными из которых являются *Rhipicephalus sanguineus*, *Rh. pumilio*, *Haemophysalis leachi* и др.

Болезнь описана в 1910 г. Конором и Брушем в Тунисе; обнаружена в Крыму А.Я. Алымовым в 1936 г., в Астраханской области России идентифицирована И.В. Тарасевич и сотр. в 1989–1992 гг.

Таксономия и общая характеристика. Возбудитель — *R. conorii*, идентифицирован в 1932 г. Каминопетросом и Конто, является типичным представителем природно-очаговых 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, по генно-молекулярным — гетерогенны (четыре подвида: *R. conorii* var. *conorii*, *R. conorii* var. *caspia*, *R. conorii* var. *israelensis*, *R. conorii* var. *indica*). В отсутствие переносчика заболевание неконтагиозно.

Эпидемиология. Природные очаги инфекции приурочены к ареалам обитания клещей в бассейне Средиземного и Черного морей, на западе и юге Африки, на западе и в прибрежных районах Индии. В России активно действующий очаг (ежегодно 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.

Механизм заражения, как и при других клещевых риккетсиозах, — через укус клеща или вдыхание аэрозоля после раздавливания инфицированного клеща.

Клиника и патогенез аналогичны другим клещевым риккетсиозам, в частности клещевому риккетсиозу Азии.

Микробиологическая диагностика. Исследуется сыворотка крови больных (РНГА, РНИФ).

Лечение и профилактика аналогичны таковым при других клещевых риккетсиозах (см. разд. 15.9.2.1). Высокоэффективна терапия доксициклином,

а также макролидами (кларитромицин, азитромицин). Специфическая профилактика отсутствует.

15.9.2.3. 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. Возбудитель относится к роду *Rickettsia* семейству *Rickettsiaceae*.

Эпидемиология. Единичные случаи заболевания периодически регистрируются в некоторых городах Атлантического побережья США, тогда как Донбасский очаг болезни в бывшем СССР в результате интенсивных дезинсекционно-дератизационных мероприятий к 1960-м годам ликвидирован.

Клиника. 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 спустя 2–3 нед. 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.), сохраняющиеся у больных не более 6 дней.

Микробиологическая диагностика. В крови заболевших выявляются специфические антигены с антигеном риккетсий клещевой группы (РНГА, РНИФ и др.).

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.

15.9.2.4. Возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых гор (*R. rickettsii*)

Пятнистая лихорадка Скалистых гор — зооантропоноз риккетсиозной этиологии с трансмиссивным механизмом распространения с участием иксодовых клещей. В отсутствие переносчика неконтагиозна.

Таксономия и общая характеристика. Возбудитель болезни — *R. rickettsii*, открыт Г. Риккетсом в 1909 г., относится к роду *Rickettsia* семейству *Rickettsiaceae*; паразитирует в цитоплазме и ядрах чувствительных клеток. Хорошо культивируется в организме клещей различных видов и в перевиваемых линиях клеток; накапливается в желточных мешках куриного эмбриона 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, инактивируется обычными дезинфектантами.

Эпидемиология. Заражение реализуется через укус (присасывание) лесных клещей *D. andersoni* (запад США), собачьих — *D. variabilis* (восток и юго-восток

США), *Rh. sanguineus* (вся территория США) и бразильских клещей *A. cajennense* (Бразилия, страны Панамского перешейка). Возможно внутрилабораторное заражение аэрозолем, инфицированным риккетсиями.

Заболевание вне территории Америки не встречается; в природе возбудитель поддерживается за счет трансовариальной передачи у клещей и циркуляции в цепи диких животных, грызунов и клещей, в окружении человека — за счет собак и клещей.

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 типичного заболевания характерна триада признаков: указание на укус или контакт с клещами; макулопапулезная 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.

Микробиологическая диагностика. Окончательный диагноз подкрепляется серологическим обнаружением специфических антител в РСК, РНИФ и фрагментов ДНК в ПЦР.

Лечение осуществляется антибиотиками широкого спектра действия (тетрациклины, доксициклин).

15.9.3. Ориенции (возбудители лихорадки цуцугамуши — *O. tsutsugamushi*)

Лихорадка цуцугамуши (син.: краснотелковый риккетсиоз, кустарниковый тиф, речная лихорадка, тропический клещевой сыпной тиф) — острая инфекционная болезнь, вызываемая *Orientia tsutsugamushi* и передающаяся вследствие присасывания инфицированных 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* семейству *Rickettsiaceae* классу альфа-протеобактерий. Имеет шесть серологических групп, десять геновариантов.

По биологическим характеристикам, обеспечивающим циркуляцию возбудителя в природе и распределение в чувствительных летках, идентичен риккетсиям клещевой группы. Имеет общий антиген с протеем OX19.

Эпидемиология и клиника. 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 природный очаг на крайнем юге Приморского края самоликвидировался. Возбудитель поддерживается в циклах циркуляции между мелкими грызунами и членистоногими, а также в результате трансвариальной и трансстадийной передачи у последних. Инфицирующая доза исключительно мала (единицы клеток).

В Японии в 1980-е годы ежегодно регистрировали до 1000 случаев заболевания. 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.

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 макулопапулезная, реже геморрагическая сыпь на коже туловища, реже — на ладонях и стопах.

В связи с существованием антигенных вариантов ориентаций возможно повторное заболевание, так как предшествующее, обусловленное одним типом не создает прочного иммунитета против другого.

Микробиологическая диагностика подкрепляется серологическими исследованиями на антитела к протею OX19 либо к специфическим антигенам клещевой группы методами РСК, РНИФ, ИФА. Осуществляется ПЦР.

Специфические антитела в крови переболевших сохраняются до 20 лет.

Лечение антибиотиками тетрациклинового ряда эффективно купирует инфекционный процесс и приводит к быстрому (4–5 дней) излечению больных.

Специфическая вакцинопрофилактика не разработана; предупреждение болезни может осуществляться периодическим (раз в неделю) оральным приемом доксицилина при пребывании, например туристов и военнослужащих, в эндемических местностях и комплексом противоклещевых мероприятий.

15.10. Анаплазмы, неориккетсии и эрлии (семейство *Anaplasmataceae*)

Патогены данной группы — типичные возбудители антропозоонозов, представлены облигатно-внутриклеточными грамотрицательными бактериями, паразитирующими в клетках гемопоэтического ряда и в цирку-

лирующих клетках крови, преимущественно лейкоцитах (паразиты лейкоцитов).

Они обособлены в семейство *Anaplasmataceae* порядка *Rickettsiales* класса альфа-протеобактерий. Поражают жвачных животных (коровы, овцы, олени, козули, лошади и др.), человека, рыб и насекомых. Патогенные для человека возбудители выделены в три рода (*Ehrlichia*, *Anaplasma* и *Neorickettsia*).

Первый случай моноцитарного эрлихиоза у человека был выявлен в США в 1986 г. К. Maeda. В последующем случаи моноцитарного эрлихиоза были подтверждены выделением возбудителя, клиническими и лабораторными исследованиями в Европе и США, а также в некоторых странах Африки.

История изучения гранулоцитарного эрлихиоза человека начинается с момента обнаружения в 1994 г. Д. Бэккенем и соавт. эрлихиального патогена внутри нейтрофилов человека, больного тяжелой лихорадкой, схожей по манифестации с клинической картиной моноцитарного эрлихиоза. Первый случай гранулоцитарного эрлихиоза (анаплазмоза) в Европе был отмечен в Словении в 1997 г.

Родовое название *Ehrlichia* было предложено Ш.Д. Мошковским в 1945 г. в честь Пауля Эрлиха для группы внутриклеточных микроорганизмов, имеющих отчетливый тропизм к гемопоэтическим клеткам.

В 2001 г. возбудители моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиозов человека и животных и возбудитель лихорадки сеннетсу в Японии по комплексу клинико-эпидемиологических и генно-молекулярных данных были выделены в самостоятельное семейство *Anaplasmataceae* и номинированы как *Anaplasma phagocytophilum* (возбудитель гранулоцитарного эрлихиоза), *Ehrlichia chaffeensis* и *Ehrlichia muris* (возбудители моноцитарного эрлихиоза), *Neorickettsia sennetsu* (возбудитель лихорадки сеннетсу).

Морфология и биологические свойства. Бактерии данной группы, патогенные для человека, размножаются в моноцитах, макрофагах либо в крови. Их жизненный цикл осуществляется внутри цитоплазматических вакуолей, так называемых «морул», т.е. в фагосомах (эндосомах) клетки, содержащих скопления эрлихий. Анаплазмы и эрлихии растут на макрофагоподобных (собачьих макрофагах) или эпителиоподобных (эндотелиальных клетках человека, клетках Vero, HeLa и др.) культурах клеток (табл. 15.7). Накопление возбудителей в них незначительно, процесс занимает длительное время (до 20–40 суток). Вероятно, это служит одной из причин довольно редкого выделения анаплазм и эрлихий от больных людей. Для размножения *N. sennetsu* могут использоваться белые мыши, у которых возбудитель вызывает генерализованную инфекцию с накоплением микроорганизма в макрофагах перитонеальной жидкости и в селезенке.

Все патогены данной группы представляют собой небольшие плеоморфные кокковидные или овоидные микроорганизмы, приобретающие темно-голубой или пурпурный оттенок при окраске по Романовскому. Их обнаруживают в ва-

куолях — фагосомах цитоплазмы инфицированных клеток — в виде компактных скоплений отдельных бактерий, имеющих конфигурацию ягоды тутового дерева; последнее послужило основанием назвать такие скопления морулами. Небольшие цитоплазматические вакуоли клеток-мишеней содержат обычно 3–50 возбудителей; количество инфицированных вакуолей может достигать нескольких десятков и даже более сотни на одну клетку. Количество зараженных лейкоцитов составляет 0,3–6% просмотренных мазков крови.

При электронно-микроскопическом исследовании установлена сходная с риккетсиями ультраструктура данной группы патогенов и идентичность способа размножения (простым бинарным делением). Эрлихии и анаплазмы не имеют общих специфических антигенов с риккетсиями сыпнотифозной и клещевой группы. Внутри же группы имеют антигенные перекресты с родственными паразитами, патогенными для животных.

Таблица 15.7

**Клинико-эпидемиологические связи представителей семейства
Anaplasmataceae, патогенных для человека**

Представитель	Болезни людей	Резервуар	Переносчик
<i>Ehrlichia muris</i> — в Европе (вкл. Россию), <i>Ehrlichia chaffeensis</i> (два генотипа) — в США и Евразии	Моноцитарный эрлихиоз	В Евразии — клещи <i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i> ; в США — <i>A. americanum</i> , <i>A. variabilis</i> ; олени, косули, койоты, собаки, мышевидные грызуны	Иксодовые клещи разных видов
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> (ранее <i>E. phagocytophila</i> , <i>Human granulocytic ehrlichia</i> , <i>E. ewingii</i>) — повсеместно	Гранулоцитарный анаплазмоз (син.: с 1994 г. — гранулоцитарный эрлихиоз; с 2001 г. — анаплазмоз человека и животных)	В США — клещи <i>A. americanum</i> , <i>I. scapularis</i> , <i>I. pacificus</i> , <i>I. dentatus</i> ; в Евразии — клещи <i>I. ricinus</i> и <i>I. persulcatus</i> ; дикие копытные (олени, косули), овцы и мелкие грызуны	Иксодовые клещи разных видов
<i>Neorickettsia sennetsu</i> (ранее <i>E. sennetsu</i>) — Япония и Малайзия	Неориккетсиоз сеннетсу (син.: инфекционный ангинозный мононуклеоз; до 2001 г. — эрлихиоз сеннетсу)	Морские моллюски	Переносчик не установлен; заражение связано с употреблением загрязненной морскими моллюсками рыбы

Эпидемиология. Механизм заражения, существование и распространение возбудителей моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека тесно связаны с иксодовыми клещами и их естественными прокормителями. Клещи передают все виды данных патогенов через слюну. Трансовариальная передача бактерий у клещей отсутствует.

Анаплазмы и эрлихии распространены на всех континентах, кроме Антарктиды; возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза обнаружен у лошадей, коз и собак во многих странах Европы. Заболевание у людей имеет сезонный

характер, связанный с активностью переносчиков клещей: болеют люди любого возраста — от младенцев до пожилых, но истинная заболеваемость неизвестна из-за трудностей диагностики и отсутствия обязательной регистрации заболеваний.

Факторы патогенности у анаплазм и эрлихий изучены недостаточно. Избыточная нерегулируемая продукция цитокинов, таких как ФНО- α , IFN- γ , IL-10 и некоторых других, инфицированными эндотелиальными клетками под влиянием возбудителя является ключевой в развитии патологического процесса. Цитокины в избыточном количестве индуцируют серьезные повреждения клеток-мишеней, что сопровождается развитием патологического процесса.

В качестве факторов патогенности рассматриваются формирование «спороподобных» корпускул, выход их из клетки-мишени путем «почкования» с последующим заражением прилегающих соседних клеток эндотелия. Кроме того, в наружной мембране клеточной стенки возбудителя гранулоцитарного эрлихиоза выявлены два протеина с молекулярной массой 44 и 153 кДа, играющие роль адгезинов, которые способствуют связыванию с лецитинсодержащими доменами клеток, а также участвующие в регуляции экспрессии генов клеткой хозяина.

Патогенез. При лихорадке сентетсу 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. Как следствие у трети больных развивается сыпь эритематозного или петехиального характера.

Патогенез моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза связан с нападениями клещей. Поэтому на начальной стадии он обусловлен процессом внедрения возбудителя в организм через кожу колюще-сосущим аппаратом переносчика и, следовательно, идентичен таковому для клещевых риккетсиозов. Однако при эрлихиозах и анаплазмозе первичный аффект отсутствует. После укуса инфицированного клеща возбудитель попадает непосредственно в кровоток и в подлежащие ткани и распространяется гематогенным путем. Происходит поражение макрофагов селезенки, печени, лимфатических узлов, гемопоэтических клеток, костного мозга. Нередко развиваются очаговые некрозы, периваскулярные лимфогистиоцитарные инфильтраты. В селезенке, печени, лимфатических узлах и костном мозге — мегакариоцитоз и гемофагоцитоз, что формирует гемопоэтический ответ в форме миелоидной гипоплазии.

Морфологические изменения в сосудистой системе, внутренних органах и костном мозге проявляются нарастающей гипотензией, развитием желудочно-кишечного и легочного кровотечений, лейкопенией и тромбоцитопенией, изменением уровня печеночных трансаминаз.

Клиника. Общим в характеристике болезней этой группы является то, что клинически выраженные формы возникают внезапно, сопровождаются лихо-

радочной реакцией, 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 анаплазмозе и моноцитарном эрлихиозе соответственно.

Инкубационный период составляет в среднем 7–14 дней. Продолжительность лихорадочного периода не превышает 2 нед. для лихорадки сеннетсу, 3 нед. — для моноцитарного эрлихиоза, 7–10 дней — для гранулоцитарного анаплазмоза.

Микробиологическая диагностика ставится на основании исследований сывороток крови больных и реконвалесцентов в РИФ со специфическим антигеном, РНИФ или ИФА. Применяют ПЦР. Возможно выявление скоплений эрлихий (морул) в моноцитах и нейтрофилах (мазки крови, окрашенные по Романовскому–Гимзе).

Лечение проводится препаратами тетрациклинового ряда (доксциклин), реже — хлорамфениколом.

Профилактика. Вакцинопрофилактика анаплазмоза и эрлихиозов в отношении человека не разработана. Экстренная специфическая профилактика может осуществляться по факту обнаружения укуса клеща приемом доксициклина. Неспецифическая профилактика заключается в проведении противоклещевых мероприятий перед выходом на местность, эндемичную по клещам.

15.11. Хламидии (семейство *Chlamydiaceae*)

Хламидии — бактерии, являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами, которые вызывают различные заболевания человека, животных и птиц. Свое название хламидии получили от греч. *chlamyda* — мантия, так как в пораженных клетках хламидийные включения окружены оболочкой, напоминающей мантию, которую образуют клетки хозяина.

Таксономическое положение. Хламидии относятся к семейству *Chlamydiaceae*, которое разделено на два рода: *Chlamydia*, представленный видом *C. trachomatis*, и *Chlamydophila*, в который включены виды *C. psittaci* и *C. pneumoniae*. Классификация патогенных для человека хламидий представлена в табл. 15.8.

Морфологические и тинкториальные свойства. Хламидии — это мелкие грамотрицательные бактерии шаровидной или овоидной формы. Не образуют спор, не имеют жгутиков и капсулы. Основной метод выявления хламидий в клетках — окраска по Романовскому–Гимзе.

Таблица 15.8

Классификация хламидий, патогенных для человека

Вид	Серовары хламидий	Заболевания
<i>Chlamydia trachomatis</i> (20 сероваров)	A, B, B _a , C	Трахома
	От D до K	У взрослых людей: урогенитальный хламидиоз, воспалительные заболевания органов малого таза, конъюнктивит. У новорожденных: конъюнктивит и пневмония
	L ₁ , L ₂ , L _{2a} , L ₃	Венерическая лимфогранулема
<i>Chlamydophila psittaci</i>	10 сероваров	Орнитоз (пситтакоз)
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	1 серовар	Пневмония, бронхит, фарингит; ОРЗ; риск развития атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний, саркоидоза, бронхиальной астмы

Хламидии полиморфны, что связано с особенностями их репродукции. Уникальный цикл развития бактерий характеризуется чередованием двух различных форм существования — элементарных и ретикулярных (или инициальных) телец.

Элементарные тельца представляют собой мелкие сферические или грушевидные метаболически неактивные инфекционные частицы размером 0,2–0,3 мкм, которые располагаются вне клетки. Они имеют толстую оболочку, состоящую из внутренней и наружной мембран, что определяет их относительно высокую устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды. Элементарные тельца окрашиваются по Романовскому–Гимзе в красный цвет. Внутри клеток они трансформируются в ретикулярные тельца.

Ретикулярные тельца являются вегетативной формой хламидий, обычно имеют овоидную форму и крупнее элементарных телец в несколько раз (их размер 0,4–0,6 × 0,8–1,2 мкм). Они располагаются внутриклеточно около ядра и окрашиваются по Романовскому–Гимзе в голубой или фиолетовый цвет. Инфекционность ретикулярных телец по сравнению с элементарными крайне мала.

Репродукция хламидий. Размножение хламидий происходит в клетках, преимущественно эпителиальных. Элементарные тельца индуцируют фагоцитоз и захватываются клеткой-мишенью, попадая в нее путем эндоцитоза (рис. 15.1). После поглощения элементарные тельца оказываются внутри фагосомы и блокируют ее слияние с лизосомами. Благодаря этой своей особенности элементарные тельца «избегают» контакта с лизосомальными ферментами и беспрепятственно размножаются внутри фагосомы.

Внутри клеток элементарные тельца трансформируются в ретикулярные, которые, в свою очередь, многократно делятся бинарным делением, затем уплотняются и превращаются в элементарные тельца. В конце цикла последние занимают большую часть клетки хозяина. Растягивая стенку вакуоли, они

разрывают ее, а затем и плазматическую мембрану клетки. Цикл развития хламидий продолжается 24–48 ч и завершается гибелью клетки хозяина и выходом элементарных тел. Освободившись, элементарные тельца инфицируют соседние intactные клетки и цикл повторяется.

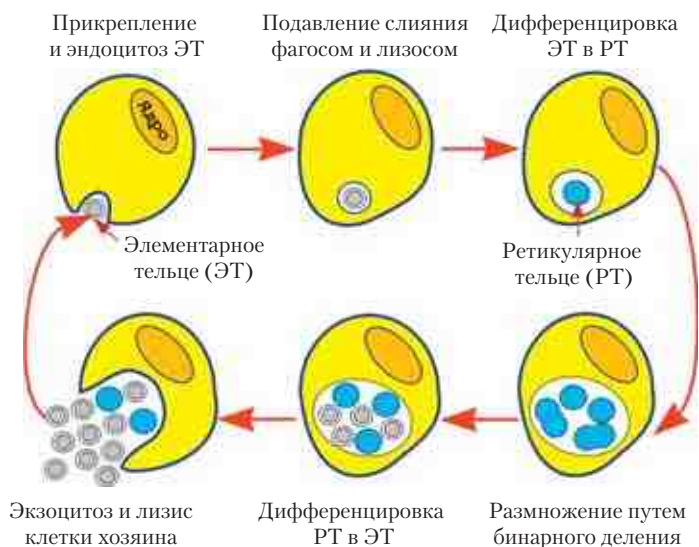


Рис. 15.1. Схема жизненного цикла хламидий с образованием ретикулярных тел (РТ) и элементарных тел (ЭТ)

Культивирование хламидий. Поскольку хламидии относятся к облигатным внутриклеточным паразитам, их можно размножать только в живых клетках. Природа паразитизма хламидий радикально отличается от таковой у вирусов: обладая собственными белоксинтезирующими системами, они не способны самостоятельно аккумулировать и использовать энергию. В этой связи хламидии, подобно риккетсиям, принято называть *энергетическими паразитами*.

Культивируют хламидии в желточном мешке куриных эмбрионов, организмы чувствительных животных и в культуре клеток типа HeLa, McCoу, HEp-2. Оптимальная температура культивирования 35 °С. Перед заражением культуры клеток облучают или обрабатывают циклогексимидом, что позволяет хламидиям легче усваивать АТФ. Возбудитель венерической лимфогранулемы (*C. trachomatis*) отличается более высокой вирулентностью и поэтому легче культивируется на всех предложенных живых моделях, не требуя предварительной подготовки культур клеток.

Ферментативная активность. Хламидии обладают небольшим набором ферментов: они могут ферментировать пировиноградную кислоту, синтезировать некоторые липиды и т.д. Но эти бактерии не способны синтезировать высокоэнергетические соединения, и вне живых клеток их метаболические

функции сведены до минимума, поэтому обеспечение хламидий метаболитами осуществляется в основном за счет жизнедеятельности клеток хозяина.

Антигенная структура. Важным компонентом клеточной стенки хламидий является трансмембранный белок МОМР (**m**ajor **o**uter **m**embrane **p**rotein — главный белок наружной мембраны), содержащий видоспецифические и подвидоспецифические эпитопы, которые идентифицируют с помощью моноклональных антител.

Липополисахарид наружной мембраны клеточной стенки хламидий — родоспецифический антиген, который выявляется с помощью РСК у всех представителей этого семейства.

Факторы патогенности. Белки наружной мембраны хламидий — адгезины, которые обнаруживают только у элементарных телец. Липополисахарид клеточной стенки выполняет роль **эндотоксина**. **Белки наружной мембраны** препятствуют фагоцитозу, подавляя слияние фагосомы с лизосомой.

Кроме того, у хламидий обнаружены **белки теплового шока** (от англ. *heat-shock proteins* — *HSP*), способные вызывать аутоиммунные реакции (например, синдром Рейтера у мужчин при уrogenитальном хламидиозе).

Резистентность элементарных телец хламидий к различным факторам окружающей среды достаточно высока. Они устойчивы к низким температурам (не теряют активности даже при замораживании при -50 или -70 °C), высушиванию. Так, например, возбудитель орнитоза может сохраняться в подстилке гнезда птиц до нескольких месяцев. Хламидии чувствительны к нагреванию и быстро инактивируются различными дезинфектантами.

Эпидемиология, патогенез, клиника. Болезни, вызываемые хламидиями, называют **хламидиозами**. Различают антропонозные и зооантропонозные хламидиозы. Заболевания, вызываемые *C. trachomatis* и *C. pneumoniae*, — антропонозы. Орнитоз, возбудителем которого является *C. psittaci*, — зооантропонозная инфекция. Орнитоз от человека человеку не передается. Остальные виды хламидий — *C. abortus*, *C. felis* и др. — поражают только животных.

Хламидии обладают эпителиотропностью и способны поражать преимущественно клетки конъюнктивы, мочеполового тракта, прямой кишки и дыхательных путей. Массовое размножение хламидий в зараженных клетках приводит к разрушению эпителия и образованию язв, которые заживают с образованием рубцов и спаек. Рубцовые изменения роговицы при трахоме приводят к слепоте; воспаление органов малого таза при уrogenитальном хламидиозе ведет к бесплодию и внематочной беременности у женщин; поражение легких при респираторном хламидиозе и орнитозе служит причиной дыхательной недостаточности.

После гибели большого количества эпителиальных клеток возбудитель может попадать в кровь, паренхиматозные органы и фиксироваться в лимфоидной ткани. Это, в частности, характерно для возбудителей венерической лимфогранулемы и орнитоза. Кроме того, многие виды хламидий способны к латентному

существованию или персистенции в организме хозяина, вызывая иммунную и аллергическую перестройку организма, как, например, при синдроме Рейтера (см. ниже).

15.11.1. Возбудители трахомы, конъюнктивита, урогенитального хламидиоза и др. (серовары *C. trachomatis*)

Chlamydia trachomatis является возбудителем заболеваний мочеполовой системы, глаз и респираторного тракта человека. Отличительная особенность этого вида хламидий — способность накапливать гликоген в виде различного рода включений.

В настоящее время известно 20 сероваров *C. trachomatis*. Их принято разделять на «глазные», «генитальные» и «хламидии венерической лимфогранулемы» (см. табл. 15.8).

- Серовары А, В, В_a и С называют «глазными», так как они вызывают трахому.
- 11 «генитальных» сероваров — D, D_a, E, F, G, H, I, I_a, J, J_a и K — являются причиной урогенитального хламидиоза (негонококковый уретрит) и его экстрагенитальных осложнений (таких, как болезнь Рейтера, например).
- Серовары L₁, L₂, L_{2a}, L_{2b}, L₃ вызывают венерическую лимфогранулему, или паховый лимфогранулематоз.

15.11.1.1. Возбудитель трахомы (*Chlamydia trachomatis*)

Трахома — хроническое инфекционное заболевание, характеризующееся поражением конъюнктивы и роговицы глаз, приводящее, как правило, к слепоте.

Название этой болезни пришло из глубокой древности. В переводе с греческого *trachys* означает шероховатый, неровный. Это связано с тем, что при трахоме поверхность конъюнктивы выглядит бугристой в результате гранулематозного воспаления.

Возбудитель трахомы *Chlamydia trachomatis* был открыт раньше других хламидий в 1907 г. С. Провачеком и Л. Хальбершtedтером, которые впервые обнаружили в клетках роговицы больного включения, позднее названные тельцами Хальбершtedтера–Провачека. Эти же ученые экспериментально доказали контагиозность трахомы, заразив орангутангов материалом из соскоба конъюнктивы больного человека.

Эпидемиология. Трахома — антропонозная инфекция, которая передается от человека человеку контактно-бытовым путем: с грязными руками или через предметы, касающиеся лица и глаз. Восприимчивость к трахоме высокая, особенно в детском возрасте. Существуют семейные очаги болезни.

Трахома отличается эндемичностью. Заболевание встречается в странах с жарким климатом — в Азии, Африке, Центральной и Южной Америке и особенно широко распространено в странах с низким уровнем санитарной культуры и гигиены. В настоящее время более 400 млн человек заражены трахомой, из них 10–20 млн страдают частичной или полной потерей зрения. В России наблюдаются спорадические, преимущественно завозные случаи трахомы.

Патогенез и клиника. Возбудитель трахомы поражает слизистую оболочку глаз. Он проникает в эпителий конъюнктивы и роговицы, где размножается, разрушая клетки. Развивается фолликулярный кератоконъюнктивит (чаще двусторонний), который характеризуется появлением лимфоидных фолликулов (трахоматозных гранулем) в субэпителиальной ткани глаз. В запущенных случаях вся конъюнктива больного глаза усеяна зернышками, тесно прилегающими друг к другу, что напоминает «вареное саго». Начавшись в раннем детстве, заболевание прогрессирует на протяжении многих лет и прекращается лишь после образования рубцовой соединительной ткани на месте поражения, что часто приводит к слепоте.

Иммунитет после перенесенного заболевания не вырабатывается. Нередко наблюдается реинфекция, причем повторное заболевание характеризуется более тяжелым течением.

Микробиологическая диагностика заключается в исследовании соскоба с конъюнктивы. В пораженных клетках при окраске по Романовскому–Гимзе обнаруживают цитоплазматические включения фиолетового цвета с красным центром, расположенные около ядра, — тельца Хальбершtedтера–Провачека. Для выявления специфического хламидийного антигена в пораженных клетках применяют РИФ и ИФА. Иногда прибегают к культивированию хламидий трахомы на куриных эмбрионах или в культуре клеток. *Серологический метод* для обнаружения антител неинформативен из-за малой антигенной нагрузки при локальной инфекции, каковой является трахома.

Лечение проводится с помощью антибиотиков (тетрациклин) и иммуностимуляторов (интерферон).

Специфическая профилактика. Не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к соблюдению правил личной гигиены, повышению санитарно-гигиенической культуры населения.

15.11.1.2. Возбудитель урогенитального хламидиоза (*Chlamydia trachomatis*)

Урогенитальный хламидиоз — это острое или хроническое инфекционное заболевание, которое характеризуется преимущественным поражением мочеполового тракта, обычно малосимптомным течением, но тяжелыми последствиями — развитием бесплодия.

Эпидемиология. Урогенитальный хламидиоз — антропонозная инфекция: ее источником служат больные люди (хламидии не являются представителями нормальной микрофлоры, поэтому их обнаружение у здоровых людей служит доказательством хронического бессимптомного течения хламидиоза). Как источник инфекции наиболее опасны женщины, у которых бессимптомное течение заболевания отмечается в 70–80% случаев. Заражение человека происходит через слизистые оболочки половых путей. Основной механизм заражения — контактный, путь передачи — половой. Также возможно инфицирование и через различные предметы (белье, мочалка и др.). Описаны случаи семейного хламидиоза, возникшего в результате контактно-бытового инфицирования. Новорожденные могут заражаться от больной матери при родах аспирационно или контактным путем (хламидиоз глаз, отиты, назофарингиты, хламидийная пневмония). Возможна также трансплацентарная передача возбудителя от матери плоду в процессе его внутриутробного развития (неонатальная патология — врожденный хламидиоз).

Генитальные серовары *C. trachomatis* могут попасть на слизистую оболочку глаз человека также при купании в бассейне, в результате чего развивается кератоконъюнктивит («хламидиоз бассейнов»).

Восприимчивость к болезни высокая: около 6–9% мужчин и 12–15% женщин в мире заражены хламидиями.

Патогенез и клиника. Входные ворота инфекции, как правило, слизистые оболочки половых органов. Патологический процесс начинается через 5–30 дней после заражения. У женщин первоначально поражается шейка матки. У мужчин *C. trachomatis* первично инфицирует эпителий уретры.

Урогенитальный хламидиоз часто называют «негонококковым уретритом», так как у больных отмечаются симптомы, напоминающие гонорею: зуд, выделения, боль при мочеиспускании. Однако эти признаки менее выражены, чем при гонорее. Далее развивается восходящая инфекция, которая у женщин клинически проявляется цервицитом, уретритом, эндометритом, сальпингитом, проктитом. У мужчин в результате хламидийной инфекции возникает эпидидимит, простатит. Воспалительный процесс в органах малого таза приводит к образованию спаек и рубцов, вследствие чего развивается непроходимость маточных труб у женщин и семенных протоков у мужчин. Финалом воспалительных заболеваний таза хламидийной этиологии является развитие внематочной беременности у женщин, а также формирование женского и мужского бесплодия.

В некоторых случаях хламидийный уретрит может осложниться развитием экстрагенитальных осложнений и привести к болезни Рейтера (уретроокуло-синовиальный синдром). В основе патогенеза этого заболевания лежит аутоиммунный механизм. Выделяемый хламидиями при хроническом течении заболевания белок теплового шока сходен по своему аминокислотному составу с человеческим. Накапливаясь в организме человека, этот белок может запускать

аутоиммунные процессы, приводящие к развитию реактивных артритов, синовитов нижних конечностей, асептическому уретриту и конъюнктивиту с полиморфным поражением кожи и слизистых оболочек. Кроме того, *C. trachomatis* стимулирует выработку антиспермальных антител.

Хламидии могут также вызывать воспалительные реакции в прямой кишке. Нередко наблюдается сочетание урогенитального хламидиоза с гонореей, трихомониазом или другими заболеваниями, передающимися половым путем.

Иммунитет. После перенесенного заболевания иммунитет не формируется. При урогенитальном хламидиозе преобладает клеточный иммунитет. В сыворотке крови инфицированных людей могут быть обнаружены антихламидийные антитела, однако они не защищают от повторного заражения, так как не являются протективными.

Микробиологическая диагностика. При заболеваниях глаз применяют *бактериоскопический метод* — в соскобах с эпителия конъюнктивы или роговицы выявляют включения в цитоплазме пораженных клеток (тельца Хальберштедтера–Провачека). При урогенитальном хламидиозе обнаружить хламидии в клетках эпителия мочевого тракта удастся крайне редко.

Антигены хламидий в пораженных клетках обнаруживают в прямой РИФ или ИФА с помощью моноклональных антител против трансмембранного белка МOMP *C. trachomatis*. С этой же целью применяют ПЦР, ДНК- и РНК-гибридизацию и методы амплификации нуклеиновых кислот (NAATs).

При поражении мочевого тракта может быть применен *биологический (культуральный) метод*, основанный на заражении исследуемым материалом (соскобы эпителия из уретры, влагалища, шейки матки, биоптат из половых органов) культуры клеток, предварительно обработанной циклогексимидом. Несмотря на то что этот метод считают «золотым стандартом» диагностики хламидиозов, его применяют ограниченно из-за относительно низкой чувствительности, опасности заражения персонала, дороговизны и сложности процедуры исследования.

Серологический метод направлен на обнаружение антихламидийных антител в парных сыворотках крови больного с помощью РСК, ИФА, реакции микроиммунофлюоресценции. Реакция микроиммунофлюоресценции позволяет выявить серовароспецифические антитела к элементарным тельцам хламидий путем приготовления разведений исследуемой сыворотки, внесенных в маленькие лунки на предметном стекле. Обнаружение IgM против *C. trachomatis* имеет диагностическое значение при первичной хламидийной инфекции и пневмонии новорожденных.

Лечение. Назначают антибиотики с направленной фармакокинетикой, которые способны длительно сохраняться внутри клеток. Наиболее эффективен с этой точки зрения азитромицин из группы макролидов. В связи с тем что хламидии лишены полноценного пептидогликана, недопустимо использование β-лактамов. Одновременно с антибиотиками назначают иммуномодуляторы,

пробиотики (лактобактерин в свечах или в виде аппликаций местно), а также местные антисептические средства.

Профилактика только неспецифическая. Она должна быть направлена на своевременное выявление и лечение больных урогенитальным хламидиозом. Для профилактики хламидиоза новорожденных беременным женщинам с хламидийной инфекцией назначают эритромицин (под контролем врача). К сожалению, закапывание в глаза новорожденным сульфацил-натрия, практикуемое для профилактики бленнореи, а также применение глазных мазей с эритромицином и тетрациклином не защищают от хламидийного конъюнктивита. Немаловажное значение имеет соблюдение правил личной гигиены, использование презервативов при половом контакте и выполнение других мероприятий, рекомендованных для профилактики заболеваний, передающихся половым путем.

15.11.1.3. Возбудитель венерической лимфогранулемы (*Chlamydia trachomatis*)

Венерическая лимфогранулема — заболевание, передающееся половым путем, которое характеризуется поражением половых органов и регионарных лимфоузлов и редко протекает в виде генерализованной инфекции.

Эпидемиология. Источник инфекции — больной человек. Механизм заражения — контактный, путь передачи — половой или реже через различные предметы. Заболевание встречается преимущественно в странах с тропическим и субтропическим климатом — в Юго-Восточной Азии, Центральной и Южной Америке. Восприимчивость людей к венерической лимфогранулеме высокая.

Патогенез и клиника. Хламидии сероваров L₁, L₂, L_{2a}, L_{2b}, L₃, вызывающие венерическую лимфогранулему, характеризуются повышенной инвазивностью. Входные ворота инфекции — слизистая оболочка половых органов. Возбудитель наряду с эпителиотропностью обладает и лимфотропностью.

После **инкубационного периода** (от 3 до 30 дней) у больных появляются признаки поражения наружных половых органов — папулы, эрозии, язвочки. Затем микробы проникают в регионарные лимфатические узлы (обычно паховые), где интенсивно размножаются. В воспалительную реакцию вовлекаются не только группы лимфатических узлов, но и соединительная ткань; формируются плотные опухолеподобные образования — бубоны, которые вскрываются с образованием долго не заживающих фистул. Вскрытие бубонов сопровождается деструктивными изменениями в окружающих тканях. Важными признаками венерической лимфогранулемы являются местные лимфадениты, проктиты, абсцессы и рубцовые поражения прямой кишки.

Заболевание также сопровождается лихорадкой, головной болью, артралгией, иногда сыпью. Редко возможна генерализация процесса с развитием пнев-

монии, менингита, перикардита. Нарушение оттока лимфы вследствие образования спаек может приводить к развитию у мужчин «слоновости» мошонки, пениса, у женщин — вульвы. Папилломатозные разрастания и спаечные процессы в области прямой кишки могут привести к ее непроходимости. Течение заболевания длительное. Мужчины болеют чаще и тяжелее, чем женщины.

Иммунитет. После перенесенного заболевания вырабатывается стойкий клеточный и гуморальный иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат гной из бубонов, биоптат из пораженных лимфоузлов, а также сыворотка крови. Методы диагностики: *бактериоскопический*, *биологический* (культивирование в желточном мешке куриного эмбриона или культуре клеток, а также интрацеребральное заражение мышей), *серологический* (РСК с парными сыворотками положительна со 2–4-й недели заболевания, диагностический титр 1:64) и *аллергологический* (внутрикожная проба с аллергеном хламидий венерической лимфогранулемы — реакция Фрея).

Лечение — применяют макролиды и тетрациклины, которые наиболее эффективны на ранних этапах болезни.

Профилактика неспецифическая, как при других заболеваниях, передающихся половым путем.

15.11.2. Возбудитель респираторного хламидиоза (*Chlamydomphila pneumoniae*)

Chlamydomphila pneumoniae — возбудитель респираторного хламидиоза, вызывающий преимущественно острые и хронические бронхиты и пневмонии. Предполагают также участие этого вида хламидий в развитии атеросклероза, саркоидоза и бронхиальной астмы.

Впервые атипичный штамм хламидий был изолирован от ребенка с трахомой на Тайване в 1965 г., а 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, *C. pneumoniae*.

C. pneumoniae несколько отличается от других хламидий: низкой степенью гомологии ДНК (слабое генетическое родство с другими хламидиями); формой элементарных телец (имеют грушевидную или копьевидную формы за счет расширения периплазматического пространства), а также видовым антигеном. *C. pneumoniae* может размножаться только в клетках линий HeLa и HEp-2.

Эпидемиология. Респираторный хламидиоз — антропонозная инфекция. Заражение происходит воздушно-капельным путем. Восприимчивость к инфекции высокая, особенно у молодых людей старше 20 лет. У бессимптомных

носителей хламидии способны накапливаться в верхних отделах респираторного тракта.

Заболевание широко распространено, особенно в Северной Европе, где *C. pneumoniae* вызывают до 10% регистрируемых случаев пневмонии.

Патогенез и клиника. Хламидии обладают выраженным тропизмом к эпителию респираторного тракта человека и вызывают фарингит, бронхит, пневмонию, реже — синусит. Они попадают в легкие человека через верхние дыхательные пути. Благодаря копьевидной форме элементарных телец хламидии их заостренным концом прикрепляются к эпителиальным клеткам респираторного тракта. В результате размножения бактерий в эпителии происходит гибель клеток и развивается тяжелое воспаление легких. Токсины хламидий и продукты распада клеток организма вызывают патологические изменения в различных органах.

Хламидии вызывают так называемые атипичные пневмонии, которые клинически неотличимы от инфекций легких, вызванных микоплазмами, легионеллами или «респираторными» вирусами. Начало заболевания вялое, с незначительным подъемом температуры тела. Нередко одной из первых жалоб является воспаление носоглотки и осиплость голоса. Возможны бессимптомные и субклинические формы респираторного хламидиоза.

C. pneumoniae обнаруживают 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. Серологический метод диагностики основной. Применяют РСК, ИФА, реакцию микроиммунофлюоресценции, которая более специфична, чем РСК. При первичном заражении учитывают обнаружение IgM, при реинфекции надежным признаком служит четырехкратное нарастание титра IgG или однократное обнаружение антител в титре выше 1:512. Наиболее надежный признак инфекции у взрослых, вызванной *C. pneumoniae*, — выявление IgA, особенно при хроническом течении пневмонии.

Применяют также непрямую РИФ для обнаружения хламидийного антигена (МОМР) и ПЦР для выявления ДНК *C. pneumoniae*.

Учитывая трудности выделения возбудителя, *культуральный (биологический) метод* диагностики используется крайне редко. Материал для исследования: мокрота, легочная ткань, мазок из зева.

Лечение проводят с помощью антибиотиков (обычно тетрациклины и макролиды).

Профилактика только неспецифическая, как при других респираторных инфекциях.

15.11.3. Возбудитель орнитоза (*Chlamydophila psittaci*)

Орнитоз (пситтакоз, попугайная лихорадка) — острое (реже хроническое) инфекционное заболевание, которое характеризуется преимущественным поражением легких, иногда нервной системы и паренхиматозных органов (печени, селезенки) и явлениями интоксикации.

Заболевание было описано в 1876 г. Ф. Юргенсенем и получило название «пситтакоз», так как источником вспышки тяжелой пневмонии были попугаи (от 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 (от 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. От человека человеку заболевание передается крайне редко. Дополнительным источником инфекции для человека могут быть эктопаразиты птиц, а также крысы и некоторые животные. 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, как правило, 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. Хламидии 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. После *инкубационного периода* (от 6 до 10 дней) заболевание начинается остро — температура тела повышается до 38–40 °С, появляются признаки интоксикации. Орнитоз чаще протекает как тяжелая пневмония с гемор-

рагическими 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 нередко 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 наблюдаются длительное персистирование хламидий в организме и, следовательно, частые рецидивы болезни.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат кровь (в первые дни заболевания), мокрота больного (на протяжении всего острого периода), сыворотка крови для серологического исследования.

Биологический метод (культивирование хламидий в желточном мешке куриного эмбриона, на белых мышах или в культуре клеток) применяют редко из-за высокой опасности заражения персонала.

Серологический метод остается самым безопасным и информативным. Применяют РСК, ИФА, реакцию микроиммунофлюоресценции, 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*).

Важное значение при постановке диагноза играет сбор анамнеза, свидетельствующего о контакте с птицами или животными — вероятными источниками инфекции.

Лечение проводят с помощью антибиотиков (тетрациклинов и макролидов).

Профилактика только неспецифическая: регулирование численности голубей, санитарно-ветеринарные мероприятия в птицеводстве, просветительская работа, соблюдение мер личной гигиены, термическая обработка мяса птицы.

15.12. Микоплазмы (семейство *Mycoplasmataceae*)

Микоплазмы вызывают *микоплазмозы* — антропонозные бактериальные инфекции, поражающие органы дыхания или мочеполовой тракт и иногда другие органы.

Таксономия. Микоплазмы входят в тип *Tenericutes* класс *Mollicutes*, который включает 4 семейства, 6 родов и 150 видов, из которых 15 выделены от человека, а остальные изолированы от животных и растений. В патологии человека основная роль принадлежит представителям родов *Mycoplasma* и *Ureaplasma*: *M. pneumoniae*, *M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum*.

Морфология. Микоплазмы — самые мелкие бактерии (размер 0,15–1,0 мкм), не имеющие клеточной стенки и окруженные только цитоплазматической мембраной, содержащей стеролы. Они способны проходить через мембранные бактериальные фильтры. В связи с отсутствием ригидной клеточной стенки микоплазмы высокоплеоморфны. Имеют нитевидную, колбовидную и кокковидную форму. Устойчивы к лекарственным веществам, подавляющим синтез клеточной стенки (пенициллинам, цефалоспорином и др.). Осмочувствительны. По Граму окрашиваются отрицательно. Спор не образуют, предполагается наличие микрокапсулы или капсулоподобной оболочки.

Культуральные свойства. Микоплазмы — факультативные анаэробы. Температурный оптимум — 37 °С. Они требовательны к питательным средам, растут на сложных средах, содержащих дрожжевой экстракт, а также экстракты сердца и мозговой ткани, сыворотку. Обязательно в среду добавляется холестерин, а при выделении уреоплазм — мочевины. Микоплазмы растут медленно, в течение 49–96 ч. На плотных средах образуют мелкие круглые колонии с приподнятым центром, напоминающие яичницу-глазунью. На жидких средах помутнение может не наблюдаться, поэтому наличие роста микоплазм оценивают путем субкультивирования на плотных средах или микроскопией осадка после центрифугирования среды. Возможно культивирование на клеточных культурах и куриных эмбрионах. В клеточных культурах растут на поверхности клеток. Рост ингибируется специфическими иммунными сыворотками.

Биохимические свойства. Биохимическая активность у микоплазм низкая, некоторые виды способны ферментировать углеводы с образованием кислоты. Большинство микоплазм используют глюкозу в качестве источника энергии. Уреоплазмы требуют присутствия в среде мочевины. Они обладают уреазой. Некоторые микоплазмы вырабатывают перекись водорода и гемолизины.

Экология и резистентность. Устойчивость в окружающей среде относительно невысока. Микоплазмы чувствительны к нагреванию, а также к воздействию антисептиков и дезинфектантов в обычных концентрациях.

Микоплазмы широко распространены в природе, могут находиться в почве, стоячей воде, паразитировать в организме животных и растений. Они входят в состав микрофлоры ротовой полости и мочеполового тракта человека. В ротовой полости обитают *M. salivarium* и *M. orale* и иногда (менее чем в 5% случаев) обнаруживается *M. hominis*; этот вид является обитателем мочеполовых органов (у 1–5% мужчин и у 30–70% женщин). *U. urealyticum* обнаруживается у 5–20% сексуально активных мужчин и 40–80% сексуально активных женщин.

Антигенная структура. Обладают видоспецифическими антигенами гликолипидной и белковой природы.

Факторы патогенности изучены недостаточно. Патогенные микоплазмы имеют колбообразную и филаментозную форму со специфичной полярной концевой структурой, которая обеспечивает прикрепление микроба к клетке хозяина. Эта концевая структура представлена комплексом белков-адгезинов и адгезин-акцессорных белков, богатых пролином, обеспечивающим складывание белка, что необходимо для прикрепления к клетке. Микоплазмы прикрепляются к рецепторам гликолипидной природы, расположенным на мембране клетки-хозяина. Образование перекиси водорода и перекисных радикалов вызывает повреждение мембраны клетки-хозяина, что приводит к более тесному слиянию мембран при прикреплении микоплазм. При этом происходит подавление защитной функции мерцательного эпителия.

Патогенез и клиника. Микоплазмы являются мембранными паразитами, прикрепляясь к клетке хозяина, они могут длительное время размножаться и персистировать в макроорганизме, изменяя метаболизм инфицированных клеток, оказывая на них цитотоксическое и цитолитическое действие. Клиническая картина разнообразна в зависимости от возбудителя и вызываемого им заболевания. Клинические проявления связаны с респираторным трактом (*M. pneumoniae* — основной возбудитель респираторного микоплазмоза), органами мочеполовой системы (*M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum*); *M. hominis* и *U. urealyticum* вызывают инфекцию новорожденных, особенно недоношенных детей.

M. pneumoniae — возбудитель антропонозной респираторной инфекции, при которой могут наблюдаться поражения верхних дыхательных путей, а также глубоких отделов респираторного тракта. Это заболевание входит в группу атипичных пневмоний бактериальной этиологии.

Возбудитель передается от человека к человеку воздушно-капельным путем. Инфекционный процесс начинается с прикрепления микроба к рецепторам эпителиальных клеток респираторного тракта. Возбудитель поражает клетки реснитчатого эпителия. Респираторный микоплазмоз может протекать по типу инфекции верхних дыхательных путей (фарингит, трахеобронхит) или пневмонии. Адгезия микоплазм к эпителиальным клеткам приводит к инвагинации клеточных мембран и делает находящиеся в них микоплазмы недоступными воздействию антител, комплемента и других защитных факторов. **Инкубационный период** 1–3 нед. Лихорадочный период до 4 нед. Особенностью заболевания являются относительно слабая контагиозность и высокая частота бессимптомных и легких форм инфекции. Возможна гематогенная диссеминация в суставы, костный мозг, мозговые оболочки, а также развитие иммунопатологических процессов.

Иммунитет. После перенесенного заболевания формируется непродолжительный иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Основной метод диагностики — *сериологический*: в парных сыворотках крови с помощью РСК и ИФА определяют 4-кратное увеличение титра антител. В качестве антигенов в РСК используют гликолипиды, а в ИФА — белковый антиген.

При *бактериологическом методе* материалом для исследования являются мазки из носоглотки, мокрота, лаважная жидкость, сыворотка, которые засевают в жидкие среды с последующим субкультивированием на плотных средах или засевают в двухфазную среду. Выросшие колонии изучают через 2–3 суток после посева.

Для обнаружения антигенов *M. pneumoniae* используют РИФ. Диагноз может быть подтвержден с помощью молекулярно-генетического метода (ПЦР, ДНК-гибридизация).

Лечение. Препаратами выбора в лечении микоплазменной инфекции являются макролиды, тетрациклины или фторхинолоны.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Важны меры неспецифической профилактики, общие для всех респираторных инфекций.

M. hominis, *U. urealyticum*, *M. genitalium* — возбудители заболеваний мочеполового тракта (возбудители урогенитальных микоплазмозов).

Источник инфекции — инфицированный человек. Путь передачи — половой. *M. genitalium* вызывает негонеомикобактериальный уретрит у мужчин. У женщин этот микроб связывают с развитием цервицита, эндометрита, сальпингита. *U. urealyticum* в 10% случаев связывают с развитием негонеомикобактериального уретрита у мужчин. *M. hominis* ассоциирована с развитием у женщин сальпингитов и возникновением послеродовой и постабортальной лихорадки. *M. hominis* и *U. urealyticum*, входящие в микрофлору влагалища, способны инфицировать плод во время прохождения через родовые пути, вызывая развитие пневмоний у новорожденных.

Иммунитет после перенесенной инфекции не формируется. Гуморальные антитела, образующиеся в низких титрах, непротективные.

Микробиологическая диагностика. Исследуемый материал: соскобы со слизистой уретры, отделяемое влагалища, моча. Так как *M. hominis* и *U. urealyticum* входят в состав микрофлоры слизистой урогенитального тракта, считать их ответственными за воспалительный процесс можно только в том случае, если они присутствуют в большом количестве. Поэтому микоплазмы считаются возбудителями инфекционного процесса, если они выявляются в титре, превышающем 10^4 КОЕ/мл. Для этих целей разработана тест-система, позволяющая проводить идентификацию и установление титра *M. hominis* и *U. urealyticum* в исследуемом материале. Дифференциация проводится по способности *M. hominis* метаболизировать аргинин и способности *U. urealyticum* расщеплять мочеви-

ну. Возможен бактериологический метод исследования. Антигены микоплазм можно обнаружить с помощью РИФ.

Серологический метод: антитела в сыворотке крови выявляет ИФА (антитела определяют в острый период заболевания и через 2–4 нед. по 4-кратному увеличению титра IgG, что указывает на текущую инфекцию). Возможна постановка ПЦР.

Лечение. Применяют макролиды, тетрациклины, фторхинолоны.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана.

Тестовые вопросы и задания

Раздел 15.1

А. При посеве гнойного отделяемого послеоперационного абсцесса на желточно-солевом агаре выросли колонии грамположительных кокков с ореолом помутнения, на кровяном агаре — зоны гемолиза, а при посеве на цитратную плазму — ее коагуляция. Назовите возбудителя.

Б. У больного высокая температура, геморрагические высыпания (петехии); внезапно развивающийся менингит с сильной головной болью, рвотой, ригидностью мышц шеи.

При бактериоскопии спинномозговой жидкости обнаруживают грамотрицательные бобовидные диплококки, располагающиеся как внутри лейкоцитов, так и вне их. Назовите возбудителя.

В. Почему из всех инфекций, вызываемых *Streptococcus pyogenes*, адаптивный иммунитет защищает только при скарлатине?

Раздел 15.2

А. Укажите возбудителей воспалительных заболеваний мочевого тракта, находящихся среди следующих родов бактерий:

- 1) род *Klebsiella*;
- 2) род *Escherichia*;
- 3) род *Proteus*;
- 4) род *Shigella*.

Б. Укажите, какие из перечисленных возбудителей, не инвазируя стенку кишки, вызывают секреторную диарею:

- 1) *Shigella sonnei*;
- 2) *Vibrio cholerae*;
- 3) ЭИКП;
- 4) ЭТКП.

В. Трансмиссивно передаются следующие бактерии:

- 1) *Klebsiella pneumoniae*;
- 2) *Klebsiella granulomatis*;

3) *Proteus mirabilis*;

4) *Yersinia pestis*.

Г. Обоснуйте возможность бактериологического выделения возбудителя брюшного тифа из крови больного на 1-й неделе заболевания.

Д. Укажите причину развития бубонной формы чумы. Назовите факторы патогенности возбудителя.

Раздел 15.3

А. Какой из возбудителей передается трансмиссивно:

1) *Bordetella pertussis*;

2) *Legionella pneumophila*;

3) *Brucella suis*;

4) *Bartonella quintana*;

Б. Укажите возбудителей, передающихся через молоко:

1) *Brucella melitensis*;

2) *Legionella pneumophila*;

3) *Brucella abortus*;

4) *Pseudomonas aeruginosa*.

В. Назовите возбудителя, для которого человек является источником инфекции:

1) *Bordetella pertussis*;

2) *Francisella tularensis*;

3) *Coxiella burnetii*;

4) *Yersinia pestis*.

Г. Назовите основной метод диагностики синегнойной инфекции.

Раздел 15.4

А. Особенности инфекции, вызванной неклостридиальными анаэробными бактериями:

1) резкий запах гнойного отделяемого;

2) продукция летучих жирных кислот возбудителями;

3) образование газа в тканях;

4) локализация очага воспаления около места повреждения.

Б. К неклостридиальным анаэробным бактериям относят:

1) бактероиды;

2) порфиромонады;

3) превотеллы;

4) фузобактерии;

5) селеномонады.

В. К факторам патогенности неклостридиальных анаэробов относят:

1) эндотоксин;

2) пили;

3) летучие жирные кислоты;

4) экзотоксин.

Г. В клинику поступил пациент с одонтогенной флегмоной челюстно-лицевой области, при вскрытии которой выделялся гной с резким зловонным запахом. При проведении газохроматографического исследования обнаружены маркеры летучих жирных кислот. Укажите особенности микробиологической диагностики.

Раздел 15.5

А. Факторами патогенности возбудителя сибирской язвы являются:

1) экзотоксин (летальный фактор, протективный антиген и фактор, вызывающий отек);

2) эндотоксин;

3) капсула;

4) энтеротоксин.

Б. К участковому терапевту обратился пациент с жалобами на диплопию, нарушение глотания. Из анамнеза выявлено, что больной двое суток назад употреблял в пищу овощные консервы из бомбажной банки. Поставлен предварительный диагноз: ботулизм.

Укажите методы диагностики и препараты для создания пассивного иммунитета.

В. К возбудителям газовой гангрены относятся:

1) *Clostridium tetani*;

2) *Clostridium botulinum*;

3) *Clostridium difficile*;

4) *Clostridium perfringens*;

5) *Clostridium novyi*.

Г. *Clostridium difficile* вызывает:

1) холероподобные энтериты;

2) язву желудка и двенадцатиперстной кишки;

3) столбняк;

4) псевдомембранозный колит.

Раздел 15.6

А. Укажите особенности листериоза у беременных.

Раздел 15.7

А. Биоварами *Corynebacterium diphtheriae* являются:

1) *gravis*;

2) *mitis*;

3) *canis*;

4) *hominis*.

Б. Назовите основной метод диагностики дифтерии:

- 1) бактериологический;
- 2) бактериоскопический;
- 3) серологический;
- 4) аллергический.

В. Для создания активного антитоксического противодифтерийного иммунитета применяют:

- 1) АКДС;
- 2) АДС;
- 3) АДС-М;
- 4) АД-М;
- 5) противодифтерийную сыворотку.

Г. Возбудителями туберкулеза являются:

- 1) *Mycobacterium tuberculosis*;
- 2) *Mycobacterium africanum*;
- 3) *Mycobacterium bovis*;
- 4) *Mycobacterium gordonae*;
- 5) *Mycobacterium abscessus*.

Д. Туберкулинодиагностика применяется:

- 1) при массовых обследованиях населения на туберкулез;
- 2) для выяснения необходимости ревакцинации неинфицированных лиц БЦЖ;
- 3) для выявления первичного инфицирования детей и подростков;
- 4) с использованием ППД-Л.

Е. К возбудителям микобактериоза относятся:

- 1) *M. kansasii*;
- 2) *M. marinum*;
- 3) *M. avium*;
- 4) *M. bovis*.

Ж. Источники инфекции при туберкулезе:

- 1) больной человек;
- 2) человек-бактерионоситель;
- 3) больное животное;
- 4) насекомое-переносчик.

З. Для пробы Манту применяют:

- 1) альтотуберкулин;
- 2) лепромин;
- 3) тулярин;
- 4) ППД-Л.

И. Для окраски микобактерий используют метод:

- 1) Бури–Гинса;
- 2) Романовского–Гимзе;
- 3) Леффлера;
- 4) Циля–Нильсена.

Раздел 15.8

А. В диагностических специфических трепонемальных подтверждающих тестах используют:

- 1) кардиолипиновый антиген;
- 2) трепонемы из ткани яичек кролика;
- 3) трепонемы, выращенные на МПБ;
- 4) отделяемое твердого шанкра.

Б. К диагностическим специфическим трепонемальным подтверждающим тестам относят:

- 1) РИФ (непрямой метод);
- 2) реакцию иммобилизации трепонем;
- 3) РНГА;
- 4) ИФА.

В. При бактериоскопическом методе диагностики возбудителя возвратного тифа окрашивают:

- 1) по Романовскому–Гимзе;
- 2) по Цилю–Нильсену;
- 3) исследуют неокрашенными в темном поле зрения;
- 4) по Ауески.

Г. Возбудителями болезни Лайма являются:

- 1) *B. persica*;
- 2) *B. afzelii*;
- 3) *B. garini*;
- 4) *B. burgdorferi*.

Д. Сотрудники гостиницы периодически проходят обследование на сифилис в кожно-венерологическом диспансере. Назовите реакции серологического метода, которые используют при обследовании на сифилис.

Е. При проведении темнопольной микроскопии мазка из твердого шанкра обнаружены спиралевидные бактерии с 8–12 равномерными завитками. Назовите вид микроба и методы, позволяющие изучить его морфологию, подвижность и тинкториальные свойства.

Разделы 15.9, 15.10

А. Факторами патогенности риккетсий служат:

- 1) пили;
- 2) поверхностные белки, играющие роль адгезинов;
- 3) фосфолипаза А₂;
- 4) ЛПС.

Б. Основным методом диагностики риккетсиозов является:

- 1) бактериоскопический;
- 2) серологический;
- 3) биологический;
- 4) аллергологический.

В. Больному 70 лет с симптомами сыпного тифа поставили диагноз болезнь Брилла–Цинссера. Педикулез отсутствовал. Поясните логику врачей.

Г. Сыпной тиф вызывает:

- 1) *Rickettsia prowazekii*;
- 2) *Rickettsia conorii*;
- 3) *Orientia tsutsugamushi*;
- 4) *Rickettsia rickettsii*.

Д. *Ehrlichia chaffeensis* вызывает:

- 1) моноцитарный эрлихиоз;
- 2) болезнь сэннетсу;
- 3) анаплазмоз;
- 4) гранулоцитарный анаплазмоз.

Е. *Anaplasma phagocytophilum* переносится:

- 1) комарами;
- 2) блохами;
- 3) вшами;
- 4) иксодовыми клещами.

Разделы 15.11, 15.12

А. Урогенитальный хламидиоз вызывают:

- 1) *Chlamydomydia pneumoniae*;
- 2) *Chlamydia trachomatis* серовары L₁, L₂, L_{2a}, L_{2b}, L₃;
- 3) *Chlamydia trachomatis* серовары A, B, Ba, C;
- 4) *Chlamydia trachomatis* серовары от D до K.

Б. Для хламидий характерно:

- 1) наличие внутриклеточного паразитизма;
- 2) образование элементарных телец;
- 3) образование ретикулярных телец;
- 4) наличие ЛПС и главного белка наружной мембраны.

В. Среди микоплазм в патологии человека основная роль принадлежит:

- 1) *M. pneumoniae*;
- 2) *M. hominis*;
- 3) *M. genitalium*;
- 4) *U. urealyticum*.

Г. Микоплазмы:

- 1) самые мелкие бактерии;
- 2) не имеют клеточной стенки;
- 3) имеют нитевидную, колбовидную и кокковидную форму;
- 4) осмочувствительны.

16.1. РНК-содержащие вирусы

16.1.1. Пикорнавирусы (семейство *Picornaviridae*)

Picornaviridae (от исп. *pico* — малый, *rna* — рибонуклеиновая кислота) — семейство безоболочечных вирусов, содержащих однонитевую плюс-РНК. Семейство насчитывает более 230 представителей и включает роды: *Enterovirus* (260 серотипов), *Aphthovirus* (7 серотипов), *Hepatovirus* (два серотипа — 1 человека, 1 обезьяны), *Cardiovirus* (2 серотипа); *Parechovirus*, *Erbovirus*, *Kobuvirus*, *Teschovirus* — 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. 16.1).



Рис. 16.1. Схема строения пикорнавируса

Капсид состоит из 12 пятиугольников (пентамеров), каждый из которых, в свою очередь, состоит из пяти белковых субъединиц — протомеров. Протомеры образованы четырьмя вирусными полипептидами: VP1, VP2, VP3, VP4.

Репродукция пикорнавирусов (рис. 16.2) происходит в цитоплазме клеток и сопровождается цитопатическим действием. В культуре клеток под агаровым покрытием вирусы образуют бляшки.

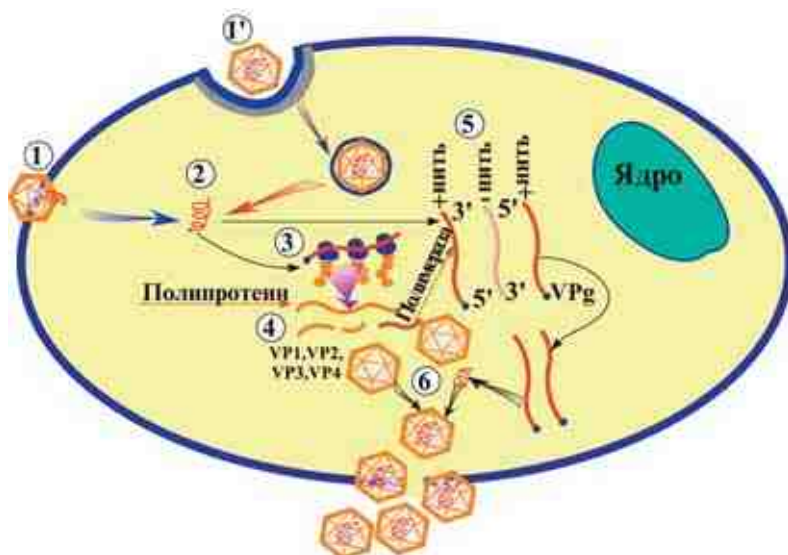


Рис. 16.2. Схема репродукции пикорнавирусов. Геном вируса поступает в клетку эндоцитозом (1') или инъекцией (1) в цитоплазму геномной плюс-РНК (2). На конце геномной плюс-РНК имеется вирусный VPg-протеин (3). Геном используется как иРНК для синтеза полипротеина (4). Полипротеин расщепляется на индивидуальные вирусные протеины, включая РНК-зависимую полимеразу. Полимераза синтезирует (5) с геномной плюс-нити РНК минус-нить РНК (матрицу). В дальнейшем на основе репликативного звена из плюс/минус-нитей реплицируется геном вируса с присоединением VPg-протеина. Вирусы после сборки нуклеокапсида (6) выходят при лизисе клетки

16.1.1.1. Энтеровирусы

Энтеровирусы (от греч. *enteron* — кишка) — группа вирусов, обитающая преимущественно в кишечнике человека и вызывающая у него разнообразные по клиническим проявлениям болезни.

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), ЕСНО (аббревиатура от англ. *Enteric cytopathogenic human orphan viruses* — кишечные цитопатогенные человеческие вирусы-сироты), энтеровирусы серотипов 68, 69, 70, 71 и др. В настоящее время имеются другие варианты классификации рода *Enterovirus*: например, энтеровирусы человека представлены видами энтеровируса А, В, С и D, состоящими из серотипов.

Структура и антигенные свойства. Энтеровирусы — мелкие и наиболее просто организованные вирусы, имеют сферическую форму, диаметр 20–30 нм,

состоят из одноцепочечной плюс-нитевой РНК и капсида с кубическим типом симметрии. Вирусы не имеют липопротеиновой оболочки. В их составе нет углеводов и липидов, поэтому они нечувствительны к эфиру и другим растворителям жира. Энтеровирусы имеют общие для всего рода группно- и типоспецифические антигены.

Культивирование. Большинство энтеровирусов (за исключением вируса 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.

Резистентность. Энтеровирусы устойчивы к факторам окружающей среды в широком диапазоне рН — 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 высушивании, действии УФ-лучей, окислителей, формалина, температуре -50°C 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 ЕСНО 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 нед. 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 (миалгия, 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.

16.1.1.1. Вирусы полиомиелита

Полиомиелит — острое лихорадочное заболевание, которое иногда сопровождается поражением серого вещества (от греч. *polios* — серый) спинного мозга и ствола головного мозга, в результате чего развиваются вялые параличи и парезы мышц ног, туловища, рук.

Таксономия. Полиомиелит известен с глубокой древности. Вирусную этиологию болезни доказали К. Ландштайнер и Э. Поппер в 1909 г. Возбудитель полиомиелита относится к семейству *Picornaviridae* роду *Enterovirus* виду *Enterovirus C*.

Структура и антигенные свойства. По структуре полиовирусы — типичные представители рода *Enterovirus*. Различают три серотипа полиовирусов: 1, 2, 3, не вызывающие перекрестного иммунитета. Все серотипы патогенны для обезьян, у которых возникает заболевание, сходное по клиническим проявлениям с полиомиелитом человека.

Патогенез и клиника. Естественная восприимчивость человека к вирусам полиомиелита высокая. Входными воротами служат слизистые оболочки верхних дыхательных путей и пищеварительного тракта. Первичная репродукция вирусов происходит в лимфатических узлах глоточного кольца и тонкой кишки. Это обуславливает обильное выделение вирусов из носоглотки и с фекалиями еще до появления клинических симптомов болезни. Из лимфатической системы вирусы проникают в кровь (виремия), а затем в ЦНС, где избирательно поражают клетки передних рогов спинного мозга (двигательные нейроны). В результате этого возникают параличи мышц. В случае накопления в крови ви-

руснейтрализующих антител, блокирующих проникновение вируса в ЦНС, ее поражения не наблюдается.

Инкубационный период продолжается в среднем 7–14 дней. Различают три клинические формы полиомиелита: паралитическую (1% случаев), менингеальную (без параличей), abortивную (легкая форма). Заболевание начинается с повышения температуры тела, общего недомогания, головных болей, рвоты, болей в горле. Полиомиелит нередко имеет двухволновое течение, когда после легкой формы и наступившего значительного улучшения развивается тяжелая форма болезни. Паралитическую форму чаще вызывает вирус полиомиелита серотипа 1.

Иммунитет. После перенесенной болезни остается пожизненный типоспецифический иммунитет. Иммунитет определяется в основном наличием вируснейтрализующих антител, среди которых важная роль принадлежит местным секреторным антителам слизистой оболочки глотки и кишечника (местный иммунитет). Эффективный местный иммунитет играет важнейшую роль в прерывании передачи «диких» вирусов и способствует вытеснению их из циркуляции. Пассивный естественный иммунитет сохраняется в течение 3–5 нед. после рождения ребенка.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат кал, отделяемое носоглотки, при летальных исходах — кусочки головного и спинного мозга, лимфатические узлы.

Вирусы полиомиелита выделяют путем заражения исследуемым материалом первичных и перевиваемых культур клеток. О репродукции вирусов судят по цитопатическому действию. Идентифицируют (типировать) выделенный вирус с помощью типоспецифических сывороток в реакции нейтрализации в культуре клеток. Важное значение имеет внутривидовая дифференциация вирусов, которая позволяет отличить «дикие» патогенные штаммы от вакцинных штаммов, выделяющихся от людей, иммунизированных живой полиомиелитной вакциной. Различия между «дикими» и вакцинными штаммами выявляют с помощью ИФА, реакции нейтрализации цитопатического действия вируса в культуре клеток со штаммоспецифической иммунной сывороткой, а также ПЦР.

Серологический метод основан на использовании парных сывороток больных с применением эталонных штаммов вируса в качестве диагностикума. Содержание сывороточных иммуноглобулинов классов IgG, IgA, IgM определяют методом радиальной иммунодиффузии по Манчини.

Лечение. Патогенетическое. Применение гомологичного иммуноглобулина для предупреждения развития паралитических форм весьма ограничено.

Эпидемиология и специфическая профилактика. Эпидемии полиомиелита охватывали в 1940–1950-х годах тысячи и десятки тысяч человек, из которых 10% умирали и примерно 40% становились инвалидами. Основной мерой профилактики полиомиелита является иммунизация. Массовое применение вакцины против полиомиелита привело к резкому снижению заболеваемости.

Первая инактивированная вакцина для профилактики полиомиелита была разработана американским ученым Дж. Солком в 1953 г. Однако парентеральная вакцинация этим препаратом создавала лишь общий гуморальный иммунитет, не формировала местной резистентности слизистых оболочек ЖКТ и не обеспечивала надежной специфической защиты.

Естественно аттенуированные штаммы вирусов полиомиелита всех трех типов получил в 1956 г. А. Сэбин, а в 1958 г. М.П. Чумаков и А.А. Смородинцев разработали первую пероральную живую культуральную вакцину из трех серотипов штаммов Сэбина. Вакцину используют для массовой иммунизации детей, она создает стойкий общий и местный иммунитет.

ВОЗ в 1988 г. приняла решение о глобальной ликвидации полиомиелита путем охвата прививками всего детского населения планеты. Под ликвидацией подразумевали прекращение заболеваний и искоренение вируса полиомиелита. Использование оральной полиовакцины привело к практически полному исчезновению случаев полиомиелита в развитых странах Европы и в Америке и резкому снижению заболеваемости в развивающихся странах. В России случаи полиомиелита не регистрируются с 1 июля 2002 г.

У живой полиомиелитной вакцины имеются некоторые недостатки, наиболее серьезным из которых является возникновение случаев вакциноассоциированного полиомиелита у привитых и у контактных лиц, инфицированных вирусами, выделяемыми привитыми детьми. Контактное инфицирование происходит обычно вирусом одного серотипа.

Показано, что у иммунокомпетентных лиц отсутствует длительное носительство полиовируса после вакцинации, в то время как у лиц с иммунодефицитами вакцинный штамм может выделяться в течение 7–10 лет. Риск развития вакциноассоциированного паралитического полиомиелита у лиц с иммунодефицитами, особенно с нарушениями В-клеточного иммунитета, выше, чем риск у иммунокомпетентных лиц.

Неспецифическая профилактика сводится к санитарно-гигиеническим мероприятиям: обеспечение населения доброкачественными водой, пищевыми продуктами, соблюдение личной гигиены; выявление больных и подозрительных на заболевание.

16.1.1.1.2. 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 (более 30 серотипов): вирусы Коксаки А вызывают диффузный миоцит и очаговый некроз поперечно-полосатых мышц; вирусы Коксаки В — поражение ЦНС, развитие параличей, некроз скелетной мускулатуры и иногда миокарда и др.

Вирусы Коксаки А вызывают у человека герпангину (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, плевродинию (болезненные приступы в области груди, лихорадка, иногда плеврит).

Микробиологическая диагностика. *Вирусологический метод:* вирус выделяют из фекалий, отделяемого носоглотки, заражают культуры клеток HeLa, почек обезьян (Коксаки В, отдельные серотипы Коксаки А) или мышей-сосунков. Учитывают характер патологических изменений у зараженных мышей. Вирусы идентифицируют с помощью РТГА, РСК, РН, ИФА.

16.1.1.1.3. Вирусы группы ЕСНО

Вирусы группы ЕСНО — РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*; насчитывают более 30 типов. Вирусы ЕСНО непатогенны для всех видов лабораторных животных. Вызывают ОРВИ, асептический менингит, полиомиелитоподобные заболевания; возможна сыпь.

Микробиологическая диагностика. *Вирусологический метод:* вирус выделяют из цереброспинальной жидкости, фекалий, отделяемого носоглотки; заражают культуры клеток почек обезьян. Вирусы идентифицируют с помощью РТГА, РСК, РН, ИФА. *Серологический метод:* в сыворотке крови выявляют нарастание титра антител, используя РТГА, РСК, РН, ИФА.

16.1.1.2. Риновирусы

Риновирусы — РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*. Риновирусы включают более 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: аэрогенным и контактным. Проникают в организм через нос, полость рта, конъюнктиву. Процесс начинается в верхних дыхательных путях.

Микробиологическая диагностика. *Вирусологический метод:* вирусы выделяют на культуре клеток, обнаруживают в РИФ. *Серологический метод:* антитела выявляют в парных сыворотках крови пациента с помощью РН.

16.1.1.3. 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, G и др. Вирусы парентеральных гепатитов описаны в разд. 16.6.

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, структура и антигенные свойства. 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 нед. 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 мес. 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 эпидемиологическим показаниям. Иммунитет сохраняется около 3 мес. Для специфической активной профилактики разработана и применяется инактивированная культуральная концентрированная вакцина. Разработана также рекомбинантная генно-инженерная вакцина.

16.1.1.4. Вирус ящура

Вирус ящура — РНК-содержащий вирус семейства *Picornaviridae* рода *Aphthovirus*, состоящего из одного вида, представленного семью 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 дермотропностью.

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 ящтуру невысокая.

Микробиологическая диагностика. Вирус выявляют в содержимом афт, слюне и крови путем заражения морских свинок, мышей-сосунков или культур клеток. Для *серологического метода* исследуют парные сыворотки крови в РСК, РН, РПГА, ИФА.

Профилактика ящура у человека — неспецифическая.

16.1.2. 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 английских слов: **r**espiratory, **e**nteric, **o**rphan viruses. Семейство включает 15 родов, среди которых медицинское значение имеют *Orthoreovirus*, *Orbivirus*, *Rotavirus*, *Coltivirus* и *Seadornavirus* (табл. 16.1).

Таблица 16.1

Характеристика основных представителей семейства *Reoviridae*

Подсемейство	Род	Представитель	Свойства вирусов
<i>Sedoreovirinae</i>	<i>Orbivirus</i>	Вирус Кемерово, вирус Трибеч, вирус синего языка овец	Вирусы сферические (70 нм), оболочки нет. Имеют трехслойный икосаэдрический капсид, двунитевую линейную РНК из 10–12 сегментов. Репродукция и сборка в цитоплазме
	<i>Rotavirus</i>	Ротавирусы (серогруппы А–G)	
	<i>Seadornavirus</i>	Вирус Банна и др.	
<i>Spinareovirinae</i>	<i>Coltivirus</i>	Вирус колорадской клещевой лихорадки	
	<i>Orthoreovirus</i>	Ортореовирусы людей, обезьян и др.	

Род *Orthoreovirus* представлен вирусами пяти серотипов. Они широко распространены, выделяются от людей, млекопитающих в норме или при желудочно-кишечных и респираторных инфекциях.

Род *Orbivirus* получил свое название из-за кольцевидной формы капсомеров вирионов (от лат. *orbis* — кольцо). Он 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). В род *Seadornavirus* входит вирус Банна, впервые выделенный в 1967 г. в КНР от людей с неврологическими симптомами, переносится комарами (арбовирусная инфекция). Род *Rotavirus* содержит вирусы, вызывающие распространенные диареи.

Структура. Вирионы реовирусов имеют сферическую форму (диаметр 80 нм), трехслойный капсид икосаэдрического типа; оболочки нет (рис. 16.3). Геном представлен двунитевой фрагментированной (10–12 сегментов) линейной РНК. Вирион содержит фермент транскриптазу (РНК-зависимую РНК-полимеразу). **Внутренний капсид**, геномная РНК и система транскрипции составляют сердцевину вириона. У ротавирусов внутренний капсид включает белок VP-2. **Наружный капсид** реовирусов состоит из белков, отходящих от **промежуточного капсида** и выступающих в виде шипов. Ротавирусы и ортореовирусы активизируются протеолизом (инфекционные субвирусные частицы) с увеличением их инвазионной способности.

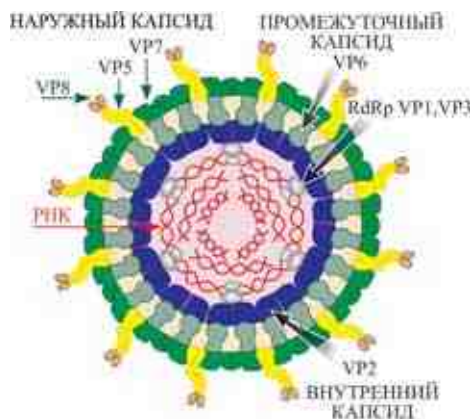


Рис. 16.3. Схема строения ротавируса

Микробиологическая диагностика. Диагностика арбовирусных инфекций, вызываемых отдельными представителями реовирусов, проводится с помощью вирусологического и серологического методов: заражают культуру клеток или мышей-сосунков (интрацеребрально); посредством РСК, РНГА, РН выявляют антитела в парных сыворотках крови больного. Диагностику ротавирусной инфекции см. ниже.

16.1.2.1. Ротавирусы (род *Rotavirus*)

Ротавирусы человека вызывают острый гастроэнтерит детей. Это РНК-содержащие вирусы семейства *Reoviridae* рода *Rotavirus*. Свое название получили из-за строения вириона, напоминающего зубчатое колесо (от лат. *rota* — колесо).

Структура. Вирион ротавирусов сферический (диаметр 80 нм), содержит двунитевую (плюс- и минус-нити) фрагментированную (11 сегментов) РНК. Трехслойный капсид имеет форму колеса с отходящими внутрь «спицами». Вирион имеет 12 белков. **Внутренний капсид** ротавирусов содержит VP-2, а **промежуточный капсид** — VP-6. **Наружный капсид** включает: 1) белки VP-4 (шипы, выступающие на вирионе, являющиеся гемагглютинином и прикрепительным белком); 2) белок VP-7 — основной компонент наружного капсида (типоспецифический антиген). VP-4 может расщепляться на VP-5 и VP-8, что активизирует инфекционность вируса. Имеются неструктурные белки: NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5, NSP6, из которых **NSP4** — первый известный вирусный **энтеротоксин**, который вызывает секреторную диарею.

Антигенные свойства. По антигенной структуре различают семь серогрупп (А, В, С, D, Е, F, G). У человека и животных обнаружены серогруппы А, В и С, а остальные — только у животных.

Репродукция (рис. 16.4). Ротавирус прикрепляется к клетке-мишени, связываясь с поверхностными сialовыми кислотами через VP8 (образуется расщеплением VP4 на VP5 и VP8) вирионных шипов. После репродукции и сборки в цитоплазме вирионы выходят в результате лизиса вирусинфицированной клетки.

Резистентность. Ротавирусы устойчивы к факторам окружающей среды.

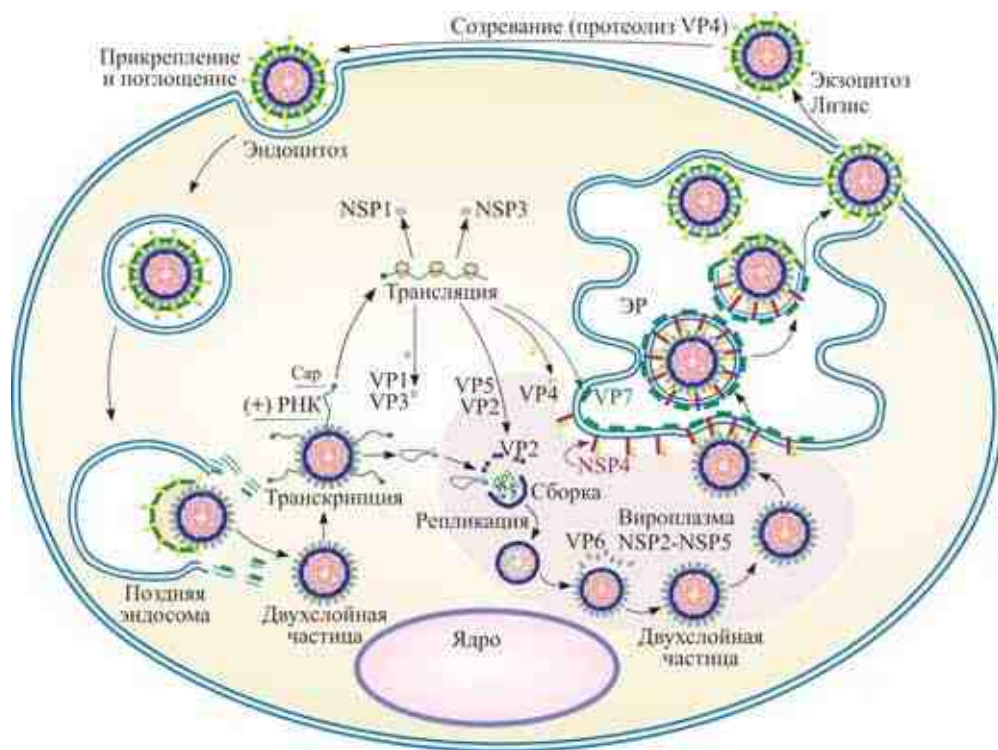


Рис. 16.4. Схема репродукции ротавирусов.

Вирион поступает эндоситозом в раннюю эндосому. После утраты внешнего капсида вируса образуется двухслойная вирусная частица, в цитозоле активируется внутренний полимеразный комплекс (VP1 и VP3), транскрибирующий плюс-РНК от каждого из 11 двунитевых сегментов РНК-генома. Плюс-РНК служит или как матрица для синтеза вирусных протеинов клеточными рибосомами, или как шаблон для синтеза минус-РНК при репликации генома. Неструктурные белки (NSP2-NSP5) взаимодействуют, чтобы сформировать крупные включения (вироплазмы), в которых копируется геном и собираются субвирусные частицы. Двухслойные вирусные частицы образуют в эндоплазматическом ретикулуме комплекс с VP4-NSP4. Последующее удаление мембраны эндоплазматического ретикулума и NSP4 способствует сборке VP7 внешнего капсида вируса и образованию трехслойных вирусных частиц (вирионов), выходящих экзоцитозом или при лизисе клетки. Протеазы ЖКТ приводят к специфическому расщеплению VP4 на VP5 и VP8, что делает вирион инфекционным

Эпидемиология, патогенез и клиника. Источник инфекции — больные или вирусоносители, выделяющие ротавирусы с фекалиями (фекально-оральный механизм передачи). Пути передачи — водный (основной), пищевой, контактно-бытовой. **Инкубационный период** 1–3 суток. Ротавирусы распростра-

нены повсеместно, вызывают гастроэнтериты, главным образом у детей (часто в возрасте от 6 мес. до 2 лет); являются причиной смерти около миллиона людей из-за диареи. Размножаются в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки, вызывая их гибель. Заболевание протекает с рвотой, болями в животе и диареей в течение 1–2 суток. Частота стула 10–15 раз в сутки. Секреторная диарея обусловлена действием вирусного неструктурного белка **NSP4 (энтеротоксин)**.

Микробиологическая диагностика. 1. Вирус обнаруживают в фильтрате фекалий (концентрация вирионов в кале 10^{10} /мкл на 3–8-й неделе болезни) с помощью иммунной электронной микроскопии, ИФА, иммунодиффузионной преципитации в агаре, РСК, РН, РИФ, реакции коаггутинации, клонированных РНК-зондов. 2. *Серологический метод*: в сыворотке крови определяют нарастание титра антител с помощью ИФА, РСК, РПГА, РН, РИФ. 3. *Молекулярно-генетический метод*: ОТ-ПЦР.

Лечение симптоматическое.

Профилактика. Основой неспецифической профилактики является соблюдение санитарно-гигиенических правил, санитарных норм водоснабжения и канализации. Для специфической профилактики разработаны живые пероральные вакцины из аттенуированных штаммов вируса.

16.1.3. Буньявирусы (семейство *Bunyaviridae*)

Таксономия и классификация. Семейство *Bunyaviridae* насчитывает более 250 серотипов вирусов, входящих в состав пяти родов. Патогенные для человека буньявирусы относятся к четырем родам: *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus* и *Hantavirus*. Прототипом вирусов данного семейства является впервые выделенный в Центральной Африке и переносимый комарами вирус Буньямвера, названный по местности Буньямвера в Уганде.

Структура. Вирионы имеют овальную или сферическую форму, диаметр 80–120 нм (рис. 16.5). При электронной микроскопии они напоминают пончик. Это сложные РНК-геномные вирусы, содержащие три нуклеокапсида со спиральным типом симметрии. Каждый нуклеокапсид состоит из нуклеокапсидного белка N, уникальной одноцепочечной минус-РНК и фермента транскриптазы (РНК-зависимой РНК-полимеразы). Три сегмента РНК, связанные с нуклеокапсидом, обозначают по размерам как L (long) — большой, M (medium) — средний и S (short) — малый. Сердцевина вириона, содержащая рибонуклеопротеид, окружена липопротеиновой оболочкой, на поверхности которой находятся шипы — гликопротеины G_n и G_s, которые кодируются M-сегментом РНК.

Антигенные свойства. Белок N — носитель группоспецифических свойств; выявляется в РСК. Гликопротеины (G_n и G_s) — типоспецифические протективные антигены, определяемые с помощью РН и РТГА. Они обуславливают гемагглютинирующие свойства, индуцируют образование вируснейтрализующих антител и служат основными детерминантами патогенности, определяю-

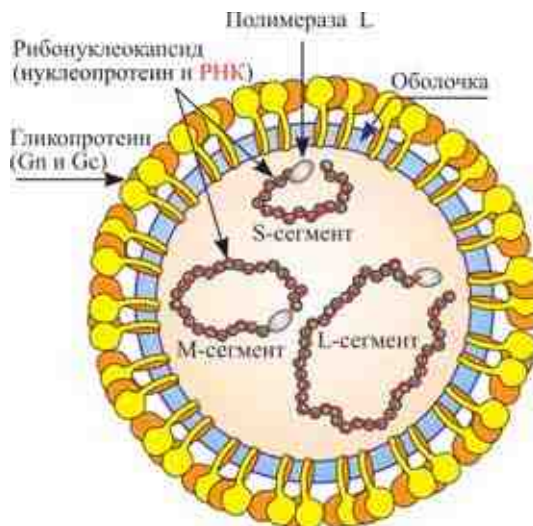


Рис. 16.5. Схема строения буньявируса

щими клеточную органотропность вирусов и эффективность их передачи членистоногими.

Репродукция буньявирусов происходит в цитоплазме клетки. Вирусные белки в инфицированной клетке синтезируются быстро. Так, белок N можно выявить уже через 2 ч. Сборка вириона происходит почкованием через гладкую мембрану аппарата Гольджи. В последующем вирусные частицы транспортируются к плазмолемме. Выход вирусных частиц происходит путем экзоцитоза, а иногда — лизиса клетки.

Резистентность. Буньявирусы чувствительны к действию эфира и детергентов, инактивируются при прогревании при температуре 56 °С в течение 30 мин и почти мгновенно при кипячении, но длительно сохраняют инфекционную активность при замораживании. Они стабильны в весьма ограниченном диапазоне значений pH (6,0–9,0), инактивируются обычными дезинфицирующими средствами.

Культивирование. К буньявирусам восприимчивы новорожденные белые мыши, белые крысы и хомячки при заражении в головной мозг. Для культивирования вирусов применяют культуры клеток из переносчиков, почки эмбрионов человека, ВНК-21, фибробласты куриного эмбриона, где они не оказывают выраженного ЦПД. Вирусы можно культивировать в куриных эмбрионах. Универсальной моделью для выделения арбовирусов можно считать заражение новорожденных белых мышей, у которых они вызывают смертельный энцефалит.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Буньявирусы широко распространены на всех континентах, а вызываемые ими заболевания относятся к зоонозным природно-очаговым инфекциям.

Большая часть буньявирусов относится к экологической группе **арбовирусов** (от англ. *arthropod-borne viruses* — вирусы, рожденные или передаваемые членистоногими), так как они передаются кровососущими членистоногими насекомыми, которые не только их переносчики, но и основной резервуар и хозяева в природных очагах.

Буньявирусы, как и другие арбовирусы, способны размножаться при двух температурных режимах: 36–40 и 22–25 °С, что позволяет им обитать не только в организме позвоночных, но и в организме переносчиков. Большинство буньявирусов передается комарами. Описана вертикальная (трансовариальная) и трансфазовая (от личинки к нимфе и имаго) передача буньявирусов в определенных членистоногих-переносчиках. Наиовирусы большей частью передаются клещами, а флебовирусы москитами и комарами. Некоторые флебовирусы и буньявирусы могут предаваться мокрецами *Culicoides*.

На территории России основные переносчики — клещи. Позвоночными хозяевами буньявирусов являются грызуны, птицы, зайцеобразные, жвачные животные, приматы. Заражение людей может происходить не только *трансмиссивно* через укусы кровососущими членистоногими, но также при контакте с больными людьми в результате попадания на поврежденную кожу и слизистые оболочки крови или других биологических выделений, содержащих вирус.

Вирусы рода Хантаан составляют в данном семействе исключение из правила, так как их основными хозяевами являются грызуны. Вместе с аренавирусами и филовирусами они выделены в экологическую группу нетрансмиссивных геморрагических лихорадок, или **робовирусов** (от англ. *rodent-borne viruses* — вирусы, рожденные грызунами).

Часто буньявирусы приводят к развитию бессимптомной инфекции, которая диагностируется при проведении серологических исследований. Большинство из них вызывает лихорадочные заболевания, геморрагические лихорадки и энцефалиты. Наибольшее медицинское значение имеют: вирус калифорнийского энцефалита и вирус Тягиня (род *Orthobunyavirus*); вирусы москитных лихорадок Сицилия, Неаполь и Рифт-Валли (род *Phlebovirus*); вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго (род *Nairovirus*) и вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом (род *Hantavirus*). После перенесенных заболеваний остается стойкий иммунитет.

Микробиологическая диагностика основана на выделении вирусов и обнаружении антител к ним в парных сыворотках, а также на проведении ПЦР. Эти вирусы относятся к возбудителям особо опасных инфекций, поэтому выделение их проводится лишь в режимных лабораториях. Материалом для исследования служит кровь, взятая в остром периоде заболевания (при москитных лихорадках не позже 24–48 ч от начала заболевания), или кусочки тканей и органов (мозга, печени, селезенки, легких и почек), полученные на аутопсии. Вирус может быть выявлен в организме кровососущих членистоногих-перено-

счиков и во внутренних органах погибших инфицированных животных. Чаще всего буньявирусы выделяют на новорожденных белых мышах, а также на белых крысах и хомяках, проводя интрацеребральное заражение. Заражают также культуру клеток с последующей индикацией в РИФ, так как для буньявирусов нехарактерно развитие выраженного ЦПД. Идентификация вирусов проводится в РН на мышах-сосунках, в РСК, РТГА, РНГА, а также с помощью РИФ, ИФА и РИА.

Лечение и профилактика. Препараты для специфического лечения не разработаны. В ряде случаев применяют иммунные сыворотки переболевших лиц, рибавирин, реаферон. Профилактика основана на защите от комаров, клещей и других кровососущих насекомых. Для создания искусственного активного приобретенного иммунитета применяют убитые вакцины.

16.1.3.1. Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго

Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго вызывает природно-очаговую арбовирусную инфекцию, характеризующуюся генерализованным поражением сосудов, лихорадкой, интоксикацией, геморрагическим синдромом, тромбоцитопенией и лейкопенией.

Таксономия и биологические свойства вируса. Вирус относится к роду *Nairovirus*, антигенной группе геморрагической лихорадки Крым-Конго. Он обладает биологическими свойствами, характерными для вирусов семейства *Bunyaviridae*. Это вазотропный арбовирус. Большинство штаммов вируса не обладает геммагглютинирующей активностью. Выявлено восемь генотипов вируса, имеющих географическую приуроченность.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Заболевания впервые были выявлены в Крыму в 1944 г. военными врачами среди солдат и переселенцев, занятых уборкой сена. Вирус выделен из крови больных, а также от его переносчиков — иксодовых клещей в 1945 г. М.П. Чумаковым. В 1966 г. в Конго при сходном заболевании был выделен вирус Конго, идентичный по биологическим свойствам вирусу крымской геморрагической лихорадки, поэтому возбудителя болезни называют вирусом геморрагической лихорадки Крым-Конго.

В России это заболевание встречается в южных регионах. Резервуаром вируса в природе и источником инфекции являются многие виды пастбищных клещей, передающих его своему потомству трансвариально и по ходу метаморфоза, что обеспечивает сохранение вирусной популяции в межэпидемический период. Основное значение имеют гиаломовые клещи, которые способны сохранять вирус до 250 суток. Позвоночные хозяева вируса — птицы наземного комплекса, мышевидные грызуны, зайцы, прокармливающие личинок и нимф, а также коровы, овцы, верблюды, прокормители имаго — обеспечивают многообразие популяционных связей вируса с позвоночными. Животные — прокор-

мители клещей служат временным резервуаром вируса. Однако роль животных в длительном сохранении очагов заболевания также велика, так как вирусемия у них длится 10 дней, что вполне достаточно для заражения новых партий клещей. У животных чаще развивается бессимптомная инфекция, особенно у домашних животных.

Человек чаще всего заражается в природных очагах **трансмиссивно** через укусы клещей и является тупиком в эпидемиологической цепи в природных очагах. Вирус также попадает через микроповреждения кожи и слизистые оболочки при контакте с кровью больного или инфицированными предметами. Возможно заражение при раздавливании зараженных клещей. Кровь больных в острую фазу заболевания содержит вирус в высоких концентрациях, в связи с чем возможно заражение при проведении медицинских манипуляций. Большинство заболеваний, возникших контактным путем, протекает тяжело. Это обусловлено наличием эффекта «пинг-понга», т.е. усилением вирулентности вируса после пассажа через живой организм человека. **Аэрогенный** механизм заражения возможен при авариях в вирусологических лабораториях.

Выделяют две клинические формы болезни: с геморрагическими проявлениями и без них. При геморрагической форме заболевания вирус проникает в организм и в течение **инкубационного периода**, длящегося от 1 до 14 дней, размножается в макрофагах, затем поступает в кровь. Он обладает вазотропностью, что ведет к развитию генерализованного капилляротоксикоза. Летальность 16–20%, а при контактном заражении — 50%. Смерть наступает от инфекционно-токсического шока, массивных кровотечений, печеночно-почечной недостаточности. Период реконвалесценции длительный. Трудоспособность восстанавливается не ранее чем через 1–2 мес. Различные нарушения в организме могут сохраняться в течение 1–2 лет и более. Заболевание без геморрагических проявлений протекает легче, чем первая форма заболевания.

Иммунитет напряженный. Комплементсвязывающие и преципитирующие антитела у переболевших сохраняются свыше 5 лет.

Микробиологическая диагностика основана на обнаружении вирусных белков с помощью ИФА, а также вирусной РНК в ПЦР. Выделение вируса из крови больных и внутренних органов погибших проводят путем заражения новорожденных белых мышей и культур клеток с идентификацией в РИФ. Для обнаружения антител в парных сыворотках применяют ИФА. Экспресс-диагностика вируса в крови, аутопсийном материале и переносчиках осуществляется с помощью РНГА или РИФ с флюоресцирующей моноклональной сывороткой к вирусу.

Лечение и профилактика. Для лечения применяют реаферон и рибавирин. В течение первых 3 дней 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 искусственного приобретенного иммунитета у сотрудников лабораторий используют формолвакцину из мозга зараженных сосунков белых мышей или белых крыс. Госпитализация больных проводится в отдельные боксы из-за опасности распространения инфекции, поскольку вирус находится в высоких концентрациях в крови человека. Обслуживание больных должно проводиться специально обученным персоналом.

16.1.3.2. Вирусы геморрагической лихорадки с почечным синдромом и хантавирусного кардиопульмонального синдрома

Таксономия и биологические свойства. Возбудители геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) и хантавирусного кардиопульмонального синдрома относятся к вирусам семейства *Bunyaviridae* рода *Hantavirus*, включающему 45 вирусов. Хантавирусы неоднородны в антигенном отношении и подразделяются на антигенные группы. Типовой представитель данного рода — вирус Хантаан — был выделен из легочной ткани и экскрементов корейской полевки в 1978 г. (Н.В. Lee и соавт.). В отличие от типичных буньявирусов частицы его разнообразны по размерам (90–125 нм) и имеют во внутренней полости неупорядоченно расположенные гранулярно-филаментозные структуры. Вирус хорошо размножается в культурах клеток (Vero E-6 и др.), не вызывая выраженного ЦПД. Его удается пассировать на полевых мышах, джунгарских и золотистых хомяках и других животных. Возбудителями ГЛПС являются четыре серотипа вируса: Хантаан, Пуумала, Сеул и Добrava/Белград, а также некоторые подтипы пятого серотипа в Южной Америке. Эволюция и антигенная вариабельность хантавирусов тесно связана с различной видовой принадлежностью их основных хозяев — грызунов. Хантавирусы обнаружены также у птиц и летучих мышей.

В 1993 г. произошла вспышка **хантавирусного кардиопульмонального синдрома** в США, сопровождающаяся высокой летальностью (более 50%). Заболевание встречается также в Центральной и Южной Америке и вызывается пятым серотипом вируса — Син Номбре, а также его вариантами. Отмечена территориальная приуроченность заболевания к местам обитания оленых хомячков.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Хантавирусы широко распространены. По уровню заболеваемости ГЛПС в России занимает ведущее место среди природно-очаговых болезней человека. Наиболее высокие показатели ежегодной заболеваемости ГЛПС отмечаются на территориях Уральского, Поволжского и Волго-Вятского регионов. Эти вирусы относятся к экологической группе возбудителей нетрансмиссивных геморрагических лихорадок, или **робовирусов**. Резервуаром и источником инфекции при ГЛПС являются мышевидные грызуны лесного комплекса (рыжая полевка, полевая мышь, красно-серая полевка и азиатская мышь), а при легочных поражениях — мышевидные грызу-

ны степного комплекса (белоногие или оленьи хомячки, хлопковые крысы). У грызунов эта инфекция протекает бессимптомно. При этом они выделяют вирус в окружающую среду с калом, мочой и слюной в высоких концентрациях. Вирус устойчив в окружающей среде. Основной механизм заражения человека **аэрогенный** с соответствующим ему воздушно-пылевым путем передачи. Заражение может происходить при вдыхании содержащей биологические выделения грызунов пыли во время уборки и ремонта помещений, при перевозке сена и соломы, работах на ферме, лесоповале, сборе хвороста, ночевке в лесных стогах. Возможен **фекально-оральный механизм** заражения алиментарным путем при употреблении продуктов, инфицированных выделениями зараженных грызунов или контактно-бытовым путем через грязные руки во время еды. **Контактный механизм** заражения встречается при отлове зверьков (через укус грызуна), разделке их тушек и при попадании свежих экскретов зверьков в ссадины на коже. Восприимчивость людей к инфицированию высокая. При аспирационном механизме заражения инфицируется большинство лиц, находящихся в зараженном помещении. Инфицированный человек опасности не представляет.

В основе патогенеза лежит системное деструктивное поражение стенки мелких сосудов, обусловленное вазотропным действием вирусов. Наиболее выражены данные изменения при ГЛПС в почках, надпочечниках, гипоталамусе, миокарде и кишечнике. При хантавирусном кардиопульмональном синдроме наиболее выраженные изменения отмечаются в легких, что обусловлено большим тропизмом вируса к эндотелию капилляров легких. Вирусемия длится в пределах 4–7 дней.

При ГЛПС **инкубационный период** колеблется от 7 до 45 дней (чаще 2–3 нед.). Заболевание начинается остро с подъема температуры и характеризуется циклической сменой лихорадочной, олигурической, полиурической фазы, периодом реконвалесценции. К осложнениям относятся развитие уремии, разрыв почки или надрыв почечной капсулы с кровоизлиянием в околопочечную клетчатку, эклампсия, желудочно-кишечное кровотечение, кровоизлияния в головной мозг и миокард, отек легких. Летальность составляет до 1–2% в европейских и до 5–10% в дальневосточных районах России.

При хантавирусном легочном синдроме инкубационный период равен 6 нед. После короткой продромальной фазы в виде лихорадки заболевание быстро переходит в фазу сердечно-легочной недостаточности с тяжелыми поражениями легких (пневмония). Летальность достигает 50–60%.

Иммунитет у переболевших лиц стойкий, пожизненный. Повторные заражения гомологичным серотипом вируса отсутствуют. Протективные антитела у переболевших ГЛПС сохраняются до 25 лет.

Микробиологическая диагностика хантавирусных инфекций основана на выделении вирусов из крови и мочи в острый период заболевания, а также обнаружении антител в парных сыворотках и в моче у больных. Индикация ви-

руса осуществляется с помощью РНИФ в виде гранул, локализованных в цитоплазме клеток. Идентификация вирусов проводится с помощью РИФ, РИА, ИФА и РНГА.

При *серологическом методе* применяют РНИФ, ИФА, РНГА, РИА. Для обнаружения генетического материала вирусов в исследуемом материале используют метод молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот и ПЦР. Раннюю диагностику заболевания проводят, обнаруживая антигены вирусов в моче с помощью РИФ и ИФА. Необходимо соблюдать осторожность при работе с исследуемым материалом и кровью больных.

Лечение и профилактика. Для экстренной профилактики и лечения существует специфический донорский иммуноглобулин. В качестве противовирусных препаратов применяют виразол или рибамидин. Наиболее перспективным методом профилактики ГЛПС является вакцинация населения эндемичных территорий. Для создания активного иммунитета в целях профилактики за рубежом применяются убитые вакцины.

16.1.4. Тогавирусы (семейство *Togaviridae*)

Название семейства *Togaviridae* происходит от лат. *toga* — плащ, или накидка, что отражает сложное строение вириона, наличие у вирусов липопротеиновой оболочки (суперкапсида), окружающей рибонуклеопротеин наподобие плаща. Семейство состоит из двух родов, играющих роль в патологии у человека: *Alphavirus* и *Rubivirus*. Альфа-вирусы относятся к экологической группе **арбовирусов**. Типовым представителем рода является вирус Синдбис. Род *Rubivirus* включает вирус краснухи, который передается воздушно-капельным путем и не относится к арбовирусам.

16.1.4.1. Вирусы рода *Alphavirus*

Структура. Альфа-вирусы — это сложноустроенные, гетерогенные по размерам вирусы (65–70 нм). Геном их состоит из линейной однонитчатой плюс-РНК, окруженной капсидом (С-белок) с икосаэдрическим типом симметрии, состоящим из капсомеров. Нуклеокапсид окружен липопротеиновой оболочкой, на которой располагаются гликопротеины Е1, Е2 и Е3, пронизывающие липидный слой и контактирующие с нуклеокапсидом.

Антигенные свойства. Альфа-вирусы не имеют М-белка. Они содержат капсидный С-белок и два или три гликопротеина липопротеиновой оболочки: Е1, Е2 и Е3. Последний есть не у всех альфа-вирусов, он входит в состав липопротеиновой оболочки вируса леса Семлики. Гликопротеин Е1 обладает гемагглютинирующей активностью (агглютинирует эритроциты гусей и цыплят, выявляется в РТГА), ответственен за подгрупповую специфичность. Антитела против Е1 блокируют гемагглютинацию, но не нейтрализуют вирусы. Основной протективный антиген Е2 индуцирует синтез антител, нейтрализующих инфек-

ционные свойства вируса, является видоспецифическим антигеном, участвует в РН и в прикреплении вируса к клетке. Белок С нуклеокапсида обеспечивает родовую специфичность альфа-вирусов. На основании антигенных перекрестов в серологических реакциях вирусы относят к восьми антигенным комплексам: венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей, комплекс вирусов леса Семлики и др.

Репродукция вирусов происходит в цитоплазме клетки, куда они проникают путем рецепторного эндоцитоза. Особенностью альфа-вирусов 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 вирусоспецифических компонентов происходят на рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматической сети. Здесь же происходит и сборка нуклеокапсидов. Сборка и почкование вирионов путем экзоцитоза происходит на плазматической мембране зараженных клеток. Процесс почкования у альфа-вирусов происходит быстро. Инфекционный цикл занимает 6–8 ч.

Резистентность. Наличие липидсодержащей оболочки обуславливает чувствительность данных вирусов к эфиру и детергентам. Они легко разрушаются при 56 °С, устойчивы к рН 6,0–9,0, сохраняют инфекционную активность при замораживании. Вирусы высокочувствительны к УФ-облучению, действию формалина и хлорсодержащих дезинфектантов.

Культивирование. Альфа-вирусы культивируют в культурах клеток фибробластов куриного эмбриона, ВНК-21 и др., где они вызывают выраженное ЦПД. В культурах клеток под агаровым покрытием альфа-вирусы образуют бляшки. В культурах клеток из переносчиков альфа-вирусы ЦПД не вызывают. К альфа-вирусам восприимчивы новорожденные белые мыши (1–3-дневного возраста) при интрацеребральном, подкожном и внутрибрюшинном заражении (универсальная модель для выделения арбовирусов). Вирусы венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей патогенны также для взрослых крыс, морских свинок и кроликов. Возможно заражение куриных эмбрионов в желточный мешок. Гибель куриных эмбрионов наступает через 2–3 дня.

Эпидемиология. Альфа-вирусы широко распространены в природе, но чаще встречаются в южных широтах. Они вызывают природно-очаговые зоонозные инфекции. Почти все альфа-вирусы экологически связаны с комарами, являющимися не только их переносчиками, но также источником и резервуаром инфекции. У переносчиков передача вирусов происходит трансфазово и трасовариабельно. Личинки комаров заражаются многими арбовирусами алиментарным путем. У комаров возможна венерическая передача вируса. Резервуаром вирусов в природных очагах служат 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 альфа-вирусов, и они могут передаваться трансмиссивно от человека к человеку.

Альфа-вирусы относятся к возбудителям особо опасных инфекций. В лабораторных условиях заражение людей может произойти в результате вдыхания аэрозолей с высокой концентрацией вирусных частиц, поэтому работа с альфа-вирусами может проводиться лишь в специальных режимных лабораториях.

Патогенез альфа-вирусных инфекций состоит из стадий, характерных для 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, 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.

Клиника. В большинстве случаев заболевания протекают бессимптомно и выявляются с помощью серологических методов исследования. У человека альфа-вирусы могут вызвать заболевания, сопровождающиеся лихорадкой, высыпаниями на коже, развитием энцефалита и артритов.

Основными представителями альфа-вирусов, патогенными для человека, являются вирусы Синдбис, лихорадки леса Семлики, чикунгунья, О'Ньонг-Ньонг, а также вирусы восточного, западного и венесуэльского энцефаломиелита лошадей. Вирусы энцефаломиелита лошадей, чикунгунья и О'Ньонг-Ньонг вызывают эпидемии заболеваний, проявляющиеся энцефалитом или системной лихорадкой.

Иммунитет после перенесенного заболевания стойкий. 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. Выделение вирусов из крови и цереброспинальной жидкости проводят путем интрацеребрального заражения новорожденных белых мышей, а также заражения культур клеток, где они вызывают ЦПД, а также образование бляшек под агаровым покрытием. Идентификацию вирусов проводят в РН на мышцах или культурах клеток, в РТГА с эритроцитами гусей, РСК, РИФ и ИФА. *Серологический метод* диагностики включает обнаружение антител в парных сыворотках крови больного с помощью РН, РСК, РТГА, РНГА, РНИФ, ИФА и РИА. Экспресс-диагностика альфа-вирусных инфекций основана на обнаружении антигенов в исследуемом материале с помощью РНГА, РИФ, ИФА и РИА, а также на использовании *молекулярно-ге-*

нетиических методов исследования (молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот и ПЦР).

Лечение и профилактика. Из противовирусных препаратов применяют рибавирин и реаферон. В ряде случаев для специфического лечения используют сыворотки реконвалесцентов и гетерогенные иммуноглобулины. Для создания активного искусственного приобретенного иммунитета в целях профилактики применяют убитые формолвакцины. Вакцинация необходима для персонала, работающего с вирусами.

16.1.4.2. Вирус краснухи

Вирус краснухи помимо *приобретенной краснухи* вызывает *врожденную краснуху* и *прогрессирующий краснушный панэнцефалит*.

Вирусная этиология заболевания была установлена в 1938 г. японскими учеными (J. Hiго и S. Tasaka); краснуха считалась легким заболеванием у детей. Положение резко изменилось после того, как в 1942 г. австралийский офтальмолог N.M. Gregg обнаружил опасность вируса краснухи для плода при заболевании краснухой беременных женщин: у новорожденных развивалась классическая триада врожденной краснухи (катаракта, глухота и порок сердца). Лишь в 1962 г. вирус был выделен в культуре клеток одновременно двумя группами исследователей (Т.Н. Weller, F.A. Neva и P.D. Parkman с соавт.).

Таксономия. Вирус краснухи относится к семейству *Togaviridae* роду *Rubivirus*. Название происходит от лат. *rubrum* — красный, что связано с покраснением кожи у больных в результате появления на ней пятнисто-папулезной сыпи.

Структура. Вирион вируса краснухи диаметром 60–70 нм имеет сферическую форму. Геном вируса состоит из однонитчатой плюс-РНК, окруженной капсидом с экосаэдрическим типом симметрии и липопротеиновой оболочкой, на поверхности которой находятся шипы. В структуре вириона три белка — С, Е1 и Е2, два последние из них — гликопротеины, расположенные в липопротеиновой оболочке вириона.

Антигенные свойства. Вирус краснухи представлен одним серотипом. Он имеет внутренний нуклеокапсидный антиген С, выявляемый с помощью РСК, и внешние антигены: Е1 и Е2 (Е1 участвует в прикреплении вируса к клеткам и формировании димера с Е2). Е2 — протективный антиген, содержащий вируснейтрализующие и штаммоспецифические эпитопы. Вирус агглютинирует эритроциты голубей, гусей и 1–3-дневных цыплят.

Резистентность. Вирус краснухи чувствителен к эфиру и детергентам, действию физических и химических факторов, неустойчив в окружающей среде. Вирус инактивируется при 100 °С за 2 мин. Разрушение вируса происходит под действием органических растворителей, хлорактивных соединений, формали-

на, УФ-лучей, солнечного света. При низких температурах в замороженном состоянии он сохраняет свою активность годами.

Культивирование. Вирус краснухи способен культивироваться в различных культурах клеток, где он чаще всего не вызывает развития ЦПД, поэтому его длительное время не удавалось выделить. В первичных культурах клеток вирус можно обнаружить по феномену интерференции, при этом в качестве индуктора для суперинфекции используют вирусы ЕСНО-11 и везикулярного стоматита, размножение которых в культурах клеток сопровождается развитием ЦПД. Вирус краснухи вызывает развитие ЦПД и образование бляшек под агаровым покрытием лишь в некоторых перевиваемых культурах клеток: ВНК-21, Vero и др., а также в первичных культурах клеток из тканей человеческого плода. Размножаясь в цитоплазме клеток, вирус приводит к очаговой деструкции монослоя и образованию цитоплазматических эозинофильных включений. К вирусу чувствительны куриные и утиные эмбрионы.

Вирус способен размножаться в организме различных лабораторных животных (обезьян, крыс, хомячков и т.д.), у которых инфекция обычно протекает бессимптомно. У хорьков он размножается в течение длительного времени в паренхиматозных органах и передается трансплацентарно, как у человека.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Краснуха — это антропонозное заболевание. Источником вируса являются больной клинически выраженной или бессимптомной формой краснухи, представляющий эпидемиологическую опасность со второй половины инкубационного периода и в течение 7 дней с момента появления сыпи; дети с врожденной краснухой, выделяющие вирус в окружающую среду в течение многих месяцев (до 2 лет). Выделение вируса из организма происходит с носоглоточным секретом, а также мочой и испражнениями.

Отличительной чертой заражения вирусом является наличие *двух путей передачи: воздушно-капельного* у лиц, общавшихся с источником инфекции, и *трансплацентарного* — от матери к плоду. При этом трансплацентарная передача вируса служит связующим звеном в цепи аэрогенного механизма заражения, так как дети с врожденной краснухой передают вирус окружающим воздушно-капельным путем.

Вирус, персистирующий в организме больного с врожденной краснухой, обладает повышенной вирулентностью. В отличие от других детских воздушно-капельных инфекций больной краснухой менее контагиозен, так как вирус нестойк в окружающей среде, поэтому для реализации аэрогенного механизма заражения необходим тесный и продолжительный контакт с источником инфекции. Заболеваемость краснухой проявляется в основном в виде вспышек, так как циркуляция вируса среди населения ограничена. В основном болеют дети, посещающие организованные коллективы. Иммунная прослойка среди населения формируется медленно. К 20 годам от 15 до 45% населения не имеет иммунитета. Такая ситуация опасна для женщин детородного возраста,

так как известно, что вспышки заболеваемости краснухой проявляются тогда, когда $\geq 15\%$ населения восприимчивы к вирусу.

Клиника. Различают приобретенную и врожденную краснуху, которые существенно различаются в клинических проявлениях и механизмах заражения. Входными воротами инфекции при **приобретенной краснухе** являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей, откуда вирус проникает в регионарные лимфатические узлы, где размножается и поступает в кровь. С током крови вирус разносится по органам и оседает в лимфатических узлах и эпителиальных клетках кожи, где и развивается иммунная воспалительная реакция, сопровождающаяся появлением пятнисто-папулезной сыпи. **Инкубационный период** колеблется от 11 до 24 дней (в среднем 16–21 день). Заболевание начинается с незначительного повышения температуры и легких катаральных симптомов, конъюнктивита, а также увеличения заднешейных и затылочных лимфатических узлов («**краснушные рожки**»). В последующем появляется пятнисто-папулезная сыпь, расположенная по всему телу. Вирус выделяется из организма больных с секретом слизистых оболочек верхних дыхательных путей, а также с мочой и фекалиями. Он исчезает из крови через 2-е суток после появления сыпи, но сохраняется в секрете слизистых оболочек верхних дыхательных путей в течение 2 нед. У детей краснуха, как правило, протекает легко. В ряде случаев возможны осложнения в виде артрита, энцефалита, тромбоцитопенической пурпуры. Независимо от формы заболевания у переболевших лиц остается стойкий, напряженный иммунитет. Антигемагглютинины и вируснейтрализующие антитела сохраняются на протяжении всей жизни, а комплемент-связывающие антитела циркулируют в организме в течение нескольких лет, поэтому их обнаружение — показатель относительно недавно перенесенного заболевания. Высокие титры вируснейтрализующих антител и антигемагглютининов — показатель невосприимчивости макроорганизма. В ходе заболевания развивается вторичный иммунодефицит клеточного типа.

При **врожденной краснухе**, развивающейся в результате внутриутробного трансплацентарного заражения плода, вирус персистирует в его тканях, оказывая **тератогенное действие**. Врожденная краснуха (факультативная медленная вирусная инфекция) характеризуется развитием катаракты, глухоты и пороков сердца, а также других аномалий развития плода. Слепота в сочетании с глухотой и поражением ЦНС приводит к умственной отсталости. Среди вирусов, вызывающих внутриутробные поражения плода, вирус краснухи занимает первое место. Особую опасность представляет заражение краснухой в первом триместре беременности, так как в этот период происходит формирование всех основных тканей и органов плода. Около четверти детей, зараженных в это время, рождается с симптомами врожденной краснухи, а у 85% детей регистрируются другие формы патологии развития. Тератогенное действие вируса обусловлено торможением митотической активности клеток, ишемией плода в результате поражения сосудов плаценты, иммуносупрессивного дей-

ствия избыточной антигенной нагрузки на развивающуюся иммунную систему, а также прямым цитопатогенным действием вируса на клетки плода. У детей с врожденной краснухой определяется высокий уровень специфических антител, передающихся трансплацентарно от матери. Иммунитет после врожденной краснухи менее стоек, так как формирование его происходит в условиях незрелой иммунной системы плода.

В результате длительной персистенции вируса краснухи в макроорганизме после перенесения инфекции в детском возрасте, а также у лиц с врожденной краснухой в течение второго десятилетия жизни у человека может развиваться **прогрессирующий краснушный панэнцефалит (ПКПЭ)** — медленная вирусная инфекция, характеризующаяся комплексом прогрессирующих нарушений двигательной и умственной функции ЦНС и завершающаяся летальным исходом. Больные с признаками ПКПЭ не представляют эпидемиологической опасности для окружающих в связи с отсутствием вируса в экскретах.

Микробиологическая диагностика краснухи основана на выделении вируса из смывов со слизистой оболочки носа и зева, крови, мочи, реже испражнений, а также внутренних органов погибших детей и обнаружении антител в парных сыворотках и цереброспинальной жидкости при врожденной краснухе и ПКПЭ, а также постановке ПЦР. Так как вирусологический метод сложен и трудоемок, основной комплекс методов диагностики краснухи включает определение антител к вирусу посредством РТГА, РН, ИФА, обнаружение специфических IgM и IgG, индекса avidности IgG и выявления РНК вируса краснухи. Этот комплекс методов позволяет дифференцировать краснуху от других заболеваний, выявлять все формы краснухи и определять стратегию вакцинопрофилактики.

Профилактика и лечение. Наиболее эффективный метод профилактики — применение живых вакцин из аттенуированных штаммов. Для элиминации вируса краснухи и предотвращения развития врожденной краснухи необходимо, чтобы заболеваемость краснухой в регионе не превышала 1 случая на 1 миллион населения. Первоочередной целью профилактики является защита беременных от внутриутробного инфицирования плода. Вероятность заболевания во время беременности высока у групп риска — медицинских работников, педагогов, работников детских дошкольных учреждений. В Национальный календарь профилактических прививок включена вакцинация против краснухи у детей в 12–15 мес., а также ревакцинация детей в возрасте 6 лет. Так как в России лишь 50–65% девочек 12–15 лет имеют антитела к вирусу краснухи, календарем предусматривается «подчистка». Она заключается в вакцинации всех непривитых (и имеющих лишь одну прививку) не болевших краснухой детей и подростков до 18 лет, а также женщин в возрасте 18–25 лет, что позволит резко снизить резервуар вируса и частоту возникновения врожденной краснухи. При проведении «подчистки» имеет смысл вакцинировать повторно всех детей, получивших первую прививку в 6 лет, а также девочек в возрасте 13 лет. Имму-

нитет у вакцинированных развивается поздно (через 15–20 дней) и сохраняется в течение 20 лет.

Заболевание краснухой в первом триместре беременности служит показанием к рассмотрению вопроса о ее прерывании. Беременные женщины должны избегать контакта с больным краснухой, несмотря на перенесенную в детстве инфекцию или проведенную вакцинацию, так как дикий штамм вируса может преодолевать приобретенный иммунитет. В случае контакта с больным восприимчивость у беременных должна быть определена серологически. При наличии IgG-антител женщина считается иммунной. При отсутствии антител анализ повторяют через 4–5 нед.; при положительном результате предлагают прерывание беременности. Если вторая проба не содержит антител, анализ проводят еще раз через месяц. Использование иммуноглобулина человека в целях постэкспозиционной профилактики при беременности не рекомендуется. Его вводят только в тех случаях, когда женщина не желает прерывать беременность. Положительный эффект отмечают лишь при введении больших доз препарата. Однако определенная часть беременных остается незащищенной.

16.1.5. Флавивирусы (семейство *Flaviviridae*)

Название семейства *Flaviviridae* происходит от лат. *flavus* — желтый, по названию заболевания, которое вызывает вирус желтой лихорадки (типовой вирус семейства). Патогенные для человека вирусы сгруппированы в двух родах: *Flavivirus*, в состав которого входят **арбовирусы** — возбудители арбовирусных инфекций, и *Hepacivirus*, включающий вирус гепатита С (ВГС), служащий в 40–65% случаев возбудителем всех посттрансфузионных гепатитов, и вирус гепатита G. Данные вирусы не являются арбовирусами. Они рассматриваются в разд. 16.6 «Возбудители парентеральных вирусных гепатитов В, D, С, G». Свойства представителей рода *Flavivirus* представлены ниже.

Структура. Флавивирусы — сложные РНК-геномные вирусы сферической формы диаметром 40–60 нм. Они меньше, чем альфа-вирусы. Геном вирусов состоит из линейной однонитчатой плюс-РНК, окруженной капсидом с икосаэдрическим типом симметрии. В состав капсида входит белок С. Капсид окружен липопротеиновой оболочкой, которая содержит на своей поверхности гликопротеин Е. На внешней стороне липопротеиновой оболочки расположен структурный белок М (рис. 16.6).

Антигенные свойства. Гликопротеин Е содержит видо- и родоспецифические антигенные детерминанты. Флавивирусы характеризуются способностью образовывать в инфицированных клетках растворимый антиген, обладающий активностью в РСК. Антитела к нему обладают нейтрализующей активностью. Гемагглютинирующие свойства флавивирусов проявляются в узком диапазоне рН. Представители флавивирусов внутри семейства и рода по антигенному родству в РТГА сгруппированы в 15 антигенных комплексов, или групп: комплекс

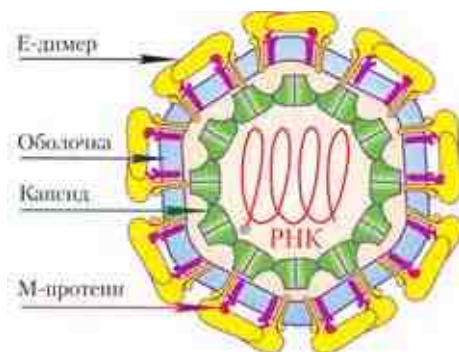


Рис. 16.6. Строение флавивируса

вирусов желтой лихорадки, клещевого энцефалита, японского энцефалита, лихорадки денге и т.д.

Репродукция. 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 45 S. Вирусный репликативный комплекс связан не с мембранами эндоплазматической сети, как у альфа-вирусов, а с ядерной мембраной. 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.

Культивирование. Вирусы культивируют во многих первичных и перевиваемых культурах клеток человека и теплокровных животных, где они вызывают слабовыраженное ЦПД, которое хорошо проявляется в культурах клеток СПЭВ, ВНК-21. В культурах клеток членистоногих вирусы ЦПД не вызывают. Универсальной моделью для выделения флавивирусов является интрацеребральное заражение новорожденных и 3–4-недельных белых мышей, у которых отмечается развитие параличей. В качестве экспериментальной модели используют обезьян. Вирусы культивируют также путем заражения куриных эмбрионов на хорионаллантоисную оболочку и в желточный мешок. Гибель куриных эмбрионов отмечается через 72 ч. Для вирусов лихорадки денге высокочувствительной моделью является интраторакальное и интракапсулярное заражение комаров.

Резистентность. Вирусы чувствительны к действию эфира, детергентов и формалина. Устойчивость флавивирусов к воздействию физических и химических факторов такая же, как и у альфа-вирусов.

Эпидемиология. Флавивирусы широко распространены в природе и, как и другие арбовирусы, вызывают природно-очаговые заболевания с трансмиссивным механизмом заражения. Они также передаются контактным, аэроген-

ным и пищевым путем. Основным резервуаром и источником флавивирусов в природе служат кровососущие членистоногие переносчики, у которых доказано наличие трансфазовой и трансвариальной передачи флавивирусов. Большая часть флавивирусов распространяется комарами (вирусы лихорадки денге, вирус желтой лихорадки, японского энцефалита, лихорадки Западного Нила) и 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, 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.

Патогенез и клиника. Патогенез заболеваний, вызываемых флавивирусами, сходен с нарушениями, вызываемыми другими арбовирусами (см. патогенез буньявирусных и альфа-вирусных инфекций). Флавивирусы, помимо бессимптомных форм заболеваний, а также системных лихорадок с сыпью или без нее, 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 основана на выделении вирусов путем интрацеребрального заражения мышей, культур клеток, куриных эмбрионов, комаров, а также обнаружении антител в парных сыворотках. Материалом при проведении *вирусологического* исследования служат: кровь, 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 (вирус омской геморрагической лихорадки). Кровь берут в первые дни заболевания, а также в период повторного приступа лихорадки. Индикация вирусов проводится на основании гибели мышей и куриных эмбрионов, в культурах клеток: индикация вирусов с помощью РГА с эритроцитами гусей, по обнаружению ЦПД и бляшкообразованию. Идентификация проводится с помощью РН, РТГА, РСК, РНГА, РИД, РИФ, ИФА и РИА. Реакция нейтрализации по сравнению с РСК и РТГА наиболее специфична при работе с арбовирусами, позволяя осуществлять их типовую дифференциацию.

Обнаружение антител в парных сыворотках проводят с помощью РТГА, РСК, РРГ, РН, РНИФ, ИФА и РИА. Диагностическим считается нарастание титров антител более чем в четыре раза. Обнаружение IgM свидетельствует о свежем инфицировании. При энцефалитах важную роль имеет обнаружение антител в цереброспинальной жидкости.

Экспресс-диагностика флавивирусных инфекций осуществляется на основании обнаружения антигенов с помощью РНГА, РИФ, ИФА и РИА. Из молекулярно-генетических методов диагностики применяют молекулярную гибридизацию нуклеиновых кислот и ПЦР.

Лечение и профилактика. Для лечения применяют рибавирин, реаферон, биназу. Для экстренной профилактики и лечения — гетерогенные и гомологичные иммуноглобулины. Для специфической профилактики используют убитые формалином вакцины, за исключением живой вакцины против желтой лихорадки.

16.1.5.1. Вирус желтой лихорадки

Вирус желтой лихорадки вызывает арбовирусную инфекцию, характеризующуюся лихорадкой, интоксикацией, геморрагическим синдромом, поражением печени и почек.

Таксономия, 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. Будучи типовым представителем семейства *Flaviviridae*, он относится к роду *Flavivirus* (от лат. *flavus* — желтый). Это РНК-геномный вирус, обладающий вазотропизмом; поражает сосуды внутренних органов, а также клетки висцеральных органов и обладает нейротропностью. Во внешней среде вирус малоустойчив.

Эпидемиология и патогенез. Заболевание распространено в тропических и субтропических странах Центральной и Южной Америки, Африки. Механизм заражения трансмиссивный.

Различают две эпидемиологические формы желтой лихорадки — джунглевую (природно-очаговую зоонозную) и городскую (антропонозную). При **джунглевой форме желтой лихорадки** 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 *Aedes aegypti*. Вирусы активно размножаются в комарах, достигая определенных критических концентраций в их слюнных железах, что необходимо для инфицирования человека. Вспышки этого заболевания соответствуют ареалу распространения переносчика вируса: от 42° северной широты до 40° южной широты.

Заболевание может возникнуть также при попадании крови больного или погибшего человека на поврежденную кожу или на слизистые оболочки.

Желтая лихорадка относится не только к особо опасным инфекциям, но и является единственной карантинной арбовирусной инфекцией. Вирус, попавший в организм человека при укусе комарами и после кровососания, проникает в регионарные лимфатические узлы, где происходит его размножение в течение всего **инкубационного периода**, который составляет 3–6 дней. Затем он 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. Развиваются дистрофия и некроз гепатоцитов, поражаются клубочковый и канальцевый аппараты почек. Летальность достигает 20–50%. Иммуитет напряженный.

Микробиологическая 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, и определении нарастания титра антител в парных сыворотках с помощью РТГА, РСК, РН и ИФА. *Серологический метод* исследования играет особенно важную роль при атипичном течении заболевания. *Экспресс-диагностика* заболевания 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.

Лечение и профилактика. Специфическое лечение желтой лихорадки не разработано. Всем лицам, выезжающим в неблагополучные по желтой лихорадке регионы, а также проживающим на эндемичных территориях, для профилактики применяют живую вакцину (штамм 17D). Вакцина создает напряженный иммунитет с 10-го дня после первичной вакцинации, сохраняющийся не менее 10 лет. При возникновении вспышек желтой лихорадки немедленно приступают к массовой иммунизации населения с учетом определенных противопоказаний.

16.1.5.2. Вирус клещевого энцефалита

Вирус клещевого энцефалита вызывает арбовирусную инфекцию, характеризующуюся лихорадкой, интоксикацией и поражением ЦНС.

Таксономия и биологические свойства. Вирус клещевого энцефалита 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 началось изучение арбовирусных инфекций в России.

Вирус клещевого энцефалита относится к семейству *Flaviviridae* роду *Flavivirus* и является типовым представителем вирусов **комплекса клещевого энцефалита**, в состав которого входят вирус омской геморрагической лихо-

радки, 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 содержит липопротеиновую оболочку, одонитевую плюс-РНК и три структурных белка: капсидный белок С, мембранный белок М и поверхностный белок Е (димер). Белок Е обуславливает тропизм вирусов к клеткам. На его поверхности располагаются детерминанты висцеротропности и нейровирулентности. В геноме вируса закодированы неструктурные белки NS1–NS5 и вирусная РНК-полимераза. Они участвуют в репликации вируса. Вирусу клещевого энцефалита свойственна значительная географическая и внутривидовая изменчивость по ряду антигенных и биологических признаков. Выделяют три основных генотипа вируса, имеющих некоторые антигенные различия (дальневосточный, европейский и урало-сибирский), но только один структурный гликопротеин Е индуцирует образование вируснейтрализующих антител, общих для всех известных генотипов вируса.

Резистентность. Несмотря на небольшую устойчивость вируса к действию физических и химических факторов, в организме переносчиков он сохраняет свою жизнеспособность в широком диапазоне температур, от -150 до $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, что способствует его широкому распространению. Он проявляет высокую резистентность к действию кислых значений рН, что важно при алиментарном пути заражения.

Эпидемиология и патогенез. Переносчиком и основным долговременным резервуаром вируса являются иксодовые клещи (таежный — *I. persulcatus* и лесной — *I. ricinus*) — «копилки» для микробов. Репликация вируса происходит в основном в тканях пищеварительного тракта и слюнных железах клещей. Вирус сохраняется на протяжении всей его жизни, передается трансфазово и трансовариально. Длительная циркуляция вируса только за счет клещей невозможна из-за большой гибели членистоногих на каждом этапе метаморфоза. Поддержание циркуляции вируса 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.

Основной механизм заражения **трансмиссивный**. Человек заражается при укусе — в период кровососания инфицированными клещами. Нередко для развития заболевания достаточно лишь наползания на кожу клещей и нимф. Проникновение вируса в организм возможно также **контактным** (через мелкие повреждения кожи) и **алиментарным путем** при употреблении сырого молока коз и овец (молочная лихорадка или двухволновой менингоэнцефалит). Патогенетически различают висцеральную и невральную стадию клещевого энцефалита. Сначала вирус размножается в месте входных ворот инфекции под кожей, откуда он попадает в кровь. Возникает первая, так называемая резорб-

тивная вирусемия. Вирус проникает в лимфатические узлы, селезенку, эндотелий кровеносных сосудов, молочные железы у животных, где активно размножается. При пищевом пути заражения входными воротами служит слизистая оболочка глотки и тонкой кишки. В конце инкубационного периода в результате активного размножения вируса возникает вторичная вирусемия, длящаяся 5 дней. Она сопровождается появлением первых симптомов заболевания в виде лихорадки и интоксикации. Вирусы гематогенно, а возможно, и периневрально, проникают в головной и спинной мозг, поражая все отделы ЦНС. Особенно страдают крупные двигательные клетки в сером веществе спинного мозга и ядрах двигательных черепно-мозговых нервов в стволе головного мозга. Здесь отмечается наибольшее скопление вирусов, вызывающих некроз клеток, что ведет к развитию параличей и парезов. Несмотря на вирусемию, больной человек является тупиком для вируса, так как не может быть донором для клещей. Возможно развитие латентной, а также медленной вирусной инфекции с неуклонным прогрессирующим течением.

Клиника. Инкубационный период колеблется от 8 до 28 дней. Течение болезни может быть как острым, так и хроническим прогрессивным. Различают несколько клинических форм клещевого энцефалита: лихорадочную (стертую), менингеальную и очаговую (паралитическую), которая подразделяется на менингоэнцефалитическую, полиомиелитическую и полирадикулоневритическую. Лихорадочная и менингеальные формы заболевания чаще всего завершаются выздоровлением. Хронизация происходит редко. При очаговой форме летальность достигает 15–20%. Часто наблюдаются остаточные явления в виде параличей с атрофией мышц и контрактурами.

В большинстве случаев взаимодействие вируса с макроорганизмом протекает бессимптомно, на субклиническом уровне в виде острого (до 6 мес.) или хронического (свыше 6 мес.) вирусоносительства. После перенесенного заболевания остается стойкий иммунитет. Двухволновое течение заболевания может отмечаться как при трансмиссивном, так и при алиментарном способе заражения. Такое течение заболевания вызывают штаммы, обладающие большей висцеротропностью и меньшей вирулентностью. При этом иммунный ответ характеризуется замедленным развитием. Антитела начинают выявляться только на второй лихорадочной волне или по прошествии ее.

Вирус клещевого энцефалита относится к факультативным возбудителям **медленных вирусных инфекций**. У 2–12% больных отмечается прогрессивное течение заболевания с переходом в хроническую форму на фоне активного антителообразования. Персистирующий возбудитель не экспрессирует антигены на поверхности клеток и не оказывает ЦПД. Выделяют первично прогрессивное течение клещевого энцефалита с постепенным возникновением симптомов поражения ЦНС и тенденцией к их усилению у лиц, не имевших выраженного острого периода заболевания, и вторично прогрессивное течение заболевания. При вторично прогрессивном течении заболевания после окончания острого

периода появляются симптомы, отсутствующие в остром периоде, или же прогрессируют симптомы, сохранившиеся после его окончания.

Микробиологическая диагностика. Вирус выделяют из крови и cerebrospinalной жидкости больных, а также внутренних органов и мозга умерших путем интрацеребрального заражения новорожденных белых мышей и культур клеток. Идентификацию выделенного вируса проводят с помощью РТГА, РН и РСК, а в монослое культур клеток — РИФ. Обнаружение антител в парных сыворотках и cerebrospinalной жидкости проводят посредством РСК и РТГА. Для обнаружения IgM- и IgG-антител против белка Е вируса применяют ИФА. Обнаружение антигенов в исследуемом материале, в том числе в клещах, снятых с укушенных людей, проводят с помощью ИФА. *Экспресс-диагностика* основана на обнаружении вирусного антигена в крови с помощью РНГА и ИФА; выявлении IgM на первой неделе заболевания в cerebrospinalной жидкости; обнаружении РНК вируса в крови и cerebrospinalной жидкости у людей, в клещах и внутренних органах животных с помощью ПЦР.

Лечение и профилактика. Для лечения применяют иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита, иммунную плазму, рибавирин, рибонуклеазу, препараты интерферона и его индукторы. Серотерапию необходимо начинать не позднее 3–4-го дня заболевания. Для предупреждения развития затяжных и хронических форм заболевания назначают иммунотерапию. Необходимость экстренной серопротекции устанавливается лабораторным анализом присосавшегося к коже человека клеща на наличие вируса (ПЦР, ИФА). Лицам, не привитым или вакцинированным менее чем за 10 дней до укуса, вводят (в первые 96 ч после присасывания клеща) внутримышечно иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита (постэкспозиционная профилактика). После 4-го дня в течение 28 суток (инкубационный период) препарат не вводят, так как это может утяжелить заболевание. По этой же причине в ряде стран его не вводят детям. Во многих странах препарат не применяют у детей до 14 лет или не применяют вообще.

Для вакцинации лиц, проживающих на эндемичных по клещевому энцефалиту территориях, а также выезжающих на эти территории в весенне-летний период, используют убитые культуральные вакцины. Непривитым лицам за 96 ч до посещения очагов внутримышечно вводят иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита. Защитное действие препарата начинается через 24 ч и длится около 4 нед., после чего введение препарата повторяют.

Для исключения пищевого пути заражения в природных очагах клещевого энцефалита необходимо потреблять только кипяченое молоко.

16.1.5.3. Вирус омской геморрагической лихорадки

Вирус омской геморрагической лихорадки вызывает арбовирусную инфекцию, характеризующуюся поражением эндотелия кровеносных капилляров, нервной системы и надпочечников.

Таксономия 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. Вирус относится к семейству *Flaviviridae* рода *Flavivirus*. Существует два серотипа вируса. Предполагается, что вирус омской геморрагической лихорадки — это видоизмененный штамм вируса клещевого энцефалита. Он близок к нему по антигенным и биологическим свойствам, но не проявляет выраженных нейротропных свойств. Возбудитель сравнительно хорошо размножается в нескольких видах клеточных культур, но только в культуре клеток эмбриона свиньи оказывает выраженное ЦПД с разрушением монослоя клеток.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Природные очаги омской геморрагической лихорадки зарегистрированы на территории Западной Сибири. Основным природным хозяином и переносчиком вируса являются клещи (норовый болотный и пастбищный). Естественный резервуар вируса в природе — грызуны и птицы. Особенно высокочувствительны к вирусу ондатры, которые заражают воду в водоемах. Занос вирусов в водоемы может осуществляться водными крысами, а также другими млекопитающими и паразитирующими на них клещами.

Заражение человека происходит при укусе инфицированными клещами или при прямом контакте с инфицированными животными (снятии шкурок), а также пищевым путем через инфицированную вирусом воду. Для заболевания характерна четко выраженная сезонность. При трансмиссивном способе заражения кривая заболеваемости совпадает с кривой сезонного движения клещей («весенне-осенняя лихорадка»). Заболеваемость также может регистрироваться в осенне-зимний период, когда наиболее интенсивно идет отлов ондатры («ондатровая болезнь»). **Инкубационный период** составляет от 2 до 10 дней.

Заболевание у людей характеризуется поражением эндотелия кровеносных капилляров (универсальный капилляротоксикоз), нервной системы и надпочечников. Различают типичную (геморрагическую) и атипичную (без геморрагических проявлений) формы болезни. В большинстве случаев заболевание протекает типично, начинается остро и проявляется лихорадкой, интоксикацией, геморрагическим синдромом и выраженными изменениями нервной системы (явления менингоэнцефалита). Прогноз благоприятный, летальность не превышает 1%. После перенесенного заболевания остается напряженный и длительный иммунитет.

Микробиологическая диагностика 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 обнаружении антител в парных сыворотках с помощью РПГА, РСК и ИФА.

Лечение и профилактика. Для лечения и экстренной профилактики омской геморрагической лихорадки вводят специфический гетерологичный иммуно-

глобулин, однако более выраженным защитным действием обладает гомологичный иммуноглобулин. Для создания искусственного активного приобретенного иммунитета в 1948–1949 гг. М.П. Чумаковым была получена убитая формалином вакцина из мозга зараженных белых мышей. В дальнейшем в связи с уменьшением заболеваемости и относительно благоприятным течением вакцинация была отменена. Ее проводят лишь по строгим эпидемиологическим показаниям. Эффективны для профилактики заболевания и вакцины против клещевого энцефалита.

16.1.5.4. Вирус лихорадки денге

Вирус лихорадки денге вызывает арбовирусную инфекцию с поражением печени, костного мозга, соединительной ткани и мышц, сопровождающуюся лихорадкой, геморрагическим синдромом и интоксикацией. По уровню заболеваемости лихорадка денге занимает первое место среди арбовирусных инфекций.

Таксономия и биологические свойства. Вирусную этиологию лихорадки денге и ее передачу 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 был выделен из крови больных (на Гавайских островах и в Новой Гвинее) и детально изучен А. Сэйбином (A. Sabin). Вирус относится к семейству *Flaviviridae* рода *Flavivirus*. Название вируса и заболевания происходит от искаженного *dandy* (англ.) — франт, что обусловлено яркой, пылающей окраской лица, инъекцией сосудов склер, нарушением осанки и манерной походкой у больных из-за болей в мышцах и суставах. Выделяют четыре 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. Отчетливой зависимости клинической картины от серотипа вируса не установлено. Вирус обладает выраженной гемагглютинирующей активностью, агглютинируя эритроциты гусей, цыплят и эритроциты человека группы 0. Его можно культивировать на чувствительных животных, в желточном мешке куриных эмбрионов и в культурах клеток. Наиболее чувствительны к вирусу новорожденные белые мыши, которых заражают интрацеребрально и внутрибрюшинно. Размножение вируса в культурах клеток сопровождается развитием ЦПД, которое наиболее выражено у 2 и 3 серотипов вируса. Под агаровым покрытием цитопатогенные штаммы вируса вызывают образование бляшек. В культурах клеток комара вирус оказывает ЦПД по типу симпластообразования. Вирус очень термолabilен.

Эпидемиология. Лихорадка денге — это природно-очаговая арбовирусная инфекция, распространенная в тропических и субтропических регионах

Юго-Восточной Азии, южной части Тихоокеанского региона, Африке, Центральной и Южной Америке в пределах 42° северной широты и 40° южной широты.

Вирус лихорадки денге передается человеку через укусы комаров рода *Aedes*. Заражение происходит даже при однократном укусе и кровососании. Основной резервуар и источник вируса при **городском типе** лихорадки денге — человек, а основной переносчик — комар *Aedes aegypti*. При **джунглевом типе** лихорадки денге резервуаром и источником вируса являются обезьяны, у которых заболевание протекает бессимптомно, а также лемуры, белки, летучие мыши и другие млекопитающие. В этом цикле участвуют комары *A. niveus*, которые нападают как на обезьян, так и на человека, что обеспечивает занос вируса в городскую среду. Возбудитель может сохраняться в природе благодаря трансвариальной передаче у комаров.

Патогенез и клиника. Возбудитель размножается в слюнных железах переносчика и при укусе попадает в организм человека. **Инкубационный период** колеблется от 3 до 15 дней, чаще 5–8 дней. Он вызывает две формы заболевания: классическую и геморрагическую. **Классическая форма** возникает как у местных жителей всех возрастных групп, так и у приезжих людей при отсутствии у них предшествующего активного или пассивного иммунитета. Первичная репликация вируса происходит в регионарных лимфатических узлах и эндотелии капилляров. В конце инкубационного периода возникает вирусемия, ведущая к поражению органов и тканей (печень, костный мозг, соединительная ткань, мышцы), сопровождающаяся лихорадкой и интоксикацией. После размножения во внутренних органах вирусы вторично проникают в кровь. **Геморрагическая форма** болезни с развитием шокового синдрома чаще встречается у детей, которые ранее были инфицированы вирусом, и у младенцев, имеющих низкий уровень антител к нему, полученных пассивно от матерей. Отмечена парадоксальная особенность, характерная для геморрагической формы болезни. Она состоит в том, что повышенный риск развития шокового синдрома тесно связан с хорошим питанием детей. Согласно иммунопатологической гипотезе усиления, геморрагическая форма болезни встречается в районах, в которых одновременно или последовательно циркулируют несколько серотипов вируса. Первоначальная инфекция, протекающая бессимптомно, ведет к сенсibilизации макроорганизма, что способствует формированию при повторном заражении другим серотипом вируса иммунных комплексов, активирующих комплемент, и проникновению вируса в мононуклеарные фагоциты, где он усиленно размножается. Образование **анафилатоксинов** и выделение клетками биологически активных веществ ведет к утяжелению течения заболевания с развитием геморрагического синдрома и шока.

Вирус обладает вазотропизмом и присутствует в крови во время острой фазы болезни (4–7 дней). Заболевание сопровождается явлениями капилляротоксикоза. Классическая форма болезни характеризуется двухфазной лихорадкой, постепенным развитием болей в мышцах и суставах, особенно коленных, что ведет

к изменению походки больного, наличием пятнисто-папулезной сыпи, появляющейся на 5–6-й день болезни, увеличением лимфатических узлов. Заболевание часто может протекать бессимптомно. Геморрагическая форма болезни всегда развивается остро и характеризуется высокой температурой, гепатомегалией, появлением выраженных геморрагий (петехии на коже, кровоизлияния и кровотечения) и тенденцией к развитию шокового синдрома денге. Летальность при этом достигает 40–50%.

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, и через непродолжительное время возможна вторичная или последующие инфекции.

Микробиологическая диагностика лихорадки денге 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. Вирус выделяют интраклеточным и интракапсулярным заражением комаров, а также культур клеток и интрацеребральным заражением мышей-сосунков. Для идентификации разных серотипов вирусов применяют РНИФ с использованием моноклональных антител и антивидовой флуоресцирующей сыворотки.

Для обнаружения антител в парных сыворотках применяют РН, РТГА, РСК, ИФА.

Лечение и профилактика лихорадки денге не разработаны. Для экстренной профилактики используют специфический иммуноглобулин или иммуноглобулин из плазмы доноров, проживающих в эндемичных районах. Вакцинопрофилактика не разработана.

16.1.5.5. Вирус японского энцефалита

Вирус японского энцефалита вызывает арбовирусную инфекцию с развитием общетоксического синдрома, энцефалита и менингоэнцефалита.

Таксономия и биологические свойства. Вирус японского энцефалита (син.: комариный энцефалит) выделен в 1933 г. М. Хияши (М. Hayashi) путем заражения обезьяны суспензией мозга людей, погибших от энцефалита. Он относится к семейству *Flaviviridae* рода *Flavivirus* и является представителем антигенного комплекса вируса японского энцефалита, в состав которого входят также вирус энцефалита долины Муррея, лихорадки Западного Нила, энцефалита Сент-Луис и др. Возбудитель обладает характерными свойствами флавивирусов. Термолабилен. Имеет в своем составе нуклеокапсидный антиген, определяемый посредством 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 обезьян, мышей, хомяков и др. Новорожденные белые мыши восприимчивы к вирусу и при экстра-невральном заражении. В культурах клеток вирус вызывает ЦПД, сопровождающееся образованием гигантских многоядерных клеток (симпластов).

Эпидемиология, патогенез и клиника. Японский энцефалит относится к природно-очаговому арбовирусным инфекциям. Заболевание распространено в странах Южной и Юго-Восточной Азии, особенно в регионах с развитым свиноводством и рисосеянием, что способствует выплоду комаров. В России природные очаги японского энцефалита есть на территории южных районов Приморского края.

Природный резервуар и источник вируса — комары, у которых установлена трансвариальная передача вируса, а также птицы водно-околоводного комплекса, особенно цапли, 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 заболевания среди людей играют свиньи, у которых развивается скрытая или клинически выраженная форма заболевания, сопровождающаяся массивной вирусемией, достаточной для инфицирования комаров. Основным переносчиком вируса являются комары рода *Culex*, в частности *C. tritaeniorhynchus*, охотно нападающие на птиц, свиней и человека.

Заражение человека происходит при укусе его комарами и попадании вируса в кровь в результате кровососания. **Инкубационный период** составляет 8–14 дней. Патогенетическая особенность заболевания заключается в значительном поражении сосудистой системы с резко выраженными нарушениями микроциркуляции. Эти нарушения определяются во всех органах, но особенно в ЦНС. Вирус обладает нейротропностью, преодолевает гематоэнцефалический 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. Вирус также размножается в клетках печени, селезенки и костного мозга, что обуславливает высокий уровень вирусемии, хотя человек эпидемиологической опасности не представляет.

У человека японский энцефалит может протекать в различных клинических формах — от легких случаев заболевания с признаками общетоксического синдрома до картины тяжело протекающего энцефалита и 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, а также обнаружении антител в парных сыворотках и постановке ПЦР. Вирус выделяют из крови (в первые 7 дней заболевания), цереброспинальной жидкости (в те-

чение 15 дней) и кусочков мозга умерших, путем заражения новорожденных белых мышей, культур клеток и куриных эмбрионов. Для определения антител в парных сыворотках крови больных и в цереброспинальной жидкости применяют РН, РСК, РТГА, РНГА, РНИФ, ИФА. В ряде случаев проводят постановку кожной аллергической пробы с введением суспензии мозга зараженных мышей. Для обнаружения антигена используют РИФ и ИФА.

Лечение и профилактика. В первые дни заболевания эффективно повторное введение сыворотки крови лиц, переболевших японским энцефалитом, или гетерогенного иммуноглобулина против японского энцефалита. С профилактической целью препарат назначают при лабораторном заражении вирусом или в случае массовых укусов комарами в очаге инфекции. Для активной профилактики применяется убитая вакцина. В эндемичных очагах вакцинация должна охватывать не только население, но и домашних животных, для которых применяют живые вакцины.

16.1.5.6. Вирус лихорадки Западного Нила

Вирус лихорадки Западного Нила вызывает арбовирусную инфекцию, характеризующуюся выраженным лихорадочно-интоксикационным синдромом и поражением ЦНС.

Таксономия. Вирус лихорадки Западного Нила относится к семейству *Flaviviridae* роду *Flavivirus* и является представителем антигенного комплекса вируса японского энцефалита. Вирус имеет четыре генотипа.

Эпидемиология. Возбудитель распространен во многих странах Азии, Европы и Африки, где регистрируются спорадические случаи заболевания и эпидемические вспышки. В России заболевание встречается в Западной Сибири, Краснодарском крае, Астраханской и Волгоградской областях. Доминирующим в природных очагах на территории России является 1-й генотип. Реже определяются 2-й и 4-й генотипы. Резервуаром и источником вируса являются дикие и домашние птицы, главным образом водного и околотовного экологического комплекса, грызуны, летучие мыши, комары и клещи. Основное значение в циркуляции вируса в природных очагах имеют вороньи птицы, прежде всего вороны, грачи, сойки (наземный комплекс), а в антропогенных очагах голуби. Дальние мигранты (цапли, кулики и крачки) осуществляют занос этого и других вирусов из мест своих зимовок в Африке. Вирус циркулирует также среди млекопитающих, описаны эпизоотии у лошадей. Механизм передачи вируса трансмиссивный, переносчики — в первую очередь орнитофильные комары рода *Culex*, реже другие, а также аргасовые и иксодовые клещи, играющие особую роль в сохранении вируса в холодных зимних условиях. Восприимчивость у людей высокая, однако заболевание чаще протекает бессимптомно. Болеют

преимущественно сельские жители, хотя во Франции эта болезнь известна под названием «утинная лихорадка», так как оно возникает у городских жителей, приезжающих на охоту в долину Роны. Описаны случаи передачи вируса через материнское молоко, при трансплантации органов, при внутриутробном и лабораторном заражении. Широкое распространение инфекции определяет опасность ее передачи с донорской кровью, а также при трансплантации органов.

Патогенез. Вирус распространяется по макроорганизму гематогенно, вызывая поражения эндотелия сосудов и микроциркуляторные расстройства. Вирусемия кратковременна, интенсивность ее низкая, на что указывают отрицательные результаты обнаружения генома вируса в крови с помощью ПЦР во время лихорадочного периода. Ведущим в патогенезе является поражение оболочек и вещества головного мозга, приводящее к развитию менингеального, общемозгового синдрома и очаговой симптоматики. Летальный исход наступает на 7–28-й день заболевания вследствие нарушения жизненно важных функций из-за отека и набухания головного мозга, гибели нервных клеток и кровоизлияний в ствол мозга.

Клиника. После короткого *инкубационного периода* (3–6 дней) заболевание развивается остро с высокой лихорадкой в течение 3–12 дней, которая иногда носит двухволновой характер, интоксикацией, головной болью, болями в суставах, скарлатиноподобной сыпью и полиаденизмом. Характерно наличие конъюнктивита, фарингита, гепатолиенального синдрома. В большинстве случаев заболевание протекает доброкачественно, но период выздоровления сопровождается длительным, до года и более, астеническим синдромом. После перенесенного заболевания формируется напряженный иммунитет. Тяжелые случаи заболевания сопровождаются развитием менингита, а также менингоэнцефалита с парезами, параличами и летальным исходом (летальность до 50%). Обычно заболевание протекает тяжелее у лиц старших возрастных групп, что, очевидно, связано с феноменом иммунологического усиления в результате повторного заражения новым серотипом вируса.

Микробиологическая диагностика заключается в выделении вируса из крови, цереброспинальной жидкости и трупного материала путем заражения новорожденных белых мышей и культур клеток, а также обнаружении антител в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости с помощью ИФА, РТГА, РСК и РН. Подтверждает заболевание обнаружение с помощью ИФА специфических IgM в цереброспинальной жидкости или четырехкратное нарастание титров антител в парных сыворотках (РН), а также выявление как специфических IgM, так и IgG в сыворотке крови с помощью ИФА и РН. Об активности процесса свидетельствует обнаружение в высоких титрах специфических IgM и изменение титров антител в парных сыворотках в четыре раза и более. ПЦР позволяет проводить верификацию летальных случаев заболевания.

Специфическое лечение и профилактика не разработаны.

16.1.6. Ортомиксовирусы (вирусы гриппа)

Таксономия. Ортомиксовирусы (семейство *Orthomyxoviridae*, от греч. *orthos* — прямой, *муха* — слизь) — это РНК-содержащие сложноорганизованные вирусы. Семейство включает род *Thogotovirus* (передаваемые клещами арбовирусы), род *Isavirus* (вирус инфекционной анемии лосося) и имеющие наибольшее значение в патологии человека три рода вирусов гриппа — *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B* и *Influenzavirus C*.

Вирусы гриппа А поражают не только людей, но и животных и отличаются значительным антигенным разнообразием и наибольшей эпидемиологической опасностью.

Грипп (от ст.-фр. *grippe*, *gripper* — схватывать, царапать) — острое инфекционное вирусное заболевание человека, характеризующееся поражением респираторного тракта, лихорадкой, общей интоксикацией, нарушением деятельности сердечно-сосудистой и нервной систем.

Во многих странах грипп называют «инфлюэнца» (от итал. *influenza* — влияние). Описание симптомов болезни было впервые сделано еще до нашей эры Гиппократом и Титом Ливием. Вирус гриппа человека впервые был выделен в 1933 г. английскими вирусологами У. Смитом, К. Эндрюсом и П. Лейдлоу путем заражения хорьков носоглоточными смывами больного гриппом. Позже этот вирус был отнесен к типу А. В России вирус гриппа типа А впервые выделили А.А. Смородинцев в 1936 г. в Ленинграде и Л.А. Зильбер в Москве. В 1940 г. Т. Френсис и Т. Меджил открыли существование вирусов гриппа типа В. Позже, в 1947 г., Р. Тейлор выделил вирусы гриппа типа С.

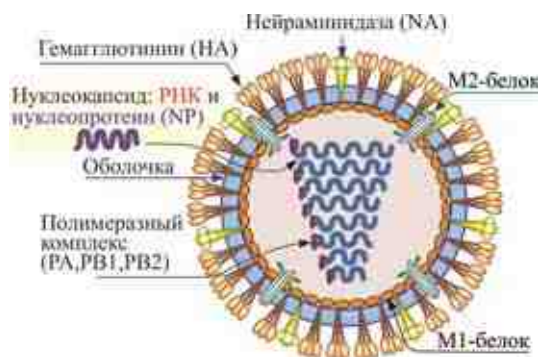


Рис. 16.7. Схема строения вируса гриппа

Морфология и состав вириона. Вирион (рис. 16.7) имеет сферическую форму (диаметр 80–120 нм), но в свежевыделенных препаратах от больного могут встречаться нитевидные формы значительной длины. В центре вири-

она расположен нуклеокапсид, имеющий спиральный тип симметрии. Геном представлен однонитевой сегментированной минус-РНК (вирусы А и В имеют 8 сегментов, вирус С — только 7), с которой связаны белки полимеразного комплекса (РВ1, РВ2, РА). Сегментированная РНК вирусов предрасположена к генетическим рекомбинациям. Капсид состоит в основном из белка — нуклеопротеина (NP). Нуклеокапсид окружен слоем матриксного белка М1 и мембранного белка М2. Высокий уровень М1-белка индуцирует при репродукции экспорт сегментов генома белком NEP (нуклеарный экспортный белок). Поверх этих структур располагается липопротеиновая оболочка, за счет которой вирусы гриппа чувствительны к эфиру. Липопротеиновая оболочка имеет клеточное происхождение. Она несет на своей поверхности гликопротеиновые шипы (длиной около 10 нм): гемагглютинин (НА) и нейраминидазу (НА). Количество гемагглютинина в 5 раз больше количества нейраминидазы. У вирусов типа С нейраминидазы нет. НА и НА кодируются вирусным геномом и в процессе репродукции вирусов встраиваются в мембрану клетки хозяина. Таким образом, выходя из клетки, вирусы покрываются оболочкой, уже содержащей НА и НА. Гемагглютинин является тримером, т.е. состоит из трех молекул белка, а нейраминидаза — тетрамером, т.е. состоит из четырех молекул белка. На поверхности обоих гликопротеинов есть специальные области для связывания с рецепторами. Гемагглютинины вируса гриппа связываются с рецепторами чувствительных клеток, а затем нейраминидаза их модифицирует и вирус проникает в клетку путем эндоцитоза. Нейраминидаза участвует также в выходе из клетки новых вирионов (препятствует агрегации вирионов). Кроме того, она снижает вязкость секретов, облегчая проникновение вируса в нижние отделы респираторного тракта. Оба гликопротеина могут быть получены в очищенном виде, что важно для производства субъединичных гриппозных вакцин, содержащих эти цельные молекулы.

Репродукция. Для вирусов гриппа специфическими рецепторами являются соединения, содержащие сиаловую кислоту. На мембране клеток — разный состав сиалоолигосахаридов и липидных компонентов. Кроме того, у молекул гемагглютинина разнообразных вирусов может быть разное строение «рецепторного кармана», который связывается с рецептором, образуя «эндоцитарную вакуоль», в результате чего вирус проходит внутрь клетки путем эндоцитоза. В клетке происходит частичная депротеинизация, и сердцевина вириона транспортируется к ядру клетки. На ядерной оболочке происходит завершение депротеинизации, т.е. удаление матриксного белка (М-белок), и в ядро проникает нуклеокапсид. В ядре клетки происходит транскрипция генов, в которой участвуют полимеразный комплекс (РА, РВ1-РВ2) и белок NP. Вирус индуцирует синтез и процессинг клеточных мРНК, от которых белок РВ2 «откусывает» кэп-структуру и прилегающие 10–13 нуклеотидов. Они и являются праймером для синтеза вирусной мРНК, которая транспортируется в цитоплазму, где и кодирует синтез соответствующего белка на рибосомах. При репликации

генома, которая идет в ядре клеток, транскрибируется вся нить сегмента РНК. Сначала образуется плюс-нить, затем на матрице образуется минус-нить дочерних РНК. Сборка нуклеокапсида происходит в ядре. Формирование вирусных частиц идет на клеточных мембранах, в которые к этому времени уже встроены гемагглютинин и нейраминидаза, а выход из клетки происходит путем «почкования».

Антигенная структура. Вирусы гриппа имеют внутренние и поверхностные антигены. Внутренние антигены представлены нуклеопротеином (NP-белком) и М-белками. Структуру этих родоспецифических антигенов определяют посредством ИФА, РСК и др. Поверхностные антигены (гемагглютинин и нейраминидаза) являются протективными. Их структуру, которая определяет подтипы и варианты вируса гриппа, исследуют в РТГА, ИФА и др. Структура поверхностных антигенов вирусов гриппа А постоянно изменяется, причем изменения HA- и NA-антигенов происходят независимо друг от друга. В настоящее время известно 15 подтипов гемагглютинина и 9 подтипов нейраминидазы, но от человека стабильно выделяются только H1, H2, H3 и N1, N2.

Необычайная изменчивость вирусов гриппа А объясняется двумя процессами, которые получили названия антигенный дрейф и антигенный шифт:

- **антигенный дрейф** — это незначительные изменения структуры поверхностных антигенов, которые происходят достаточно часто и обусловлены точечными мутациями в тех сайтах генома, которые отвечают за синтез и структуру антигенных детерминант гемагглютинина и нейраминидазы. В результате в популяции вирусов постоянно появляются новые сероварианты, которые незначительно отличаются от исходного штамма. Новые варианты обуславливают периодические эпидемии гриппа, потому что через 2–3 года циркуляции любого штамма среди людей структура поверхностных протективных антигенов настолько изменяется, что выработанный ранее иммунитет лишь частично защищает от заболевания. Так коллективный иммунитет становится фактором отбора новых антигенных вариантов;
- **антигенный шифт** (от англ. *shift* — скачок) — это значительные изменения структуры поверхностных антигенов вируса гриппа А, которые обусловлены пересортировкой и полной заменой гена, кодирующего гемагглютинин или нейраминидазу определенной разновидности. Шифт происходит редко и обычно является результатом рекомбинаций, происходящих при попадании в одну клетку двух разных подтипов вирусов. В результате шифта полностью заменяется структура антигена и образуется новый подтип вируса, который становится причиной пандемии. Считается, что источником новых подтипов могут быть вирусы гриппа животных.

Резистентность. В окружающей среде устойчивость вирусов — средняя. Вирусы гриппа чувствительны к высоким температурам (более 60 °C), УФ-облучению, жирорастворителям, но могут некоторое время сохраняться при низ-

ких температурах — в течение недели не погибают при температуре около 4 °С. Вирусы чувствительны к табельным дезинфектантам.

Эпидемиология. Грипп — антропоноз. Основной механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-капельный (при кашле, чихании, разговоре). Также возможна контактная передача (при переносе вирусов через инфицированные руки или предметы на слизистую носа или конъюнктиву). Грипп — высококонтагиозное заболевание и часто протекает в виде эпидемий и даже пандемий. Люди очень восприимчивы к вирусам гриппа. Развитие эпидемии регулируется формированием среди людей иммунной прослойки, т.е. постепенным увеличением числа переболевших и, следовательно, защищенных от данной разновидности вируса. Чаще и тяжелее болеют дети как не имеющие стойкого противогриппозного иммунитета. Но смертность выше среди взрослых, особенно из группы риска (пожилые люди, а также пациенты с ослабленной резистентностью и др.). Вспышки инфекции легко возникают в замкнутых коллективах.

Наибольшее эпидемиологическое значение имеют вирусы гриппа А, так как они поражают не только человека, но и животных (в том числе птиц) и вызывают не только эпидемии, но и пандемии с высокой смертностью. В XX в. наиболее известны три пандемии гриппа. В 1918–1920 гг. возбудителем пандемии стал вирус гриппа А (подтип H1N1). Грипп получил название «испанский». Во время этой тяжелейшей пандемии умерло более 20 млн человек. В 1957–1959 гг. возбудителем пандемии также стал вирус гриппа А (подтип H2N2). Грипп получил название «азиатский» (вирус впервые был выделен в Сингапуре). Болело 1,5–2 млрд человек. В 1968–1970 гг. пандемическим штаммом стал вирус гриппа А подтипа H3N2. Грипп получил название «гонконгский» в соответствии с местом первичного выделения вируса. Болело около 1 млрд человек. В периоды между пандемиями почти ежегодно повторяются эпидемии, вызванные вирусом гриппа А. Эпидемии гриппа В обычно происходят раз в 4–6 лет. В последние годы в эпидемиологическом процессе одновременно участвуют вирусы гриппа А (H3N2 и H1N1), а также вирус гриппа типа В. Поэтому именно такие разновидности вирусов включены в состав современных вакцин для профилактики гриппа. Однако несмотря на создание профилактических средств, грипп относят к числу неуправляемых инфекций, поэтому так важна созданная ВОЗ программа глобального эпиднадзора за гриппом, в которой участвует и Россия.

Патогенез. В основном входные ворота инфекции — это верхние дыхательные пути, но вирус может проникнуть сразу в альвеолы, что вызывает развитие первичной острой пневмонии. У пациентов из групп высокого риска именно она — частая причина смерти. Первичная репродукция вирусов происходит в клетках эпителия респираторного тракта. Инфицированные клетки начинают вырабатывать интерферон, обладающий неспецифическим противовирусным действием. Развиваются воспаление, отек, набухание базальной мембраны и происходит десквамация клеток поверхностного эпителия. Через поврежденные эпителиальные барьеры вирус гриппа А проникает в кровоток и вызывает

виремию. Всасывание продуктов распада клеток также оказывает токсическое и сенсибилизирующее действие на организм. Вирус активирует систему протеолиза и повреждает эндотелий капилляров. Это повышает проницаемость сосудов и серозных оболочек, что вызывает геморрагии и нарушение гемодинамики с расстройствами микроциркуляции. При гриппе также развивается транзиторный вторичный иммунодефицит, что предрасполагает к вторичным бактериальным инфекциям.

Клиника. *Инкубационный период* длится 1–2 дня. Клинические проявления сохраняются 3–7 дней. Реконвалесценция 7–10 дней. При гриппе А начало болезни острое, у больного обычно наблюдается интоксикация (высокая лихорадка с ознобом, суставные и мышечные боли, сильная головная боль). Вирус гриппа А — нейротропен, поэтому возможно развитие нейротоксикоза, в результате чего может наступить смерть (чаще у детей). Развивается катар верхних дыхательных путей («саднящий» сухой кашель, боли за грудиной, нарушение фонации, ринит и ринорея). Характерен геморрагический синдром — кровоизлияния в кожу, серозные и слизистые оболочки и внутренние органы, повышенная кровоточивость. Опасное осложнение — геморрагическая пневмония и отек легких. Редко и чаще у детей бывает абдоминальный синдром (боли в животе, тошнота, рвота, диарея). Осложнения при гриппе проявляются в виде бактериальной суперинфекции, обычно вызванной пневмококками или золотистым стафилококком. Грипп А также может осложняться нарушениями функций нервной, сердечно-сосудистой систем, печени и почек и др. Грипп В, как правило, протекает легче, чем грипп А, и может сопровождаться такими симптомами, как конъюнктивит, глазная боль, или фотофобия. Кроме того, вирус типа В не обладает нейротропностью. Грипп, вызванный вирусами типа С, протекает легко.

Иммунитет. Во время заболевания в противовирусном ответе участвуют факторы врожденного иммунитета, α -интерферон, специфические IgA в секретах респираторного тракта, которые обеспечивают местный иммунитет. Протективные вируснейтрализующие штаммоспецифические сывороточные антитела достигают максимального уровня через 2–3 нед. В ходе реконвалесценции важна роль клеточного иммунитета (NK-клетки и специфические цитотоксические Т-лимфоциты). Постинфекционный иммунитет достаточно длителен и прочен, но высокоспецифичен.

Микробиологическая диагностика. Диагноз «грипп» базируется на: 1) выделении и идентификации вируса; 2) определении вирусных антигенов и/или вирусной РНК в инфицированных клетках; 3) поиске вирусоспецифических антител в сыворотке больного. Материал для исследования — носоглоточное отделяемое, которое берут тампонами или отсасывают с задней стенки глотки и носа в первые три дня болезни. Иногда исследуют мазки-отпечатки со слизистой носа. Для определения антител исследуют парные сыворотки крови больного.

Экспресс-диагностика. Обнаруживают вирусные антигены в исследуемом материале посредством РИФ (прямой и непрямой варианты) и ИФА. Можно

обнаружить в материале РНК вирусов при помощи ПЦР с обратной транскрипцией.

Вирусологический метод. Культивировать вирусы гриппа можно в курином эмбрионе, в культуре клеток (первичная культура клеток почек обезьян, клетки почек собак, почек макак-резус и т.п.) и в организме лабораторных животных. Индикацию вирусов проводят в зависимости от лабораторной модели (по гибели, по клиническим и патоморфологическим изменениям, ЦПЭ, образованию «бляшек», «цветной пробе», РГА и гемадсорбции). Идентифицируют вирусы по антигенной структуре. Применяют РСК, РТГА, ИФА, РБН вирусов и др.

Серологический метод. Диагноз ставят при четырехкратном увеличении титра антител в парных сыворотках от больного, полученных с интервалом 10–14 дней. Применяют РТГА, РСК, ИФА, РН вирусов. Метод чаще используют для ретроспективной диагностики.

Лечение. В большинстве случаев течение гриппа доброкачественное и требует только симптоматического/патогенетического лечения (применяют жаропонижающие, сосудосуживающие, антигистаминные препараты, витамины, детоксикацию, иммуномодуляторы, ангиопротекторы, ингибиторы протеолиза и т.д.). Неспецифически угнетает размножение вирусов α -интерферон, препараты которого применяют интраназально. Можно применять индукторы эндогенного интерферона. Для этиотропного лечения используют различные противовирусные химиотерапевтические препараты, эффективность которых проявляется в первые 48 ч от начала заболевания. Ремантадин препятствует только репродукции вирусов гриппа А, блокируя ионные каналы белка М2 и изменение рН лизосом клетки-хозяина. Арбидол — препарат, который действует на вирусы гриппа типов А и В, нетоксичен, является иммуномодулятором и индуктором эндогенного интерферона. Ингибиторы нейраминидазы (например, озельтамивир и др.) связываются со стабильными (консервативными) участками нейраминидазы, одинаковыми у вируса гриппа всех типов. При тяжелых формах гриппа можно применять также противогриппозный донорский иммуноглобулин и нормальный иммуноглобулин человека для внутривенного введения. Если присоединяется бактериальная инфекция, назначают антибиотики.

Профилактика. Для неспецифической профилактики гриппа показаны противоэпидемические мероприятия, ограничивающие распространение вирусов гриппа аэрогенно и контактно (изоляция больных, карантин в детских коллективах и лечебных учреждениях, дезинфекция белья и посуды, ношение марлевой повязки, тщательное мытье рук). Большое значение имеет повышение общей сопротивляемости организма. Для неспецифической противовирусной профилактики применяют интраназально препараты α -интерферона и оксолина (интраназально 2 раза в день 0,25% мазь в течение 25 дней во время эпидемии гриппа). Для экстренной химиопрофилактики во время эпидемии гриппа можно применять ингибиторы нейраминидазы, а также арбидол и ремантадин (в течение не менее 2–3 нед.). Следует помнить, что действие ремантадина огра-

ничено типом вируса, а также то, что он может вызвать побочные эффекты (возбуждение ЦНС, желудочно-кишечные расстройства).

Специфическая плановая профилактика заключается в вакцинации. Вакцинирование проводят не менее чем за месяц до начала эпидемического сезона (октябрь–ноябрь). Оно рекомендовано прежде всего лицам из группы высокого риска, персоналу лечебных учреждений и т.п. Для поддержания напряженного иммунитета требуется ежегодная ревакцинация. Разработано несколько разновидностей вакцин для профилактики гриппа А и В, приготовленных на основе штаммов, прогностически актуальных в данный эпидемиологический сезон. Вакцинные штаммы обновляются раз в 2–3 года. В России разрешены к применению следующие вакцины: живые аллантоисные (интраназальная), инаktivированные цельновирионные (парентеральная-подкожная), химические (в том числе полимер-субъединичная), сплит-вакцины. Живые вакцины создают наиболее полноценный, в том числе местный, иммунитет. Однако они, а также инаktivированные цельновирионные вакцины могут вызывать аллергию у лиц с повышенной чувствительностью к куриному белку. Сплит-вакцины, т.е. высокоочищенные «расщепленные», содержат полный набор вирусных антигенов, но из них удалены липиды липопротеиновой оболочки, чтобы уменьшить пирогенный эффект. Субвирионные («химические») вакцины содержат только протективные антигены (НА и NA). Современные субъединичные вакцины нового поколения обладают также иммуномодулирующим действием за счет полимеров-адъювантов.

16.1.7. Парамиксовирусы (семейство *Paramyxoviridae*)

Парамиксовирусы (семейство *Paramyxoviridae*, от лат. *para* — около, *myxa* — слизь) — семейство сложных РНК-содержащих вирусов. Включает два подсемейства: *Paramyxovirinae*, в которое входят роды *Morbillivirus*, *Respirovirus*, *Rubulavirus*, *Avulavirus* и *Henipavirus*; *Pneumovirinae*, которое включает роды *Pneumovirus* и *Metapneumovirus* (табл. 16.2). В семейство входят респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), вирусы кори, паротита, парагриппа. Они передаются респираторным механизмом. В 1998 г. были идентифицированы зоонозные парамиксовирусы — вирусы Хендра и Нипах, вызвавшие эпидемические вспышки тяжелых энцефалитов у людей в странах Юго-Восточной Азии и Австралии. Экологически они связаны с летучими мышами, выделяющими вирус со слюной и мочой. Болеют свиньи, собаки, кошки. В 2001 г. был открыт метапневмовирус человека — один из ведущих возбудителей инфекций дыхательных путей детей первого года жизни.

Структура. Вирион парамиксовирусов имеет диаметр 150–200 нм, окружен оболочкой с гликопротеиновыми шипами. Под оболочкой находится спиральный нуклеокапсид, состоящий из линейной однонитевой минус-РНК, связанной с белками: нуклеопротеином (**N**), поддерживающим геномную структуру; большим структурным протеином **L** (транскриптазой) и фосфопротеином **P**

(компонентом полимеразного комплекса). Нуклеокапсид ассоциирован с матриксным (**М**) белком, расположенным под оболочкой вириона. Оболочка вириона содержит гликопротеиновые шипы: белок слияния (**F** — от англ. *fusion*), который вызывает слияние мембран вируса и клетки; прикрепительные белки (гемагглютинин-нейраминидаза {**HN**}, гемагглютинин {**H**} и гликопротеин {**G**}). F-белок активизируется протеолитическим расщеплением с образованием F1-, F2-гликопротеинов.

Таблица 16.2

Характеристика семейства парамиксовирусов человека

Подсемейство	Род	Представители	Свойства вирусов
<i>Paramyxovirinae</i>	<i>Avulavirus</i>	Вирус болезни Ньюкастла	Вирион содержит отрицательный РНК-геном в спиральном нуклеокапсиде, который окружен оболочкой с гликопротеиновыми шипами — F и другими (HN — вирусов парагриппа и паротита; H — вируса кори; G — РСВ). Репродукция и сборка ирионов — в цитоплазме; выход — почкованием
	<i>Henipavirus</i>	Вирусы Хендра, Нипах	
	<i>Morbillivirus</i>	Вирус кори (<i>measles virus</i>)	
	<i>Respirovirus</i>	Вирусы Сендай, парагриппа человека 1, 3	
	<i>Rubulavirus</i>	Вирус эпидемического паротита, парагриппа человека 2, 4a и 4b	
<i>Pneumovirinae</i>	<i>Pneumovirus</i>	Респираторно-синцитиальный вирус человека (РСВ)	
	<i>Metapneumovirus</i>	Метапневмовирусы человека и птиц	

Репродукция парамиксовирусов инициируется связыванием **HN**-, **H**- или **G**-белка на оболочке вириона с сиаловой кислотой на поверхности клетки. **F-белок** обеспечивает слияние оболочки вируса с плазматической мембраной клетки. 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 цитоплазме клетки хозяина. Геном транскрибируется в отдельные иРНК и полноценную плюс-матрицу для геномной РНК. Новые геномы взаимодействуют с L-, P- и N-белками, образуя нуклеокапсиды, которые связываются с М-белком и окружаются оболочкой из модифицированной плазмолеммы клетки. Вирионы выходят из клетки почкованием (см. рис. 3.9).

Резистентность. Парамиксовирусы относятся к наименее устойчивым вирусам. Они чувствительны к высокой температуре (50 °С), детергентам, дезинфицирующим веществам и другим факторам. Но отмечается большая устойчивость к низким температурам.

16.1.7.1. Вирусы парагриппа

Парагрипп — острая инфекционная болезнь, характеризующаяся преимущественным поражением верхних дыхательных путей, в основном гор-

тани, и умеренной интоксикацией; развиваются ларинготрахеобронхит и пневмония.

Таксономия. Возбудители относятся к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae*. Вирусы парагриппа человека серотипов 1 и 3 относятся к роду *Respirovirus*, а серотипов 2, 4a и 4b — 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 семь белков. Оболочка имеет гликопротеиновые шипы (гемагглютинин-нейраминидаза — HN и F). Нуклеокапсид является внутренним антигеном и ассоциирован с матриксным (М) белком. Гликопротеиновые шипы — поверхностные антигены. По антигенам вирусных белков HN, NP, F различают четыре 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 служат самой частой причиной крупы (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, появляются слабость, насморк, боль в горле, кашель, т.е. специфические симпто-

мы 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.

16.1.7.2. 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 диаметром 150 нм. Строение сходно с другими парамиксовирусами. Внутри вируса расположен нуклеопротеин **N**, а снаружи — оболочка с шипами (**HN**- и **F**-гликопротеины), между которыми расположен трансмембранный белок **SH** (Small hydrophobic protein). Нуклеокапсид ассоциирован с матричным (**M**) белком.

Вирус агглютинирует эритроциты человека, кур, морских свинок и др. Проявляет нейраминидазную и симпластообразующую активность. Существует один серотип вируса.

Культивирование вирусов производят на культуре клеток и в амниотической полости куриного эмбриона.

Резистентность. Как и другие парамиксовирусы, возбудитель паротита обладает невысокой резистентностью к факторам окружающей среды.

Эпидемиология. Эпидемический паротит — высококонтагиозная антропонозная инфекция; источник — больные люди. Возбудитель передается воздушно-

но-капельным путем, иногда — через загрязненные слюной предметы. Наиболее восприимчивы дети от 5 до 15 лет, но могут болеть и взрослые. Больной выделяет вирус в конце инкубационного периода (за 1–2 дня до клинических проявлений) и в течение первых 8 суток заболевания.

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 14–20 суток. Болезнь начинается с повышения температуры, головной боли, недомогания. Воспаляются одна или обе околоушные слюнные 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, cerebroспинальная жидкость, моча, сыворотка крови. Применяют *вирусологический метод*, заражая культуру клеток (клетки HeLa, амниотические клетки человека и др.) 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 пассивной профилактики можно использовать специфический иммуноглобулин. Для активной профилактики детям старше одного года вводят живую паротитную вакцину (в первые 6 мес. жизни у ребенка есть плацентарный иммунитет). Можно использовать также ассоциированные вакцины (против кори и паротита или против кори, паротита и краснухи).

16.1.7.3. 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* (лат. название болезни — *morbilli*). Выделен на культуре клеток в 1954 г. Дж. Эндерсом и Т. Пиблсом.

Структура и антигенные свойства. Морфология вируса типична для парамиксовирусов (рис. 16.8). Диаметр вириона 150 нм. Геном вируса — однонитчатая, нефрагментированная минус-РНК. Имеются нуклеопротеин (N); матриксный

протеин (М), а также поверхностные гликозилированные белки липопротеиновой оболочки — гемагглютинин (Н) и протеин слияния (F), гемолизин. Вирус кори обладает гемагглютинирующей и гемолитической активностью. Нейраминидаза отсутствует. Обладает общими антигенами с вирусом чумы собак и крупного рогатого скота.

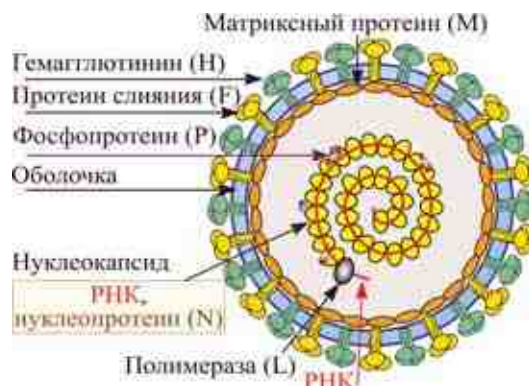


Рис. 16.8. Схема строения вируса кори

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 нестойк, 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.

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 продромальный период и в 1-й день появления сыпи. Через 5 дней после появления сыпи больной не заразен.

Патогенез. Вирус кори проникает через слизистые оболочки верхних дыхательных путей и глаз, откуда попадает в подслизистую оболочку, лимфатические узлы. После репродукции он поступает в кровь (вирусемия), репродуцируется в клетках ретикулоэндотелиальной системы и снова поступает в кровь (повторная вирусемия), что сопровождается началом клинических проявлений. Поражая эндотелий кровеносных капилляров, возбудитель обуславливает появление сыпи. Развиваются отек и некротические изменения тканей.

Клиника. После *инкубационного периода* (8–16 суток) возникают острые респираторные явления (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 беловато-серые пятна Бельского–Филатова–Коплика (диаметр около 1 мм), окруженные красным ореолом. Заболевание длится 7–9 дней. Сыпь после пигментации исчезает, не оставляя следов.

Возбудитель подавляет активность Т-лимфоцитов и иммунные реакции, что способствует появлению осложнений в виде пневмоний, воспаления среднего уха и др. Редко развиваются энцефалит и ПСПЭ.

Подострый склерозирующий панэнцефалит — 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 F-белок, отсутствует М-белок. 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 мес. 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. Маркерные гены вируса обнаруживают в ОТ-ПЦР. Для *серологической диагностики* применяют РСК, РТГА, ИФА и реакцию нейтрализации.

Лечение — иммуномодуляторы и рибавирин.

Профилактика. Активную специфическую профилактику кори проводят подкожным введением детям первого года жизни 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.

16.1.7.4. Респираторно-синцитиальный вирус

Респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус) вызывает заболевания нижних дыхательных путей у новорожденных и детей раннего возраста.

Таксономия. РС-вирус относится к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae* рода *Pneumovirus*. Он был выделен Р. Ченоком в 1957 г. от детей с пневмонией и бронхиолитом.

Структура и антигенные свойства. РС-вирус, как все парамиксовирусы, имеет одонитевую спиральную минус-РНК. Вирионы полиморфны: кроме обычной сферической формы встречаются и нитевидные. На липопротеиновой оболочке расположены гликопротеиновые шипы, отвечающие за связь с рецепторами клетки (гликопротеин **G**) и слияние с мембранами клетки (гликопротеин **F**), в результате чего образуется синцитий. Имеется также трансмембранный белок **SH** (Small hydrophobic protein). Свое название РС-вирус получил по характерному ЦПД в культуре клеток — по образованию симпластов и синцития. Гемагглютинин и нейраминидаза отсутствуют. Различают две антигенные группы — А и В.

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, чиханьи). Заболевание широко распространено (составляет 3–16% в структуре всех ОРЗ) и высококонтагиозно (у $\frac{3}{4}$ детей к трем годам обнаруживаются вируснейтрализующие антитела, главным образом секреторные IgA). Наиболее опасен РС-вирус для детей первых шести месяцев — у них развиваются тяжелые бронхиты и пневмонии. Старшие дети и взрослые болеют нетяжело.

Патогенез и клиника. Входные ворота инфекции — верхние дыхательные пути: вирусы проникают в эпителиальные клетки и размножаются, вызывая их гибель. **Инкубационный период** 3–5 суток. Сначала появляются признаки ОРЗ, а затем трахеобронхита, пневмонии. Патологический процесс быстро распространяется на нижние дыхательные пути. Развивается вторичный иммунодефицит, что приводит к вторичным бактериальным инфекциям. Кроме того, образуются иммунные комплексы, в результате чего происходят иммунопатологические реакции.

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, ОТ-ПЦР 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 обнаружение нарастания титра антител. При микроскопическом (гистологическом) исследовании в эпителии слизистой оболочки бронхов обнаруживают многоядерные клетки и синцитий.

Лечение. При РС-инфекции применяют иммуномодуляторы, рибавирин и специфический иммуноглобулин.

Специфическая профилактика отсутствует.

16.1.8. Рабдовирусы (семейство *Rhabdoviridae*)

Рабдовирусы — семейство РНК-содержащих оболочечных вирусов, включающее около 180 вирусов животных и растений, объединенных в шесть родов (в том числе род *Lyssavirus* — содержит вирус бешенства, род *Vesiculovirus* — вирус везикулярного стоматита, а род *Ephemerovirus* — вирус эфемерной лихорадки крупного рогатого скота).

Структура. Размер вирионов $120\text{--}300 \times 60\text{--}80$ нм. Вирионы имеют форму цилиндра с полукруглым и плоским концами (или с закругленными с обеих сторон концами), отсюда и название семейства — *Rhabdoviridae* (от греч. *rhabdos* — прут, палка).

Вирионы рабдовирусов состоят из двухслойной липопротеиновой оболочки и рибонуклеокапсида (нуклеопротеина) спиральной симметрии (рис. 16.9, 16.10). Оболочка изнутри выстлана М-белком (от англ. *matrix*), а снаружи от нее отходят шипы гликопротеина G ($5\text{--}10 \times 3$ нм). Рибонуклеопротеин состоит из геномной однонитевой нефрагментированной линейной минус-РНК и белков: N-белок (от англ. *nucleocapsid*), укрывающий, как чехол, геномную РНК; L-белок (от англ. *large*) и Р-белок (от англ. *phosphoprotein*), являющиеся полимеразой (транскриптазой) вируса, участвующие в репродукции (см. рис. 16.9).

16.1.8.1. Вирус бешенства

Вирус бешенства вызывает бешенство (*Rabies*, син.: водобоязнь, гидрофобия) — зоонозную инфекцию, 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 *Rhabdoviridae* роду *Lyssavirus*, включающему также другие вирусы (лиссавирус австралийских летучих мышей, лиссавирусы европейских лету-

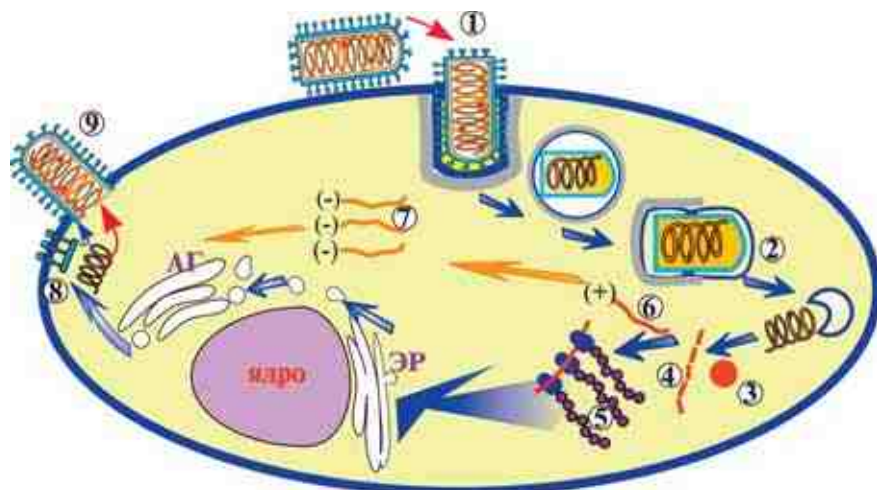


Рис. 16.9. Схема репродукции рабдовирусов.

Рабдовирусы связываются гликопротеинами оболочки с рецепторами клетки и проникают в нее путем клатриноопосредованного эндоцитоза (1). Затем формируются ранняя и поздняя эндосомы. Из последней рибонуклеокапсид попадает в цитоплазму клетки (2). Здесь с помощью вирусной 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). При трансляции иРНК (5) образующиеся белки вируса (в том числе гликопротеин G, гликозилирующийся в эндоплазматическом ретикулуме — ЭР) преобразуются в аппарате Гольджи и включаются в клеточную мембрану (8). Рибонуклеокапсид образуется путем взаимодействия геномной минус-РНК с белками N, P и L. После сборки вирионы выходят из клетки почкованием (9).

чих мышей 1-го и 2-го типа, Дувенхаге, Лагос-бат, Мокола и др.), выделенные от различных животных, насекомых в Африке и сходные с вирусом бешенства.

Структура и антигенные свойства.

Вирион размером 75–180 нм имеет форму пули (см. рис. 16.10); состоит из сердцевинки (рибонуклеокапсида спирального типа и матричного белка), окруженной липопротеиновой оболочкой с гликопротеиновыми шипами. Гликопротеин G отвечает за адсорбцию и внедрение вируса в клетку, обладает антигенными и иммуногенными свойствами. Антитела к нему нейтрализуют вирус и определяются РН. Рибонуклеокапсид состоит из геномной одонитевой линейной минус-РНК и белков: N-белка (от англ. *nucleoprotein*),

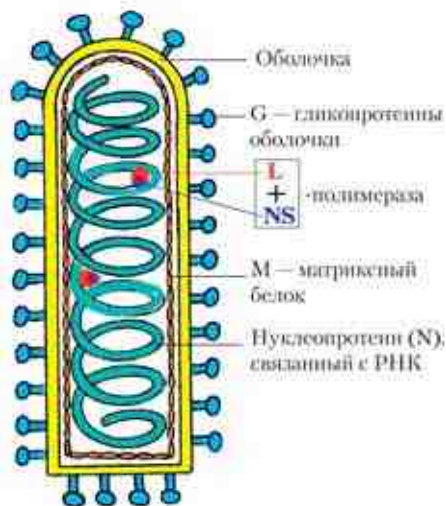


Рис. 16.10. Схема строения вируса бешенства

укрывающего, как чехол, геномную РНК; L- и Р-белка (*phosphoprotein*), являющихся полимеразой вируса. Рибонуклеокапсид — группоспецифический антиген, который выявляется в РСК, РИФ, РП.

Различают два идентичных по антигенам 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.

Культивирование. Вирус культивируют путем внутримозгового заражения лабораторных животных (кроликов, белых мышей, крыс, хомячков, морских свинок, овец и др.) и в культуре клеток почек хомячка, нейробластомы мыши, фибробластов человека, куриного эмбриона 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 рибонуклеопротеина).

Резистентность. Вирус бешенства неустойчив: быстро погибает под действием солнечных и УФ-лучей, а также при нагревании до 60 °С. Он чувствителен к дезинфицирующим веществам, жирорастворителям, пропиолактону, щелочам и протеолитическим ферментам; сохраняется при низких температурах (от –20 до –70 °С).

Эпидемиология. Заболевание распространено повсеместно, кроме некоторых островных государств, где осуществляются карантинные и профилактические мероприятия. Источники инфекции: в природных очагах (природное, дикое бешенство) — лисы, волки, енотовидные собаки, песцы, шакалы, грызуны, а также насекомоядные, плотоядные и кровососущие летучие мыши; 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, по-

сторонние 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 мес., 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 нед.). 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 день) — параличи мышц конечностей и дыхания. Реже болезнь развивается без возбуждения и водобоязни; развиваются 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. Идентифика-

цию вирусов проводят с помощью ИФА, а также в РН на мышках, используя для нейтрализации вируса антирабический иммуноглобулин.

Прижизненная диагностика основана на исследовании отпечатков роговицы, биоптатов кожи с помощью РИФ; выделении вируса из слюны, cerebro-спинальной 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-м 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 γ -лучами культуральную вакцину. Разрабатывается генно-инженерная вакцина, содержащая гликопротеин G возбудителя.

Иммунизации вакциной подлежат люди, связанные с риском заражения (собаководы, 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.

16.1.8.2. 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 *Rhabdoviridae* рода *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. Лечение симптоматическое. Специфическая профилактика не разработана.

16.1.9. Филовирусы (семейство *Filoviridae*)

Филовирусы (от лат. *filum* — нить) — семейство нитевидных РНК-содержащих вирусов, в состав которого входят роды *Marburgvirus* и *Ebolavirus*, включающие вирусы Марбург и Эбола — возбудителей африканских геморрагических лихорадок.

Структура и репродукция. Вирусы имеют вид длинных филаментов (80–1000 нм) с оболочкой и однонитевой минус-РНК, заключенной в капсид спиральной симметрии. Нуклеокапсид содержит нуклеопротеин (NP), кофактор вирусной полимеразы (VP30), фосфопротеин (VP35) и вирусную РНК-зависимую полимеразу (L-белок). На липопротеиновой оболочке имеются шипы (GP-комплекс), состоящие из гидрофильной GP1-субъединицы и трансмембранной GP2-субъединицы. Два структурных белка (VP24, VP40) расположены с внутренней стороны оболочки, выполняя роль матриксных белков. При электронной микроскопии негативно контрастированных препаратов вируса Эбола (рис. 16.11) видны нитевидные, иногда ветвящиеся вирионы, имеющие форму цифры или кольца. Репликация вирусного генома и сборка вириона происходят в цитоплазме; выход из клетки — почкованием через клеточную мембрану.

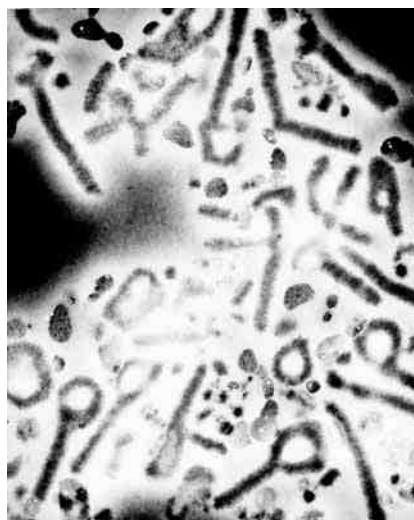


Рис. 16.11. Электронограмма вирионов вируса Эбола (негативное контрастирование)

Мишенями филовирусов являются клетки миелоидного ряда (моноциты/макрофаги, гепатоциты, дендритные клетки).

16.1.9.1. Вирусы Марбург и Эбола

Вирус Марбург вызывает геморрагическую лихорадку Марбург — тяжелое заболевание с геморрагическим синдромом и высокой летальностью. Заболевание впервые описано в Марбурге (ФРГ) у лабораторных работников, проводивших исследования на африканских зеленых мартышках. Размножается в культуре клеток, иногда не вызывая цитопатического эффекта. Резервуаром вируса являются африканские зеленые мартышки и летучие мыши. Человек высоковосприимчив к вирусу. Заражение человека происходит при контакте с кровью больных и обезьян, а также воздушно-капельным путем. Описаны отдельные вспышки болезни, а также случаи внутрилабораторных заражений. **Инкубационный период** 2–19 дней. Начало острое, с высокой температурой, нарушением самочувствия, симптомами со стороны дыхательной системы, ЖКТ, а на 5–7-е сутки появляется геморрагическая сыпь на фоне кровавой рвоты, кровавого поноса, которые могут привести к летальному исходу (50% случаев).

Клинический диагноз подтверждается вирусологическими и серологическими данными.

Вирус Эбола вызывает геморрагическую лихорадку Эбола, характеризующуюся высокой температурой, интоксикацией, диареей и геморрагическим синдромом. Различают три серотипа вируса. Вирус плохо культивируется в культурах клеток. Резервуаром вируса являются африканские обезьяны (шимпанзе, гориллы), фруктовые летучие мыши и лесные антилопы.

Источником инфекции является человек. Заражение происходит контактным и алиментарным путями, а также парентерально через кровь больного человека. **Инкубационный период** 7–14 дней. Начало острое, с высокой температурой, головными болями, болями в грудной клетке, в области живота, рвотой, диареей. Развивается геморрагический синдром (кореподобная сыпь). Летальность достигает 90%.

Микробиологическая диагностика данных инфекций основана на клинико-эпидемиологических сведениях и подтверждается вирусологическими и серологическими данными. Для определения компонентов вирусов и антител применяют ОТ-ПЦР, РИФ, ИФА и др.

Лечение — плазмой реконвалесцентов, препаратами интерферона.

Специфическая профилактика. Разработана убитая вакцина против болезней Марбург и Эбола для вакцинации медицинского персонала в очагах заболевания и работающих с филовирусами. Больные подлежат строгой изоляции с соблюдением мер профилактики внутрибольничных и внутрилабораторных заражений.

16.1.10. Коронавирусы (семейство *Coronaviridae*)

Семейство *Coronaviridae* включает роды *Coronavirus* и *Torovirus*, которые содержат вирусы, вызывающие поражения органов дыхания (в том числе SARS-

синдром, *Severe acute respiratory syndrome coronavirus*, *тяжелый острый респираторный синдром*), ЖКТ, нервной системы. На поверхности вириона расположено кольцо из специфических выступов, придающее ему характерный вид (от лат. *corona* — венец). Вирус впервые был выделен D. Tyrrell и A. H. Brown в 1965 г. от больного острым ринитом.

Структура. Вирионы диаметром 80–220 нм имеют округлую форму (рис. 16.12). Нуклеокапсид спиральной симметрии, содержит однонитевую плюс-РНК, покрыт липидной оболочкой, на которой наблюдаются булавовидные выступы в виде солнечной короны — пепломеры. С геномом вируса связан основной нуклеопротеин N, формирующий нуклеокапсидную структуру. В липопротеиновой оболочке имеется мембранный протеин М, гликопротеин S и протеин Е. У некоторых вирусов обнаруживается гемагглютининая эстераза (HE), формирующая короткие отростки на поверхности вириона.

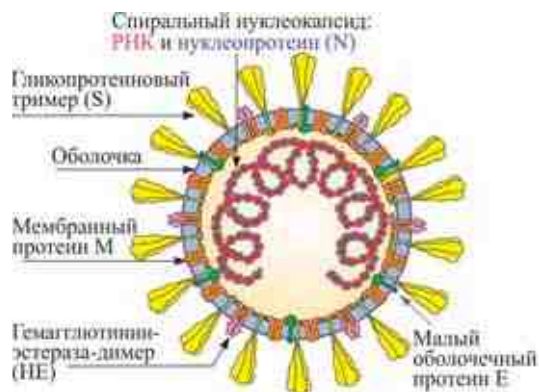


Рис. 16.12. Схема строения коронавируса

Антигенные свойства. Коронавирусы имеют сложный антигенный состав. Антигенные детерминанты располагаются на пепломерах. Гликопротеин S — сигнальный протективный антиген при SARS, является индуктором вируснейтрализующих антител. При попадании коронавирусов в организм вырабатываются агглютинирующие и преципитирующие антитела. По антигенной структуре коронавирусы, выделяемые от человека, разделены на четыре группы.

Культивирование. Коронавирусы репродуцируются в цитоплазме клеток человека и животных — их естественных хозяев. Возможно использование культур клеток эмбриона человека и первичных эпителиальных клеток. Оптимальная температура культивирования — 33–35 °С. Возбудители заболеваний птиц размножаются в куриных эмбрионах. Внутриклеточные включения не образуются.

Резистентность. Вирусы относительно устойчивы, во внешней среде сохраняются до 3 ч, в моче и фекалиях — до 2 суток. Чувствительны к нагреванию, действию жирорастворителей, детергентов, формальдегида, окислителей. При

комнатной температуре сохраняются в течение нескольких дней. Устойчивы при низких температурах, хорошо переносят лиофилизацию.

Репродукция. Коронавирусы проникают в клетку путем эндоцитоза и репродуцируются в цитоплазме. В инфицированных клетках вирусы находятся в вакуолях вблизи мембран эндоплазматического ретикулума, где осуществляется сборка вириона. Вирионы отпочковываются внутри эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи. Выход вируса из инфицированных клеток происходит путем экзоцитоза.

Эпидемиология и патогенез. Коронавирусы вызывают у человека заболевания дыхательных путей, в том числе бронхолит и пневмонию, а также диарейный синдром и, возможно, поражения нервной системы. Источником инфекции является больной человек, основной путь передачи аэрогенный. Заболевания чаще наблюдаются в зимне-весенний период.

Клиника. Инкубационный период 3–4 дня. В клетках слизистой оболочки верхних дыхательных путей происходит первичная репродукция вируса. Отмечаются насморк и чиханье, как правило, без повышения температуры. Продолжительность болезни 5–7 дней. Могут наблюдаться симптомы гастроэнтерита. В случае развития SARS повышается температура, появляются признаки поражения нижних дыхательных путей. Коронавирусная инфекция может осложняться другими заболеваниями вирусной или бактериальной этиологии.

Иммунитет. После перенесенного заболевания формируется гуморальный иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — смыв из носоглотки. В качестве экспресс-диагностики для обнаружения антигена в клетках слизистой оболочки используют РИФ. Выделение вируса затруднено, поэтому основной метод диагностики серологический (ретроспективный). С помощью РНИФ с 10-го дня от начала заболевания возможно определить нарастание титра IgG в парных сыворотках. Начиная с 3-й недели с помощью ИФА определяют IgM и IgG.

Лечение симптоматическое.

Специфическая профилактика не разработана.

16.1.11. Ретровирусы (семейство *Retroviridae*).

Вирус иммунодефицита человека

Ретровирусы — семейство *Retroviridae*, объединяющее около 150 видов однонитевых РНК-содержащих, обратнотранскрибирующихся вирусов.

Ретровирусы имеют сферическую форму, размер 80–130 нм. Вирион обладает оболочкой и нуклеокапсидной сердцевинкой. Капсид икосаэдрический. Типично 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), полимераз-

ный протеин (pol) и белки оболочки (env). Известно около 30 онкоантигенов. Семейство *Retroviridae* состоит из двух подсемейств — *Orthoretrovirinae* (роды *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus* и *Lentivirus*) и *Spumaretrovirinae* (род *Spumavirus*).

В патологии человека значение имеют ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусы Т-клеточных лейкозов — HTLV-1 и HTLV-2 (см. разд. 16.7).

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) вызывает ВИЧ-инфекцию, заканчивающуюся синдромом приобретенного иммунодефицита (СПИД). СПИД характеризуется тяжелым поражением иммунной системы, длительным течением, полиморфностью клинических симптомов, абсолютной летальностью, быстрым эпидемическим распространением. ВИЧ-инфекция — типичный антропоноз.

Таксономия. ВИЧ — лимфотропный вирус, относится к семейству *Retroviridae* роду *Lentivirus*. Выделяют два типа вируса ВИЧ-1 и ВИЧ-2, которые отличаются по структурным и антигенным характеристикам. ВИЧ-1 был открыт в 1983 г. французским ученым Л. Монтанье. ВИЧ-2 был обнаружен в 1985 г. в Западной Африке.

Структура. ВИЧ — сложноорганизованный вирус шарообразной формы диаметром 100–150 нм. Капсид имеет форму усеченного конуса (рис. 16.13), состоящего из 2000 копий белка p24. В капсиде хранятся две молекулы плюс-РНК, ферменты (обратная транскриптаза, интеграза и протеаза) и нуклеопротеины (p7, p6, p9). Он окружен матриксным белком p17. Сверху находится двухслойная липопротеиновая оболочка, пронизанная гликопротеиновыми шипами (72 шипа). Каждый шип состоит из трех молекул трансмембранного гликопротеина gp41 и поверхностного гликопротеина gp120. В состав оболочки входят мембранные белки клетки, в которой репродуцировался вирус.

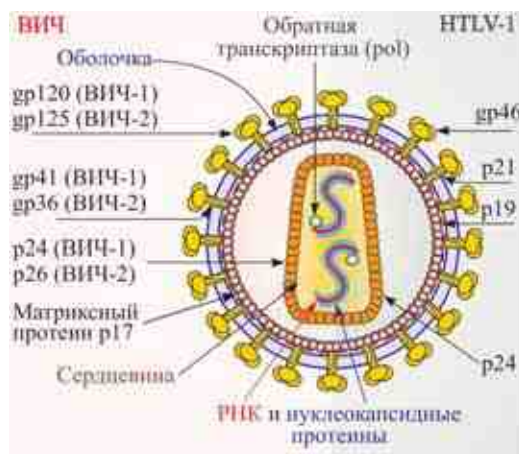


Рис. 16.13. Схема строения вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) и лимфотропного вируса Т-клеток человека HTLV-1

Геном ВИЧ представлен двумя нитями РНК и состоит из трех основных структурных генов (*gag*, *pol*, *env*) и семи регуляторных и функциональных генов (*tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr*, *vri*, *vpx*). Ген *gag* (от англ. *group antigen* — групповой антиген) кодирует матриксные, капсидные, нуклеокапсидные белки. Ген *pol* кодирует ревертазу, интегразу, РНКазу и протеазу. Ген *env* кодирует поверхностный гликопротеин gp120 и трансмембранный гликопротеин gp41. Функциональные гены выполняют регуляторные функции и обеспечивают осуществление процессов репродукции и участие вируса в инфекционном процессе.

Антигенные свойства. Антитела вырабатываются на все белки, продукты генов *env*, *gag*, *pol*, но наиболее значимый иммунный ответ вызывают группоспецифический антиген р24 и поверхностные гликопротеины gp160, gp120, gp41. Помимо антигенной специфичности gp41 обеспечивает слияние вирусной оболочки с клеточной мембраной. Поверхностный gp120 содержит участок, ответственный за прикрепление вируса к клеточному рецептору CD4 и корецепторам. Он несет главную антигенную детерминанту, на которую вырабатываются антитела. Участок гена *env*, кодирующий gp120, обладает повышенной мутабельностью, поэтому в каждом цикле репликации образуются новые варианты gp120.

Разновидности ВИЧ. На основе последовательности в *env*-гене ВИЧ-1 подразделяется на три группы (М, N, О). О и N характерны для Западной Африки. М является доминирующей группой, которая подразделяется на 10 субтипов (А-К), имеющих различное географическое распространение. В России превалирует субтип А.

ВИЧ-1 и ВИЧ-2 различаются по строению генома и антигенным характеристикам. В частности, геномы ВИЧ-2 и ВИЧ-1 отличаются структурой гена *env* и заменой гена *vri* на *vpx*. ВИЧ-2 вместо белков ВИЧ-1 (gp120, gp41, gp160, p24) содержит белки gp140, gp105, gp36, p26.

Культивирование. Вирус культивируется только в специальных культурах клеток.

Резистентность. ВИЧ погибает при использовании всех известных дезинфицирующих средств, под влиянием солнечных лучей, УФ-излучения, 70% этилового спирта. Нагревание до 56 °С резко снижает инфекционность вируса, а при нагревании до 70 °С вирус инактивируется через 10 мин. Вирус жизнеспособен в течение нескольких лет в замороженной сыворотке крови и сперме. В высушенной плазме крови при температуре 23–27 °С вирусная активность сохраняется 7 дней.

Эпидемиология. Эпидемией ВИЧ-инфекции в той или иной степени охвачены все континенты. Эпицентром эпидемии ВИЧ-1 является Восточная Африка, а ВИЧ-2 преимущественно распространен в Западной Африке. По данным ВОЗ, на конец 2007 г. в мире проживало более 40 млн человек, зараженных ВИЧ, а более 3 млн умерли от этой инфекции. Эпидемия ВИЧ в РФ продолжает развиваться. Среди ВИЧ-инфицированных в РФ 50% в возрасте 15–24 года. К кон-

цу 2007 г. число зараженных превысило 400 тыс. человек. Продолжает расти число ВИЧ-инфицированных и в развитых странах (США, Западная Европа, Канада, Австралия). Отчасти это связано с широким применением антиретровирусной терапии, которая продлевает жизнь ВИЧ-инфицированным, отчасти за счет появления новых случаев инфекции. Прежде всего из-за небезопасного секса между мужчинами (44%), незащищенных гетеросексуальных отношений (34%) и внутривенного применения наркотиков (17%).

Основные способы передачи ВИЧ-инфекции характерны для всех парентеральных инфекций и включают: гетеро- и гомосексуальные контакты, переливание крови и кровепродуктов, внутривенное употребление наркотиков, пересадку органов и тканей, вертикальную передачу (от матери к ребенку во время беременности, родов, кормления грудью), профессиональные заражения (укол или порез инфицированными инструментами).

Репликация. ВИЧ инфицирует клетки, несущие на своей поверхности CD4-рецептор и хемокиновые рецепторы (CCR5 и CXCR4). Этими рецепторами обладают Т-хелперы, макрофаги, фолликулярные дендритные клетки, клетки островков Лангерганса, клетки микроглии мозга.

Вначале вирус связывается с CD4-рецептором. Связывание с хемокиновыми рецепторами необходимо для слияния вириона с клеточной мембраной, обеспечивающего проникновение вируса в клетку. Взаимодействие с корецепторами приводит к конформационным изменениям в gp41, запуская слияние мембран.

Жизненный цикл ВИЧ состоит из четырех стадий:

- 1) адсорбция и проникновение вируса в клетку путем эндоцитоза;
- 2) высвобождение вирусной РНК, синтез ДНК провируса и интеграция его в геном клетки-хозяина;
- 3) синтез РНК вируса, трансляция и формирование вирусных белков;
- 4) сборка, созревание и высвобождение из клетки путем почкования вновь сформированных вирионов.

Полный жизненный цикл вируса реализуется за 1–2 суток, причем за это время формируется более одного миллиарда вирусных частиц.

Патогенез. В результате взаимодействия с ВИЧ гибнут Th-лимфоциты, клетки нейроглии мозга. В-лимфоциты подвержены неспецифической поликлональной активации. При этом снижается число CD4-лимфоцитов, а также соотношение CD4/CD8. Моноциты, макрофаги, клетки островков Лангерганса, дендритные клетки в результате взаимодействия с ВИЧ не деградируют, действуя как резервуар инфекции для заражения других клеток путем межклеточного слияния, позволяя вирусу распространяться, избегая нейтрализующего действия антител.

Дендритные клетки — первые, с кем ВИЧ встречается при половой передаче. На их поверхности помимо CCR5-корецептора и CD4 имеется лектиновый рецептор, который способен связываться с gp120. В результате этого связывания ВИЧ не проникает внутрь дендритной клетки, а остается в инфекционной фор-

ме. Таким образом, дендритные внутриэпителиальные клетки и клетки, локализованные в слизистой оболочке, присоединяют вирус при его передаче половым путем и доставляют в инфекционной форме в лимфатический узел, передавая его Th-лимфоцитам путем межклеточного синапса, поэтому они играют важную роль в передаче вируса Т-хелперам при половых контактах. Инфицированные макрофаги служат передатчиками вируса в головной мозг, взаимодействуя с эндотелием гематоэнцефалического барьера.

Поражение иммунных клеток приводит к развитию иммунодефицитов и проявлению вторичных заболеваний инфекционной и неинфекционной природы, а также к возникновению злокачественных опухолей.

Иммунитет. Первые недели после инфицирования представляют собой период «серонегативного окна», когда антитела к ВИЧ не выявляются. Но в этот период уже через 1–2 нед. после заражения в крови методом ИФА выявляется р24, который определяется до 8-й недели после заражения, затем его содержание резко снижается. При ВИЧ-инфекции отмечается второй подъем содержания в крови белка р24. Он приходится на период формирования СПИД. Продолжительность периода «серонегативного окна» у большинства пациентов 3 мес., но может достигать и 6–10 мес.

Исчезновение в крови р24 и появление специфических антител к белкам ВИЧ знаменует наступление сероконверсии. Однажды появившись, антитела к gp120 и gp41 остаются в организме постоянно, а антитела к р24 падают. Их падение совпадает с переходом инфекционного процесса в стадию СПИДа. Но несмотря на появление антител, уровень их нейтрализующей активности низкий в связи с появлением квазивидов вируса, вследствие чего происходит ускользание ВИЧ от иммунного ответа. **Защитный иммунитет при ВИЧ-инфекции не формируется.**

Клиника. Клиническая классификация ВИЧ-инфекции (по В.И. Покровскому) включает следующие стадии:

- 1) инкубационный период (от момента заражения до клинических проявлений острой инфекции и/или выработки антител) колеблется от 3 нед. до 3 мес.;
- 2) стадия первичных проявлений продолжительностью около года с момента появления симптомов острой инфекции или сероконверсии;
- 3) субклиническая стадия, характеризующаяся медленным развитием иммунодефицита, длительностью 6–7 лет;
- 4) стадия вторичных заболеваний, связанная со значительным иммунодефицитом и заканчивающаяся через 10–12 лет после начала заболевания;
- 5) терминальная стадия, проявляющаяся необратимым течением вторичных заболеваний (СПИД).

Основные проявления ВИЧ-инфекции и СПИДа связаны с развитием вторичных заболеваний, к которым относятся оппортунистические инфекции (пневмоцистная пневмония, токсоплазмоз, криптоспоририоз, кандидоз, гисто-

плазмоз, герпес-вирусная инфекция, гепатиты В и С, туберкулез, микобактериоз, сальмонеллез), опухоли (саркома Капоши, злокачественная лимфома), неврологические нарушения.

Микробиологическая диагностика. Первичная постановка диагноза проводится серологическим методом. При этом стандартной процедурой является обнаружение антител и р24-антигена ВИЧ методом ИФА, с последующим отдельным подтверждением наличия антител в реакции иммуноблоттинга. Диагноз ставится на основе подтверждения иммуноблоттингом наличия в сыворотке антител к двум вирусным белкам из группы *env* с наличием или отсутствием белков — продуктов других генов (*gag* и *pol*). В связи с изменчивостью ВИЧ при первичной постановке диагноза ПЦР не используется и по результатам ПЦР диагноз не ставится. ПЦР широко применяется после установления диагноза для оценки вирусной нагрузки в целях определения прогноза и тяжести ВИЧ-инфекции, а также для определения подтипов вируса и формирования резистентности к препаратам противовирусной терапии.

Помимо специфических методов диагностики применяют иммунологические методы, позволяющие определить количество Т-лимфоцитов: CD4 и CD8. Уменьшение количества CD4 до 500 клеток/мкл говорит об иммуносупрессии.

Лечение. Основой лечения больных ВИЧ-инфекцией является **антиретровирусная терапия** с использованием препаратов, подавляющих репликацию вируса. Для лечения ВИЧ-инфекции используют пять групп антиретровирусных препаратов: 1) нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (*азидотимидин*); 2) ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (*невирапин*); 3) ингибиторы протеазы (*индинавир*); 4) ингибиторы интегразы (*ралтегравир*); 5) ингибиторы слияния вирусной и клеточной мембран: блокатор хемокинового рецептора CCR5 (*маривирок*), блокатор gp41 (*энфувиртид*). Целью антиретровирусной терапии служит снижение количества вируса в организме. Полного излечения все эти препараты не дают, но часто позволяют продлить жизнь больных ВИЧ-инфекцией. К сожалению, при лечении противовирусными препаратами часто возникают устойчивые варианты вируса, что делает лечение малоэффективным. Наилучший эффект лечения достигается при использовании комбинации препаратов. Такая комбинированная терапия называется *высокоактивной антиретровирусной терапией*, поскольку при ее использовании у большинства пациентов уровень РНК ВИЧ снижался ниже порога определения тест-системой. Одновременно проводится лекарственная терапия, направленная на предупреждение и лечение оппортунистических инфекций.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Все попытки создать эффективную вакцину потерпели неудачу. Однако и в России и за рубежом проводятся интенсивные исследования по созданию таких препаратов.

Профилактика ВИЧ-инфекции сводится к социальным и противоэпидемическим мероприятиям, а именно, к пропаганде безопасного секса с использова-

нием презервативов, использованию одноразовых шприцев и других медицинских инструментов, контролю крови и кровепродуктов, созданию банков крови и др. Важное значение имеет своевременное выявление ВИЧ-инфицированных, борьба с проституцией, наркоманией, распущенностью, а также половое воспитание и просветительская работа среди населения. В России действует закон, предусматривающий уголовную ответственность за заведомую постановку другого лица в опасность заражения ВИЧ или умышленное заражение ВИЧ.

16.1.12. Аренавирусы (семейство *Arenaviridae*)

Аренавирусы — РНК-содержащие оболочечные вирусы семейства *Arenaviridae* (от греч. *arenosa* — песчаный, поскольку вирусы включают клеточные рибосомы, похожие на песчинки при электронной микроскопии). Семейство представлено родом *Arenavirus*, в который входят вирус лимфоцитарного хориоменингита, а также вирусы, вызывающие тяжелые геморрагические лихорадки: вирусы Ласса, Хунин, Мачупо, Гуанарито, Сабиа (табл. 16.3).

Таблица 16.3

Характеристика семейства *Arenaviridae*

Род	Представители	Свойства вирусов
<i>Arenavirus</i>	Вирусы лимфоцитарного хориоменингита, Ласса. Вирусы комплекса Такарибе, включая вирусы Хунин, Мачупо, Гуанарито, Сабиа	Вирусы полиморфные (50–300 нм), имеют оболочку, однонитевую минус-РНК из двух сегментов. Симметрия капсида спиральная. Содержат транскриптазу. Репродукция — в цитоплазме

Структура и репродукция. Вирион сферической или овальной формы (диаметром 60–300 нм) имеет оболочку с булавоподобными гликопротеиновыми шипами GP1 и GP2. Под оболочкой расположены 12–15 клеточных рибосом, похожих на песчинки, что отражено в названии семейства (рис. 16.14). Капсид спиральный. Геном представлен двумя сегментами (L, S) однонитевой амбиполярной РНК, которая кодирует пять белков, в частности L-, Z- (матриксный белок), N-, G-белки. Вирион содержит L-белок (РНК-полимеразу). Вирус репродуцируется в цитоплазме и выходит из клетки почкованием через ее плазматическую мембрану.

Резистентность. Аренавирусы чувствительны к действию детергентов, УФ-, γ -излучению и к нагреванию. Устойчивы к замораживанию и лиофилизации.

Культивирование. Аренавирусы культивируют в курином эмбрионе, в организме грызунов и на культуре клеток почек зеленых мартышек.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Аренавирусы распространяются с выделениями грызунов (моча, кал, слюна), загрязняющих продукты питания, воду и воздух. Люди заражаются алиментарным путем или аэрогенным механизмом, реже контактным путем. **Инкубационный период** составляет 1–2 нед.

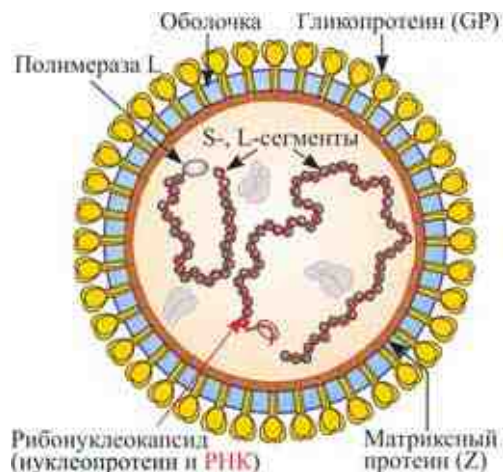


Рис. 16.14. Схема строения аренавируса

Возможна передача вируса через плаценту. Вирусы, попав в кишечный или респираторный тракты, размножаются в регионарных лимфатических узлах. Они распространяются в ретикулоэндотелиальной системе и циркулируют в крови. В результате взаимодействия цитотоксических Т-лимфоцитов с вирусинфицированными клетками происходит разрушение тканей. 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 протекают в виде гриппоподобных проявлений или более тяжело — с развитием лихорадки, сыпи, отеков, острого асептического менингита, геморрагических изменений, пневмонии, почечной недостаточности. После перенесенного заболевания обычно формируется длительный иммунитет.

Микробиологическая диагностика аренавирусных инфекций. Вирусы выделяют (из крови, отделяемого глотки, из плевральной, цереброспинальной жидкости, мочи) путем заражения культуры клеток или мышей-сосунков, хомячков. Вирусы идентифицируют в РСК, РН, РИФ, ИФА; применяют ПЦР. Антитела в сыворотке крови выявляют с помощью РСК, ИФА, непрямой РИФ.

Лечение и профилактика. В начальном периоде возможно применение лечебных специфических иммунных сывороток или плазмы крови реконвалесцентов. Для специфической профилактики разрабатываются живые вакцины. Неспецифическая профилактика предусматривает борьбу с грызунами, проведение карантинных мероприятий.

Вирусы лимфоцитарного хориоменингита, Ласса и другие аренавирусы
Вирус лимфоцитарного хориоменингита вызывает заболевание в виде гриппоподобного синдрома или тяжелых форм с развитием серозного менинги-

та или менингоэнцефалита с лейко- и тромбоцитопенией. Вирус распространяется с выделениями домашних мышей или от содержащихся в неволе сирийских хомяков, загрязняющих продукты питания, воду и воздух. Лимфоцитарный хориоменингит отмечается в Европе и Америке, чаще возникая в зимне-весенний период.

Вирус Ласса вызывает геморрагическую лихорадку Ласса, сопровождающуюся интоксикацией, лихорадкой, поражением ЦНС и геморрагическими высыпаниями. У больных появляются рвота, диарея, боли в животе и груди и кашель, макулопапулезная и петехиальная сыпь на коже лица, туловища, конечностей; отмечаются кровохарканье и кишечные кровотечения. Первая вспышка была выявлена в 1969 г. в г. Ласса (Нигерия), в связи с чем болезнь и получила название. Вирус передается от домашних многососковых крыс (*Mastomys natalensis*) или от человека к человеку. Заболевание отмечается в странах Западной и Центральной Африки. Заражение человека в природных очагах происходит респираторным, алиментарным, контактно-бытовым и парентеральными способами. **Инкубационный период** в среднем 7–10 дней. Болезнь характеризуется высокой летальностью (20–47% у нелеченых больных).

Вирусы Хунин и Мачupo вызывают американские геморрагические лихорадки: вирус Хунин — возбудитель аргентинской геморрагической лихорадки; вирус Мачupo — возбудитель боливийской геморрагической лихорадки. Резервуаром этих вирусов в Южной Америке являются грызуны.

Вирус Гуанарито вызывает венесуэльскую геморрагическую лихорадку, сопровождающуюся токсикозом, гриппоподобными явлениями, диареей. Резервуар вируса — хлопковые крысы и другие дикие грызуны.

Вирус Сабиа выделен в 1993 г в Бразилии. Вызывает бразильскую геморрагическую лихорадку. Возможно, резервуаром инфекции являются грызуны.

16.1.13. Калицивирусы (семейство *Caliciviridae*)

Калицивирусы (*Caliciviridae*) — семейство РНК-содержащих безоболочечных вирусов с икосаэдрическим капсидом, имеющим чашеобразные углубления (от лат. *calix* — чаша). В семейство входят пять родов, в том числе род *Norovirus* (содержит вирусы гастроэнтерита группы Норфолк — *Norwalk virus*) и род *Sapovirus* с вирусом Саппоро, вызывающим диарею и рвоту. Различают пять генотипов норовируса. Норовирус вызывает гастроэнтерит с некротическими поражениями эпителиоцитов тонкой кишки, болями в животе и диареей. Он служит основной причиной небактериальных гастроэнтеритов детей после 4 лет и взрослых.

Структура. Вирион безоболочечный, имеет икосаэдрический капсид с 32 чашеобразными углублениями (ямками). Форма — сферическая (диаметр 38–40 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, однонитчатая плюс-РНК. С РНК ковалентно связан небольшой полипептид (VPg).

Репродукция и сборка вирионов — в цитоплазме. Выход вирионов — прилизисе 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.

16.1.14. Вирус гепатита E (семейство *Hepeviridae*)

Вирус гепатита E (HEV) вызывает гепатит E — острое инфекционное заболевание с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя и преимущественным поражением печени.

Таксономия. Возбудитель относится к семейству *Hepeviridae* роду *Hepevirus*. Он впервые был открыт советским ученым академиком М.С. Балаяном и соавт. в 1983 г. в опытах самозаражения экстрактами фекалий 9 больных гепатитом ни А, ни В.

Структура. Вирин безоболочечный, сферический, диаметр 27–34 нм. Капсид икосаэдрический (рис. 16.15). Геном — однонитевая плюс-РНК, которая кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу, папаинподобную протеазу и трансмембранный белок, обеспечивающий внедрение вируса в клетку.

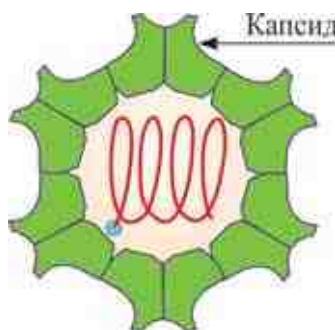


Рис. 16.15. Строение вируса гепатита E

Эпидемиология, клиника. Заболевание особенно распространено в странах Средней Азии. Источник инфекции — больные люди. Основной путь передачи — водный. **Инкубационный период** длится от 2 до 6 нед. Заболевание сопровождается умеренным поражением печени, интоксикацией и реже желтухой. Прогноз благоприятный, кроме беременных, у которых заболевание может привести к летальному исходу на фоне геморрагического синдрома и острой почечной недостаточности. В настоящее время показано, что вирус поражает диких и домашних животных (свиней, крупный рогатый скот, птиц и др.) и может передаваться от них человеку.

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 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.

16.2. ДНК-содержащие вирусы

16.2.1. Парвовирусы (семейство *Parvoviridae*)

Семейство *Parvoviridae* (от лат. *parvus* — маленький) — семейство мелких безоболочечных ДНК-содержащих вирусов, состоящее из двух подсемейств *Parvovirinae* и *Densovirinae*. Вирусы, патогенные для позвоночных, входят в подсемейство *Parvovirinae*, которое включает роды *Erythrovirus*, *Parvovirus*, *Dependovirus*, *Amdovirus* и *Bocavirus* (табл. 16.4). Наиболее патогенный представитель — парвовирус человека В19 (возбудитель инфекционной эритемы).

Таблица 16.4

Характеристика семейства *Parvoviridae*

Род	Представители	Свойства вирусов
<i>Erythrovirus</i>	Парвовирус человека В19 (ВВ19)	Вирион имеет форму икосаэдра (18–26 нм в диаметре). Оболочки нет. Капсид икосаэдрический, содержит три белка и заключает линейную однонитевую ДНК
<i>Parvovirus</i>	Вирусы грызунов и др.	
<i>Dependovirus</i>	Аденоассоциированный вирус (сателлитный вирус) людей (типы 1–5), обезьян, коров, собак	
<i>Amdovirus</i>	Вирус алеутской болезни	
<i>Bocavirus</i>	Бокавирус человека, бычий парвовирус	

Структура парвовирусов (рис. 16.16). Парвовирусы необычайно маленькие (диаметр 18–26 нм), безоболочечные. 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. Поглощенный парвовирус поставляет геном в ядро клетки, где однонитевая ДНК преобразуется в двунитевую ДНК кле-

точными 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.

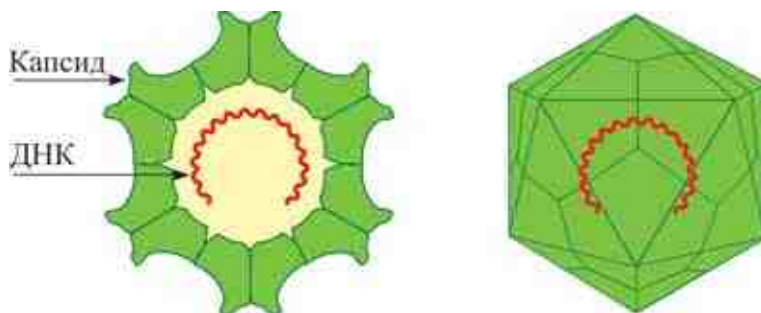


Рис. 16.16. Строение парвовируса

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 парвовирусов

Парвовирус человека B19 — возбудитель *инфекционной эритемы* (другое название — *синдром пощечины, или пятая болезнь*), сопровождающейся эритематозными, пятнисто-папулезными высыпаниями. Передается воздушно-капельным путем. Чаще болеют дети 4–11 лет, у которых развиваются лихорадка, острый ринит, тошота и диарея, а через 2–5 суток — сыпь на щеках («пощечина»), распространяющаяся на конечности и туловище. Вирус инфицирует клетки-предшественники эритроидного ряда, поражает эритробласты и ретикулоциты, вызывает анемию и острый полиартрит. Он может оказывать эмбриопатическое действие, приводить к аборту. У взрослых парвовирус B19 вызывает артрит. Антитела к вирусу выявляются у 50–70% населения.

Аденоассоциированные вирусы не могут самостоятельно размножаться. Они являются дефектными и репродуцируются при наличии аденовируса-«помощника».

Бокавирус человека (*human Bocavirus, hBoV*) описан в 2005 г. в Швеции. Впервые он был выделен и идентифицирован от младенцев и детей с острыми респираторными заболеваниями. Инфекция распространена в большинстве стран мира.

Микробиологическая диагностика. *Вирусологический метод:* вирусы выделяют на быстрорастущих культурах клеток и идентифицируют их при электронной микроскопии, РИФ или с помощью молекулярных зондов. *Сероло-*

гический метод: антитела в сыворотке больных выявляют в ИФА, РСК, РН. *Молекулярно-генетический метод*: ДНК вируса определяют с помощью ПЦР.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана.

16.2.2. Папилломавирусы (семейство *Papillomaviridae*)

Папилломавирусы составляют семейство *Papillomaviridae*, которое включает 16 родов.

Описано около 200 папилломавирусов. Их классифицируют на слизистые и кожные типы. Вирусы передаются при контактах через микротравмы кожи и слизистых оболочек (контакт вируса с базальными клетками эпителия), а также половым путем. Папилломавирусы человека (ПВЧ) инфицируют и размножаются в коже и слизистых оболочках, вызывая доброкачественные кожные, генитальные, оральные и конъюнктивальные папилломы; индуцируют пролиферацию эпителия, обладают онкогенным потенциалом. К кожным типам относят ПВЧ-1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 27, 57, 60. С папилломавирусами, особенно ПВЧ-5 и ПВЧ-8, тесно связано развитие немеланомных разновидностей рака кожи. Различают низкоонкогенные папилломавирусы, вызывающие бородавки, которые не малигнизируются, и высокоонкогенные: генитальные высокоонкогенные типы, способные вызывать рак шейки матки, — ПВЧ-16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 58; генитальные типы с низким уровнем риска малигнизации — ПВЧ-6, 11 — вызывают генитальные бородавки. В очагах плоскоклеточного рака кожи во многих случаях выявляются ПВЧ 5-го, 8-го и 16-го типов. ПВЧ становятся причиной различных видов бородавок (вульгарные, плоские, подошвенные, аногенитальные и др.).

Вульгарные (обыкновенные) бородавки вызывают некоторые кожные типы ПВЧ, например ПВЧ-1, 2, 4, 7. Они часто находятся на руках и ногах; имеют вид цветной капусты.

Подошвенные бородавки находятся на подошвах ног. Они плотные, растут внутрь, могут вызывать жгучую боль.

Плоские бородавки обычно вызываются ПВЧ-3 и 10, поражают кисти рук, лицо или лоб. Подобно вульгарным бородавкам, плоские бородавки поражают в основном детей.

Аногенитальные бородавки могут вызывать ПВЧ-6 и 11. Генитальные бородавки ассоциируются с ПВЧ-1, 2, 6, 10, 11, 16, 18, 31, 32, 34. Они расположены на половых органах и в области ануса; влажные, имеют вид цветной капусты. Большинство обычных и плоских бородавок подвергаются спонтанному регрессу в течение 2 лет.

Структура. Вирион папилломавируса оболочки не имеет (рис. 16.17). Капсид икосаэдрический (размер 52–55 нм); состоит из двух капсидных белков (L1 и L2), формирующих 72 пентамера. Геном — двунитевая циркулярная ДНК; имеет в зависимости от вируса восемь ранних (*early*) генов (E1–E8) и два позд-

них (*late*), или структурных (капсидных), гена (L1, L2). Гены E6 и E7 всегда выявляются в опухолевых клетках, зараженных ПВЧ. ДНК вирусов связана с гистоновым клеточным белком.

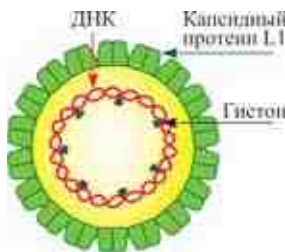


Рис. 16.17. Схема строения папилломавируса

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. Природа 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 генитальных бородавок в области влагалища, матки, наружного отверстия уретры. У мужчин развиваются поражения головки полового члена, крайней плоти, мошонки и ануса. 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 и ПЦР.

Лечение. Этиотропная терапия не разработана. Лечение направлено на удаление экзофитных папиллом с применением хирургических и деструктивных

методов (криодеструкция, кератолитики, лазеротерапия и др.). В качестве иммуномодуляторов применяют крем имиквимод, интерфероны. Возможно само-разрушение генитальных кондилом.

Специфическая профилактика. Разработана вакцина, включающая смесь структурных белков ПВЧ-6, 11, 16 и 18 (без ДНК) этиологических агентов рака шейки матки. Рекомендуется проводить вакцинацию детей (девочек и мальчиков) в возрасте от 9 до 17 лет и молодых женщин (18–26 лет).

16.2.3. Полиомавирусы (семейство *Polyomaviridae*)

Полиомавирусы, ранее входившие в семейство *Papovaviridae*, 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. JC-вирус может разрушать олигодендриты ЦНС. **Вирус обезьян** (*Simian virus, SV-40*, или **ОВ-40**) — прототип полиомавирусов марышек и макак. Для человека непатогенен.

Структура и репродукция. Вирионы полиомавирусов — безоболочечные. Полиомавирусы имеют меньший размер (диаметр 45 нм), чем папилломавирусы. 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, как правило, интегрирован в геном трансформируемой клетки.

Микробиологическая диагностика. Вирусы вызывают цитопатический эффект (ЦПЭ), вакуолизируют цитоплазму (ОВ-40) культур клеток почек зеленой марышки или плода человека, обладают бляшкообразующими свойствами. Они дифференцируются с помощью РН. Антитела образуются в низком титре.

16.2.4. Аденовирусы (семейство *Adenoviridae*)

Семейство *Adenoviridae* включает пять родов: *Mastadenivirus* (вирусы млекопитающих), *Aviadenovirus* (вирусы птиц), *Atadenovirus* (геном этих вирусов обогащен А-Т-парами), *Siadenovirus* (содержит ген сиалидазы) и *Ichtadenovirus* (вирусы рыб). Медицинское значение имеет только род *Mastadenivirus*.

Впервые ДНК-геномные аденовирусы выделили в 1953 г. У. Роу и соавт. из тканей миндалин и аденоидов детей. В дальнейшем оказалось, что аденовиру-

сы можно выделить из тканей лимфоглоточного кольца Пирогова–Вальдейера и из фекалий здорового человека. Известно более 100 серотипов, из которых около 50 патогенны для людей. Наиболее типично субклиническое и инapparантное течение аденовирусной инфекции, связанное с поражением респираторной, гастроинтестинальной и зрительной систем. Некоторые типы аденовирусов вызывают онкогенную трансформацию (опухоли грызунов).

Структура. Вирион аденовирусов имеет форму икосаэдра (диаметр 90 нм). Оболочки нет. Капсид включает двунитевую линейную ДНК, связанную с белками. Капсид состоит из различных капсомеров: гексонов и пентонов (12 пентонов) на вершине икосаэдра с соседними частицами — перипентонными гексонами. Пентон состоит из пяти белковых молекул. От каждого пентона отходит гликопротеиновая нить (фибрилла), которая является прикрепительным белком и гемагглютинином. Аденовирусы человека делят на шесть групп (А–F).

Репродукция. Аденовирусы прикрепляются к рецепторам поверхности клетки с помощью гликопротеиновых фибрилл. Вирус проникает в клетку клатринопосредованным эндоцитозом. Депротеинизация вирионов начинается в цитоплазме и заканчивается в ядре клетки. Репликация вирусной ДНК происходит в ядре клетки. Белки капсида образуются в цитоплазме и затем транспортируются в ядро, где собираются вирионы. Вирус выходит из клетки в результате ее дегенерации и лизиса. Возможна латентная инфекция (в лимфоидных клетках).

Эпидемиология. Источником инфекции являются больные люди с острой или латентной формой заболевания. Чаще болеют дети до 14 лет. Механизмы распространения — респираторный и контактный. Кишечные аденовирусы имеют фекально-оральный механизм передачи. Заболеваемость характеризуется осенне-зимней сезонностью. Отмечаются вспышки и спорадическая заболеваемость.

В окружающей среде аденовирусы более устойчивы, чем большинство других вирусов человека. Они инактивируются при 56 °С в течение 30 мин; сохраняют активность в течение 7 сут при 36–37 °С, сохраняются при лиофилизации; устойчивы при pH 5,0–9,0.

Патогенез. Инкубационный период составляет 4–5 суток. 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 возникает короткая вирусемия. По типу поражений клеток различают продуктивную, персистирующую или трансформирующую инфекцию:

- продуктивная инфекция сопровождается гибелью клетки после выхода из нее до 1 млн вирионов (у некоторых хозяев наблюдается низкий выход вирионов — низкопродуктивная инфекция, либо abortивная инфекция);
- персистирующая инфекция (протекающая хронически, бессимптомно) возможна при замедленной скорости репродукции вируса, что позволяет клеткам исправлять повреждения, наносимые вирусом;

- трансформирующая инфекция возникает при заражении аденовирусами человека новорожденных мышей, крыс, хомяков; у них возникают опухоли.

Клиника. Аденовирусы — одни из возбудителей ОРВИ (серотипы 4, 7, 14, 21). У детей раннего возраста развиваются фарингоконъюнктивиты. Возможно тяжелое воспаление роговицы с потерей зрения. У детей младшего возраста могут развиваться гастроэнтериты. В закрытых организованных коллективах (школьники, военнослужащие) возможны эпидемические вспышки с тяжелыми осложнениями (пневмония, энцефалит). К редким аденовирусным инфекциям относятся менингоэнцефалиты и геморрагические циститы.

Иммунитет — типоспецифический, клеточно-гуморальный.

Микробиологическая диагностика. В зависимости от клинической формы болезни исследуют отделяемое носоглотки, зева, конъюнктивы и фекалии. Возможно выделение аденовирусов на культуре эпителиальных клеток человека (ЦПД, внутриядерные включения) и идентификация с помощью РИФ, ИФА, РСК, РН. *Серологический метод:* с помощью РСК, РН, РНГА определяют нарастание титра антител в сыворотке крови. *Молекулярно-генетический метод:* ДНК вируса выявляют с помощью ПЦР.

Лечение и профилактика. Лечение симптоматическое, возможно применение рибавирина, интерферона и его индукторов. Разработаны пероральные живые тривалентные вакцины (из штаммов серотипов 3, 4 и 7), которые назначаются по эпидпоказаниям.

16.2.5. Гепаднавирусы (семейство *Hepadnaviridae*, вирус гепатита В)

Гепаднавирусы (семейство *Hepadnaviridae*) относятся к обратнотранскрибирующим 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* рода *Orthohepadnavirus*. Впервые был обнаружен под электронным микроскопом в 1970 г. Дейном, получив название «частица Дейна».

Структура. ВГВ — сложноорганизованный ДНК-содержащий вирус сферической формы (диаметр 42–47 нм). Он состоит из сердцевины диаметром 28 нм (построенной по икосаэдрическому типу симметрии, состоящей из 180 белко-

вых частиц, составляющих сердцевинный HBs-антиген) и липопротеиновой 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 $1,6 \times 10^6$ Да, у которой плюс-цепь укорочена на $\frac{1}{3}$ длины. Полноценная минус-цепь ковалентно связана с ДНК-полимеразой, которая достраивает плюс-цепь до полноценной структуры. Геном записан на минус-цепи и состоит из четырех генов-транскриптов (P, C, S, X), кодирующих структурные белки и полимеразу.

Антигенные свойства. В липопротеиновой оболочке вируса находится **HBs-антиген**, который локализован в гидрофильном слое на поверхности вириона. В формировании HBs-антигена участвуют три полипептида в гликозилированной форме: **preS1** — большой полипептид; **preS2** — средний полипептид; **S** — малый мажорный полипептид.

Белки оболочки различаются по антигенной специфичности. Существует четыре 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, которые неинфекционны, но высокоиммуногенны и стимулируют образование анти-HBs-нейтрализующих антител. Впервые HBs-антиген был обнаружен и описан в 1963 г. Б. Блумбергом 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 HBs-антигена. Появление HBe-антигена в крови связано с репликацией вируса в гепатоцитах. **HBx-антиген** — трансактиватор — еще один антиген ВГВ, накопление которого связывается с развитием первичного рака печени.

Культуральные свойства. ВГВ не культивируется на куриных эмбрионах, не обладает гемолитической и гемагглютинирующей активностью. Он 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 и орангутанг, которые используются в качестве экспериментальной модели.

Резистентность. ВГВ отличается высокой устойчивостью к факторам окружающей среды и дезинфицирующим веществам. Температуру -20°C выдерживает более 10 лет. При нагревании до 100°C 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 (рН 2,3), УФ-излучению, действию спирта, фенола. Чувствителен к действию формалина, эфира, хлорамина.

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 служат также больные острой и хронической формами гепатита В. Особенно опасны лица с НВе-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 инфицированных лиц находится во всех биологических жидкостях: крови, слюне, моче, сперме, влагалищном секрете, синовиальной жидкости, цереброспинальной жидкости, грудном молоке.

Патогенез и клиника заболевания. Инкубационный период 3–6 мес. 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 preS2-антигене ВГВ, так и на гепатоцитах. После проникновения вируса в гепатоцит вирусный нуклеокапсид достигает ядра, где высвобождается вирусный геном. 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 вирусоносительством, показателем которого служит 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 характеризуется активным инфекционным процессом в виде острого или хронического гепатита, маркером которых служит появление в крови анти-НВс-IgM-антител. Репликация ВГВ протекает в цитоплазме. 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 синтезирует на матрице прегеномной РНК полноценную минус-цепь вирусной ДНК. Последняя в дальнейшем служит матрицей для синтеза $2/3$ плюс-цепи ДНК. Маркер репликации вируса — появление в крови НВе-антигена. Особенностью продуктивной вирусной инфекции при гепатите В считается то, что ВГВ сам не обладает цитолитическим эффектом и не разрушает гепатоцит. Повреждение опосредуется $CD8^+$ Т-лимфоцитами, которые узнают инфицированные клетки по накопившимся на поверхности гепатоцита вирусным олигопептидам, принадлежащим НВс-антигену, локализованным рядом с молекулами главного комплекса гистосовместимости 1-го класса, и лизируют их. Лизис клеток провоцирует клеточное воспаление и вызывает острый гепатит. 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 у детей первого года жизни (50–90% случаев), заразившихся от матерей.

Иммунитет. Гуморальный иммунитет, представленный антителами к НВс-антигену, защищает гепатоциты от вируса, элиминируя его из крови. Клеточный иммунитет, в формировании которого основная роль принадлежит НВс-антигену, освобождает организм от инфицированных гепатоцитов благодаря цитолитической функции цитотоксических ($CD8^+$) Т-лимфоцитов. Выделяемые этими лимфоцитами цитокины угнетают репликацию вируса. Переход острой формы в хроническую обеспечивается нарушением Т-клеточного иммунитета, а также дефектами образования α -интерферона и IL-1. Сероконверсия, характеризующаяся исчезновением из крови НВе-антигена и появлением антител к нему, имеет положительное прогностическое значение, так как коррелирует с активацией Т-клеточного ($CD4^+$) иммунного ответа. У лиц с хроническим персистирующим гепатитом В отсутствует выраженный Т-клеточный ($CD4^+$) иммунный ответ.

Микробиологическая диагностика. Используют *серологический метод* и ПЦР. Методами ИФА и РНГА в крови определяют маркеры гепатита В: антигены (НВс и НВе) и антитела (анти-НВс-IgM, анти-НВс-IgG, анти-НВс, анти-НВе-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 антител. В период реконвалесценции — анти-HBe-IgM, анти-HBc-IgG, анти-HBs антител.

Лечение. Используют препараты интерферона, интерферогены и ингибиторы ДНК-полимеразы.

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 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) обязательным использованием персоналом перчаток при работе с кровью. Группу высокого риска заражения гепатитом В составляют хирурги, гинекологи, акушеры, стоматологи, манипуляционные сестры, сотрудники отделений переливания крови, гемодиализа, сотрудники лабораторий и лица, занятые в производстве иммунобиологических препаратов из донорской и плацентарной крови.

Для предотвращения передачи гепатита В половым путем принимают 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 ч жизни, далее — по календарю прививок. Среди взрослого населения трехкратной вакцинации подвергаются лица, относящиеся к группе высокого риска заражения гепатитом В. Длительность поствакцинального иммунитета — не менее 7 лет.

16.2.6. Герпес-вирусы (семейство *Herpesviridae*)

Герпес-вирусы (*Herpesviridae* от греч. *herpes* — ползучий) — семейство крупных оболочечных ДНК-содержащих вирусов, вызывающих поражения ЦНС, кожи, слизистых оболочек и внутренних органов (табл. 16.5). Различают восемь вирусов герпеса, патогенных для человека:

- 1) вирус простого герпеса — **ВПГ тип 1** (*Herpes simplex virus* тип 1 — **HSV-1**), или герпес-вирус человека ГВЧ-1;
- 2) вирус простого герпеса — **ВПГ тип 2** (*Herpes simplex virus* тип 2 — **HSV-2**), или герпес-вирус человека ГВЧ-2;
- 3) вирус ветряной оспы — опоясывающего герпеса (*Varicella-zoster virus* — **VZV**), или герпес-вирус человека ГВЧ-3;

- 4) вирус Эпштейна–Барр — **ВЭБ** (*Epstein–Barr virus*, EBV), или герпес-вирус человека ГВЧ-4;
- 5) цитомегаловирус — **ЦМВ**, или герпес-вирус человека ГВЧ-5;
- 6) герпес-вирус человека тип 6 — **ГВЧ-6** (*Human herpesvirus* — HHV6), или герпес вирус человека ГВЧ-6;
- 7) герпес-вирус человека тип 7 — **ГВЧ-7** (*Human herpesvirus* — HHV7);
- 8) герпес-вирус человека тип 8 — **ГВЧ-8** (*Human herpesvirus* — HHV8).

Семейство *Herpesviridae* включает три подсемейства, отличающихся по структуре генома, тканевому тропизму, цитопатологии и локализации латентной инфекции (см. табл. 16.5).

Таблица 16.5

Герпес-вирусы человека (ГВЧ) и заболевания, вызываемые ими

Подсемей- ство	Название вируса (обще- принятое и официальное)		Локализация резервуаров	Заболевание
<i>Alphaherpes- virinae</i>	<i>Herpes simplex</i> тип 1 (вирус простого гер- песа)	ГВЧ-1	Ганглии тройнично- го нерва	Оральный герпес, офталь- могерпес, энцефалит
	<i>Herpes simplex</i> тип 2 (вирус простого гер- песа)	ГВЧ-2	Ганглии крестцо- во-подвздошного сочленения	Генитальный герпес, менин- гоэнцефалит
	<i>Varicella-zoster virus</i> (вирус ветряной оспы — опоясываю- щего герпеса)	ГВЧ-3	Спинномозговые ко- решки	Ветряная оспа, опоясываю- щий герпес (лишай)
<i>Betaherpes- virinae</i>	Цитомегаловирус	ГВЧ-5	Лейкоциты; эпите- лиоциты околоуш- ных слюнных желез, шейки матки, почеч- ных канальцев	Цитомегалия, поражения ЦНС, ретинит, пневмония, гепатит, генерализованная форма
	<i>Herpes lymphotropic virus</i>	ГВЧ-6	Моноциты, макро- фаги	Внезапная экзантема мла- дenceв, синдром хрониче- ской усталости
	Герпес-вирус чело- века тип 7	ГВЧ-7	Т-лимфоциты	
<i>Gamma- herpesvirinae</i>	Вирус Эпштейна– Барр	ГВЧ-4	В-лимфоциты, эпи- телиоциты носо- глотки	Инфекционный мононукле- оз, лимфома Беркитта, назо- фарингеальная карцинома, В-клеточная лимфома
	Герпес-вирус чело- века тип 8	ГВЧ-8	Лимфоциты	Саркома Капоши

1. Подсемейство *Alphaherpesvirinae* включает вирусы герпеса (**ВПГ-1, ВПГ-2, VZV**), для которых характерен быстрый рост. Они размножаются

в эпителиальных клетках, вызывая цитолитическое действие. В нейронах служат причиной латентной, персистирующей инфекции.

2. Подсемейство *Betaherpesvirinae* включает вирусы герпеса (ЦМВ, ГВЧ-6, ГВЧ-7), для которых характерен медленный рост (латентная инфекция) в клетках эпителия слюнных желез, в glandах, почках, лимфоцитах. Они оказывают цитомегалическое (ЦМВ) и лимфопролиферативное действие.

3. 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.

Структура. Вирион герпес-вируса (рис. 16.18) имеет овальную форму, диаметр 150–200 нм. ДНК вируса окружена 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 четырех изомеров; у VZV — также из двух фрагментов (короткого S и длинного L), но содержит один набор инвертированных повторов, поэтому формируются две изомерные формы.

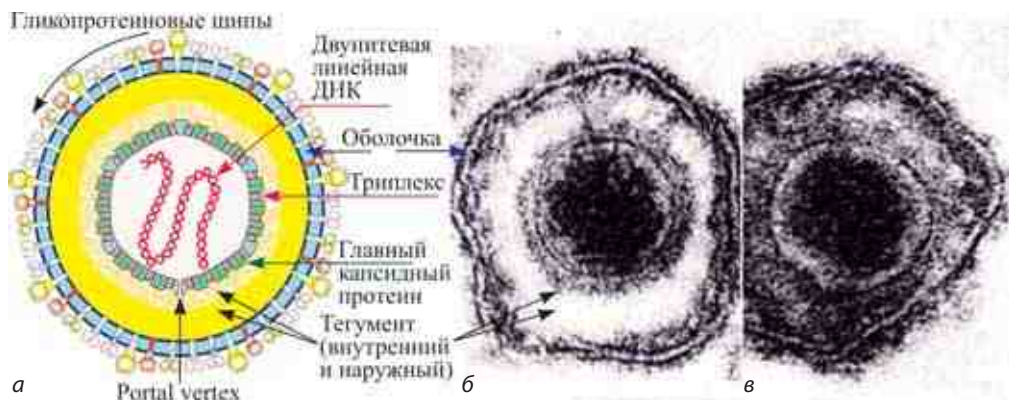


Рис. 16.18. Строение герпес-вируса (а) и электронограммы ультратонких срезов вируса простого герпеса (б) и вируса Эпштейн–Барр (в)

Репродукция (рис. 16.19). После прикрепления к рецепторам клетки оболочка вириона сливается с клеточной мембраной (1, 2). Освободившийся нуклеокапсид (3) доставляет (впрыскивает) в ядро клетки ДНК вируса. Далее происходит транскрипция части вирусного генома (с помощью клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы); образовавшиеся иРНК (4) прони-

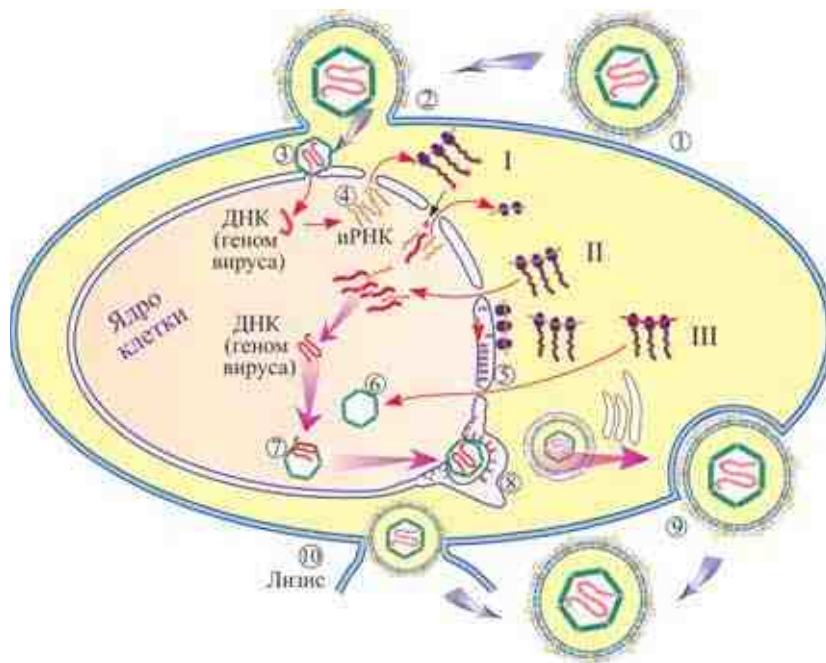


Рис. 16.19. Схема репродукции герпес-вирусов

кают в цитоплазму, где синтезируются (трансляция) самые ранние **альфа-белки (I)** с регулирующей активностью. Затем синтезируются ранние **бета-белки (II)**, 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). 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).

16.2.6.1. Вирус простого герпеса

Вирус простого герпеса (ВПГ) вызывает герпетическую инфекцию, или простой герпес (*herpes simplex*), характеризующийся везикулезными высыпаниями на коже, слизистых оболочках, поражением ЦНС и внутренних органов, а также пожизненным носительством (*персистенцией*) и рецидивами болезни.

Различают **ВПГ 1-го и 2-го типа**, которые распространены повсеместно, поражают большую часть населения Земли и существуют 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 сходна с другими герпес-вирусами. 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 и gL), белками слияния (gB), структурными белками, иммунными белками «уклонения» (gC, gE, gI) и др. Например, СЗ-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 и ВПГ-2.

Репродукция и культивирование. ВПГ может инфицировать большинство типов клеток человека и клеток других видов. Он вызывает литические инфекции фибробластов, эпителиальных клеток и латентные инфекции нейронов.

Для культивирования вируса применяют куриный эмбрион (на хорион-аллантоисной 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 секретами слизистых оболочек, со спермой), 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. Обычно появляются везикулы с дегенерацией эпителиальных клеток. Основу везикулы составляют многоядерные клетки (иногда называемые Тцанк-клетками), выявляемые в препаратах, окрашенных по Гим-

зе. 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. Репликация 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.

Латентная инфекция чувствительных нейронов — характерная особенность нейротропных герпес-вирусов 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 герпес-вирусов 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 герпес-вирусов проходит по аксону обратно к нервному окончанию, где и может происходить развитие инфекции с репродукцией вируса в эпителиальных клетках.

Клиника. Инкубационный период длится 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 уrogenитальные 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. Основная мера предупреждения заболевания неонатальным герпесом — 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 (CD4), активирующие В-лимфоциты с последующей продукцией специфических антител.

Гликопротеины вызывают образование вируснейтрализующих антител, которые 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, цереброспинальную 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, Нер-2, человеческие эмбриональные фибробласты. Рост в культуре клеток идет 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 инаktivированной культуральной герпетической вакцины из штаммов ВПГ-1 и ВПГ-2.

16.2.6.2. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса

Вирус вызывает две болезни (ветряную оспу и опоясывающий лишай). **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 1911 г., относится к семейству *Herpesviridae* рода *Varicellovirus*.

Структура. Строение VZV и других герпес-вирусов сходно. Однако он имеет самый малый геном среди герпес-вирусов.

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 меньше типов клеток, чем ВПГ. Для животных непатогенен.

Резистентность. Вирус неустойчив в окружающей среде, чувствителен к жиро-растворителям и дезинфицирующим средствам; при 60 °C 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. Он 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 папулезно-везикулярной 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 развиваться 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.

16.2.6.3. Вирус Эпштейна–Барр

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 вирусный капсидный антиген (VCA); ядерные антигены — nuclear antigens (EBNAs) 1, 2, 3A, 3B, 3C; 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), иммортализации (EBNA-2) и других целей. LMPs — мембранные белки с онкогеноподобным действием.

Эпидемиология. Заболевание малоконтагиозно. Источником инфекции являются больной человек или вирусоноситель. Вирус передается воздушно-капельным путем, при контакте через слюну. Антитела к вирусу имеются у большинства населения.

Патогенез и клиника. ВЭБ взаимодействует с молекулой CD21 В-лимфоцита и, проникнув в клетку, вызывает размножение В-лимфоцитов, персистирует в них; обуславливает латентную инфекцию в лимфоидной ткани, эпителиальных клетках рта и глотки, слюнных желез. Особенно много инфицированных В-лимфоцитов находится в небных миндалинах. ВЭБ вызывает бессимптомную, хроническую или острую инфекцию, а также лимфопролиферативные болезни. При реконвалесценции он несколько месяцев выделяется со слизистых оболочек рта и носоглотки.

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. Возможна также *X-связанная лимфопролиферативная болезнь*. 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 ВИЧ-инфекцией.

Африканская лимфома Беркитта (эндемическая лимфома) ассоциирована с малярией в Африке. Большой процент с лимфомой Ходжкина также содержит 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 лим-

фоцитов, опухолевые клетки носоглоточной карциномы имеют эпителиальное начало.

4. *Волосистая оральная лейкоплакия* — характерное для СПИДа поражение слизистой оболочки рта.

Иммунитет клеточный (действие $CD8^+$ цитотоксических лимфоцитов) и гуморальный, обусловленный действием антител на вирионы. 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 определяется по различным показателям: появление IgM-антител к вирусному капсидному антигену (VCA); повышение титра EBNA и др. Затем при развитии клинических признаков появляются IgG-антитела к VCA.

Лечение и специфическая профилактика не разработаны.

16.2.6.4. Вирус цитомегалии

Вирус цитомегалии, или **цитомегаловирус** — **ЦМВ** (от греч. *cytos* — клетка, *megas* — большой), вызывает инфекцию человека, характеризующуюся поражением многих органов и тканей и протекающую разнообразно — от пожизненной латентной инфекции 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 ДНК-геном среди герпес-вирусов. 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 СПИДом. 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. Вирус обладает выраженным тропизмом к эпителию слюнных желез и канальцев почек, где происходит его репродукция. Выделение вируса из организма происходит со слюной и мочой. 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. Цитомегаловирусная инфекция может осложнять течение ряда сопутствующих заболеваний, в том числе способствовать развитию синдрома Гийена–Барре в виде парезов и параличей конечностей в результате демиелинизирующего поражения нервных корешков.

Наибольшую опасность представляет *врожденная ЦМВ-инфекция*. Около 1% новорожденных инфицируются через плаценту. У них развиваются гепатоспленоmegалия, желтуха, поражения органов зрения, 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 вируснейтрализующие 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 (25–40 мкм) и внутриядерными включениями в виде «глаза совы» (окраска гематоксилином и эозином). Вирус выделяют в культуре клеток. Идентификацию проводят с помощью ПЦР, а также в РИФ и ИФА с использованием моноклональных антител. Антитела (IgM, IgG) к вирусу в сыворотке крови больных определяют посредством 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).

16.2.6.5. Герпес-вирус человека типа 6, 7 и 8 (ГВЧ-6, ГВЧ-7, ГВЧ-8)

ГВЧ-6 и ГВЧ-7 — лимфотропные вирусы; относятся к роду *Roseolovirus*. Они инфицируют Т-лимфоциты.

ГВЧ-6 (*Herpes lymphotropic virus*) 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 — *exanthema subitum* у младенцев в возрасте от 6 мес. до 3 лет жизни или *roseola infantum* 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. Вирус может вызывать такие же процессы, как и ГВЧ-6, но менее выраженные.

ГВЧ-8. В 1994 г. при изучении ткани от эпидемических форм саркомы Капоши у больных СПИДом были идентифицированы ДНК-последовательности нового герпес-вируса человека, получившего название ГВЧ-8, или герпес-вирус, ассоциированный с саркомой Капоши. Обладает нейроинвазивными свойствами, определяясь в дорсальных спинальных ганглиях у больных саркомой Капоши и в цереброспинальной жидкости у ВИЧ-инфицированных лиц. Лабораторная диагностика — ПЦР.

Микробиологическая диагностика. ГВЧ-6 или ГВЧ-7 выделяют при совместном культивировании лимфоцитов периферийной крови с митогенактивированными лимфоцитами. В культуре образуются большие многоядерные клетки. Вирионы можно выделить из слюны. Обнаружение с помощью ИФА в сыворотке крови IgM-антител является признаком острой инфекции. Определяют маркерные гены возбудителей в ПЦР.

Лечение. Для лечения применяют аналоги нуклеозидов (ганцикловир, фоскарнет и др.), иммуномодуляторы (интерфероны).

16.2.7. Поксвирусы (семейство *Poxviridae*)

Поксвирусы (*Poxviridae* от англ. *pox* — оспа + вирусы) — семейство крупных ДНК-содержащих вирусов, включающее два подсемейства: *Chordopoxvirinae* — вирусы оспы позвоночных (табл. 16.6), *Entomopoxvirinae* — вирусы оспы насекомых. Семейство содержит вирусы натуральной оспы, вакцины, оспы обезьян и др.

Таблица 16.6

Характеристика подсемейства *Chordopoxvirinae*

Род	Представители	Свойства вирусов
<i>Orthopoxvirus</i>	Вирусы вакцины, натуральной оспы, оспы коров, оспы обезьян, верблюдов, мышей и др.	Поксвирусы — самые крупные вирусы (230×400 нм); имеют овоидную форму; состоят из оболочки, наружной мембраны и сердцевины (ДНК и белки), расположенной между боковыми телами. Геном вириона — двунитевая линейная ДНК. Репродукция происходит в цитоплазме (включения Гварниери). Вирионы почкуются через плазматическую мембрану и выходят при лизисе клетки
<i>Parapoxvirus</i>	Вирусы Орф, папулезного стоматита коров, паравакцины (псевдокорьевей оспы) и др.	
<i>Avipoxvirus</i>	Вирус оспы кур	
<i>Carpipoxvirus</i>	Вирусы оспы овец, оспы коз	
<i>Leporipoxvirus</i>	Вирусы миксомы, фибромы кроликов и белок	
<i>Suipoxvirus</i>	Вирус оспы свиней	
<i>Molluscipoxvirus</i>	Вирус контагиозного моллюска	
<i>Yatapoxvirus</i>	Яба-вирус опухоли обезьян. Тапапоксвирусы человека, обезьян	

16.2.7.1. Вирус натуральной оспы; семейство *Poxviridae*

Натуральная оспа — особо опасная высококонтагиозная инфекция, характеризующаяся тяжелым течением, лихорадкой и обильной пустулезно-папулезной сыпью на коже и слизистых оболочках. Болезнь до ликвидации на земном шаре (в 1977 г.) относилась к карантинным инфекциям.

Таксономия. Вирус натуральной оспы — ДНК-содержащий, относится к семейству *Poxviridae* (от англ. *pox* — язва) роду *Orthopoxvirus*.

Структура и антигенные свойства. Вирионы поксвирусов (рис. 16.20) имеют кирпичеобразную или овоидную форму (230 × 400 нм). Вирус натуральной оспы — один из самых крупных вирусов, впервые обнаружен в световом микроскопе Е. Пашеном (1906 г.). Вирионы видны при специальных методах окраски в виде так называемых элементарных телец Пашена (окраска серебрением по Морозову). Поверхность вириона состоит из нитевидных, овоидных элементов. Оболочка и наружная мембрана вириона заключают сердцевину (ДНК и белки)

и мембрану сердцевины. Сердцевина имеет гантелевидную форму; она находится между двумя боковыми телами. Геном вириона — двунитевая линейная ДНК с ковалентно замкнутыми концами (шпильки или теломеры). Вирусы имеют более 30 структурных белков. Наружная мембрана собирается вокруг сердцевинны в цитоплазме, а оболочка приобретает при выходе из клетки. Ортопоксвирусы синтезируют невирионный гемагглютинин.

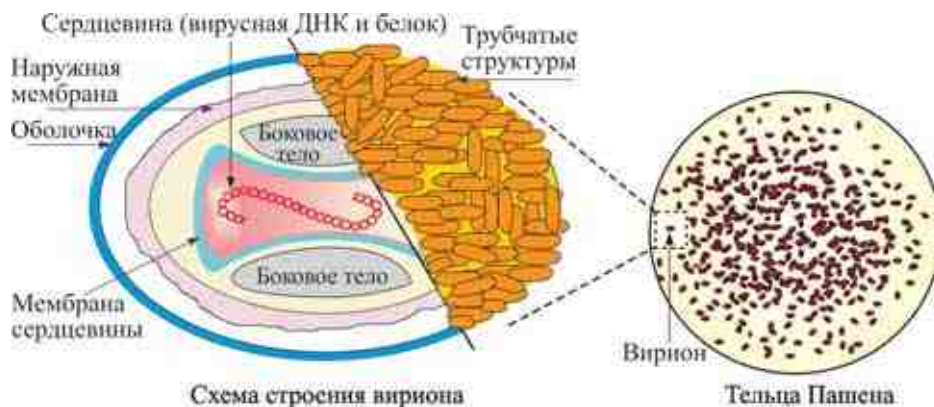


Рис. 16.20. Схема строения ортопоксвируса и тельца Пашена

Антигены — нуклеопротеиновый, растворимые и гемагглютинин; имеются общие антигены с вирусом вакцины.

Репродукция. Вирион проникает в клетку с помощью фагоцитарной вакуоли. В вакуоле наружная мембрана вириона удаляется. Затем с помощью ферментов вируса происходит транскрипция ранних генов. Образуются иРНК, кодирующие ранние ферменты: «раздевающий белок», удаляющий мембрану сердцевинны и освобождающий вирусную ДНК в цитоплазму; вирусная ДНК-полимераза, реплицирующая геном.

В результате поздней транскрипции ДНК и белки вируса собираются в сердцевину с сердцевинной мембраной. Образующиеся вирионы покрываются модифицированными мембранами аппарата Гольджи. Наружная мембрана окутывает сердцевину, латеральные тела и ферменты; вирионы почкуются через плазматическую мембрану и выходят при лизисе клетки. Репродукция поксвирусов уникальна для ДНК-содержащих вирусов, поскольку весь цикл происходит в цитоплазме, где образуются включения Гварниери. В результате поксвирусы должны кодировать ферменты для синтеза информационной (иРНК) и ДНК, тогда как другие ДНК-вирусы получают их от клетки хозяина.

Культивирование. Вирус натуральной оспы размножается в куриных эмбрионах с образованием белых «бляшек» на хорион-аллантоисной оболочке; в культуре клеток. В цитоплазме инфицированных клеток формируются околядерные включения (тельца Гварниери), которые впервые описал в 1892 г. Г. Гварниери, выявив их на срезах рога зараженного вирусом кролика.

Резистентность. Вирус устойчив к высушиванию и низким температурам, нечувствителен к эфиру; длительно сохраняется в корочках оспенных пустул. Моментально погибает при 100 °С, а при 60 °С — через 15 мин; при обработке хлорамином погибает через несколько часов.

Восприимчивость животных. Для большинства животных вирус натуральной оспы малопатогенен. Клиническую картину можно воспроизвести у обезьян.

Эпидемиология. Натуральная оспа известна с древних времен. До глобальной ликвидации она была широко распространена в странах Азии, Африки, Южной Америки (XVI в. и позже) и Европы (VI в. и далее). В отдельные годы смертность от оспы достигала 2 млн человек. В связи с высокой контагиозностью, тяжестью течения и большой летальностью болезнь относится к особо опасным конвенционным (карантинным) инфекциям. Источником инфекции является больной человек, который заразен с последних дней инкубационного периода и до отпадения корок высыпаний (около 3 нед.). Инфицирование происходит воздушно-капельным, воздушно-пылевым, а также контактно-бытовыми путями при соприкосновении с вещами больного, загрязненными слюной, гноем, корочками с пораженных наружных покровов, калом и мочой, содержащими вирус.

В 1958 г. ВОЗ по предложению СССР разработала программу ликвидации оспы в мире, что было успешно реализовано в 1977 г. в результате глобальной противооспенной вакцинации населения. Для осуществления программы СССР безвозмездно передал ВОЗ свыше 1,5 млрд доз оспенной вакцины. Большая роль в ликвидации оспы принадлежит отечественным ученым В.М. Жданову, С.С. Маренниковой и О.Г. Анджапаридзе. Последний случай заболевания был в 1977 г. в Сомали; в 1978 г. в Бирмингеме было два случая лабораторного заражения оспой. Возбудитель натуральной оспы по решению ВОЗ хранится в специальных лабораториях США и России.

Патогенез. Вирус натуральной оспы проникает через слизистые оболочки верхних дыхательных путей, реже — через кожу и после размножения в регионарных лимфатических узлах попадает в кровь. Из крови возбудитель заносится в кожу и лимфоидные ткани, в которых происходит дальнейшее размножение вирусов, формируются очаги поражения в коже (дерматотропные свойства), слизистых оболочках и паренхиматозных органах. Характерно образование папулезных, а затем везикуло-пустулезных высыпаний.

Клиника. *Инкубационный период* 7–17 дней. Заболевание проявляется высокой температурой тела, рвотой, головной и поясничной болями, сыпью. Первоначально сыпь имеет вид розовых пятен, которые затем переходят сначала в узелки — папулы размером с горошину, а затем — в пузырьки (везикулы) и пустулы (гнойнички), подсыхающие и превращающиеся в корки. После отпадения корок на коже остаются рубцы (рябины), особенно заметные на лице.

Различают несколько форм оспы: тяжелую (пустулезно-геморрагическая, или черная оспа, сливная оспа) со 100% летальностью; среднетяжелую (рассеянная оспа); легкую (вариолоид, оспа без сыпи, оспа без повышения температуры тела).

Иммунитет. После перенесенной болезни формируется стойкий пожизненный иммунитет, обусловленный появлением вируснейтрализующих антител, интерферонов и активацией факторов клеточного иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Работу проводят по правилам для особо опасных инфекций. Исследуют содержимое элементов сыпи, отделяемое носоглотки, кровь, пораженные органы и ткани. Вирус выявляют при электронной микроскопии, в РИФ, РП, по образованию телец Гварниери. Выделяют вирус путем заражения куриных эмбрионов и культур клеток с последующей идентификацией посредством реакции нейтрализации (на куриных эмбрионах), РСК, РТГА. *Серологическую диагностику* проводят с помощью РТГА, РСК, РПГА, реакции нейтрализации.

Лечение симптоматическое, а также индукторами интерферона и противовирусными препаратами.

Специфическая профилактика. Прочный иммунитет создает живая оспенная вакцина. Ее готовят из соскобов сыпи телят или при культивировании вируса вакцины (осповакцины) на куриных эмбрионах. Вакцину вводят скарификационным способом или подкожно с помощью безыгольного инъектора. Разработана оральная таблетированная вакцина, не уступающая по эффективности подкожной, но менее реактогенная (А.А. Воробьев и соавт.). В связи с ликвидацией оспы обязательная ранее вакцинация отменена с 1980 г.

16.2.7.2. Другие поксвирусы, поражающие человека

Вирус вакцины использовался в качестве живой вакцины при осуществлении программы ликвидации оспы на Земле. Происхождение его 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 оспоподобные локальные поражения, иногда — генерализованную папулезную сыпь.

Вирус контагиозного моллюска вызывает контагиозный моллюск — образование эритематозных узелков, превращающихся в жемчужно-розовые папулы диаметром 1–5 мм. При надавливании из папул выделяется сыровидная масса. Возбудитель передается контактно через микротравмы кожи и слизистых оболочек. Очаги поражения могут распространяться в результате самозаражения. Поражает детей и взрослых: кожу туловища, подмышечной и подколенной ямки, области бедра и гениталий. К поражению моллюском склонны участки с активным дерматитом.

Танапоксвирусы 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-папулез-

ной сыпью. Вирус выделен в 1958 г. от больных обезьян, а в 1970 г. — от больного ребенка. В основном вирус поражает белок, дикобразов и грызунов в Африке. Заболевание встречается в Африке у жителей деревень, контактирующих с животными.

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.

Разновидность этого вируса в 2003 г. была завезена в США не с обезьянами, а с популярными экзотическими животными — гамбийскими крысами и с так называемыми луговыми собачками. Вирус передавался контактным путем от этих животных.

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. Противовирусные препараты (интерферон, интерферогены и др.).

Профилактика. Для профилактики можно применять противооспенную живую вакцину.

16.2.8. Анелловирусы (семейство *Anelloviridae*)

Анелловирусы (семейство *Anelloviridae*, от лат. *anellus* — кольцо) — семейство мелких безоболочечных ДНК-содержащих вирусов; включает 9 родов. Типовой представитель — **TTV-вирус** (TTV — *Torque Teno virus*, или *вирус «тонкого ожерелья»*) относится к роду *Alphatorquevirus*. Семейство содержит также мини- и миди-TTV (*Torque Teno mini virus*, *Torque Teno midi virus*).

TTV обнаружен в 1997 г. Nishizawa и соавт. в сыворотке крови больного с инициалами Т.Т., страдавшего гепатитом неизвестной этиологии.

Структура. TTV — просто устроенный вирус, имеющий икосаэдрический тип симметрии (рис. 16.21). Диаметр вириона 30–32 нм. Он содержит кольцевую однонитевую минус-ДНК. Капсид икосаэдрический, состоит из белка VP1. Различают более 20 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. Предполагают, что TTV можно рассматривать как представителя нормальной микрофлоры человека (обнаружен у 90% здорового населения). TTV-вирусемия распространена среди здоровых людей. TTV передается гемотрансмиссивно и половым путем. Вирусы циркулируют среди обезьян,

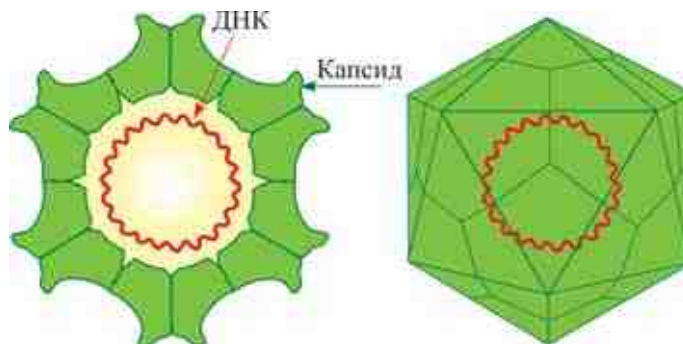


Рис. 16.21. Схема строения ТТВ

коров, свиней, кошек, собак и цыплят. Возможно участие вируса в поражении печени (гепатит), легких и в развитии аутоиммунного заболевания.

Патогенез и иммунитет. Два вируса — ТТВ и ТЛМВ (TTV-like mini virus), широко распространенные в человеческой популяции, могут проникать в мозг. Считают, что белки этих вирусов и некоторые белки клеток мозга содержат участки, богатые аминокислотой аргинином, что может активировать клоны Т-лимфоцитов, специфически распознающие богатые аргинином фрагменты белков этих вирусов. Поскольку такие же фрагменты присутствуют в некоторых белках ЦНС, то развиваются аутоиммунные процессы.

В результате высокой изменчивости вируса, одновременного наличия в организме различных вариантов ТТВ 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.

16.3. 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 (см. разд. 16.1.7.3), вирус краснухи — прогрессирующую врожденную краснуху и краснушный панэнцефалит (табл. 16.7).

Типичную медленную вирусную инфекцию животных вызывает вирус Мэди-Висна, относящийся к ретровирусам. Он является возбудителем медленной вирусной инфекции и прогрессирующей пневмонии овец.

Таблица 16.7

Возбудители некоторых медленных вирусных инфекций человека

Возбудитель	Болезнь
Вирус кори	Подострый склерозирующий панэнцефалит
Вирус краснухи	Прогрессирующая врожденная краснуха, прогрессирующий краснушный панэнцефалит
Вирус клещевого энцефалита	Прогредидентная форма клещевого энцефалита
Вирус простого герпеса	Подострый герпетический энцефалит
Вирус иммунодефицита человека	ВИЧ/СПИД-инфекция
HTLV-1, -2	Т-клеточная лимфома
Полиомавирус JC	Прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия

Сходные по признакам медленных вирусных инфекций заболевания вызывают прионы — возбудители прионных болезней.

Прионные болезни — группа прогрессирующих нарушений, которые воздействуют на ЦНС человека и животных. У людей нарушается функция ЦНС, наступают изменения личности, расстройства движений. Симптомы болезни продолжаются от нескольких месяцев до нескольких лет, заканчиваясь летальным исходом.

Прионы — белковые инфекционные частицы (транслитерация от сокр. англ. *proteinaceous infection particle*). Прионный белок обозначается как **PrP** (от 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 болезней¹, вызывающим диспротеиноз и нейродегенеративные заболевания (табл. 16.8).

Прионы (в измененной, патологической форме) — неканонические патогены, вызывающие трансмиссивные губкообразные энцефалопатии человека (Куру, болезнь Крейтцфельда–Якоба, синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера,

¹ Предполагают существование болезней конформации белков, возникающих в результате неправильного сворачивания (нарушения правильной конформации) клеточного белка, необходимого для нормального функционирования организма. Сворачивание, или фолдинг (от англ. *folding* — сворачивание), вновь синтезированных клеточных белков в правильную функциональную конформацию обеспечивают особые белки — *шапероны*.

семейная фатальная бессонница, амиотрофический лейкоспонгиоз) и 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 16.8

Свойства прионов

PrP ^c	PrP ^{sc}
PrP ^c (<i>cellular prion protein</i>) — клеточная нормальная изоформа прионного белка с молекулярной массой 33–35 кДа, детерминируется геном прионного белка (прионный ген <i>PrNP</i> находится на коротком плече 20-й хромосомы человека). Нормальный PrP ^c появляется на поверхности клетки (заякорен в мембрану гликопротеином молекулы), чувствителен к протеазе. Он регулирует передачу нервных импульсов, циркадные ритмы (суточные циклы), участвует в метаболизме меди в ЦНС и в регуляции деления стволовых клеток костного мозга. Кроме этого, PrP ^c обнаружен в селезенке, лимфатических узлах, коже, ЖКТ и фолликулярных дендритных клетках	PrP ^{sc} (<i>scrapie prion protein</i> — от названия прионной болезни овец скрепи — <i>scrapie</i>) и др., например PrP ^{scjd} (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, формальдегиду, глютаральдегиду, β-пропиолактону; не вызывают воспаления и иммунной реакции. Отличаются способностью к агрегации в амилويدные фибриллы (в виде «бляшек»), гидрофобностью и вторичной структурой в результате повышенного содержания β-складочных структур (более 40% по сравнению с 3% у PrP ^c). PrP ^{sc} накапливается в плазматических везикулах клетки

Пролиферация патологических прионов (рис. 16.22). Превращение PrP^c в измененные формы (PrP^{sc} и др.) происходит при нарушении кинетически контролируемого равновесия между ними. Процесс усиливается при возрастании количества патологического (PrP) или экзогенного приона. PrP^c — нормальный белок, заякоренный в мембране клетки (1). PrP^{sc} — глобулярный гидрофобный белок, образующий агрегаты с собой и с PrP^c на поверхности клетки (2): в результате PrP^c (3) преобразуется в PrP^{sc} (4). Клетка синтезирует новый PrP^c (5), и далее цикл продолжается. Патологическая форма PrP^{sc} (6) накапливается в нейронах, придавая клетке губкообразный вид. Патологические изоформы приона могут образовываться при участии **шаперонов** (от англ. *chaperon* — временное сопровождающее лицо), участвующих в правильном сворачивании полипептидной цепи агрегируемого белка, ее преобразовании в процессе агрегации.

Пути передачи прионов:

- 1) **алиментарный путь** — инфицированные продукты животного происхождения, пищевые добавки из сырых бычьих органов и др.;
- 2) **передача прионов при гемотрансфузии**, при введении препаратов животного происхождения, при пересадке органов и тканей, использовании инфицированных хирургических и стоматологических инструментов;

3) **передача прионов через иммунобиопрепараты** (более 100 случаев передачи болезни Крейтцфельда–Якоба в результате введения соматотропного гормона роста детям для лечения карликовости; передача прионов с другими гормонами, ферментами, миелопептидами и др.; известно заражение PrP^{Sc} 1500 овец мозговой формолвакциной от больных овец).

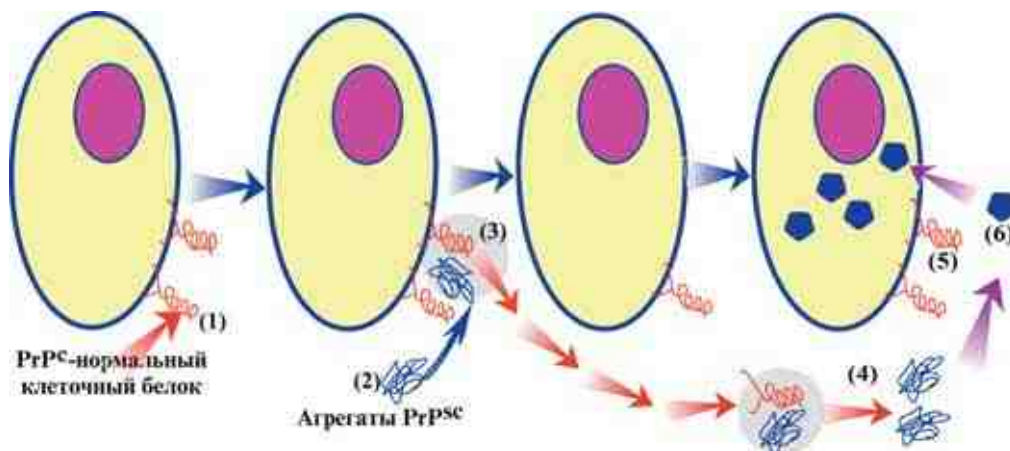


Рис. 16.22. Схема пролиферации прионов (пояснения в тексте)

При пищевой цепи передачи патологические прионы, попав в кишечник, транспортируются в кровь и лимфу. После периферической репликации в селезенке, аппендиксе, glandах и других лимфоидных тканях они переносятся в мозг через периферические нервы (нейроинвазия). Возможно прямое проникновение прионов в мозг через гематоэнцефалический барьер. Репликация патологических прионов в лимфоидных тканях связана с наличием большого количества PrP^C на фолликулярных дендритных клетках, специализирующихся на улавливании иммунных комплексов. Возможна адсорбция опсонизированных патологических прионов на этих клетках через рецептор для комплемента и за счет взаимодействия с PrP^C фолликулярных дендритных клеток. Ранее считалось, что ЦНС — единственная ткань, в которой накапливаются патологические прионы, однако появились исследования, изменившие данную гипотезу. Оказалось, что накопление PrP^{Sc} в селезенке связано с увеличением и функционированием фолликулярных дендритных клеток.

Патогенез и клиника. Патологический процесс может вызываться в результате мутации в гене PrP^C или при попадании в организм экзогенного патологического приона. Некоторые агенты, вызывающие прионные болезни, накапливаются сначала в лимфоидных тканях. Прионы, попадая в мозг, накапливаются в нем в больших количествах, вызывая амилоидоз (внеклеточный диспротеиноз, характеризующийся отложением амилоида с развитием атрофии и склеро-

за ткани) и астроцитоз (разрастание астроцитарной нейроглии, гиперпродукция глиальных волокон). Образуются фибриллы, агрегаты белка или амилоида и губкообразные изменения мозга с образованием вакуолей в нейронах (трансмиссивные губкообразные энцефалопатии). В результате изменяется поведение, нарушается координация движений, развиваются деменция, истощение со смертельным исходом.

Иммунитет не формируется.

Краткая характеристика прионных болезней

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 Крейтцфельда–Якоба (БКЯ) — прионная болезнь (**инкубационный период** до 20 лет), протекающая в виде деменции, зрительных и мозжечковых нарушений и двигательных расстройств со смертельным исходом через 4–5 мес. при классическом варианте БКЯ и через 13–14 мес. при новом варианте БКЯ. 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, переливании крови, применении гормонов и других биологических активных веществ животного происхождения, использовании кетгута, контаминированных или недостаточно простерилизованных хирургических инструментов, прозекторских манипуляциях; 3) при гиперпродукции PrP и других состояниях, стимулирующих процесс преобразования PrP^c в PrP^{sc}. В случае *нового варианта БКЯ* нарушения развиваются в более молодом возрасте (средний возраст 28 лет) в отличие от классического варианта (средний возраст 68 лет). Заболевание может развиваться в результате мутации или вставки в области прионового гена. Распространен семейный характер болезни из-за генетической предрасположенности к БКЯ.

Синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера — прионная болезнь с наследственной патологией (семейное заболевание), протекающая с деменцией, гипотонией, нарушением глотания, дизартрией. **Инкубационный период** — от 5 до 30 лет. Летальный исход 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 циркадные 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 (**инкубационный период** от 1,5 до 15 лет), характеризующаяся поражением ЦНС, нарушением координации движений и неизбежной гибелью животного. У животных наиболее инфицированы головной, спинной мозг и глазные яблоки. Впервые эпидемия болезни возникла в Великобритании в 1992–1993 гг., быстро охватив в последующие годы несколько европейских государств. Она была связана с кормлением животных мясокостной мукой (изготовленной из туш больных животных), содержащей патологические прионы.

Микробиологическая диагностика прионных болезней. При прионной патологии характерны губкообразные изменения мозга, астроцитоз (глиоз), отсутствие инфильтратов воспаления. 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.

Для обезвреживания инструментов и объектов окружающей среды рекомендуют автоклавирование (134 °С — 30 мин; 121 °С — 4 ч с добавлением 1N NaOH), сжигание, дополнительная обработка отбеливателем и 1N NaOH на 1 ч.

16.4. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) — это группа клинически сходных, острых инфекционных вирусных заболеваний человека, которые передаются преимущественно аэрогенно и характеризуются поражением органов дыхания и умеренной интоксикацией.

ОРВИ, ежегодно поражающие миллионы людей, относятся к числу самых распространенных болезней человека. Несмотря на обычно доброкачественное течение и благоприятный исход, эти инфекции опасны своими осложнениями (например, вторичными инфекциями), особенно для людей с иммунодефицитами, патологией сердечно-сосудистой и дыхательной систем и др.

Этиология. 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 следующих пяти семейств: *Paramyxoviridae* (вирусы парагриппа человека и респираторно-синцитиальный вирус), *Coronaviridae* (коронавирусы, в том числе SARS-ассоциированный вирус), *Picornaviridae* (более 113 серотипов риновирусов), *Reoviridae* (респираторные реовирусы) и *Adenoviridae* (аденовирусы, чаще серотипы 3, 4, 7, но известны вспышки, вызванные типами 12, 21).

Общая сравнительная характеристика возбудителей. Размеры вирионов варьируют от 20 нм (риновирусы) до 200 нм (парамиксовирусы). Геном у вирусов представлен двухцепочечной линейной ДНК — у аденовирусов; одноцепочечной линейной плюс-РНК — у рино- и коронавирусов; одноцепочечной линейной минус-РНК — у парамиксовирусов; двухцепочечной сегментированной РНК — у реовирусов. Геном кодирует синтез структурных и неструктурных вирусных белков.

Среди вирусов ОРВИ есть простые (адено-, рино- и реовирусы) и сложные оболочечные (парамиксовирусы и коронавирусы). У сложных вирусов — спиральный тип симметрии нуклеокапсида и форма вириона сферическая. Они чувствительны к эфиру. У простых вирусов — икосаэдрический (кубический) тип симметрии нуклеокапсида и вирион имеет форму икосаэдра.

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 серовариантов. Большинство вирусов ОРВИ обладает гемагглютинирующей способностью (кроме респираторно-синцитиального вируса, SARS-ассоциированного вируса 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 вирусных включений. 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 липопротеиновую оболочку.

Оптимальная лабораторная модель для культивирования вирусов, вызывающих ОРВИ, — культуры клеток. Для каждой группы вирусов подобраны наиболее чувствительные клетки (для аденовирусов — клетки HeLa, эмбриональные клетки почек; для коронавируса — 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 реакцию нейтрализации вирусов в культуре клеток, заключающуюся в нейтрализации цитолитического действия вирусов типоспецифическими антителами.

Эпидемиология. Респираторные вирусы встречаются повсеместно. Источник инфекции — больной человек. Основной механизм передачи вирусов — аэрогенный, пути передачи — воздушно-капельный (при кашле, чихании), реже — воздушно-пылевой. Некоторые возбудители ОРВИ могут передаваться при контакте инфицированных предметов со слизистой носа и конъюнктивой (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.

Болеют 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 мес.).

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 коронавируса 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 вирусемию. 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 чаще всего 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, лимфаденопатия. У детей, как правило, тяжело протекает инфекция, вызванная РС-вирусами. При этом поражаются нижние отделы дыхательного тракта, возникают бронхолиты, острая пневмония и астматический синдром. При ОРВИ часто развивается сенсibilизация организма.

Тем не менее большинство неосложненных ОРВИ у практически здоровых лиц протекает нетяжело и заканчивается в течение недели полным выздоровлением 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, геморрагий, 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 играет состояние местного иммунитета. При ОРВИ наибольшими защитными

функциями в организме обладают вируснейтрализующие специфические IgA (обеспечивают местный иммунитет) и клеточный иммунитет. Сывороточные антитела в достаточном количестве обычно продуцируются слишком медленно, чтобы быть эффективными факторами защиты во время заболевания. Другим важным фактором в защите организма от вирусов ОРВИ является местная выработка α -интерферона. К особенностям ОРВИ можно отнести 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, значительное 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) и ИФА. Для труднокультивируемых вирусов используют ПЦР.

Вирусологический метод. Культивирование вирусов проводят путем заражения культур клеток секретами респираторного тракта. Индикацию вирусов 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, РН.

Серологический метод. Противовирусные антитела исследуют в парных сыворотках больного, полученных с интервалом 10–14 дней. Диагноз ставят при увеличении титра антител как минимум в 4 раза. Применяют РН, РСК, РПГА, РТГА и др. Так как продолжительность заболевания часто не превышает 5–7 дней, то серологическое исследование служит для ретроспективной диагностики и эпидемиологических исследований.

Лечение. Эффективного этиотропного лечения ОРВИ нет (попытки создать препараты, действующие на вирусы ОРВИ, ведутся в двух направлениях: препятствие «раздеванию» вирусной РНК и блокирование клеточных рецепторов). Неспецифическим противовирусным действием обладает α -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 десенсибилизации в лече-

нии 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.

16.5. 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 простейшие (криптоспории) 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: неба, дужек, язычка — при ротавирусной инфекции; трахеобронхит — при аденовирусной инфекции.

Диагноз устанавливается на основании клинических признаков болезни, результатов микробиологического исследования и эпидемиологического анамнеза.

16.6. Возбудители парентеральных вирусных гепатитов В, D, С, G

Возбудителями парентеральных вирусных гепатитов является вирус гепатита В (см. разд. 16.2.5), а также вирусы гепатитов D, С, G.

Вирус гепатита D (ВГD) впервые был обнаружен в 1977 г. Ризетто. ВГD не классифицирован, является сателлитом вируса гепатита В и представляет дефектный вирус, не имеющий собственной оболочки. Вирион ВГD имеет сферическую форму (диаметр 36 нм). Он состоит из одонитчатой минус-цепи РНК кольцевой формы и сердцевинного **HDc-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 преоблада-

ет 1-й генотип. Все генотипы относятся к одному серотипу. В качестве внешней оболочки ВГД использует HBs-антиген внешней оболочки вируса гепатита В.

Резервуаром ВГД в природе являются носители вируса гепатита В. Заражение ВГД аналогично инфицированию вирусом гепатита В. Одновременное инфицирование вирусом гепатита В и ВГД (коинфекция) приводит к развитию умеренной формы болезни. Инфицирование ВГД больных хронической формой гепатита В утяжеляет течение инфекции, приводя к развитию острой печеночной недостаточности и цирроза печени. В свободном виде ВГД в крови инфицированных им лиц не обнаруживается, РНК вируса можно обнаружить в биоптатах печени с помощью ПЦР.

Микробиологическая диагностика осуществляется серологическим методом путем определения антител к ВГД методом ИФА. В биоптатах печени методом ПЦР можно обнаружить в гепатоцитах РНК вируса.

Лечение и профилактика. Используют препараты интерферона. Профилактика гепатита D учитывает все те мероприятия, которые используют для профилактики гепатита В. Вакцина против гепатита В защищает и от гепатита D.

Вирус гепатита С (ВГС) относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus*.

Морфология. ВГС является сложноорганизованным РНК-содержащим вирусом сферической формы (диаметр 55–65 нм). Капсид икосаэдрический, содержит структурный белок (core), **НСс-антиген** и неструктурные белки NS2, NS3, NS4, NS5, которые являются ферментами, необходимыми для репликации вируса. Капсид окружен липопротеиновой оболочкой с гликопротеиновыми шипами gpE1, gpE2/NS1.

Геном представлен одной линейной плюс-цепью РНК, обладает большой вариабельностью. Известно около 14 генотипов вируса. Наиболее вирулентен 1b генотип. Особой гипермутабельностью обладает участок генома, ответственный за синтез гликопротеинов E1 и E2, на которые вырабатываются вируснейтрализующие антитела.

Культуральные свойства и резистентность. Вирус не культивируется на куриных эмбрионах, не обладает гемолитической и гемагглютинирующей активностью. Экспериментальной моделью служит шимпанзе. Трудно адаптируется к культивированию в культуре клеток; чувствителен к эфиру, детергентам, УФ-лучам, нагреванию до 50 °С.

Эпидемиология и клиника. Для заражения ВГС требуется бо́льшая заражающая доза, чем при гепатите В. Наиболее часто ВГС передается при переливаниях крови ($\frac{2}{3}$ случаев), реже — трансплацентарно (10%) и половым путем (7%). В мире более $\frac{1}{3}$ населения инфицированы ВГС. **Инкубационный период** составляет от 6 до 120 нед.

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 CD4-иммунного ответа, а также возможностью вируса избегать нейтрализующего действия антител вследствие большой изменчивости генома. CD4-иммунный ответ направлен против неструктурного белка NS3 и на эпитоп, который одинаков у всех генотипов. При ослаблении CD4-иммунного ответа происходит реактивация вируса. Предполагается, что ВГС вызывает персистирующую в лимфатических узлах вирусную инфекцию.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования является кровь. Используются ПЦР и *серологический метод*. Проводится ИФА методом парных сывороток. Подтверждением активного инфекционного процесса служит обнаружение в крови с помощью ПЦР вирусной РНК, которая появляется там через несколько дней после заражения. Антитела к ВГС появляются через несколько недель (т.е. образуется серонегативное окно), при этом кровь потенциально инфекционна. Поэтому ПЦР — метод выбора для ранней диагностики гепатита С.

Лечение и профилактика. Для лечения применяют интерферон и рибовирин. Специфическая профилактика не разработана. Для неспецифической профилактики используют те же мероприятия, что и при гепатите В.

Вирус гепатита G предположительно относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus*. Известно пять генотипов вируса: GB-A, GB-B, GB-C и др. Вирус гепатита G пока изучен слабо. Известно, что он имеет РНК-зависимую протеиназу, поверхностный (HGs) и сердцевинный (HCs) 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.

16.7. Онкогенные вирусы

Впервые этиологическая роль вирусов была показана 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 доказана роль фильтрующих агентов в развитии папилломы 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. В основе этой теории лежит постулат о необходимости тесного взаимодействия геномов вируса и клетки для последующей ее трансформации. Благодаря развитию молекулярной биологии вирусогенетическая теория онкогенеза в начале 70-х годов XX в. нашла экспериментальное подтверждение.

Установлена связь между вирусной инфекцией и последующей трансформацией клетки по отношению к РНК-содержащим вирусам (семейство *Retroviridae*) и ДНК-содержащим вирусам (семейства *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Adenoviridae*, *Hepadnaviridae*, *Herpesviridae*, *Poxviridae*). Наиболее хорошо изучен механизм вирусного онкогенеза у вирусов семейства *Retroviridae*.

16.7.1. РНК-содержащие онкогенные вирусы

Семейство *Retroviridae* включает онковирусы, вирионы которых построены из сердцевины (диаметр 70–80 нм), окруженной липопротеиновой оболочкой с шипами. Размеры и формы шипов, локализация сердцевины служат основой для подразделения вирусов на четыре морфологических типа (А, В, С, D), а также вирус бычьего лейкоза.

Большинство онкогенных вирусов относится к типу С, который распространен среди рыб, пресмыкающихся, птиц и млекопитающих, включая человека. К типу В относятся вирусы, вызывающие рак молочной железы у мышей, а некоторые онковирусы обезьян принадлежат к типу D.

Капсид онковирусов икосаэдрический. В него заключены нуклеопротеин и фермент ревертаза (обратная транскриптаза). Ревертаза обладает способностью транскрибировать ДНК как на матрице РНК, так и ДНК, а также нуклеазной активностью. Геном диплоидный: представлен двумя идентичными позитивными цепями РНК. Он состоит из структурных и регуляторных генов. Последовательность структурных генов от 5'-конца к 3'-концу следующая: *gag* → *pol* → *env*; *gag* кодирует синтез группоспецифических антигенов капсида, основные из которых белки капсида с р27–р30; *pol* — ревертазу; *env* — белки шипов оболочки.

Структурные гены с двух сторон ограничены длинными концевыми повторами, получившими название LTR (от англ. *long terminal repeat*), 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 и репродукция вирусов. Онковирусы не культивируются на куриных эмбрионах, но культивируются в организме чувствительных животных, а также в культурах клеток. Онковирусы проникают в клетку путем эндоцитоза. После освобождения нуклеокапсида из вакуоли начинается функционирование ревертазы. Этот процесс включает три этапа: 1) синтез ДНК на матрице РНК при использовании тРНК в качестве затравки; 2) ферментативное расщепление матричной РНК; 3) синтез комплементарной нити ДНК на матрице первой нити ДНК. Все процессы осуществляются с участием ревертазы. 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 к другой в форме вирионов.

Механизм онкогенеза, вызываемого онковирусами, связан с функционированием *onc*-генов, которые имеются в геноме всех клеток человека и животных. В нормальных здоровых тканях этот *onc*-ген находится в неактивном состоянии, в так называемой форме **протоонкогена**. Известно более двух десятков *onc*-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 *onc*-гена, результатом чего будет трансформация клетки. Кроме того, в процессе исключения ДНК-провируса из хромосомы клетки *onc*-ген может встроиться в вирусный геном и в его составе попасть в новые клетки в активном состоянии. Последовательность одного и того же проонкогена может определять трансформирующую активность онковирусов разных животных.

Активация протоонкогена может быть результатом увеличения транскрипционной активности вследствие действия трансаактиватора, расположенного на LTR генома провируса, а также следствием перестройки генетического материала из-за 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 четыре вида вызывают опухоли у человека: HTLV-1, HTLV-2, ВИЧ-1, ВИЧ-2.

Вирусы Т-клеточного лейкоза человека (HTLV, *human T-lymphotropic virus*). К семейству *Retroviridae* роду *Deltaretrovirus* относятся вирусы, поражающие CD4⁺ Т-лимфоциты, для которых доказана этиологическая роль в развитии опухолевого процесса у людей: HTLV-1 и HTLV-2.

Вирус HTLV-1 — возбудитель Т-клеточного лимфолейкоза взрослых. Вирус был изолирован в 1980 г. от больного Т-лимфомой. Он относится к экзогенным

онковирусам, но 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 рецепторов IL-2 на поверхности зараженной клетки. Продукт *rex*-гена определяет очередность трансляции вирусных иРНК.

Вирус 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 в обоих случаях 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.

16.7.2. 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-антигенами** (от англ. *tumor* — опухоль), большинство из которых локализуется в ядре, но некоторые — в клеточной мембране.

В механизм онкогенеза, вызываемого ДНК-содержащими вирусами, также вовлечены клеточные белки — продукты опухолюсупрессирующих 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. В результате деятельности белка p53 ограничивается деление клеток. Если же происходит репарация поврежденной ДНК, уровень p53 падает и клеточное деление восстанавливается.

Rb-ген (от англ. *retinoblastome* — ретинобластома) 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 2, 5, 8, способны вызвать *рак кожи, злокачественные опухоли в полости рта, гортани*. Типы 16 и 18 признаны ВОЗ основными 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 р53 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. Они 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 р53 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 — заболеванием, характеризующимся демиелинизацией белого вещества мозга и встречающимся 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 приводит также к развитию опухолей у хомячков, 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 мака-

ки-резуса, на которых получали вакцину. Тщательные наблюдения за этим 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 опухолеродного 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 интегрируется в ДНК клетки, экспрессируя при этом ***T-антиген***. Данные о способности аденовирусов вызывать онкогенез у человека отсутствуют.

Вирус гепатита В 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. Последний 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 Марек). Онкогенез у человека обусловлен вирусом Эпштейна–Барр, вирусами герпеса человека 6-го и 8-го типов. С вирусом Эпштейна–Барр 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 вируса. В крови больных вначале появляются антитела к капсидному антигену, а позже — к мембранному и ядерному антигенам вируса Эпштейна–Барр. Вирус герпеса человека 6-го типа связан с развитием неходжкинской лимфомы, а 8-го типа — с развитием саркомы Капоши.

Тестовые вопросы и задания

А. К энтеровирусам относятся:

- 1) вирусы Коксаки;
- 2) вирус полиомиелита;

3) ЕСНО-вирусы;

4) риновирусы.

Б. Фекально-оральным механизмом передаются:

1) вирус полиомиелита;

2) вирус гепатита А;

3) ротавирусы;

4) вирусы краснухи.

В. Материал для микробиологической диагностики энтеровирусных инфекций:

1) фекалии;

2) смыв с носоглотки;

3) спинномозговая жидкость;

4) кровь.

Г. К семейству *Picornaviridae* относятся:

1) вирусы Коксаки;

2) ЕСНО-вирусы;

3) вирус полиомиелита;

4) вирусы гепатита А;

5) вирусы герпеса.

Д. Вакцины для специфической профилактики полиомиелита:

1) живая культуральная;

2) живая эмбриональная;

3) анатоксин;

4) химическая.

Е. Фекально-оральным механизмом передается вирус:

1) гепатита А;

2) гепатита В;

3) гепатита С;

4) гепатита Е.

Ж. Вирус полиомиелита:

1) может передаваться воздушно-капельным путем;

2) вызывает виремию;

3) может обнаруживаться в смывах из носоглотки;

4) вызывает ОРВИ.

З. Вирусы гепатита А:

1) просто организованные вирусы;

2) имеют сферическую форму;

3) РНК-содержащие;

4) имеют мелкие размеры.

И. Механизм передачи вирусов гепатита А и Е:

1) кровяной (трансмиссивный);

2) аэрогенный;

3) контактный (половой);

4) фекально-оральный.

К. Вирусы, передаваемые воздушно-капельным путем:

1) вирусы простого герпеса;

2) вирус кори;

3) вирус краснухи;

4) вирус оспы.

Л. Ротавирусы:

1) передаются фекально-оральным механизмом;

2) вызывают гастроэнтериты;

3) размножаются в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки;

4) вызывают секреторную диарею, обусловленную действием вирусного неструктурного белка NSP4 (энтеротоксин).

М. Арбовирусы:

1) составляют экологическую группу вирусов;

2) передаются через укусы членистоногих;

3) включают вирус желтой лихорадки;

4) включают вирус лихорадки денге;

5) включают вирус бешенства.

Н. К возбудителям ОРВИ относятся:

1) реовирусы;

2) риновирусы;

3) аденовирусы;

4) коронавирусы;

5) филофирусы.

О. Вирион вируса гриппа А содержит:

1) гемагглютинин;

2) ДНК;

3) нейраминидазу;

4) гиалуронидазу.

П. В результате антигенного шифта у вируса гриппа А изменяются:

1) гемагглютинин;

2) нейраминидаза;

3) ДНК;

4) РНК.

Р. Для лечения гриппа применяют:

1) α -интерферон;

2) ремантадин;

3) ингибиторы нейраминидазы;

4) антибиотики.

С. Серологические реакции, применяемые для диагностики гриппа:

1) ИФА;

- 2) РГА;
- 3) РСК;
- 4) РТГА.

Т. Вирус краснухи вызывает:

- 1) рожу;
- 2) врожденную внутриутробную инфекцию;
- 3) медленную вирусную инфекцию;
- 4) острую вирусную инфекцию.

У. Вирус бешенства:

- 1) ДНК-содержащий;
- 2) имеет пулевидную форму;
- 3) нейротропен;
- 4) выделяется с фекалиями.

Ф. ВИЧ:

- 1) содержит ревертазу;
- 2) содержит РНК;
- 3) образует ДНК-провирус;
- 4) не интегрируется в геном клетки.

Х. Герпес-вирусы:

- 1) имеют двунитевую линейную ДНК;
- 2) являются сложными вирусами;
- 3) включают вирус цитомегалии;
- 4) включают вирус ветряной оспы;
- 5) включают вирус Эпштейна–Барр.

Ц. Медленные вирусные инфекции вызывают:

- 1) вирус гепатита А;
- 2) вирус краснухи;
- 3) вирус кори;
- 4) ротавирус.

Ч. В каких формах могут находиться папилломавирусы в эпителии?

Ш. Прионы:

- 1) являются вириодами;
- 2) не вызывают иммунный ответ;
- 3) вызывают губкообразную энцефалопатию;
- 4) не индуцируют воспаление.

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. **Опportunистические микозы**.
6. **Аллергии**, вызванные грибами (пневмоаллергии и дермоаллергии).
7. **Микотоксикозы** — пищевые интоксикации, вызванные токсинами грибов.

17.1. Возбудители поверхностных микозов

Возбудителями поверхностных микозов (кератомикозов) являются кератомикеты — малоконтагиозные грибы, поражающие поверхностные отделы рогового слоя эпидермиса и поверхность волоса (табл. 17.1).

Лечение направлено на удаление пораженных участков с помощью кератолитических средств. Применяют препараты, содержащие дисульфид селена, тиосульфат, амфотерицин В, салициловую кислоту. Противогрибковый эффект достигается использованием нитрата миконазола, подавляющего синтез эргостерола. При инфекциях, вызванных *Piedraia hortae* или *Trichosporon beigeli*, эффективно удаление волос бритвой и соблюдение личной гигиены.

Таблица 17.1

Характеристика кератомицетов

Вид гриба	Болезнь	Форма гриба в ткани
<i>Malassezia furfur</i>	Отрубевидный лишай	В роговом слое эпидермиса короткие изогнутые гифы и дрожжеподобные клетки
<i>Phaeoanellomyces werneckii</i>	Черный лишай	В роговом слое эпидермиса темные септированные гифы и почкующиеся клетки
<i>Piedraia hortae</i>	Черная пьедра	На волосе черные узелки, содержащие аски
<i>Trichosporon beigeli</i>	Белая пьедра	Вокруг волоса желтые узелки, содержащие фрагменты мицелия и артроконидии

17.1.1. Возбудитель разноцветного лишая (*Malassezia furfur*)

Malassezia furfur (ранее *Pityrosporum orbicularae*) — широко распространенный дрожжеподобный липофильный гриб, обитающий в норме на коже человека. Чаще гриб находят в областях тела с повышенным количеством сальных желез из-за его потребности в сложных жирных кислотах. Кроме *M. furfur* различают еще 11 видов.

M. furfur и *M. globosa* могут поражать поверхностные отделы рогового слоя эпидермиса. Вызывают 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.

Микробиологическая диагностика. В чешуйках, обработанных 20% щелочью, выявляются короткие, слегка изогнутые гифы и дрожжеподобные почкующиеся клетки. 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 (2 × 6 мкм). Истинный мицелий отсутствует.

Лечение: амфотерицин В, итраконазол, кетоконазол, флуконазол.

17.1.2. Возбудитель черного лишая (*Phaeoanellomyces werneckii*)

Возбудитель **черного лишая** — *Phaeoanellomyces werneckii*. Встречается в тропиках. На ладонях и подошвах появляются коричневые или черные пятна. Растет в роговом слое эпидермиса в виде почкующихся клеток и фрагментов коричневых, ветвистых, септированных гифов. 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.

Лечение. Назначают антимикотики местного применения.

17.1.3. Возбудитель черной пьедры (*Piedraia hortae*)

Черная пьедра (пьедраиоз) — микоз волосистой части головы, вызываемый *Piedraia hortae*. Встречается в тропических регионах Южной Америки и Индонезии. На инфицированном волосе появляются плотные черные узелки (диаметром 1 мм), состоящие из темно-бурых септированных, ветвящихся нитей толщиной 4–8 мкм и асков. Колонизация волоса, вплоть до внедрения гриба в кутикулу, происходит в результате полового размножения гриба (телеоморфа). Культур, растущие на среде Сабуро, размножаются бесполым путем (анаморфа). Колонии мелкие, темно-коричневые с бархатистыми краями. Они состоят из мицелия и хламидоспор.

Лечение. Больным назначают антимикотики местного применения.

17.1.4. Возбудитель белой пьедры (*Trichosporon beigelii*)

Белая пьедра (трихоспороз) — инфекция стержней 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 (толщиной около 4 мкм) гриба 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.

Лечение: флуцитозин, препараты азолового ряда. Эффективно также удаление волос бритвой и соблюдение личной гигиены.

17.2. Возбудители эпидермофитий

Возбудители эпидермофитий (эпидермомикозов, дерматофитий, дерматомикозов) — дерматофиты, или дерматомицеты; поражают кожу, ногти и волосы, вызывая трихофитию, микроспорию, фавус, эпидермофитию и др. Дерматофиты подразделяют на три рода: *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*. Они отличаются по способам споруляции (рис. 17.1–17.4).

Морфология и физиология. Дерматофиты образуют септированный мицелий с артроконидиями, хламидоспорами, макро- и микроконидиями. Макроко-



Рис. 17.1. Схема строения *Microsporum canis* in vivo и in vitro

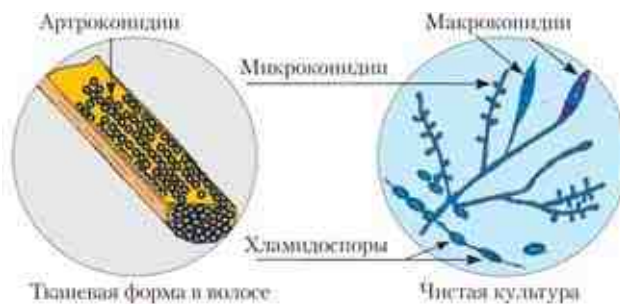


Рис. 17.2. Схема строения *Trichophyton tonsurans* in vivo и in vitro



Рис. 17.3. Схема строения *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes* in vivo и in vitro

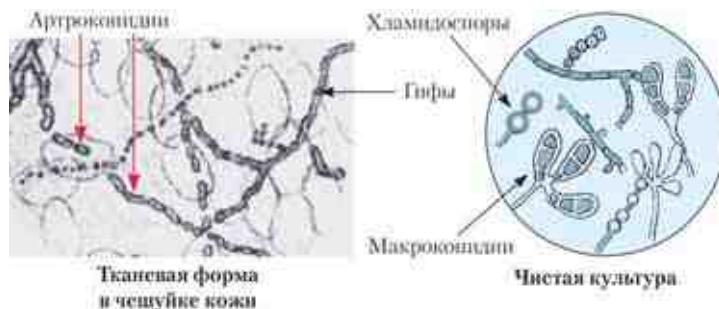


Рис. 17.4. Схема строения *Epidermophyton floccosum* in vivo и in vitro

нидии различны: у рода *Microsporium* — толстостенные, многоклеточные, веретенообразные и покрыты шипами (см. рис. 17.1); у рода *Trichophyton* — крупные, гладкие, септированные (см. рис. 17.2 и 17.3); у рода *Epidermophyton* имеется множество гладких дубинкообразных макроконидий (см. рис. 17.4).

Грибы размножаются бесполом (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.

Различают антропофильные, зоофильные и геофильные грибы (табл. 17.2–17.4). **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 gypsum* передается при обработке почвы голыми руками — «микроспория садоводов».

Таблица 17.2

Антропофильные дерматофиты

Вид дерматофитов	Вызываемые микозы
<i>Microsporum audouinii</i> , <i>M. ferrugineum</i>	Микроспория
<i>Trichophyton tonsurans</i> , <i>T. violaceum</i>	Трихофития
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i>	Эпидермофития стоп, ногтей (онихомикоз)
<i>Epidermophyton floccosum</i>	Эпидермофития паховая, ногтей (онихомикоз)
<i>Trichophyton rubrum</i>	Руброфития стоп, ногтей (онихомикоз)
<i>Trichophyton schoenleinii</i>	Фавус

Таблица 17.3

Зоофильные дерматофиты

Вид дерматофитов	Природный резервуар	Микозы
<i>Microsporum canis</i>	Кошки, собаки, лошади	Микроспория
<i>Microsporum gallinae</i>	Домашняя птица	
<i>Microsporum nanum</i>	Свиньи	
<i>Trichophyton verrucosum</i>	Крупный рогатый скот	Трихофития
<i>Trichophyton equinum</i>	Лошади	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i>	Грызуны	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>erinacei</i>	Ежи	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>quinckeanum</i>	Мышь	

Таблица 17.4

Геофильные дерматофиты

Вид дерматофитов	Вызываемые микозы
<i>Microsporum cookei</i> , <i>Microsporum gypsum</i> <i>Microsporum fulvum</i> , <i>Microsporum nanum</i>	Микроспория

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 unguium*), кисти (*tinea manus*), промежности (*tinea cruris*), области бороды (*tinea barbae*), волосистой части головы (*tinea capitis*).

Волосы, пораженные грибами, обламываются; развиваются плешивость, очаговое облысение. Кожа шелушится, появляются везикулы, пустулы, трещины. Развивается зуд очагов поражения. Воспаление отсутствует или может быть в выраженной форме.

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. 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. 17.2 и 17.3) могут располагаться параллельными цепочками снаружи (экзотрикс) и внутри волоса (эндотрикс). Артроконидии рода *Microsporum* располагаются мозаично снаружи волоса (см. рис. 17.1). 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 нед. культивирования при 25 °С.

Определяют антитела в сыворотке крови с помощью РСК, РНГА, РП, РИФ, ИФА. Ставят кожно-аллергические пробы с аллергенами из грибов. Биологическую пробу ставят на лабораторных животных (морские свинки, мыши и др.), заражая их в кожу, волосы и когти.

Лечение. При дерматофитии волосистой части головы применяют флуконазол, итраконазол, гризеофульвин, тербинафин; при дерматофитии ногтей проводят системную (гризеофульвин, ламизил, низорал, дифлюкан) и местную противогрибковую терапию; при дерматофитии стоп применяют противогрибковые кремы и мази (ламизил, низорал, микоспор и др.) в сочетании, при показаниях, с системной терапией и антигистаминными средствами.

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.

17.2.1. 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»). Источником заболевания могут служить люди, животные и почва.

Возбудители антропонозной микроспории *M. audouinii*, *M. ferrugineum* поражают практически только человека.

Чистая культура *M. audouinii* состоит из широкого (4–5 мкм) септированно-го 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. 17.1).

Геофилы (*M. cookei*, *M. fulvum*, *M. nanum*) обитают в почве и передаются при контакте с ней. Например, *Microsporum gypsum* передается при обработке почвы голыми руками, вызывая «микроспорию садоводов». *M. gypsum* вызывает гнойно-воспалительный процесс волосистой части головы (керион), заканчивающийся через 8 нед. умеренным рубцеванием.

17.2.2. 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. **Инкубационный период** достигает недели. Инфицирование происходит при тесном контакте с больным или через предметы обихода. Часто стали поражаться спортсмены-борцы в результате передачи *T. tonsurans* контактным путем («лишай туловища гладиаторов»). Развивается воспаление и шелушение центра овальных очагов поражений кожи. Волосы поражаются по типу эндотрикс и надламываются у поверхности кожи (см. рис. 17.2).

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. 17.3). 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 удлинённых макроконидий (8 × 40 мкм).

T. verrucosum передается человеку от крупного рогатого скота, телят, лошадей, ослов, коз; вызывает поражение кожи, волос тела, головы и бороды. На открытых участках кожи появляются крупные очаги поражения с фестончатыми очертаниями. В волосе располагается по типу эктотрикс. Чистая культура гриба состоит из септированного мицелия. Образуются каплевидные или удлинённые микроконидии, сферические макроконидии (40 × 5 мкм) в виде нити бус и многочисленные хламидоспоры.

17.2.3. Возбудитель фавуса (*Trichophyton schoenleinii*)

Фавус (син.: парша) — хроническое заболевание, главным образом детей, вызываемое *Trichophyton schoenleinii*. Антропоноз. Поражаются кожа, волосы и ногти. Характерно образование скутулы желтого цвета — 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 (фавус-тип).

В чистой культуре *T. schoenleinii* представлен септированным мицелием с утолщениями и ветвлениями (канделябры, рога оленя), а также артроспоровым мицелием, хламидоспорами и макроконидиями (8 × 50 мкм).

17.2.4. Возбудитель эпидермофитии паховой (*Epidermophyton floccosum*)

Эпидермофития паховая вызывается антропофильным грибом *Epidermophyton floccosum*. 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, расположенных группами на концах гифов по 3–5 штук в виде «пучков бананов» (см. рис. 17.4).

Поражения паха (паховый дерматомикоз) могут также вызывать *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, грибы рода *Candida*.

17.2.5. Возбудитель эпидермофитии стоп (*Trichophyton interdigitale*)

Эпидермофития стоп вызывается антропофильным грибом *Trichophyton interdigitale* (*T. mentagrophytes* var. *interdigitale*). 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 артрспоры.

Чистая культура *T. interdigitale* состоит из тонкого ветвистого септированного мицелия с грушевидными микроконидиями (2–3 мкм), макроконидий (5 × 25 мкм) и хламидоспор.

Поражения стоп могут также вызывать *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*.

17.2.6. Возбудитель руброфитии (*Trichophyton rubrum*)

Руброфития (рубромикоз) — распространенный микоз кожи туловища и конечностей, ногтей и пушковых волос, вызванный красным трихофитом (*Trichophyton rubrum*). Антропоноз. В четко отграниченных очагах поражения кожи появляются мелкие розовые очаги, пузырьки, корочки. В чешуйках выявляют нити ветвящегося септированного мицелия, реже — артрспоры.

В чистой культуре *T. rubrum* видны септированные тонкие ветвистые нити мицелия, скопления грушевидных, овальных микроконидий, а также удлиненные макроконидии (6 × 50 мкм). При старении культуры гриба появляются хламидоспоры.

17.3. Возбудители подкожных, или субкутанных, микозов

Возбудители подкожных, или субкутанных, микозов (табл. 17.5) 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 17.5

Возбудители подкожных, или субкутанных, микозов

Возбудитель	Микозы
<i>Sporothrix schenckii</i>	Споротрихоз
<i>Phialophora (Fonsecaea) compacta</i> , <i>Fonsecaea pedrosoi</i> , <i>Phialophora verrucosa</i> , <i>Cladophialophora carrionii</i> , <i>Exophiala jeanselmei</i> , <i>Rhinosporidium seeberi</i>	Хромобластомикоз
<i>Pseudallescheria boydii</i> , <i>Madurella grisea</i> , <i>Phialophora cryanescens</i> , <i>Exophiala jeanselmei</i> , <i>Acremonium (Cephalosporium) falciforme</i> , <i>Leptosphaeria senegalensis</i> , <i>Curvularia spp.</i>	Мицетома (мадуромикоз)
Главным образом виды <i>Exophiala</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Wangiella</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohilum</i> , <i>Cladophialophora</i> , <i>Phaeoannellomyces</i> , <i>Aureobasidium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Phoma</i>	Феогифомикоз

17.3.1. Возбудитель споротрихоза (*Sporothrix schenckii*)

Споротрихоз (болезнь Шенка) — хроническая болезнь с локальным поражением кожи, подкожной клетчатки и лимфоузлов; возможно поражение внутренних органов. 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 2–10 мкм. Выявляются также астероидные тела (10–20 мкм), которые 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 легкой 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 (лимфокожный) споротрихоз. Пораженные участки уплотнены и безболезненны. Иногда происходит диссе-

минация возбудителя с развитием висцерального споротрихоза: поражаются легкие, костная система, органы брюшной полости и мозг. Возможно развитие и первичного легочного споротрихоза.

Иммунитет. При споротрихозе появляются антитела, развивается ГЗТ. Грибы уничтожаются нейтрофилами и макрофагами.

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 с помощью РА, РП, ИФА и др.

Лечение. Локальные поражения лечат йодидом калия, а системные — амфотерицином В, итраконазолом.

Профилактика не разработана.

17.3.2. Возбудители хромобластомикоза

Хромобластомикоз (хромомикоз) — хроническая гранулематозная болезнь с поражением кожи, подкожной клетчатки и нижних конечностей. Возбудители хромомикоза (*Fonsecaea compacta*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Phialophora verrucosa*, *Phialophora compacta*, *Cladophialophora carrionii*, *Exophiala jeanselmei*, *Rhinochlaidiella aquaspersa*, *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 меланина.

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 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 гифов, а также *Rhinosporidium seeberi**, образующий спорангии и спорангиоспоры.

При культивировании на агаре Сабуро при 20–25 °С возбудители хромобластомикоза образуют медленно растущие колонии (рост 5–30 дней), состоящие из черного септированного мицелия и разного типа конидий.

Лечение. При лечении хромобластомикоза применяют итраконазол и 5-флуцитозин. Проводят также хирургическое удаление пораженных участков.

Профилактика не разработана.

17.3.3. Возбудители феогифомикоза

Феогифомикоз — микоз, вызываемый множеством дематиевых (коричнево-пигментированных) грибов, образующих в тканях гифы (мицелий). Этиологические агенты включают различные дематиевые гифомицеты**, особенно представителей родов *Exophiala*, *Phialophora*, *Wangiella*, *Bipolaris*, *Exserohilum*, *Cladophialophora*, *Phaeoannellomyces*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Phoma*. Феогифомикоз (феомикотическая киста) развивается после попадания из почвы дематиевых грибов в микроповреждения кожи. Образуется безболезненная осумкованная масса, которая некротизируется, и развивается подкожный абсцесс. В тканях, гное обнаруживают коричневые дрожжеподобные 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, где вырастают оливково-черные колонии.

Лечение. Хирургическое удаление пораженных участков; назначают амфотерицин В, итраконазол.

* *Rhinosporidium seeberi* является возбудителем риноспоридиоза — хронической гранулематозной болезни, сопровождающейся образованием больших полипов и повреждений носа или конъюнктивы (обычно в Индии и Шри-Ланке).

** Различают также недемадиевые грибы — гиалогифомицеты (гиалиновые гифомицеты), образующие мицелий. Они вызывают гиалогифомикоз, этиологическими агентами которого являются различные виды: *Acremonium*, spp., *Beauveria*, spp., *Fusarium* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Scopulariopsis*.

17.3.4. Возбудители мицетомы

Мицетома (мадуромикоз, «мадурская нога») — хронический гнойно-воспалительный процесс подкожной клетчатки и смежных тканей. Возбудителями мицетомы являются дематиевые грибы (эумикотическая мицетома) или актиномицеты (актиномицетома) родов *Actinomyces*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Actinomadura*. Среди грибов встречаются *Pseudallescheria boydii*, *Acremonium* (*Cephalosporium*) *falciforme*, *Madurella grisea*, *Phialophora cryanescens*, *Exophiala jeanselmei*, *Scedosporium apiospermum*, *Leptosphaeria senegalensis*.

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. Половая стадия *P. boydii* сопровождается образованием клейстотетий (100–200 мкм), которые разрываются и высвобождают бледно-коричневые эллиптические аскоспоры.

Лечение. Применяют итраконазол. Возможна резекция пораженных тканей.

17.4. Возбудители системных (глубоких) эндемических микозов

Возбудители системных (глубоких) эндемических микозов распространены в почве, на разлагающихся органических субстратах, иногда в фекалиях птиц. Грибы попадают аэрогенным механизмом. У инфицированных лиц обычно симптомы заболевания отсутствуют; у некоторых больных развиваются поражения легких и системные поражения различных органов и тканей с тяжелыми формами болезни.

Большинство возбудителей — диморфные грибы: в тканях образуют дрожжевую форму; в окружающей среде на питательных средах при 20–25 °C растут в мицелиальной форме, а при 37 °C — в дрожжевой форме.

17.4.1. Возбудитель гистоплазмоза (*Histoplasma capsulatum*)

Histoplasma capsulatum вызывает *гистоплазмоз*, характеризующийся поражением ретикулоэндотелиальной системы; образуются гранулемы с поражением легких, носоглотки, гортани, ЖКТ и кожи.

Возбудитель имеет две разновидности: *H. capsulatum* var. *capsulatum* (американский гистоплазмоз) и *H. capsulatum* var. *duboisii* (африканский гистоплазмоз). Последний менее патогенен, он поражает кожу и кости, реже — легкие. Различают *американский* (*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. *H. capsulatum* — диморфный гриб: в макрофагах, гистиоцитах и тканях образует дрожжевую форму; на среде Сабуро при 20–25 °С растет в мицелиальной форме, а при 37 °С на кровяных средах — в дрожжевой форме. Несмотря на название вида, капсулу не имеет.

В тканях появляются округлые маленькие клетки диаметром 2–5 мкм, которые размножаются почкованием с узкого конца клетки. Почки располагаются цепочкой.

Чистая культура состоит из септированных ветвистых гифов диаметром до 5 мкм. Макроконидии крупные, округлой или грушевидной формы (диаметром 8–20 мкм) с шиловидными выступами. Микроконидии каплевидные размером 2–6 мкм.

Эпидемиология и патогенез. *H. capsulatum* var. *capsulatum* распространен повсеместно, чаще в тропиках и в некоторых долинах рек умеренного пояса, в США, странах Центральной и Южной Америки, а *H. capsulatum* var. *duboisii* — в Экваториальной Африке. Грибы встречаются в почве, особенно при загрязнении экскрементами птиц и летучих мышей; содержится в птичьих гнездах и пещерах, заселенных летучими мышами. Механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-пылевой. Инфицирование происходит при вдыхании пыли со спорами. Далее *H. capsulatum* var. *capsulatum* диссеминирует в ЦНС, надпочечники, кожу, слизистые оболочки и в другие ткани. Больной человек для окружающих не заразен. Особо опасный возбудитель, поэтому при работе с культурой гриба используют ламинар с двойной защитой. Иммуитет клеточный и гуморальный.

Микробиологическая диагностика проводится в лабораториях особо опасных инфекций. Исследуют гной, мокроту, соскобы из язв, ликвор, мочу, аспираты инфильтратов, абсцессов и др. Препараты окрашивают по Граму, Цилю–Нильсену, Романовскому–Гимзе и др. При *микроскопии* обнаруживают внутриклеточные (часто в гистиоцитах) и внеклеточные мелкие двухконтурные овальные дрожжеподобные клетки с одной почкой. Ставят РИФ, ПЦР. *Культуральный*

метод: *H. capsulatum* растет в виде бело-коричневых пушистых колоний на среде Сабуро, сывороточном или кровяном агаре. При *серологическом методе* определяют антитела в РСК, РИФ, РП. *Кожно-аллергические пробы* ставят с гистоплазмином, полученным из гифов гриба. *Биологическую пробу* проводят путем подкожного или внутрибрюшинного заражения белых мышей мицелиальной (культуральной) взвесью для трансформации гриба в дрожжевую фазу.

Лечение: амфотерицин В, итраконазол.

17.4.2. Возбудитель бластомикоза (*Blastomyces dermatitidis*)

Blastomyces dermatitidis вызывает *бластомикоз* (североамериканский бластомикоз, болезнь Гилкрита) — хроническое гранулематозное заболевание: висцеральная форма характеризуется развитием инфильтратов и каверн в легких, далее поражаются кости, печень, селезенка, ЦНС и мочеполовая система; при кожной форме образуются папулезно-пустулезные элементы с кровяно-гнойным содержимым.

Морфология. *B. dermatitidis* — диморфный гриб: в тканях образует дрожжевую форму; на питательных средах при 20–25 °С растет в мицелиальной форме, а при 37 °С — в дрожжевой форме.

В тканях появляются округлые и овальные клетки диаметром 8–15 мкм, имеющие двойную оболочку. Размножаются почкованием. Отпочковывающаяся клетка имеет широкую перетяжку.

При культивировании колонии состоят из септированных бесцветных гифов диаметром 1–3 мкм с обильными боковыми конидиями округлой или грушевидной формы (диаметром 2–10 мкм). При старении культуры образуются хламидоспоры диаметром 7–18 мкм.

Эпидемиология и патогенез. Возбудитель распространен в почве и на разлагающихся растительных остатках. Механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-пылевой. Инфицирование происходит при вдыхании спор. Заболевание встречается в Центральной и Южной Америке, Африке, реже — в других регионах.

Патогенез и клиника. *Инкубационный период* в среднем 1–4 мес. В легких из спор образуются дрожжевые формы гриба, развиваются первичные очаги воспаления, пневмония. Формируются гранулемы, появляются участки нагноения и некроза. После травмы развивается первичный бластомикоза кожи в виде бугорков, из которых формируются язвы с нависающими краями. Процесс может распространяться на слизистые оболочки.

Микробиологическая диагностика. Работу проводят в ламинарном боксе. Материал для исследований — гной, мокрота, биоптат, моча, соскобы из язв и др., мазки окрашивают гематоксилином и эозином, по Граму–Вейгерту, ШИК-реакцией, акридиновым оранжевым. Ставят РИФ. При *микроскопии* клинического

материала обнаруживают крупные дрожжеподобные клетки с толстой двухконтурной оболочкой, образующие по одной почке с широким основанием. *Чистую культуру* в виде серовато-желтых с пушком колоний получают при культивировании на среде Сабуро и других средах. *Серологический метод*: определяют антитела в РСК и др. *Кожно-аллергические пробы* ставят с бластомицином — экстрактом из клеток гриба.

Лечение: амфотерицин В, итраконазол.

17.4.3. Возбудитель кокцидиоидоза (*Coccidioides immitis*)

Coccidioides immitis вызывает кокцидиоидоз (кокцидиоидомикоз) — неконтагиозный микоз (больной человек для окружающих не опасен) в виде первичной легочной инфекции, гриппоподобного заболевания; иногда развиваются узловатая или многоформенная эритема, поражения кожи, костей, суставов и внутренних органов.

Морфология. *C. immitis* — диморфный гриб, имеющий мицелиальную фазу, заразную для человека, и тканевую (сферулярную) фазу, не заразную для человека. В мокроте, органах появляются сферулы (12–200 мкм в диаметре), содержащие эндоспоры (2–5 мкм в диаметре). Эндоспоры выходят из сферул, растут и превращаются снова в сферулы.

Колонии, выращенные при 25 °С, состоят из септированных тонких бесцветных гифов (мицелиальная фаза) и артроспор в виде бочонка.

Эпидемиология и патогенез. *C. immitis* встречается в почве засушливых районов юго-запада США и Латинской Америки. Источником возбудителя инфекции является почва, содержащая артроспоры. Механизм передачи — аэрогенный и контактный. Обычно инфицирование происходит при вдыхании артроспор, путь — воздушно-пылевой. **Инкубационный период** составляет от 1 до 6 нед. Артроспоры, попавшие в организм хозяина, трансформируются в тканевую форму — сферулу. Из сферул содержащиеся в них эндоспоры распространяются по организму, способствуя формированию вторичных очагов.

Иммунитет клеточный, развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. *C. immitis* наиболее вирулентный гриб, поэтому работу с ним проводят в специализированных лабораториях с ламинарным боксом. Материал для исследований — гной, мокрота, кровь, ликвор, моча и др. *При микроскопии* клинического материала обнаруживают характерные сферулы и эндоспоры. Применяют окраску гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, по Райту, по Граму–Вейгерту, ШИК-реакцию. *Чистую культуру* в виде сероватых пушистых колоний получают через неделю роста при 25 °С на среде Сабуро, обычных средах. Колонии состоят из гифов, хламидоспор и артроспор (мицелиальная фаза). *Серологический метод*: определяют антитела с помощью РП, РНГА, РСК. *Кожно-аллергические пробы* с кокцидиоидным

аллергеном, полученным из мицелиальной фазы, и с сферулином, полученным из тканевой фазы. *Биологическая проба*: интратестикулярное заражение белых мышей или хомяков мицелиальной (культуральной) взвесью для трансформации гриба в типичные сферулы.

Лечение: флуконазол, итраконазол, амфотерицин В.

17.4.4. Возбудитель паракокцидиоидоза (*Paracoccidioides brasiliensis*)

Paracoccidioides brasiliensis вызывает *паракокцидиоидоз* (паракокцидиоидомикоз, или южноамериканский бластомикоз) — редко встречающийся микоз с гранулематозным поражением легких, слизистых оболочек, кожи, особенно вокруг лица.

Гриб распространен в южной части Мексики и большей части Центральной и Южной Америки. Обитает на гниющих растениях и в почве. Механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-пылевой. Передается также при травме слизистых оболочек рта; образуются безболезненные язвы на слизистой оболочке ротовой полости или носа. От человека к человеку не передается. **Инкубационный период** — от одного до нескольких месяцев.

Морфология. В тканях гриб имеет сферическую или овальную форму дрожжевых клеток размером 30–60 мкм. Размножается почкованием. Отпочковывающаяся клетка имеет широкую перетяжку. Материнская клетка с почками приобретает вид «штурвала».

На среде Сабуро при 20–25 °С образует септированный мицелий с хламидоспорами и мелкими «сидячими» конидиями. При 37 °С на кровяном агаре образуются дрожжевые клетки размером 40–50 мкм, окруженные мелкими почкующимися клетками (диаметр 2–10 мкм) с суженным основанием.

Микробиологическая диагностика. Исследуют гной, отделяемое, биоптаты поражений, соскобы кожи и слизистых оболочек. При *микроскопии* препаратов, обработанных гидроокисью калия, выявляют дрожжеподобные клетки с тонкой оболочкой и большим количеством почкующихся клеток с суженным основанием. Препараты окрашивают гематоксилином и эозином, по Граму–Вейгерту, по Гомори–Грокотту, акридиновым оранжевым. *Серологический метод*: РП, РСК, РИД, ИФА.

Лечение: амфотерицин В, итраконазол, кетоконазол.

17.4.5. Возбудитель криптококкоза (*Cryptococcus neoformans*)

Криптококкоз вызывается инкапсулированными условно-патогенными дрожжами рода *Cryptococcus*. Заболевание развивается у лиц с выраженным иммунодефицитом, сопровождается поражением легких, ЦНС и кожи.

Различают два варианта гриба: *C. neoformans* var. *neoformans* и *C. neoformans* var. *gattii*. Спорадические случаи, возможно, вызваны *C. albidus* и *C. laurentii*. Грибы обитают в почве, выделены из фруктов, молока, масла, овощей, травы, воздуха; содержатся в помете голубей и других птиц. *C. neoformans* — строгий микроб-оппортунист, вызывающий СПИД-индикаторное заболевание; иногда вызывает микоз у людей с нормальным иммунитетом. Инфицирование происходит воздушно-пылевым путем, иногда через поврежденную кожу или алиментарным путем. Заражение *C. neoformans* var. *gatti* происходит при тесном контакте с эвкалиптом (гриб обитает в почве под цветущим деревом). Заболевание встречается повсеместно; *C. neoformans* var. *gattii* чаще вызывает заболевание в странах теплого и жаркого климата.

Морфологические и культуральные свойства. В макрофагах, тканях появляется округлая клетка диаметром 3–25 мкм с одной маленькой почкой. Имеется большая полисахаридная капсула (глюкуронооксиломаннан) в виде светлого ореола. Иногда выявляется редуцированный мицелий.

При культивировании на питательных средах образуются округлые или овальные дрожжевые клетки диаметром 4–8 мкм с полисахаридной капсулой. Размножение — почкованием. Почка с узким основанием. *C. neoformans* может также иметь псевдомицелий и истинный мицелий. Совершенная форма *C. neoformans*, называемая *Filobasidiella neoformans*, образует гифы, на которых есть много боковых и концевых базидий с базидиоспорами.

Факторы патогенности — капсула, подавляющая фагоцитоз, и выявленный только у криптококков фермент фенолоксидаза.

Иммунитет. Преобладает клеточный иммунитет. Отрицательная ГЗТ на антигены гриба у больных свидетельствует о клеточном иммунодефиците и считается плохим прогностическим признаком.

Клиника. Происходит медленное развитие криптококкового менингита с явлениями лихорадки, ригидности затылочных мышц, головной боли, головокружения, нарушения зрения и повышенной возбудимости. Более остро нарушения протекают при СПИДе. Поражения легких сопровождаются кашлем со слизистой мокротой, потливостью и слабовыраженной лихорадкой. На коже появляются папулы и язвы с приподнятыми краями. Происходит диссеминация возбудителя в глаз, кости и предстательную железу. Первичный криптококкоз часто протекает бессимптомно, либо его проявления незначительны.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — гной, ликвор, мокрота, соскобы из язв, моча и др. Для *микроскопии* препараты окрашивают по Граму, Граму–Вейгерту, Романовскому–Гимзе, ШИК-реакцией, акридиновым оранжевым. Признаком криптококкового менингита служат почкующиеся дрожжевые клетки с капсулой, обнаруживаемые при микроскопии осадка ликвора, смешанного с каплей индийской туши. На среде Сабуро грибы через 2 нед. при 37 °C образуют слегка выпуклые, блестящие, сметанообразные с кремовым оттенком колонии. При *серологическом методе* определяют антиге-

ны или антитела в реакции латекс-агглютинации. Методом ИФА определяют полисахарид капсулы — глюкуронооксиломаннан. *Биологическую пробу* проводят путем внутривенного или интрацеребрального заражения лабораторных животных. *Молекулярно-генетический метод* — гибридизация ДНК.

Лечение: амфотерицин В, флуконазол, итраконазол, флуцитозин.

17.5. Возбудители оппортунистических микозов

Возбудители оппортунистических микозов — условно-патогенные грибы родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Candida* и др. (табл. 17.6). Находятся в почве, воде, воздухе, на гниющих растениях; некоторые входят в состав факультативной микрофлоры человека (например, грибы рода *Candida*). Вызывают заболевания у лиц с трансплантатами, на фоне сниженного иммунитета, нерациональной длительной антибиотикотерапии, гормонотерапии, использования инвазивных методов исследования.

Таблица 17.6

Возбудители оппортунистических микозов

Возбудитель	Микозы
<i>Candida spp.</i>	Кандидоз
Зигомицеты (<i>Rhizopus spp.</i> , <i>Mucor spp.</i> и др.)	Зигомикоз (фикомикоз)
<i>Aspergillus spp.</i>	Аспергиллез
<i>Penicillium spp.</i>	Пенициллизоз
<i>Fusarium spp.</i>	Фузариоз, микотоксикоз
<i>Pneumocystis (carinii) jiroveci</i>	Пневмоцистная пневмония

17.5.1. 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 значимые виды: *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. catenulata*, *C. ciferrii*, *C. guilliermondii*, *C. haemulonii*, *C. kefyr* (ранее *C. pseudotropicalis*), *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. parapsilosis*, *C. pulcherrima*, *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 (3–4 мкм), псевдогифами (5–10 мкм) 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 хламидоспоры — толстостенные двухконтурные крупные овальные споры. В тканях кандиды растут в виде дрожжей и псевдогифов.

Эпидемиология. Кандиды обитают на растениях, плодах, являются частью нормальной микрофлоры млекопитающих и человека. Виды рода *Candida*, относящиеся к нормальной микрофлоре, 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 уrogenитального кандидоза.

Патогенез и клиника. Кандиды — одни из наиболее распространенных возбудителей микозов (кандидозов). Развитию кандидоза способствуют неправильное назначение антибиотиков, обменные и гормональные нарушения, иммунодефициты, 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 кандид-сепсис) кандидоз; аллергию на антигены кандид.

При кандидозе рта на слизистых оболочках развивается так называемая молочница с белым творожистым налетом, возможны атрофия или гипертрофия, гиперкератоз 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 характеризуется воспалительным поражением определенных органов и тканей (кандидоз пищевода, кандидный гастрит, кандидоз органов дыхания, кандидоз мочевыделительной системы). Важным признаком диссеминированного кандидоза является грибковый эндофтальмит (экссудативное изменение желто-белого цвета сосудистой оболочки глаза).

Возможно развитие кандидной аллергии ЖКТ, 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. Преобладает клеточный иммунитет; 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 Циля–Нильсена; сахаромицеты обычно не образуют псевдомицелия.

Наличие *кандидемии* устанавливают при положительной гемокультуре с выделением из крови *Candida spp.* Кандидозная уроинфекция устанавливается при обнаружении более 10⁵ колоний *Candida spp.* в 1 мл мочи.

Можно также проводить *серологическую диагностику* (реакция агглютинации, реакция иммунодиффузии, РСК, РП, ИФА) и постановку *кожно-аллергической пробы* с кандида-аллергеном.

Лечение: амфотерицин В (неактивен против *C. lusitaniae*), флуцитозин, флуконазол (не действует на *C. krusei* и *C. glabrata*), каспофунгин, итраконазол (следует контролировать чувствительность к антимикотикам).

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.

17.5.2. Возбудители зигомикоза

Зигомикозы (фикомикозы) вызываются зигомицетами, относящимися к низшим грибам (фикомицетам) с несептированными гифами. возбу-

дители — грибы родов *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Rhizomucor*, *Basidiobolus*, *Conidiobolus*, *Cunninghamella*, *Saksenaea* 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. 2.12). 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) желто-бурые спорангии с овальными спорами; *Rhizopus nigricans* — темно-бурый мицелий с чернеющими спорангиями (диаметр до 150 мкм), содержащими шероховатые споры; *Absidia corymbifera* — 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 (септы встречаются редко). На питательных средах образуются серые, черно-серые, коричневые колонии. Грибы рода *Rhizopus* имеют дугообразно изогнутые гифы — «усы», или столоны. Мицелий прикрепляется к субстрату ризоидами — специальными ответвлениями. Антитела выявляют в ИФА, РП.

Лечение. Применяются амфотерицин В, новые триазолы (позаконазол). Проводится хирургическая обработка очагов мукороза.

Профилактика. Профилактика осуществляется на основе санитарно-гигиенических мероприятий. Внутрибольничное инфицирование предупреждается контролем стерильности медицинского оборудования и чистоты воздуха.

17.5.3. Микроспоридии (тип *Microspora*)

Микроспоридии вызывают *микроспоридиоз* в виде хронической диареи, гнойно-воспалительных заболеваний, кератита, диссеминированной инфекции у иммунодефицитных лиц (табл. 17.7).

Таксономия. Микроспоридии — условно-патогенные грибы класса *Microsporidia* типа *Zygomycota*; относятся к низшим грибам (фикомицетам). Описано более 140 родов и 1300 видов микроспоридий. Ранее их относили к простейшим. Патогенные для человека виды представлены восемью родами (*Enterocytozoon*, *Encephalitozoon*, *Nosema*, *Pleistophora*, *Vittaforma*, *Microspoidium*, *Brachiola*, *Trachipleistophora*) и неклассифицированными микроспоридиями.

Характеристика возбудителей. Микроспоридии — мелкие (0,5–2,5 мкм) округлые примитивные микробы с чертами простейших и грибов; облигатные внутриклеточные паразиты. Внутриклеточное размножение паразита происходит путем повторных делений надвое (мерогония), множественным делением (шизогония) и спорообразованием (спорогония). Споры грамположительные, кислотоустойчивые.

Инфицирование происходит в результате заглатывания спор микроспоридий, которые проходят в двенадцатиперстную кишку. Спора содержит спороплазму с ядром и выталкивающим аппаратом, который состоит из трубчатой нити с ядерным диском. Считается, что это «один из самых искушенных механизмов инфекции в биологии». При контакте с клеткой нить выбрасывается и спороплазма попадает внутрь клетки. Это развитие происходит или при прямом контакте с цитоплазмой клетки-хозяина (например, *E. bienersi*), 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 и выходят из нее. Созревшие споры вновь инфицируют новые клетки, повторяя цикл развития. Развивается локальное воспаление. После спорогонии зрелые споры, содержащие спороплазму, выделяются в окружающую среду. Споры имеют размеры от 0,8 до 1,4 мкм у *E. bienersi* и от 1,5 до 4 мкм у *Enterocytozoon spp.*

Эпидемиология. Микроспоридии широко распространены среди животных, которые выделяют резистентные споры с калом и мочой. Передаются фекально-оральным механизмом, реже — через респираторный тракт и контактными путем (при конъюнктивитах).

Клиника. Микроспоридии *Enterocytozoon bienersi* и *Enterocytozoon intestinalis* (ранее *Septata 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 кера-

тит, 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.

Таблица 17.7

Поражения, вызываемые микроспоридиями

Виды микроспоридий	Клинические проявления
<i>Brachiola</i> spp. (<i>B. algerae</i> , <i>B. vesicularum</i>)	Кератоконъюнктивит, инфекции кожи и мышц
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	Диарея, бескаменный холецистит (воспаление желчного пузыря), респираторная инфекция
<i>Encephalitozoon intestinalis</i> (ранее <i>Septata intestinalis</i>)	Диарея, диссеминированная инфекция глаз, урогенитального и респираторного тракта
<i>Enterocytozoon hellem</i> , <i>Encephalitozoon cuniculi</i>	Кератоконъюнктивит, инфекция респираторного и урогенитального тракта, диссеминированная инфекция
<i>Microspoidium</i> (<i>M. ceylonensis</i> , <i>M. africanum</i>)	Инфекция роговицы
<i>Nosema</i> spp. (<i>N. connori</i> , <i>N. ocularum</i>)	Инфекция глаз
<i>Vittaforma corneae</i> (син.: <i>Nosema corneum</i>)	Инфекция глаз и урогенитального тракта
<i>Trachipleistophora hominis</i> , <i>T. anthropophthera</i>	Инфекция мышц, диссеминированная инфекция
<i>Pleistophora</i> spp.	Инфекция мышц

Микробиологическая диагностика проводится путем микроскопического изучения биоптата кишечника, мочевого пузыря или мазка из цереброспинальной жидкости, бронхоальвеолярной жидкости, осадка мочи и др. 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. При кератоконъюнктивите возможно местное применение фурагилина.

Профилактика. Неспецифическая, сходная с мероприятиями при криптоспориidioзе.

17.5.4. Возбудители аспергиллеза (род *Aspergillus*)

Аспергиллез вызывается аспергиллами — септированными плесневыми грибами рода *Aspergillus*.

Морфология и физиология. Аспергиллы имеют септированный ветвящийся мицелий (см. рис. 2.13). Размножаются в основном бесполым путем, обра-

зую конидии черного, зеленого, желтого или белого цветов. Конидии отходят от одного или двух рядов клеток — стеригм (метул, фиалид), находящихся на вздутии споронесущей гифы (конидиеносца). Аспергиллы — строгие аэробы. Растут на средах Сабуро, Чапека, сусло-агаре и др. при температуре 24–37 °С. Через 2–4 дня на плотных средах вырастают белые пушистые колонии, которые в последующем дополнительно окрашиваются.

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, в основном легких, в виде шарика из мицелия, окруженного плотной волокнистой стенкой;
- 4) *аспергиллез кожи* — при загрязнении ран спорами или при гематогенной диссеминации появляются гиперемизированные бляшки, трансформирующиеся в язвы.

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* и *серологические реакции* (РП, ИФА и др.).

Лечение проводят амфотерицином В (*A. terreus* — *устойчив*), каспофунгином, итраконазолом и хирургическим удалением пораженных участков.

Профилактика. Профилактика осуществляется на основе санитарно-гигиенических мероприятий. Внутрибольничное инфицирование предупреждается контролем стерильности медицинского оборудования и чистоты воздуха.

17.5.5. Возбудители пенициллизма (род *Penicillium*)

Пенициллизм вызывается пенициллами — септированными плесневыми грибами рода *Penicillium*.

Морфология и физиология. Пенициллы образуют мицелий из септированных ветвящихся гифов (см. рис. 2.13). 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, желто-коричневого, 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.

Патогенез и клиника. Пенициллы вызывают *пенициллизм* у пациентов с ослабленным иммунитетом. Патогенез и клиника сходны с аспергиллезом. Основной иммунитет — клеточный. Развивается ГЗТ.

В Юго-Восточной Азии *P. marneffe* (возможный резервуар — бамбуковые крысы) вызывает заболевание, похожее на *гистоплазмоз*. Гриб обладает диморфизмом: при 25 °С формируется мицелий с красным пигментом, а при 37 °С и в инфицированной ткани — дрожжи.

Микробиологическая диагностика. В препаратах (кожа, ногти, роговица, отделяемое пазух носа, наружного слухового прохода; мокрота, гной, кал, биоптаты тканей), окрашенных гематоксилином и эозином, по Романовскому–Гимзе, по Райту, выявляют длинные ветвящиеся септированные гифы и крупные округлые конидии. *P. marneffe* имеет вид овальных клеток.

Лечение. Назначают амфотерицин В, итраконазол.

17.5.6. 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, веретеновидно-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. anthophilum*, *F. chlamydosporum*). Развиваются лихорадка и высыпания. Очаги поражения локализуются в основном на конечностях.

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. 17.6).

Микробиологическая диагностика. Исследуют ногти, кожу, подкожную клетчатку, роговицу, кровь, кончик постоянного катетера, рвотные массы, кал, биоптаты тканей. Выделяют грибы и определяют их токсины. Применяют РИФ. 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. Иногда ставят ПЦР.

Лечение: амфотерицин В, новые триазолы (вориконазол или позаконазол).

17.5.7. Возбудитель пневмоцистоза (*Pneumocystis jiroveci*)

Пневмоцистоз (син.: пневмоцистная пневмония) — болезнь, вызванная пневмоцистами (*Pneumocystis jiroveci*); характеризуется развитием пневмонии у лиц с ослабленным иммунитетом (недоношенность, врожденный или приобретенный иммунодефицит, ВИЧ-инфекция).

P. jiroveci 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. 17.5). Трофозоиты — клетки, покрытые пелликулой и капсулой. Они имеют овальную или амёбовидную 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.

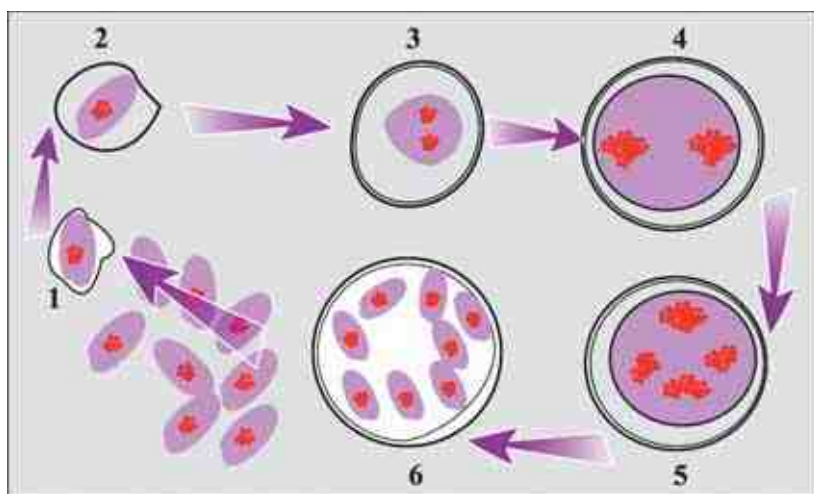


Рис. 17.5. Схема цикла развития пневмоцист:

1–2 — трофозоиты амебной формы; 3–5 — стадии мейоза и митоза; 6 — циста, содержащая восемь внутрицистных телец

Эпидемиология и клиника. Пневмоцистная пневмония не зооноз. Источником инфекции являются люди. Путь передачи преимущественно воздушно-капельный. **Инкубационный период** от 1 до 5 нед. Пневмоцистоз — оппортунистическая инфекция с поражением легких, ведущая СПИД-маркерная инфекция. Пневмоцистная пневмония протекает с одышкой, лихорадкой и сухим кашлем. Смерть наступает при дыхательной недостаточности. Но обычно это бессимптомная инфекция; свыше 70% здоровых людей имеют антитела против пневмоцист. Большинство здоровых детей инфицируется грибом в 3–4-летнем возрасте.

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. Для лечения применяют ко-тримоксазол, пентамидин, каспофунгин и комбинацию примахина с клиндамицином.

Профилактика. Профилактика пневмоцистоза сводится к предупреждению воздушно-капельного инфицирования пневмоцистами и повышению иммунного статуса организма, особенно у ВИЧ-инфицированных.

17.6. Возбудители микотоксикозов

Микотоксикозы — пищевые отравления (интоксикации) 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 пастбе 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 йонизирующего излучения.

Одни из распространенных алиментарных микотоксикозов людей и животных — *фузариотоксикозы* (возбудители — несовершенные грибы рода *Fusarium*): *споротрихеллотоксикоз*, *фузариограминеаротоксикоз*, *фузарионивалетоксикоз*. Грибы рода *Fusarium* продуцируют токсины зеараленон, фумонизины, монилиформин, фузарохроманон, ауорофузарин, а также токсины группы трихотеценов (около 100 трихотеценовых микотоксинов — дезоксиниваленол и др.), образуемые ими, наряду с другими грибами (*Cephalosporium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* и *Trichothecium*).

Споротрихеллотоксикоз (алиментарно-токсическая алейкия) — тягелое заболевание, связанное с действием микотоксинов гриба *Fusarium sporotrichioides*

Гриб развивается на зерновых культурах, перезимовавших под снегом, или при позднем сборе урожая зерновых. Отравления могут вызывать и другие раз-

новидности гриба. Отравление фузариозным зерном раньше называли септической ангиной из-за сходства заболевания с некротической ангиной. Обычно через 1–2 нед. 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.

Считают, что поражение так называемой *уровской болезнью* (болезнь Кашина–Бека) связано с употреблением зерна, зараженного разновидностью гриба рода *Fusarium* (*F. tricinctum*, *F. poeae*, *F. sporotrichiella*). Болезнь встречается в Восточном Забайкалье и вдоль селений по берегу р. Урва (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 graminearum*.

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, аборт, 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 В. 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*, *Aspergillus elevatus*, *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 — *Claviceps purpurea* и *Claviceps paspali*.

Рожки спорыньи — это склеротии 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 (нейротоксическое 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 три 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 B_1 , B_2 , B_{2a} , G_1 , G_2 , G_{2a} , M_1 , M_2 , 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 груп-

пы 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 alternans*. У людей контакт с зараженным кормом может приводить к развитию дерматитов или пневмокониозов. Появился даже термин синдром «больных зданий», частично отражающий действие гриба, обитающего в строениях, на людей этих помещений (вдыхание токсина и спор гриба).

Микробиологическая диагностика. Основана на выявлении грибов или микотоксинов в полученном урожае, пищевых продуктах, кормах для скота, а также различного сырья, полученного из животных. Микотоксин извлекают из пробы органическим растворителем и выявляют с помощью хроматографии, спектрофотометрии и биопробы на куриных эмбрионах, культурах клеток, утятах, крысятах, морских свинках, мышах, голубях, некоторых микроорганизмах. Возможно применение ИФА и РИА.

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. Разработаны нормы ПДК микотоксинов в продуктах питания. Конечной целью профилактики микотоксикозов является полное освобождение продуктов питания и кормов от микотоксинов.

В последнее время изменились представления о классификации простейших (см. разд. 2.4), спектр заболеваний, которые они вызывают, приведен в табл. 18.1.

Таблица 18.1

Простейшие, имеющие медицинское значение

Представитель	Болезнь
Амебы (в том числе жгутиконосные амебы <i>Naegleria fowleri</i>)	
<i>Entamoeba histolytica</i>	Амебиаз
<i>Acanthamoeba</i> spp., <i>Balamuthia mandrillaris</i> , <i>Naegleria fowleri</i>	Амебный менингоэнцефалит, абсцесс мозга, кератит
Жгутиконосцы	
<i>Leishmania</i> spp. (<i>L. donovani</i> , <i>L. tropica</i> , <i>L. chagasi</i> , <i>L. major</i> , <i>L. mexicana</i> и др.)	Лейшманиозы
<i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	Африканский трипаносомоз
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	Болезнь Шагаса
<i>Lamblia intestinalis</i> (<i>Giardia lamblia</i>)	Диарея, мальабсорбция
<i>Trichomonas tenax</i> (<i>T. buccalis</i>)	Легочный трихомоноз
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Вагинит, уретрит
Споровики	
<i>Plasmodium vivax</i>	Трехдневная малярия
<i>Plasmodium ovale</i>	Малярия ovale
<i>Plasmodium malariae</i>	Четырехдневная малярия
<i>Plasmodium falciparum</i>	Тропическая малярия
<i>Babesia</i> spp.	Бабезиоз
<i>Toxoplasma gondii</i>	Токсоплазмоз
<i>Sarcocystis</i> spp.	Саркоцистоз
<i>Isospora</i> spp.	Диарея
<i>Cryptosporidium</i> spp.	Криптоспоридиоз
<i>Cyclospora</i> spp.	Диарея

Продолжение ⇨

Окончание табл. 18.1

Представитель	Болезнь
Реснитчатые	
<i>Balantidium coli</i>	Балантидиазная дизентерия
Родственные микроорганизмы (царство <i>Chromista</i> — хромовики)	
<i>Blastocystis hominis</i>	Бластоцистоз

18.1. Амебы

Большинство амеб обитает в окружающей среде, некоторые виды — в организме человека и животных. Форма амеб непостоянна; они передвигаются, образуя изменяющиеся выросты — псевдоподии (отсюда название от греч. *amoibe* — изменение). Питаются бактериями и мелкими простейшими. Размножаются бесполым способом (делением надвое). Жизненный цикл включает стадии трофозои (растущая, подвижная клетка) и цисты. Из трофозои образуется циста, устойчивая к внешним факторам. Попад в кишечник, она превращается в трофозоит.

Различают патогенные и непатогенные амебы. К патогенным амебам относят дизентерийную амебу (*Entamoeba histolytica*) и свободноживущие патогенные амебы: акантамебы (род *Acanthamoeba*) и неглерии (род *Naegleria*). *Naegleria fowleri* является жгутиконосной амебой. Она вызывает амебный менингоэнцефалит. В толстой кишке человека обитают непатогенные амебы — кишечная амеба (*Entamoeba coli*), амеба Гартманна (*Entamoeba hartmanni*), йодамеба Бючли (*Iodamoeba buetschlii*) и др. Иногда они могут вызывать заболевания. Во рту часто обнаруживают ротовую амебу (*Entamoeba gingivalis*), особенно при заболеваниях полости рта.

18.1.1. 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.

Возбудитель открыт в 1875 г. русским ученым Ф.А. Лешем.

Морфология. Различают две стадии развития возбудителя: вегетативную и цистную (рис. 18.1). *Вегетативная* стадия имеет несколько форм: большая вегетативная (тканевая) — *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).

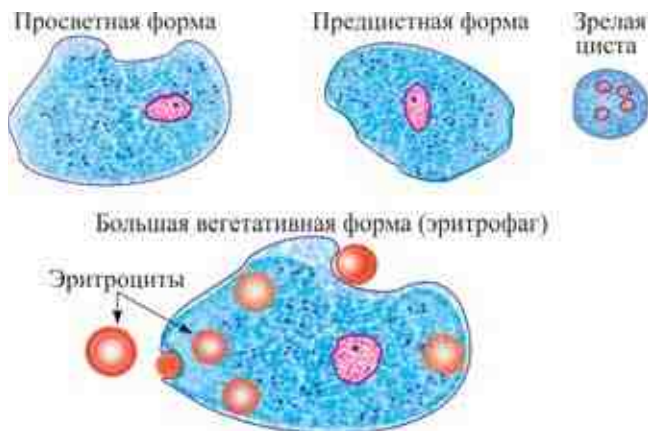


Рис. 18.1. Формы *Entamoeba histolytica*

- **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 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 2 нед. В продуктах питания, на овощах и фруктах цисты сохраняются в течение нескольких дней. При кипячении они 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 амев могут обитать в толстой кишке, не вызывая заболевания. Такой человек является здоровым носителем *E. histolytica*, выделяющим цисты. Широко распространено бессимптомное носительство *E. histolytica*. При снижении иммунитета просветные формы амев внедряются в стенку

кишки и размножаются в виде тканевых форм. 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, гематофаги); могут обнаруживаться в свежевыделенных 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**. Образуются единичные или множественные амебные абсцессы размером от едва заметных глазом до 10 см в диаметре. Возможно появление кожного амебиаза: на коже перианальной области и промежности образуются эрозии и малоболлезненные язвы. Широко распространено бессимптомное носительство *E. histolytica*.

Иммунитет при амебиазе нестойкий. Антитела образуются только к тканевым формам *E. histolytica*. Активируется преимущественно клеточное звено иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Основным методом является *микроскопическое исследование* испражнений больного, а также содержимого абсцессов внутренних органов. Мазки окрашивают раствором Люголя или гематоксилином. *E. histolytica* дифференцируют по цистам и трофозоидам от других кишечных простейших типа *E. coli*, *E. hartmanni*, *E. polecki*, *E. gingivalis*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba buetschlii* и др. Антитела к возбудителю выявляют в РНГА, ИФА, непрямой РИФ, РСК и др. Наиболее высокий титр антител в сыворотке крови выявляют при внекишечном амебиазе. *Молекулярно-биологический метод* (ПЦР) позволяет определять в фекалиях маркерные участки ДНК *E. histolytica*.

Лечение. Применяют метронидазол, тинидазол, мексаформ, осарсол, ятрен, дийодохин, делагил, дигидроэмитин и др.

Профилактика связана с выявлением и лечением цистовыделителей и носителей амёб, проведением общесанитарных мероприятий.

18.1.2. Свободноживущие патогенные амебы

Свободноживущие амебы относятся к родам *Acanthamoeba*, *Naegleria* и *Balamuthia*. Вызывают *первичный амёбный менингоэнцефалит*, *абсцесс мозга*, *кератит*. Таксономическое положение сходно с таковым возбудителя амёбиаза.

Морфология. Форма трофозоитов амёбовидная.

Неглерии образуют одну большую псевдоподию и иногда, вытягиваясь в овальную форму, приобретают два полярных жгутика (амёбофлагеллаты). Размер неглерий — 15–30 мкм. **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.

Balamuthia mandrillaris имеет размер 12–60 нм. В неблагоприятных условиях эти амёбы образуют одноядерные цисты овальной формы с морщинистой двухконтурной оболочкой (у неглерий она гладкая).

Резистентность. Цисты резистентны к дезинфицирующим веществам, высушиванию и замораживанию.

Эпидемиология. Свободноживущие амёбы, питаясь бактериями, обитают в загрязнённых пресноводных водоёмах, сточных водах, иле, влажных почвах, воздушных фильтрах. Неглерии и акантамёбы, 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 амёбный менингоэнцефалит, вызванный акантамёбами), гранулематозный процесс (гранулематозный энцефалит, вызванный *Acanthamoeba castellanii*, *A. culbertsoni*, *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*). У людей, носящих контактные линзы, могут поражаться глаза.

Клиническая симптоматика проявляется через 5 дней после инфицирования. Появляются головная боль, тошнота, ринит. Летальный исход — через 3–10 суток. Менее остро протекает болезнь, вызванная акантамёбами.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом исследовании готовят нативные и окрашенные мазки из цереброспинальной жидкости, мокроты, биоптатов соскобов со слизистых носоглотки, с роговицы. В мазках выявляют единичные подвижные увеличенные амёбы. Для идентификации применяют РИФ.

Лечение: при кератитах — комбинация неомицина, полимиксина В и бацитрацина в сочетании с другими антибиотиками (капли макситрола) и перорально клотримазол. При амёбиазе — метронидазол, паромомицин.

Профилактика. Включает соблюдение общегигиенических правил; избегание контакта с загрязнённой водой.

18.2. Жгутиконосцы

К жгутиконосцам относятся лейшмании, трипаномы, лямблии и трихомонады. Они 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.

18.2.1. Лейшмании (род *Leishmania*)

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 г.) и Ш. Донованом (1903 г.) независимо друг от друга.

Инфекцию у людей вызывает 21 из 30 видов, инфицирующих млекопитающих. Они включают *L. donovani*-комплекс с тремя видами (*L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*); *L. mexicana*-комплекс с тремя главными видами (*L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. venesuelensis*); *L. tropica*; *L. major*; *L. aethiopica*; подрод *Viannia* с четырьмя 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.

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 удлинённую 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. 18.2, а).

Безжгутиковый цикл проходит в ретикулоэндотелиальных клетках печени, селезенки, лимфатических узлов, в макрофагах (см. рис. 18.2, б, в) 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.

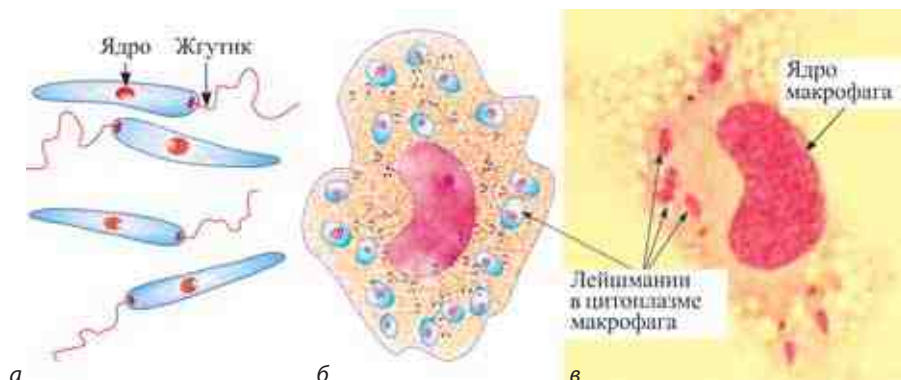


Рис. 18.2. Схема строения лейшманий:

а — жгутиковая форма (промастигота); *б, в* — безжгутиковая форма в макрофаге (амастигота — схема и препарат)

Культивирование. Для культивирования используют питательную среду NNN (по первым буквам фамилий авторов — Николь, Нови, Нил), содержащую агар с дефибринированной кровью кролика. Лейшмании также растут на хорион-лантоисной 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 кожного 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 мес. 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 нед. Мокнувшие язвы чаще локализуются на нижних конечностях. Продолжительность болезни 2–6 мес.

Кожно-слизистый лейшманиоз (эспундия) вызывают лейшмании 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 нед. до 3 мес.

Индийский висцеральный лейшманиоз (антропонозный висцеральный лейшманиоз (кала-азар, черная болезнь) вызывается лейшманиями комплекса *L. donovani*; встречается в основном в Евразии и Южной Америке. **Инкубационный период** в среднем 5–9 мес. У больных поражаются селезенка, печень, лимфоузлы, костный мозг и пищеварительный тракт. Развиваются гипергаммаглобулинемия, дистрофия и некроз органов. Из-за поражения надпочечников кожа темнеет, на ней появляются высыпания — лейшманоиды.

Средиземноморско-среднеазиатский висцеральный лейшманиоз (возбудитель *L. infantum*) имеет сходную клинику, кроме изменений со стороны кожи, которая бледнеет. **Инкубационный период** от 1 мес. до 1 года. Чаще болеют дети.

Бразильский кожно-слизистый лейшманиоз (эспундия) вызывает *L. braziliensis*; развивается гранулематозное и язвенное поражение кожи носа, слизистых оболочек рта и гортани. **Инкубационный период** от 2 нед. до 3 мес. Изменяется форма носа (нос тапира). Встречается в Центральной и Южной Америке, как и сходные болезни, вызываемые *L. mexicana* (мексиканский лейшманиоз), *L. peruviana* (перуанский лейшманиоз), *L. panamensis* (панамский лейшманиоз) и др.

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 лейшмании (амастиготы). Для выделения чистой культуры возбудителя делают посев на среду NNN: инкубация 3 нед. 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 нед. после заболевания.

Лечение. При кожном лейшманиозе на язвы местно применяют мази хлорпромазина, паромомицина или клотримазола. Для системного лечения назначают инъекции препаратов окиси пентавалентной сурьмы — стибоглюконат (пентостам).

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.

18.2.2. Трипаномы (род *Tripanosoma*)

Для человека патогенны *Tripanosoma brucei gambiense* и *Tripanosoma brucei rhodesiense* (разновидности *Tripanosoma brucei*), вызывающие африканский трипаномоз, или сонную болезнь, и *Tripanosoma cruzi* — возбудитель американского трипаномоза (болезнь Шагаса).

Возбудители были открыты в 1902 г. Д. Датонем (*T. gambiense*), в 1909 г. Ш. Шагасом (*T. cruzi*) и в 1910 г. Г. Фантенем (*T. rhodesiense*).

Характеристика возбудителей. Трипаномы по размерам (1,5–3 × 15–30 мкм) более крупные, чем лейшмании. Клетки имеют узкую продолговатую форму, жгутик и ундулирующую мембрану (рис. 18.3). Размножаются бесполом путем (продольное деление). Трипаномозы — трансмиссивные болезни. Источником инфекции являются домашние и дикие животные, инфицированный человек. Переносчик африканского трипаномоза — 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 удлинённой клетки (около ядра). Ундулирующая мембрана не выражена.
- **Трипомастиготы** (трипаномальная стадия) находятся в крови животных и человека. Жгутик отходит от задней части удлинённой клетки. Ундулирующая мембрана резко выражена.
- **Амастиготы** не имеют жгутика, клетки овальные. Такая стадия характерна для *T. cruzi*, обитающей в мышцах и других тканевых клетках человека.

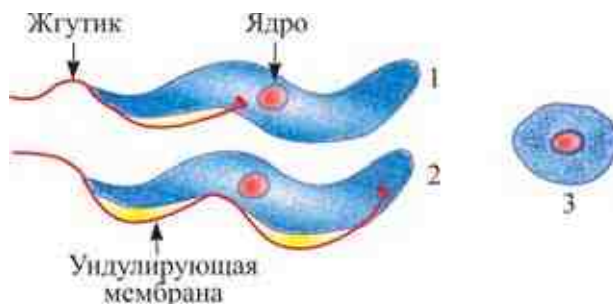


Рис. 18.3. Схема строения трипаном:

1 — эпимастиготы (критидиальная стадия); 2 — трипомастиготы (трипаномальная стадия);
3 — амастиготы (безжгутиковая стадия)

Патогенез и клиника. Африканский трипаномоз, вызываемый *T. gambiense* (гамбийская форма), протекает хронически, а если возбудителем является *T. rhodesiense* (родезийская форма), развивается острая, более тяжёлая форма болезни. В месте укуса переносчиком — мухой цеце — к концу недели развивается изъязвляющаяся папула — «трипаномный» шанкр, откуда размножающи-

еся 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. В случае *T. gambiense* человек является основным хозяином, а свиньи — дополнительным. Основными хозяевами *T. rhodesiense* являются антилопы, крупный рогатый скот, козы и овцы, реже — человек.

Американский трипаносомоз развивается в течение 1–3 нед. 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 возможно только в острой фазе бензнидазолом или нифуртимоксом.

Профилактика. Неспецифическую профилактику трипаносомоза проводят путем ликвидации мест выплода переносчиков возбудителя и уничтожения инфицированных животных. В личной профилактике применяют репелленты и защитную одежду. Также выявляют и лечат инфицированных лиц.

18.2.3. 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.

Характеристика возбудителя. Vegetативная клетка *Giardia intestinalis* плоская, имеет грушевидную форму $12\text{--}15 \times 5\text{--}9$ мкм, два ядра (рис. 18.4). Четыре пары жгутиков обеспечивают вращательное движение клетки. Лямблии размножаются путем продольного деления. Они прикрепляются к эпителиоцитам кишечника с помощью присасывательного диска и за счет адгезии микровыростов плазмолеммы трофозонта. Попадая из мест обитания — верхних отделов кишечника — в менее благоприятные нижние отделы кишечника, лямблии образуют овальные четырехядерные цисты ($8\text{--}12 \times 7\text{--}10$ мкм), окруженные толстой двуконтурной оболочкой.

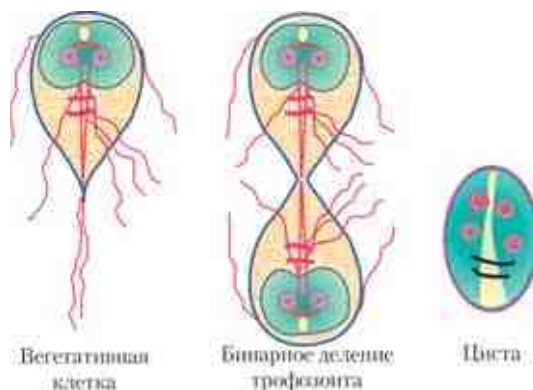


Рис. 18.4. Схема строения лямблий

Резистентность. Цисты лямблий, попавшие с испражнениями в окружающую среду, устойчивы к низким температурам, сохраняются в почве и холодной воде более 2 мес. Цисты не погибают при хлорировании воды, но мгновенно погибают при кипячении.

Эпидемиология. Источником инфицирования цистами являются люди — больные и носители, реже — собаки, крупный рогатый скот, бобры, ондатры, олени. Механизм заражения — фекально-оральный, через загрязненную воду, пищу, руки и предметы обихода. Возможны водные вспышки диареи. 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-лимфоцитов 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 (окраска раствором Люголя). В случае диареи и при дуоденальном зондировании в нативных препаратах обнаруживают вегетативные формы (трофозоиты). Типичным является их движение в виде падающего листа. *Серологический метод* подтверждает наличие специфического процесса по нарастанию титра антител в ИФА и непрямой РИФ.

Лечение. Применяют метронидазол, тинидазол, орнидазол, фуразолидон.

Профилактика. Сходна с профилактическими мерами при амебиазе.

18.2.4. Трихомонады (род *Trichomonas*)

Трихомоноз — антропонозная болезнь (инвазия), вызываемая мочеполовой трихомонадой (*Trichomonas vaginalis*); сопровождается поражениями мочеполовой системы. Другие трихомонады: кишечная [*Pentatrichomonas (Trichomonas) hominis*] вызывает у ослабленных лиц *кишечный трихомоноз* — антропоноз в виде колита и энтерита; ротовая трихомонада (*T. tenax*) является комменсалом рта.

Характеристика возбудителя. *Trichomonas vaginalis* цист не образует. Существует только как трофозоит, размножается продольным делением. Имеет грушевидную форму; размеры 8–40 × 3–14 мкм. Пять жгутиков расположены на переднем конце клетки. Один из них соединен с клеткой ундулирующей мембраной, достигающей до середины клетки. Через клетку проходит осевая нить (гиалиновый аксостиль), выходящая из заднего конца клетки в виде шипа (рис. 18.5). Цитостом (клеточный рот) имеет вид небольшой щели на передней части тела. Продуцирует гиалуронидазу и клеточно-разъединяющий фактор, способствующие проникновению возбудителя в субэпителиальную ткань.

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. **Инкубационный период** 7–10 дней, иногда 1 мес.

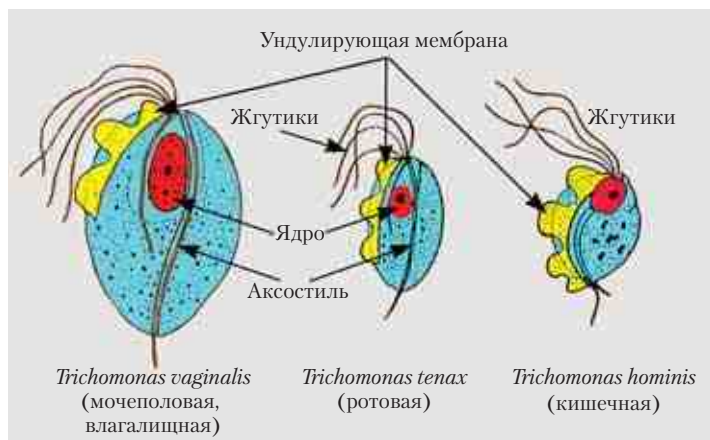


Рис. 18.5. Схема строения трихомонад

Патогенез и клиника. *Trichomonas vaginalis* вызывает вагинит, уретрит, простатит. Воспалительный процесс сопровождается болью, зудом, гнойно-серозными выделениями. Возбудитель может фагоцитировать гонококки, хламидии и другие микробы, что осложняет патологический процесс. Часто болезнь протекает бессимптомно.

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 $\times 40$ и окуляром $\times 10$. Трихомонады по размеру близки к лейкоцитам и имеют характерные толчкообразные движения ундулирующей мембраны и жгутиков. Помогает диагностике *серологический метод* с применением ИФА или непрямой РИФ. Ставят также ПЦР.

При хронических формах трихомонады выращивают на питательных средах, например СКДС (солевой раствор с гидролизатами казеина, дрожжей и с мальтозой).

Лечение. Применяют орнидазол, ниморазол, метронидазол, тинидазол.

Профилактика. Аналогична проводимой при венерических заболеваниях. Профилактику у женщин можно проводить вакциной *солкотривак*, которую готовят из *Lactobacillus acidophilus*.

18.3. Споровики

Среди споровиков имеются простейшие, отличающиеся по своему строению и особенности жизненного цикла: кровяные паразиты (плазмодии малярии и бабезии); кишечные и тканевые паразиты (токсоплазмы, криптоспоридии, саркоцисты, изоспоры и циклоспоры).

18.3.1. Плазмодии малярии (род *Plasmodium*)

Малярия — антропонозная протозойная болезнь, вызываемая простейшими рода *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. falciparum*); сопровождается приступами лихорадки, анемией, увеличением печени и селезенки.

Впервые возбудитель малярии *P. malariae* был обнаружен французским врачом А. Лавераном в 1880 г.

Характеристика возбудителя. Жизненный цикл плазмодий 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 мерозоитов, 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. 18.6), из которого образуются 6–24 мерозоита, внедряющихся 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.

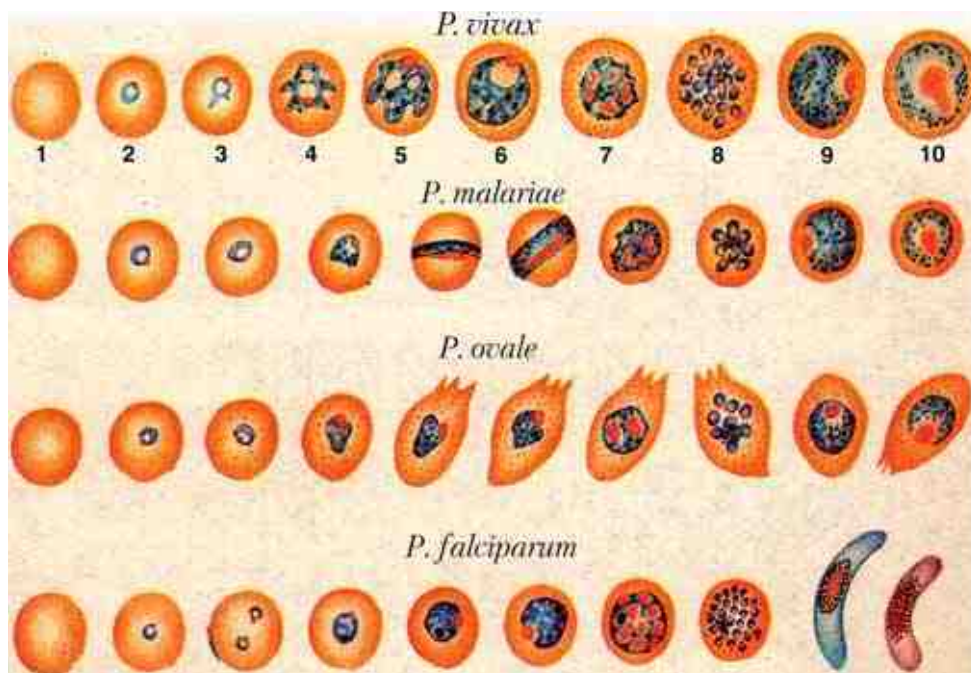


Рис. 18.6. Кровяные формы возбудителей малярии (модифицировано по Е.А. Павловой): 1 — нормальные эритроциты; 2 — кольцевидные трофозоиты; 3–6 — трофозоиты разного возраста; 7 — шизонты; 8 — морулы; 9 — гамонты женские; 10 — гамонты мужские

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 возбудителя попадают вместе с кровью больного человека в желудок самки комара. В комаре гамонты приступают к гаметогонии. Они созревают и оплодотворяются, образуя зиготу, превращающуюся в удлиненную подвижную форму — оокинету. Оокинета 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. В. 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 амёбы 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. На 3–4-й день болезни в крови больных появляются гамонты.

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 (Мауэра). В периферической крови обнаруживают только *кольцевидные трофозоиты* и *гамонты* в виде полулуний; другие формы трофозоитов находятся в эритроцитах капилляров. Поражаются эритроциты любого возраста.

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 паразитоносите́ль). Основной механизм заражения — трансмиссивный, через укус самки комара рода *Anopheles* (около 30 видов). Возможен парентеральный путь передачи при гемотрансфузии и использовании необеззараженных медицинских инструментов.

Патогенез и клиника. Инкубационный период при различных формах малярии колеблется от недели до года (при трехдневной малярии — до 20 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. Из-за антигенной изменчивости и наличия разных стадий развития паразита существует феномен иммунологического уклонения. Антитела способствуют фагоцитозу пораженных эритроцитов и мерозоитов. Повышенный уровень противомаларийных 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 каждые 8 ч 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 исследовании* применяют РИФ, РНГА, ИФА.

Лечение. Противомаларийные препараты оказывают различное действие на бесполое и половые стадии плазмодиев. Различают препараты шизонтоцидного (гисто- и гематошизонтотропного), гамонтотропного и спорозитотропного действия. К основным противомаларийным препаратам относят: хинин, мефлохин, хлорохин (хингамин), акрихин, примахин, бигумаль, пириметамин, производные артемизинина (артесунат, артеметр, артеэтер) и др.

Профилактика. Профилактические мероприятия направлены на источник возбудителя (лечение больных малярией и паразитоносителей) и на уничтожение переносчиков возбудителя — комаров. В неблагополучных регионах проводится индивидуальная химиопрофилактика разными препаратами: мефлохином (при риске заражения хлорохинустойчивыми штаммами *P. falciparum*), саварином (комбинация прогуанила и хлорохина), хлорохином и примахином.

Разрабатываются генно-инженерные вакцины против различных стадий развития паразита (антиспорозоитная, антимерозоитная, антигамонтная).

18.3.2. Бабезии (род *Babesia*)

Бабезиоз (пироплазмоз) — маляриеподобная болезнь (инвазия) с ознобом, лихорадкой и гемолитической анемией, вызванная простейшими рода *Babesia*.

Характеристика возбудителей. Бабезии являются внутриклеточными паразитами эритроцитов. Внешне похожи на юные кольцевидные формы плазмодий (рис. 18.7). 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*.

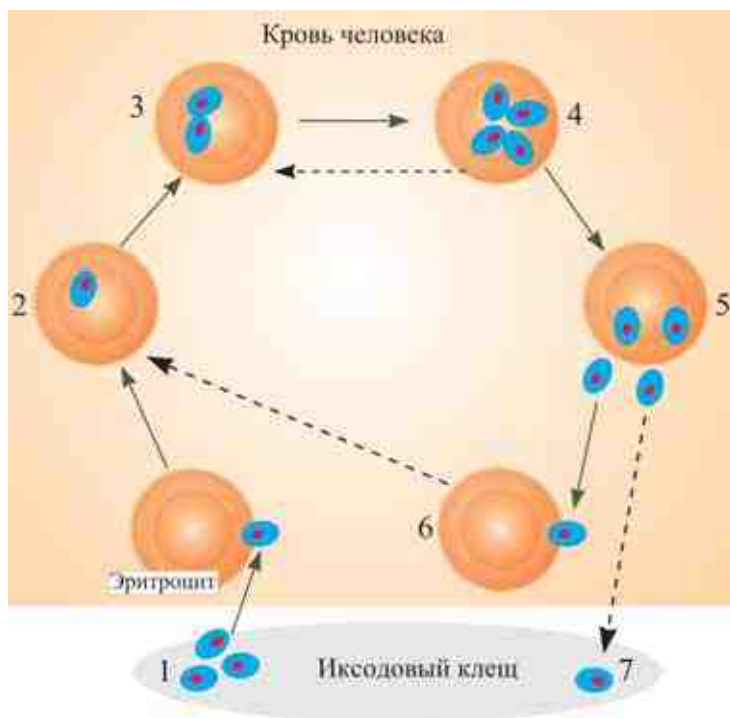


Рис. 18.7. Схема жизненного цикла бабезий:

1 — внедрение мерозоита в эритроцит после укуса клеща; 2 — мерозоит в эритроците; 3 — бинарные бесполовые 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

Эпидемиология. В США бабезиоз чаще вызывается *B. microti* (паразит грызунов), а в Европе — *B. divergens*. Бабезии — паразиты домашних и диких животных, передаются иксодовыми и аргасовыми клещами. У клещей возможна трансовариальная передача. Хозяева паразита: мыши-полевки и другие грызуны, собаки, кошки и крупный рогатый скот. Человек заражается редко. Возможно инфицирование человека через перелитую кровь.

Патогенез и клиника. Первый случай болезни у человека был описан в Югославии в 1957 г. **Инкубационный период** составляет 2–4 нед. У больных появляются озноб, лихорадка, головная и мышечные боли. Обычно заболевание протекает бессимптомно. Наиболее тяжело развивается заболевание у людей с недостаточностью селезенки, спленэктомированных лиц. Паразиты могут поражать до 10–15% эритроцитов с развитием гемоглобинурии и летального исхода.

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 нед. от начала болезни.

Лечение. Применяют комбинацию хинина с клиндамицином.

Профилактика. В профилактику входят мероприятия по борьбе с переносчиками — клещами — и защите от них.

18.3.3. Токсоплазмы (род *Toxoplasma*)

Токсоплазмоз — зоонозная болезнь, вызванная простейшими *Toxoplasma gondii*, сопровождающаяся паразитемией, поражением ЦНС, печени, почек, легких, сердца, мышц и глаз (хориоретинит). У человека клинические проявления полиморфны, заболевание протекает хронически, часто бессимптомно.

Toxoplasma gondii выделен в 1908 г. Ш. Николем и Л. Мансо в Тунисе от грызунов гонди.

Характеристика возбудителя. *T. gondii* — облигатный внутриклеточный паразит. В жизненном цикле токсоплазм различают несколько морфологических форм (рис. 18.8): ооцисты, псевдооцисты, 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 две спороцисты, в которых заключено по четыре спорозоида разме-

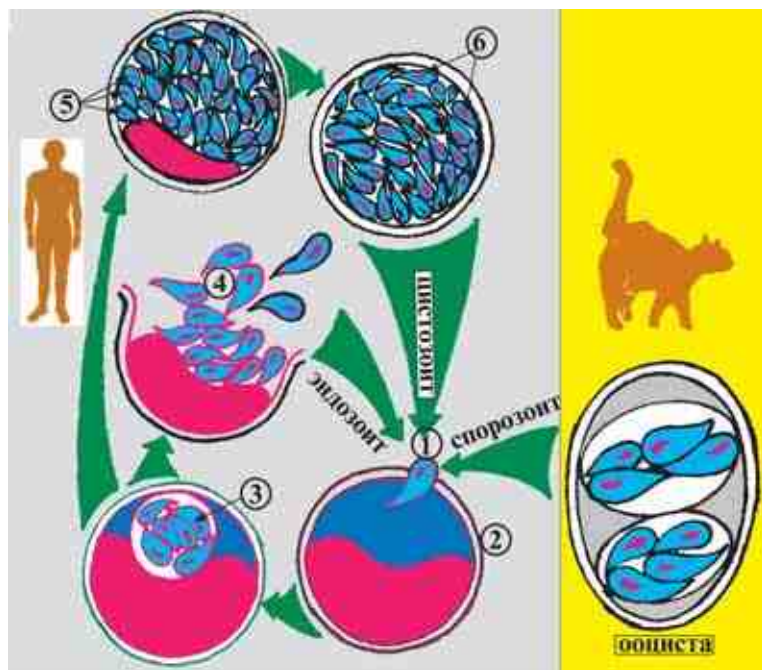


Рис. 18.8. Бесполое размножение токсоплазм в организме человека или другого промежуточного хозяина:

1 — проникновение в клетку хозяина (2) паразита в виде эндоzoита, цистозоита или спорозоита (спорозоиты выходят из созревшей ооцисты, содержащей две спорозоиты со спорозоитами); 3 — скопление эндоzoитов в паразитарной вакуоле; 4 — выход эндоzoитов из клетки хозяина; 5 — цистозоиты во внутриклеточной цисте; 6 — цистозоиты во внеклеточной цисте

ром 8–2 мкм. Ооцисты выделяются с фекалиями кошки и через 3 дня созревают в окружающей среде. Попад в кишечник человека (например, с немытыми овощами и фруктами), они освобождают спорозоиты, которые распространяются по лимфатическим сосудам, размножаются внутриклеточно бесполом путем (шизогония). Размножившиеся паразиты (тахизоиты) внедряются затем в другие клетки. Они обнаруживаются при острой стадии инфекции.

Тахизоиты (трофозоиты) образуются при размножении спорозоитов в эпителиальных клетках. Они имеют характерную форму апельсиновой дольки или полумесяца (размером $4-7 \times 1,5-2$ мкм). При окраске по Романовскому–Гимзе цитоплазма голубого цвета, а ядро — рубиново-красного. Часто тахизоиты скапливаются по 10–30 особей в клетках лимфатических узлов, печени и в макрофагах легких. В клетках они окружены мембраной паразитоформной вакуоли, представляя собой псевдоцисты.

Псевдоцисты не имеют оболочки; они образуются в пораженных клетках, макрофагах и содержат скопления трофозоитов (эндоzoитов). 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 (цистоzoиты, или брaдизоиты). Цисты сохраняются десятилетиями (хроническая инфекция). Тахизоиты и брaдизоиты, кроме общих, имеют отличающиеся антигены: брaдизоиты имеют антигены SAG4(p18) и BSR4(p36), а тахизоиты — SAG1, SAG2 и др.

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 NH_4OH .

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 слабо обработанных продуктов (мясо, молоко, яйца), содержащих в псевдоцистах эндоzoиты (трофозоиты, так называемые *тахизоиты*) и в цистах цистозоиты (*брaдизоиты*) 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 ретикулоэндотелиальной системы практически всех внутренних органов, где образуют псевдоцисты и цисты. **Инкубационный период** — около 2 нед. Первоначальная инфекция (в том числе у беременных женщин) бессимптомная в 90% из случаев. У оставшихся 10%, клинические проявления неспецифичны: увеличиваются затылочные лимфатические узлы, может быть миалгия, иногда развиваются миокардит, гепатит, пневмония или энцефалит. Токсоплазмы поражают нервные клетки, печень, почки, легкие, сердце, мышцы, глаза. При острой фазе инвазии наблюдаются паразитемия и скопления токсоплазм в тканях в виде псевдоцист. Хроническая фаза инвазии характеризуется образованием тканевых цист.

Клиническая картина разнообразна: от умеренной лимфаденопатии до лихорадки, сыпи, гепатоспленомегалии, фарингита, менингоэнцефалита, пневмонии и др. При врожденном токсоплазмозе (инфицирование чаще происходит в I триместре беременности) возможны гибель плода, самопроизвольный выкидыш или мертворождение, рождение детей с дефектами развития. Из каждой тысячи беременных три поражаются токсоплазмозом с летальностью плода, перинатальной смертностью или хронической инфекцией. Поражаются печень, селезенка, лимфоузлы, ЦНС на фоне выраженной интоксикации и лихорадки.

Иммунитет нестерильный. При заболевании развивается клеточный и гуморальный иммунитет, ГЗТ. При врожденном токсоплазмозе в крови матери и ребенка выявляется высокий уровень специфических антител.

Микробиологическая диагностика. Микроскопируют мазки из крови, цереброспинальной жидкости, пунктатов лимфоузлов, плодных оболочек и др., окрашенных по Романовскому–Гимзе или по Райту. 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 ИФА, РИФ, РНГА, 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. *Молекулярно-генетический метод* (ПЦР) важен для диагностики врожденного токсоплазмоза и септической формы токсоплазмоза у лиц со СПИДом.

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 He-La, на куриных эмбрионах.

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. Для профилактики врожденного токсоплазмоза следует обследовать на антитела женщин, планирующих беременность.

18.3.4. Саркоцисты (род *Sarcocystis*)

Саркоцистоз (син.: саркоспоридиоз) — болезнь (инвазия), вызванная простейшими рода *Sarcocystis* (виды *S. bovis hominis* и *S. suis hominis*) и сопровождающаяся нарушениями со стороны ЖКТ, развитием миозитов и сыпи.

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 четыре зрелых спорозоита. После заглатывания животными спороцист из них осво-

бождаются спорозоиты, которые из кишечника проникают гематогенно в мышцы. В мышцах образуются саркоцисты (бесполом путем — шизогония, или мерогония). 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. bovis*) и свиньи (*S. suis*). Заражение человека происходит алиментарным путем при употреблении термически недостаточно обработанных говядины или свинины, содержащих саркоцисты (от греч. *sarc* — мясо).

Клиника. Часто инфекция протекает бессимптомно или неспецифично. Различают *кишечный саркоцистоз* с развитием диспептических 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.

18.3.5. Изоспоры (род *Isospora*)

Изоспороз — болезнь (инвазия), вызванная простейшими рода *Isospora* (виды *I. belli* и *I. nathali*); поражаются слизистые оболочки тонкой кишки, развивается диарейный синдром.

Характеристика возбудителей. Развитие в организме человека включает бесполое (мерогония), половое (гаметогенез) размножение и образование ооцист. Ооцисты выделяются с калом инфицированного человека и месяцами сохраняются в окружающей среде. Попав в кишечник, ооцисты освобождают спорозоиты серповидной формы, которые проникают в эпителий тонкой кишки и превращаются в трофозоиты. Трофозоиты размножаются бесполом путем, образуя многочисленные мерозоиты, проникающие в другие эпителиальные клетки (продолжая цикл развития). В отдельных клетках образуются гамонты (половые клетки). После оплодотворения женской клетки формируются незре-

лые ооцисты, выделяемые с калом. Они окружены двухконтурной оболочкой, имеют овальную форму (размер 20–35 мкм). Созревание ооцист завершается через 2–3 дня: в ооцисте образуются две спороцисты, содержащие по четыре 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 кала обнаруживают ооцисты, которые выявляются после 10-го дня болезни. Учитываются размеры ооцист, количество спороцист, спорозоитов и др. В неокрашенном мазке ооцисты овальные, прозрачные, с оболочкой. По Цию–Нильсену они красятся в розовый цвет.

Лечение: ко-тримоксазол (сульфаметоксазол с триметопримом), пириметамин.

Профилактика. Особое внимание уделяется соблюдению санитарно-гигиенических требований, общих для других кишечных инфекций.

18.3.6. Криптоспоридии (род *Cryptosporidium*)

Криптоспоридиоз — болезнь (инвазия), вызванная простейшими рода *Cryptosporidium* и сопровождающаяся поражением слизистых оболочек кишечника, явлениями гастроэнтерита и диареи. У людей заболевание чаще вызывает *C. parvum* (внутриклеточный паразит эпителия кишечника, респираторного тракта и билиарной системы); реже могут вызывать заболевания и другие виды — *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. muris*.

Характеристика возбудителя. Криптоспоридии встречаются у млекопитающих, птиц, рептилий и рыб. Паразит размножается половым (гаметогония) и бесполом (шизогония) путями в ЖКТ животных. В кишечнике хозяина образуются кислотоустойчивые ооцисты (4–6 мкм в диаметре), которые выделяются с фекалиями. После заглатывания ооцист в тонкой кишке из них высвобождаются четыре червеобразных спорозоита, которые прикрепляются к эпителиоцитам, окружаясь мембранами клеток с образованием внутриклеточной паразитоформной вакуоли. Затем спорозоиты превращаются во внутриклеточные округлой формы трофозоиты. Трофозоиты размножаются путем множественного деления (шизогония, или мерогония) с образованием 6–8 банановидных мерозоитов из многоядерной клетки — меронта (шизонта) I типа. Они, попа-

дая в просвет кишки, прикрепляются к эпителиоцитам, повторяя новый цикл бесполого размножения. Затем цикл мерогонии повторяется (мерогония второй генерации) с выходом из эпителиальной клетки новых мерозоитов, которые превращаются в половые формы — микро- и макрогаметы. После слияния этих гамет образуется зигота, превращающаяся в ооцисту (рис. 18.9), покрытую плотной оболочкой. В ооцисте образуются спорозоиты (споруляция). Ооцисты имеют толстую оболочку и, выживая в окружающей среде, способны заразить нового хозяина. Некоторые тонкостенные ооцисты высвобождают в просвете кишечника спорозоиты, дающие начало новому циклу мерогонии (аутосуперинвазия).

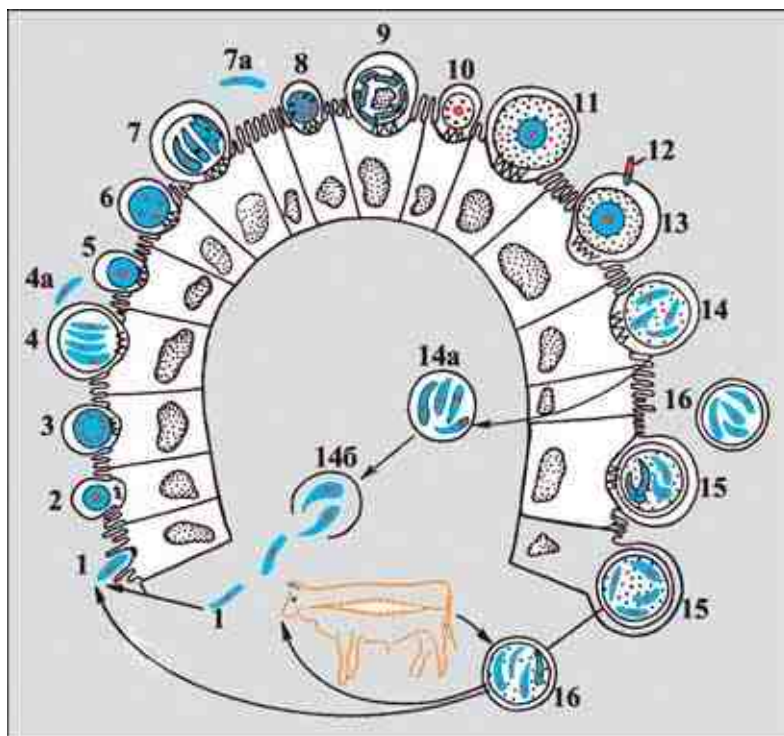


Рис. 18.9. Схема жизненного цикла *Cryptosporidium parvum*:

1 — спорозоит; 2, 3 — мерогония первой генерации; 4 — сегментированный меронт; 4a — мерозоит первой генерации; 5, 6, 7 — мерогония второй генерации; 7a — мерозоит второй генерации; 8, 9 — микрогамето-генез; 10, 11 — макрогамето-генез; 12 — микрогамета; 13 — оплодотворение; 14 — спорулированная ооциста; 14a — тонкостенная ооциста, вызывающая аутоинвазию хозяина; 14b — выход спорозоитов (1) из ооцисты; 15 — толстостенные ооцисты; 16 — толстостенная ооциста в просвете кишки или вне организма

Резистентность. Ооцисты сохраняются в окружающей среде несколько месяцев и резистентны к дезинфицирующим веществам, хлорированию воды, озону. Они чувствительны к 10% формалину, 5% раствору аммиака и к температуре (погибают при 65 °C).

Эпидемиология. Источником инфекции служат люди или животные (кошки, собаки, ягнята, поросята, телята, кролики, грызуны, птицы). Криптоспоридии передаются фекально-оральным механизмом, при контакте, иногда аэрогенным механизмом. Заболевание развивается чаще на фоне иммунодефицита главным образом у ВИЧ-инфицированных (оппортунистическая инфекция). Заболевание относится к группе диарей путешественников. Обычно человек и животные заглатывают ооцисты с пищей или водой. Криптоспоридии частично разрушают ворсинки эпителиоцитов, нарушают всасывание жидкости в тонкой кишке, вызывают развитие водянистой диареи (частота стула до 20 раз в сутки). Первый случай криптоспориidioза 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* колеблется от 2–7 дней до двух недель. 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. *Микроскопический метод* применяют для выявления ооцист в фекалиях, иногда — в мокроте, биоптатах кишечника и др. Мазки красят в модификации по Цию–Нильсену (кислотоустойчивые ооцисты красного цвета, а другая микрофлора — синего или зеленого цвета), Романовскому–Гимзе. Возможно применение ПЦР и выявление антигенов криптоспоридий в фекалиях и бронхально-альвеолярном лаваже с помощью ИФА и РИФ.

Лечение. При криптоспориidioзе проводят симптоматическое лечение. Возможно применение паромомина.

Профилактика. Проводят общегигиенические мероприятия. Целесообразна также обработка против ооцист в животноводческих фермах, больницах и детских учреждениях. Для задержки простейших воду рекомендуют фильтровать через системы, задерживающие частицы размером 1 мкм и менее. Положительный эффект оказывает обработка воды УФ-лучами или озоном.

18.3.7. Циклоспоры (род *Cyclospora*)

Циклоспориidioз, или циклоспороз, — болезнь (инвазия), вызванная простейшими *Cyclospora cayetanensis*, сопровождающаяся диареей. Они 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 гипер-

плазию крипт. Патогенность малоизучена. 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 из которых имеет два спорозонта.

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–Нильсену ооцисты округлой формы окрашиваются в красный цвет. В люминесцентном микроскопе циклоспоры аутофлуоресцируют синим цветом.

Лечение. Возможно триметоприм-сульфаметоксазолом, метронидазолом.

Профилактика. Проводят общегигиенические мероприятия.

18.4. Ресничные. Балантидии (род *Balantidium*)

Представители ресничных (тип *Ciliophora*) имеют реснички — органоиды движения, покрывающие клетку. У них есть клеточный рот (цитостом), два ядра (макро- и микронуклеус). Для человека патогенен *Balantidium coli*.

Балантидиаз (дизентерия инфузорная) — зоонозная болезнь, вызываемая *Balantidium coli*, характеризующаяся общей интоксикацией и язвенным поражением толстой кишки.

Возбудитель балантидиаза был открыт в 1856 г. шведским врачом П. Мальм-стеном.

Характеристика возбудителя. Паразит распространен широко, являясь обитателем кишечника свиней, обезьян, грызунов, собак и крупного рогатого скота, однако редко вызывает заболевание. Он имеет вегетативную и цистную стадии развития. В вегетативной стадии клетка паразита (трофозоит) овальная, крупная (30–100 × 30–150 мкм), с ресничками (рис. 18.10); на переднем конце имеется щелевидное отверстие — перистом с ротовым отверстием — цитостомом. Задний конец имеет анальную пору — цитопрок. Клетка содержит макронуклеус, микронуклеус и две сократительные вакуоли. Размножение — поперечным делением. Клетка может заглатывать микробы и другие клетки, в том числе форменные элементы крови.

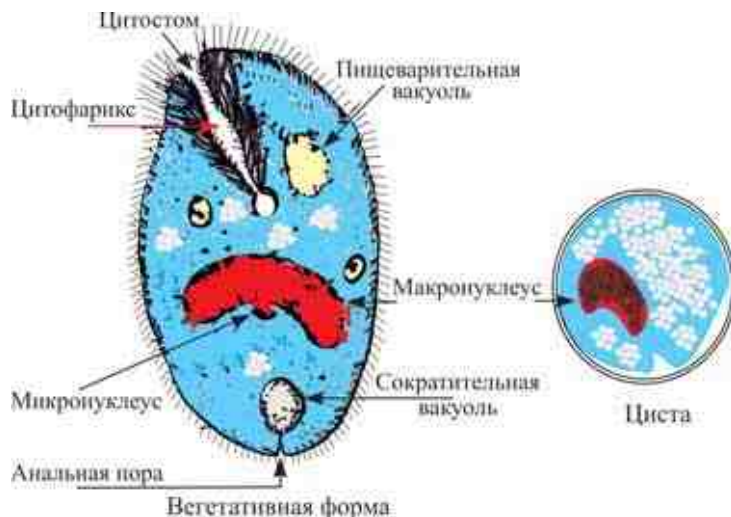


Рис. 18.10. Схема строения вегетативной формы и цисты *Balantidium coli*

Цисты — округлые, с толстой оболочкой, одноядерные диаметром 40–65 мкм. 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. Балантидии могут длительно существовать в кишечнике человека, не оказывая болезнетворных воздействий. Часто развивается бессимптомная инфекция. Патогенез сходен с таковым при амебиазе. Простейшие продуцируют гиалуронидазу, способствующую проникновению паразита в ткани кишки. 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. Цисты выявляются редко.

Лечение. Применяют метронидазол, доксициклин и другие препараты, назначаемые при амебиазе.

Профилактика. Соблюдение правил личной гигиены, особенно для работников свиноводства. Предупреждение загрязнения окружающей среды калом свиней и других животных.

18.5. Бластицисты (род *Blastocystis*)

Бластицисты (*Blastocystis hominis*) характеризуются бессимптомным носительством или вызывают *бластицистоз*. Их обнаруживают в фекалиях при диарее.

Бластоцисты (*Blastocystis hominis*) — своеобразные кишечные амёбы. Ранее предполагали, что бластоцисты (*Blastocystis hominis*) являются дрожжами. Недавно их включили в новое царство **Chromista** (хромовики). У инфицированных лиц развиваются бессимптомное носительство или бластоцистоз, характеризующийся диарейным синдромом. В тропических странах бластоцистами инфицировано до 40% населения. Механизм передачи фекально-оральный.

Бластоцисты могут образовывать псевдоподии; как и простейшие, не имеют клеточной стенки. Питаются бактериями. Размножаются бинарным делением или споруляцией. Патогенность не изучена. В кале имеют сферическую форму размером 5–30 мкм. Цитоплазма и ядро клетки паразита оттеснены на периферию крупной центральной вакуолю.

Диагностика основана на микроскопии мазка из кала, окрашенного раствором Люголя.

Лечение проводят метронидазолом.

Профилактика аналогична мероприятиям при кишечных инфекциях.

Тестовые вопросы и задания к главам 17, 18

А. К возбудителям эпидермофитий относятся:

- 1) трихофитоны;
- 2) микроспоры;
- 3) эпидермофитоны;
- 4) пневмоцисты.

Б. Методы микробиологической диагностики микозов:

- 1) микроскопический;
- 2) микологический (культуральный);
- 3) серологический;
- 4) аллергический.

В. Возбудители оппортунистических микозов — условно-патогенные грибы родов:

- 1) *Aspergillus*;
- 2) *Penicillium*;
- 3) *Mucor*;
- 4) *Candida*;
- 5) *Fusarium*;
- 6) *Pneumocystis*.

Г. Продуцентами афлатоксинов являются грибы рода:

- 1) *Mucor*;
- 2) *Microsporum*;
- 3) *Fusarium*;
- 4) *Aspergillus*;
- 5) *Absidia*.

Д. Грибы рода *Candida*:

- 1) представители нормальной микрофлоры;
- 2) вызывают поражение слизистых, кожи, внутренних органов;
- 3) относятся к гифальным грибам;
- 4) относятся к зигомицетам.

Е. Фактором передачи возбудителей дерматомикозов могут быть:

- 1) предметы обихода;
- 2) шерсть больных животных;
- 3) почва;
- 4) вода.

Ж. Зрелые цисты *Entamoeba histolytica* имеют:

- 1) ЛПС;
- 2) кинетопласт;
- 3) 4 ядра;
- 4) периплазматические жгутики.

З. При диагностике малярии исследуют:

- 1) мазки крови;
- 2) препарат «толстая капля» крови;
- 3) мазки со слизистой носоглотки;
- 4) ДНК паразита в крови с помощью ПЦР;
- 5) сыворотку крови на наличие антител.

И. Возбудителей малярии дифференцируют с учетом:

- 1) количества мерозоитов в стадии деления паразита;
- 2) количества и форм трофозоитов;
- 3) особенностей эритроцитов;
- 4) формы гамонтов.

К. Ооцисты токсоплазм образуются:

- 1) в слизистой оболочке кишечника кошки;
- 2) в слизистой оболочке кишечника рептилий;
- 3) в случае попадания возбудителя в мозг;
- 4) при переносе возбудителя через плаценту.

Л. Пути передачи инфекции при малярии:

- 1) гемотрансфузионный;
- 2) водный;
- 3) трансмиссивный;
- 4) алиментарный.

М. Заболевания, вызываемые простейшими:

- 1) сальмонеллез;
- 2) трихомониаз;
- 3) кандидоз;
- 4) малярия;
- 5) микоплазмоз.

Н. Материалом для исследования при токсоплазмозе является:

- 1) кровь;
- 2) спинномозговая жидкость;
- 3) пунктаты лимфоузлов;
- 4) ногти;
- 5) волосы.

19

Клиническая микробиология

Клиническая микробиология — раздел медицинской микробиологии, изучающий инфекционные заболевания в условиях неинфекционных стационаров. Ее целью является совершенствование диагностики и лечения и профилактики инфекционных заболеваний в ЛПУ. В неинфекционных стационарах встречаются как патогенные, так и условно-патогенные микробы. Причем последние значительно чаще, поэтому в **задачи клинической микробиологии входит:**

- 1) изучение условно-патогенных (оппортунистических) микроорганизмов и их роли в патологии человека;
- 2) изучение нозокомиальных (госпитальных) инфекций и факторов, способствующих их развитию;
- 3) совершенствование и разработка новых методов микробиологической диагностики, профилактики и лечения оппортунистических и нозокомиальных инфекций;
- 4) изучение путей распространения инфекционных ятрогенных заболеваний (передающихся при различных медицинских манипуляциях, инвазивных методах исследования и лечения, микробной контаминации готовых лекарственных форм, дезинфектантов, антисептиков и др.);
- 5) исследование специфических микробиологических проблем в неинфекционных стационарах (дисбиозы, госпитальные штаммы (эковары), лекарственная устойчивость микробов и др.).

19.1. Роль условно-патогенных микробов

Условно-патогенные микробы (оппортунистические, потенциально патогенные) — большая группа разнородных по систематическому положению микробов, которые в норме непатогенны и способны вызвать заболевания *только при*

определенных условиях (снижение иммунитета, нарушение целостности покровов, переохлаждение, снижение колонизационной резистентности и др.).

Условно-патогенные микробы встречаются среди бактерий, грибов, простейших и вирусов. Большинство из них являются представителями нормальной микрофлоры тела человека. Эти микробы, заселяя кожу, кишечник, слизистые верхних дыхательных путей и гениталии, не оказывают на здоровый организм патогенного влияния. При этом поддерживается эволюционно сложившийся баланс между представителями нормофлоры и макроорганизмом. Изменения хотя бы в одном из этих звеньев ведут к развитию дисбаланса, т.е. дисбиозов и как крайний вариант к гнойно-воспалительному процессу. Среди условно-патогенных микробов встречаются виды, ведущие сапрофитический образ жизни. Они обнаруживаются в воде, почве, пищевых продуктах, на предметах и других объектах окружающей среды.

К условно-патогенным микробам могут быть отнесены представители более 500 различных родов бактерий (*Actinobacter*, *Actinomyces*, *Alcaligenes*, *Bacteroides*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Ervinia*, *Flavobacterium*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Yersinia* и др.), грибов (*Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus* и др.). Спектр возбудителей гнойно-воспалительных процессов непрерывно расширяется.

Заболевания, обусловленные условно-патогенными микробами, по многим признакам отличаются от заболеваний, вызванных облигатно-патогенными микробами. Прежде всего у условно-патогенных микробов отсутствует органнй **тропизм**. Один и тот же условно-патогенный микроб способен вызывать гнойно-воспалительный процесс в различных тканях организма: инфекции кожи и подкожной клетчатки (абсцесс, флегмона, дерматомикоз, инфекции операционных и травматических ран, ожогов, отморожений); респираторные инфекции (бронхит, пневмония, легочный абсцесс, плеврит, эмпиема); инфекции глаз (конъюнктивит, кератит, блефарит и др.); ЛОР-инфекции (отит, синуситы, ринит, ангина, ларингит, фарингит); инфекции ротовой полости (стоматит, абсцесс); инфекции пищеварительной системы (гастроэнтероколит, энтерит, колит, холецистит, перитонит, абсцессы брюшины); урологические инфекции (бактериурия, пиелонефрит, цистит, уретрит, др.); инфекции половой системы (сальпингоофорит, эндометрит, мастит, простатит); инфекции костей и суставов (остеомиелит, артрит); инфекции ЦНС (менингит, абсцесс мозга); инфекции сердечно-сосудистой системы (инфекции артерий и вен, эндокардит, миокардит, перикардит, медиастинит) и др. В табл. 19.2 представлены наиболее часто встречающиеся условно-патогенные микробы при различных патологических состояниях.

Заболевания, вызванные условно-патогенными микробами, **полиэтиологичны**: одна и та же клиническая форма (гайморит, цистит, пневмония, менингит

и др.) может быть обусловлена любым из них. У этих микроорганизмов сходные факторы патогенности (адгезины, капсула, токсины, ферменты агрессии), ведущие к развитию сходных гнойно-воспалительных заболеваний. В связи с чем клиническая картина инфекций, вызванных условно-патогенными микробами, не зависит от вида возбудителя.

Инфекции, вызванные условно-патогенными микробами, часто протекают как **смешанные (микст) инфекции**. Они нередко наслаиваются на уже имеющиеся инфекционные и неинфекционные заболевания (т.е. могут являться вторичными инфекциями).

Отсутствие органного тропизма обуславливает **множественность механизмов и путей передачи** возбудителей таких инфекций. Заражение может происходить **экзогенно** (микроб поступает от других людей или из объектов окружающей среды) при помощи различных механизмов: контактно, аэрогенно, фекально-орально, вертикально. Кроме того, возможно **эндогенное** заражение (при транслокации своих же собственных микробов нормальной микрофлоры в нетипичное для них место, например из толстой кишки в мочевой пузырь или мозговые оболочки). В отличие от большинства патогенных микробов, которые имеют четко обозначенные «входные ворота» для проникновения во внутреннюю среду организма, условно-патогенные микробы способны вызывать инфекцию при попадании любым путем в любые органы и ткани, что является одной из причин многоорганности оппортунистических инфекций.

Условно-патогенные микробы обладают низкой степенью патогенности и вирулентности, в связи с чем наблюдается низкая восприимчивость здоровых лиц и **низкая контагиозность**.

Инфекционный процесс, обусловленный условно-патогенными микробами, **обычно развивается на фоне снижения врожденного или приобретенного иммунитета**, чему способствуют переохлаждение, тяжелые соматические заболевания, травма, большая кровопотеря, иммуносупрессивная терапия и др.

У этих микробов сниженная способность к развитию эффективного иммунного ответа. После перенесенных заболеваний формируется **нестойкий и непродолжительный иммунитет**. Часто развивается хроническая инфекция, что также связано с ослаблением иммунной защиты организма. Имеется тенденция к генерализации и развитию бактериемии, вирусемии, микемии, сепсиса, септикопиемии.

Условно-патогенные микробы широко распространены в стационарах благодаря своим свойствам: способность к размножению и сохранению в окружающей среде, способность входить в состав нормальной микрофлоры здоровых людей (медицинского персонала и пациентов), устойчивость к антимикробным препаратам, избирательное поражение людей со сниженным иммунитетом.

Микробиологическая диагностика инфекций, вызванных условно-патогенными микробами (оппортунистических инфекций), представляет определенные трудности, так как они в основном являются представителями нормальной

микрофлоры и встречаются в норме у здоровых людей. В связи с этим диагностическое значение имеет только обнаружение условно-патогенных микробов в нетипичных для них местах и в высоких концентрациях. Кроме того, для условно-патогенных микробов характерна **гетерогенность популяции** внутри вида (антибиотиковары, фаговары, серовары и др.) и постоянная смена видового, вариантного и количественного состава, что также затрудняет диагностику.

Диагностика оппортунистических инфекций принципиально отличается от диагностики инфекций, вызванных абсолютными патогенами. Если в случае с патогенными микробами для постановки диагноза достаточно обнаружить хотя бы один возбудитель заболевания (чумы, холеры, дизентерии и др.), то в случае с условно-патогенными микробами не все так просто. Последние в норме колонизируют биотопы тела человека, встречаются в окружающей среде и их выделение из биологического материала не может служить доказательством этиологической роли. Здесь особое значение имеют место обнаружения микроба и его концентрация.

Основной метод диагностики заболеваний, вызванных условно-патогенными микробами, — **бактериологический**, позволяющий определить вид, подвиж, штамм микроорганизма, а также его концентрацию, чувствительность к антибиотикам, бактериофагам и антисептическим препаратам.

Микроскопический метод в данном случае только ориентировочный в связи со сходной морфологией условно-патогенных микробов. С его помощью возможны лишь констатация наличия микроорганизмов в исследуемом материале, определение формы микроба и толщины его клеточной стенки.

Серологический метод диагностики гнойно-воспалительных заболеваний, обусловленных условно-патогенными микробами, значительно менее информативен, чем при заболеваниях, вызванных патогенными микробами (это объясняется медленным накоплением антител против этих микроорганизмов и их сравнительно невысоким титром).

Аллергологический метод применяется для обнаружения аллергизующих микроорганизмов, являющихся важным, а иногда ведущим звеном в патогенезе некоторых хронических заболеваний дыхательных путей, почек, печени, ЖКТ, кожи, суставов. Для выяснения роли этих микроорганизмов применяют постановку кожно-аллергической пробы с аллергенами стрептококка, стафилококка, микобактерий, пневмококка, эшерихий, протей, синегнойной палочки и др.

Бактериологический метод. Материалом для исследования при гнойно-воспалительных заболеваниях служат гной, некротические массы и биологические жидкости, их содержащие. Место забора биологического материала зависит от локализации гнойно-воспалительного процесса (например, при пневмонии берут мокроту, цистите — мочу, менингите — ликвор, колите — фекалии, абсцессе и флегмоне — гной).

Для бактериологического исследования предусмотрены следующие требования.

1. Сбор материала проводят строго до начала лечения антибиотиками, антисептиками, противогрибковыми препаратами.
2. Необходим правильный сбор материала, исключая попадание микробов из окружающей среды и биотопов тела человека, как обследуемого, так и обследующего. Материал забирают в стерильные емкости, соблюдая правила асептики. Процедуры взятия материала для бактериологического исследования зачастую достаточно технически сложны, а правильность их выполнения имеет решающее значение. Например, нарушение правил взятия крови ведет к ее контаминации микроорганизмами с кожи или из окружающей среды и может стать причиной ошибочного этиологического диагноза.
3. Материал для бактериологического исследования транспортируют в стерильных контейнерах, пробирках, флаконах с питательными средами и транспортных системах, обеспечивающих герметичность и сохранение жизнеспособности микроорганизмов.
4. Наиболее строгие требования предъявляются к транспортировке материала, подлежащего бактериологическому исследованию на неспорообразующие анаэробные микроорганизмы. Эти бактерии быстро погибают при контакте с кислородом воздуха, что заставляет использовать для их транспортировки специальные среды, сосуды, заполненные инертным газом, и другие способы, предотвращающие попадание кислорода.
5. Пробирки, контейнеры, флаконы и транспортные среды маркируют с указанием Ф.И.О., даты рождения пациента, даты, времени и вида материала.
6. Интервал между взятием материала и его посевом не должен превышать 1–2 ч. Более длительное хранение способствует гибели или размножению микробов, развитию процессов гниения и брожения, что искажает результаты видового и количественного анализа.

Широкий спектр возбудителей при сходной клинической картине требует применения эффективного набора селективных и дифференциально-диагностических сред, позволяющих обнаружить микроб в исследуемом материале и одновременно провести его первичную идентификацию (среда Эндо используется для выделения энтеробактерий, желточно-солевой агар — стафилококков, цетилперидиний хлорид-агар (ЦПХ-агар) — синегнойной палочки, Сабуро — грибов, тиогликолевая среда — анаэробов и др.). В связи с видовым разнообразием условно-патогенных микробов одновременно используют несколько селективных питательных сред. При посевах из мест, которые в норме должны быть стерильными, обычно используют богатые среды, которые способны обеспечить рост как можно большему виду микробов. При исследовании биотопов, в норме заселенных микроорганизмами, стараются использовать селективные среды для выделения отдельных микробов.

При микробиологическом исследовании гнойно-воспалительных заболеваний, вызванных условно-патогенными микробами, определение количества

микробов обязательно и диагностически важно. Высокая концентрация одного или двух видов говорит об их этиологической значимости в развитии заболевания. И наоборот, низкие концентрации ассоциаций из нескольких микробов указывают на контаминацию материала микробами нормальной микрофлоры или окружающей среды. Концентрацию микробов обычно определяют методом серийных разведений или посевом-«штрихом» по Голду (рис. 19.1).

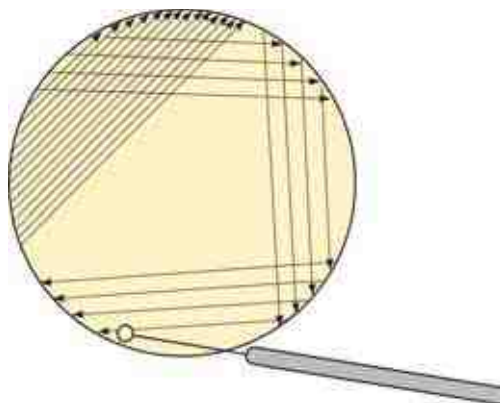


Рис. 19.1. Посев по Голду

У этиологически значимых микробов проводят определение чувствительности к антибиотикам. При наличии ассоциации микроорганизмов учитывают чувствительность к лекарственным веществам всех ассоциантов, присутствующих в исследуемом материале.

Посевы материала проводятся в динамике (3–5 раз), что уточняет этиологию заболевания, дает возможность проследить длительность персистенции возбудителя, контролировать эффективность проводимой терапии. Исследования повторяют каждые 7–10 дней пребывания больного в стационаре и оценивают корреляцию между чувствительностью возбудителя к антибиотикам и эффективностью терапии.

Для установления вероятных источников и факторов передачи инфекции при экзогенных инфекциях и фактора риска при эндогенных определяют антибиотиковары, фаговары, биовары, хемовары, серовары и др.

Сроки получения результатов анализа. Самый предварительный, сугубо примерный ответ можно выдать в клинику уже через 1,5–2 ч после получения пробы. Это — результат оценки мазка по Граму. В случае обильной (10^4 – 10^5 КОЕ) обсемененности образца можно констатировать наличие грамположительных и/или грамотрицательных кокков и палочек, дрожжеподобных и плесневых грибов. В этом случае лечащему врачу можно передать ориентировочную информацию для назначения препарата на основании статистических данных, имеющихся в лаборатории. Для этого систематизируют частоту выделения

видов условно-патогенных микробов из конкретного вида материала в определенном лечебно-профилактическом учреждении и их чувствительность к антибиотикам. Предварительный результат, особенно при обсемененности пробы монокультурой, можно получить через 18–20 ч, поставив диски с антибиотиками сразу на чашку с первичным посевом. Окончательный результат о наличии в материале представителей аэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры с чувствительностью к антибиотикам выдается не ранее 3–5 суток со дня поступления материала в лабораторию. При наличии в посевах анаэробов такой результат клиницист получает только на 6–8-е сутки или позже. Срок получения окончательного диагноза зависит от скорости роста микроба.

Принципы анализа результатов бактериологического исследования. Анализ результатов исследований включает оценку достоверности результатов и этиологической значимости обнаруженных микроорганизмов. При работе с условно-патогенными микробами важно учитывать количество микроорганизмов данного вида в материале. Следует иметь в виду, что спинномозговая жидкость, кровь, моча, слюна, слеза, секрет простаты являются стерильными жидкостями организма. Стерильны также дыхательные пути, расположенные ниже голосовой щели. На слизистых оболочках передних отделов полости носа концентрация каждого вида не превышает 10^2 – 10^3 КОЕ/мл, на слизистой оболочке — 10^3 КОЕ/мл. В фекалиях в норме концентрация различных видов составляет 10^3 – 10^{13} КОЕ/г.

Диагностически важным в большинстве случаев считается резкое увеличение концентрации 1–2 видов микроорганизмов. Обнаружение ассоциаций из трех и более микробов в невысоких концентрациях в большинстве случаев говорит о контаминации исследуемого материала нормальной микрофлорой. Кроме того, важное значение имеет повторное выделение одного вида микроорганизмов на протяжении всего заболевания и его исчезновение по мере выздоровления, а также одновременное обнаружение одного и того же вида микроорганизмов у ряда пациентов с похожей клиникой и сходным источником заражения.

Достоверность результатов определяется не только качеством работы лаборатории, но и соблюдением правил взятия материала и его доставки. К сожалению, далеко не всегда с помощью лабораторных методов удастся выявить ошибки, допущенные на этом этапе исследований, но иногда это возможно. Например, обнаружение в пробе мокроты при микроскопии букального эпителия и отсутствие лейкоцитов указывает на примесь значительного количества слюны, а обнаружение в пробе мочи сразу нескольких видов микробов в концентрации менее 10^3 КОЕ/мл говорит о контаминации пробы микробами со слизистой оболочки наружных половых органов. Бактериологическое исследование такого образца нецелесообразно.

Лечение и профилактика. Для лечения гнойно-воспалительных заболеваний используют антибиотики, бактериофаги, при местных процессах — антисептические растворы. Успех терапии и особенно отдаленные результаты

лечения инфекций, вызванных условно-патогенными микробами, зависят не только от элиминации возбудителя, но и от полноты восстановления состояния иммунологической резистентности. Для этого проводят общеукрепляющую и иммуностимулирующую терапию. Для некоторых видов микробов разработаны специфические иммунобиологические препараты (например, стафилококковый анатоксин, стафилококковый иммуноглобулин, гипериммунная плазма из крови добровольцев, иммунизированных поливалентной корпускулярной синегнойной вакциной, и др.).

В профилактике заболеваний большая роль принадлежит поддержанию иммунитета (предотвращение переохлаждения, травм, лечение заболеваний, приводящих к иммунодефицитам, и др.), соблюдению санитарно-гигиенического режима и правил проведения профилактических мероприятий в лечебных учреждениях, рациональному использованию антибиотиков, уменьшающему распространение антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов.

19.2. Диагностика гнойно-воспалительных заболеваний различной локализации

Исследование крови проводится при подозрении на сепсис, септикопиемию или бактериемию. В норме кровь стерильна. Посев крови проводят во время подъема температуры, а не на высоте лихорадки. В случаях остро возникшего сепсиса проводят 2–3-кратные исследования с интервалом 30–60 мин. Кожу над пунктируемой веной обрабатывают 70% этиловым спиртом, затем 5% настойкой йода. Кровь берут стерильным шприцем с соблюдением всех правил асептики в количестве у взрослых не менее 10 мл крови и 5 мл у детей. Материал засевают тут же. Перед посевом иглу следует сменить на стерильную. Питательную среду предварительно согревают до комнатной температуры. У флаконов с питательной средой отделяют пластиковые крышки и для дезинфекции обрабатывают поверхность внутренних крышек салфеткой, смоченной 70% этиловым спиртом в течение 1 мин. Кровь сеют только в жидкую питательную среду, разводя ее в соотношении 1:10–1:60, для того чтобы преодолеть естественные бактерицидные свойства крови. Рекомендуется производить посев крови на несколько питательных сред, чтобы обеспечить рост максимально большому числу возможных возбудителей. Используют двухфазную, тиогликолевую среду и среду Сабуро. Двухфазная среда (двойная среда) состоит из скошенного во флаконе 150 мл питательного агара и 150 мл полужидкой среды, приготовленной на питательном бульоне с добавлением глюкозы. Кровь засевают в жидкую часть среды и затем омывают плотную часть. Инкубируют посевы в термостате при 37 °С. Флаконы ежедневно просматривают, при этом, наклоняя флакон, смачивают поверхность скошенного агара бульоном. Это исключает необходимость пересева на плотные питательные среды. Тиогликолевая среда дает возмож-

ность получить рост некоторых анаэробных микроорганизмов. Жидкая среда Сабуро служит для выявления грибковых септических состояний. Засеянные кровью среды инкубируют в течение 6 нед. в термостате при 37 °С. Посевы просматривают ежедневно. При появлении видимого роста проводят идентификацию выделенных микробов и определяют их чувствительность к противомикробным препаратам. При отсутствии роста на 9–10-й день дают отрицательный ответ. Флаконы с засеянной средой продолжают держать в термостате в течение 4–6 нед. для выявления замедленного роста бактерий.

Оценка результата. В норме кровь стерильна. Рост на средах должен быть расценен как бактериемия. При появлении роста результаты посева сравнивают с бактериологическими исследованиями других материалов от того же больного. Обнаружение идентичных штаммов подтверждает диагноз. Существует возможность загрязнения материала микробами из окружающей среды и кожи пациента в момент забора крови, что ведет к ложноположительным результатам. Кровь обладает бактерицидными свойствами. Поэтому даже при наличии возбудителя в крови его не всегда удастся культивировать. Высока вероятность ложноотрицательных результатов.

Исследование спинномозговой жидкости проводят в случаях предполагаемого менингита и менингоэнцефалита. Для бактериологического анализа используют спинномозговую жидкость, взятую при люмбальной пункции или при пункции боковых желудочков мозга. Материал отбирают со строгим соблюдением правил асептики в стерильную пробирку в количестве 1–2 мл и доставляют в лабораторию в течение 15–20 мин, пока спинномозговая жидкость теплая, так как некоторые микроорганизмы, например *N. meningitidis*, при охлаждении погибают. При отсутствии такой возможности материал сохраняют при 37 °С в течение нескольких часов. Для пересылки материала используют изотермальные ящики, грелки, термос или любую другую упаковку, где поддерживается температура около 37 °С. Спинномозговую жидкость центрифугируют 5 мин при 3500 об./мин. и из осадка готовят мазки. Если присланная жидкость мутная или имеет пленку, мазки берут без центрифугирования. Результаты микроскопии позволяют установить присутствие возбудителей туберкулеза, менингококков или условно-патогенных микробов, вызвавших гнойный менингит. Так как гнойные менингиты имеют различную этиологию, то при бактериологическом исследовании используют несколько питательных сред (5% кровяной агар, сывороточный агар, тиогликолевая среда и др.). Проводят посев 2–4 капли гнойного ликвора или ресуспендированного осадка на чашки с питательными средами и растирают шпателем. Одну чашку культивируют в термостате в обычной атмосфере при 37 °С, а другие при повышенной концентрации CO₂. Инкубация при повышенных концентрациях углекислого газа способствует выявлению патогенных нейссерий, пневмококков, листерий и др. При подозрении на *H. influenzae* производят посев на чашку с шоколадным агаром. При появлении роста на питательных средах микроорганизмы идентифицируют и опре-

деляют их чувствительность к антибиотикам. При отрицательных результатах высевы повторяют через 8–10 дней.

Оценка результата. Спинномозговая жидкость в норме стерильна, поэтому выделение любого микроорганизма должно расцениваться как положительный результат. При вторичных менингитах, обусловленных распространением инфекции из гнойных очагов (отит, синусит, абсцесс, флегмона и др.), проводят микробиологическое исследование этого очага для обнаружения идентичных штаммов.

Исследование желчи проводят при воспалительных заболеваниях желчного пузыря и желчных протоков (холециститы, холангиты, желчнокаменная болезнь). В норме желчь стерильна. Желчь собирают при зондировании отдельно по порциям А, В и С в три стерильные пробирки либо во время операции с помощью шприца в одну пробирку, соблюдая правила асептики. Полученные порции желчи доставляют в лабораторию не позднее 1–2 ч от момента взятия.

При бактериологическом исследовании желчь из каждой порции высевают в селенитовый бульон (среда накопления) в соотношении 1:10, на чашки с кровяным агаром, средой Эндо и тиогликолевую среду. Исходный материал (все порции сливают в одну пробирку) помещают в термостат при 37 °С. В случае бактериального роста подсчитывают количество колоний каждого вида. Проводят идентификацию культур и определяют чувствительность к антибиотикам. При подозрении на рост анаэробных культур посевы инкубируют в анаэроостате. С целью выделения сальмонелл в последующие 3 дня делают высевы на висмутсульфитный агар как со среды накопления, так и из нативной желчи.

Оценка результата. Наиболее достоверным считается исследование желчи, полученной во время операции. При дуоденальном зондировании возможна контаминация желчи микрофлорой ротовой полости и верхних отделов пищеварительного тракта. По количеству бактерий в каждой порции можно судить о локализации воспалительного процесса и оценивать его динамику при повторных исследованиях. Выделение одного микроба в значительном количестве может свидетельствовать о наличии печеночного или диафрагмального абсцесса.

Исследование мочи проводят при воспалительных заболеваниях (цистит, пиелонефрит и др.). Исследование мочи направлено на выделение возбудителя заболевания и на количественное определение степени бактериурии. Моча здорового человека стерильна. Перед взятием пробы мочи необходимо вымыть руки с мылом, вымыть по соответствующим правилам область наружных половых органов. Снять крышку со стерильного контейнера, не касаться краев. После выпуска первой порции мочи в унитаз приостанавливают мочеиспускание, а затем, подставив контейнер под струю мочи, наполняют его до половины объема. Контейнер плотно закрывают крышкой.

Катетеризация мочевого пузыря для рутинного исследования не применяется. В отдельных случаях делают надлобковую пункцию мочевого пузыря.

Содержащиеся в моче микробы быстро размножаются при комнатной температуре, что может дать ложноположительные результаты при определении степени бактериурии. В связи с этим от момента взятия пробы мочи до начала ее исследования в лаборатории должно проходить не более 1–2 ч.

Для получения чистой культуры и определения количества бактерий применяют посев по Голду (табл. 19.1). Для этого чашку Петри с CLED-агаром (cystine lactose electrolyte deficient) или 5% кровяным агаром условно делят на четыре сектора (A, I, II, и III), затем бактериологической петлей диаметром 2 мм и емкостью 0,005 мл производят посев мочи (30–40 штрихов) на сектор A. После этого петлю прожигают и производят 4 штриховых посева из сектора A в сектор I и аналогичным образом — из сектора I во II и из II в III. Чашки инкубируют при 37 °C 24–72 ч, после чего подсчитывают число колоний, выросших в разных секторах.

Таблица 19.1

Определение степени бактериурии по Голду

Количество колоний в секторах				Количество микробов в 1 мл мочи
сектор A	сектор I	сектор II	сектор III	
1–6	—	—	—	Менее 1000
8–20	—	—	—	3000
20–30	—	—	—	5000
30–60	—	—	—	10 000
70–80	—	—	—	50 000
100–150	5–7	—	—	100 000
Не сосчитать	20–30	—	—	500 000
Не сосчитать	40–60	—	—	1 млн
Не сосчитать	100–140	10–20	—	5 млн
Не сосчитать	Не сосчитать	30–40	—	10 млн
Не сосчитать	Не сосчитать	60–80	Единичные колонии	100 млн

Выделенную чистую культуру идентифицируют и определяют ее чувствительность к антибактериальным препаратам.

Оценка результата. Основная задача при интерпретации полученных данных — доказательство этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов. Степень бактериурии позволяет дифференцировать инфекционный процесс в мочевых путях от контаминации мочи нормальной микрофлорой. С этой целью используют следующие критерии: менее 10^3 КОЕ/мл мочи обычно является результатом контаминации мочи. Подтверждением этому служит обнаружение ассоциации из нескольких микроорганизмов в невысоких концентрациях, что свидетельствует о контаминации образца нормальной микро-

флорой в процессе забора материала; 5×10^3 КОЕ/мл мочи расценивается как сомнительный результат (исследование повторяют). Степень бактериурии, равная и выше 10^4 КОЕ/мл мочи, указывает на наличие инфекционного процесса. Изменение степени бактериурии в процессе заболевания может быть использовано для контроля за течением инфекционного процесса и эффективностью терапии: уменьшение степени бактериурии свидетельствует об эффективности использованных лекарственных препаратов. Учитывается также присутствие в моче монокультуры или ассоциации микроорганизмов.

Исследование фекалий проводят для выявления этиологического фактора колитов, энтеритов, а также при исследовании на дисбактериоз. Для исследования собирают свежевыделенные фекалии. За 3–4 дня до исследования отменяют прием слабительных препаратов, касторового и вазелинового масла и введение ректальных свечей. Фекалии, полученные после клизмы, а также после приема бария (при рентгеновском обследовании) для исследования непригодны. До сбора анализа необходимо помочиться в унитаз, далее путем естественной дефекации в подкладное судно собрать испражнения (следить, чтобы не попала моча). Подкладное судно предварительно обрабатывается любым дезинфицирующим средством, тщательно промывается проточной водой несколько раз и ополаскивается кипятком. Фекалии собирают из мест, не соприкасающихся с судном, в чистый одноразовый контейнер с закручивающейся крышкой и ложечкой или другую стерильную посуду. Материал доставляется в лабораторию в течение 2 ч с момента сбора анализа. Желательно в течение указанного времени материал хранить в холоде (для этого можно использовать холодильник). Не допускается замораживание, длительное хранение (более 5–6 ч), неплотно закрытый контейнер.

Для забора фекалий можно использовать фекальный тампон или ректальную петлю, которые после взятия материала помещают в транспортную среду для доставки в лабораторию.

При бактериологическом исследовании количество бактерий в фекалиях определяют методом серийных разведений. Высев материала проводят на питательные среды, селективные для отдельных микробов. Далее идентифицируют выделенные микроорганизмы.

Оценка результата. Об этиологической роли микроба в гнойно-воспалительном процессе можно судить в том случае, если в фекалиях появляется нетипичный микроб или резко возрастает концентрация одного из условно-патогенных микробов. Диагноз дисбактериоз ставят при исчезновении резидентной микрофлоры (бифидобактерии, лактобактерии, эшерихии и др.) и увеличении концентрации стафилококков, клостридий, кандид и др.

Исследование отделяемого дыхательных путей. Материалом для изучения этиологии заболеваний дыхательных путей служат: отделяемое зева и носа; мокрота; содержимое бронхов, полученное при бронхоскопии или при отсасывании через трахеостому (у больных, находящихся на аппаратном дыхании);

экссудаты; резецированные ткани и др. Материал собирают с соблюдением правил асептики в стерильные контейнеры и доставляют в лабораторию. Хранение материала способствует размножению микробов нормальной микрофлоры, попавших в момент забора материала, развитию процессов гниения и брожения, что искажает результаты анализа, в связи с этим интервал между взятием материала и его посевом не должен превышать 1–2 ч.

Мокрота. Исследованию подлежит утренняя мокрота, выделяющаяся во время приступа кашля. Перед откашливанием необходимо почистить зубы без зубной пасты (так как она содержит бактерицидные вещества) и прополоскать рот кипяченой водой в целях механического удаления остатков пищи, слущенного эпителия и микрофлоры ротовой полости. В контейнер не должна попадать слюна. Выделившуюся мокроту собирают в стерильный контейнер. Крышку плотно закрывают. Если мокрота отделяется плохо, накануне пациенту дают отхаркивающие средства.

Мазки из зева берут натошак или через 2–3 ч после еды и питья. Перед манипуляциями не надо полоскать рот. Прижимают язык шпателем, стерильным тампоном проводят между дужками миндалин, по язычку и задней стенке глотки, не касаясь губ, щек и языка. При наличии гнойных наложений мазок желательно брать на границе здоровых и пораженных тканей (так как именно там находится наибольшее количество микробов). Тампон погружают в пробирку с транспортной средой.

Промывные воды бронхов. При отсутствии или скудном количестве мокроты производят смыв из бронхов стерильным физиологическим раствором, однако при этом микробиологическая ценность исследования снижается из-за разведения секрета (часто значительного) и бактерицидного действия раствора на чувствительные микроорганизмы, поэтому нередко концентрация бактерий в бронхиальном содержимом в 10–1000 раз ниже, чем в мокроте. Кроме того, трудоемкость эндоскопического взятия материала и тяжесть манипуляции для больного ограничивают проведение повторных исследований в динамике заболевания.

Пунктат инфильтрата или абсцесса легкого. Исследование пунктата наиболее эффективно до прорыва инфильтрата или абсцесса в дренирующий бронх. При трансторакальной пункции получают материал непосредственно из очага поражения. Материал засевают на питательные среды (5% кровяной агар, желточно-солевой агар, среду Эндо, среду Сабуро и др.). При посеве тампоном материал сначала втирают в среду со всей поверхности тампона на небольшом участке в 1–2 см², а затем штрихуют всю оставшуюся поверхность питательной среды. Степень обсемененности материала оценивают по количеству выросших колоний: I степень — рост единичных колоний (до 10); II степень — рост 10–25 колоний; III степень — рост множества колоний (не менее 50); IV степень — сплошной рост колоний, не поддающийся подсчету. Точную концентрацию микробов в мокроте определяют методом серийных разведений.

Оценка результата. Поверхность верхних дыхательных путей заселена нормальной микрофлорой. Мокрота, проходя через верхние дыхательные пути и полость рта, может контаминироваться микрофлорой. Следует учитывать, что наличие или отсутствие в исследуемом материале микроорганизмов не может иметь решающего значения для диагноза. Особое значение принадлежит количественной оценке роста микроорганизмов, выросших при первичном посеве на плотных питательных средах. Для ориентировочной оценки количественного роста микроорганизмов в ассоциации целесообразно пользоваться следующими критериями: III и IV степени роста обычно свидетельствуют об этиологической роли данного микроорганизма, I и II степени — о носительстве или контаминации. Об этиологической роли микроба судят на основании комплекса исследований: данных микроскопии первичных мазков, результатов посева на плотные питательные среды (количественная оценка роста различных видов микроорганизмов, однородность популяции при посеве на плотные питательные среды), учета анамнеза, клинических проявлений заболевания и результатов комплексной терапии.

Исследование отделяемого открытых инфицированных ран. Сначала поверхность кожи вокруг раны обрабатывают ватным тампоном, смоченным 70% этиловым спиртом или другим антисептиком. После высыхания дезинфектанта стерильной марлевой салфеткой удаляют детрит, некротические массы, гной. Отделяемое из раны собирают на тампон круговыми вращательными движениями от центра к периферии пораженного участка в течение 5–10 с (во время взятия материала не касаются окружающих рану тканей, кожи и слизистых) и погружают в пробирку с транспортной средой.

В случае глубоких ран и абсцессов удаляют поверхностный экссудат салфеткой, смоченной стерильным физиологическим раствором или 70% спиртом. После дезинфекции поверхности раны и высыхания дезинфектанта врач с помощью шприца берет аспират из глубины раны. Если имеется везикула, берутся жидкость и клетки у основания дефекта. Если первоначально аспират взять не удалось, можно сначала ввести стерильный физиологический раствор и повторно взять аспират. Далее аспират помещают в стерильную пробирку. Стерильный тампон пропитывают полученной жидкостью и погружают в пробирку с транспортной средой. При взятии материала во время операции вместе с аспиратом забирают биоптат ткани, формирующей стенку абсцесса. Его помещают с помощью тампона вглубь транспортной среды. Отдельным тампоном содержимое абсцесса наносят на предметное стекло для микроскопии.

Полученный материал доставляют в микробиологическую лабораторию не позднее чем через час для немедленного посева. При невозможности доставить материал в течение этого времени он должен храниться в холодильнике, но не более двух часов.

Материал, взятый ватным тампоном, засевают на чашку с 5% кровяным агаром, на тиогликолевую среду и сахарный бульон, а твердые кусочки тканей

(секвестры, кусочки кожи, мышц и др.) сеют на тиогликолевую среду и сахарный бульон.

Посев на чашки с агаром производят методом «тампон-петля»: тампоном проводится «дорожка» по диаметру чашки, затем другой стороной тампона в обратном направлении засеивается еще одна «дорожка», параллельная первой. После этого материал рассеивают по чашке при помощи петли штрихами, перпендикулярными к «дорожкам». Такой посев позволяет выделить микроорганизмы в виде отдельных колониеобразующих единиц даже из ассоциации микроорганизмов.

Засеянные жидкие и плотные питательные среды культивируют при 37 °С в течение 18–24 ч. При обнаружении роста микробы идентифицируют. При отсутствии роста в первые сутки посевы оставляют в термостате на 5 дней.

Исследования отделяемого глаз. Микробиологическое исследование проводится при гнойно-воспалительных заболеваниях конъюнктивы, век, слезных мешков, роговицы.

Материал забирают с пораженных мест в разгар воспалительного процесса с соблюдением правил асептики. Не менее чем за 5–6 ч до исследования отменяют все медикаменты и процедуры. Взятие материала производит врач-окулист.

С конъюнктивы материал забирают стерильной петлей или стеклянными стерильными палочками. При наличии обильного гнойного отделяемого используют стерильные ватные тампоны, которыми берут гной с внутренней поверхности нижнего века движением к внутреннему углу глазной щели. Необходимо следить, чтобы при моргании ресницы не касались тампона (придерживать веки руками).

Корочки гноя с края век берут стерильным пинцетом. Материал из язвочки забирают у основания ресниц. Материал с роговицы на исследование берут стерильной петлей после обезболивания. Если больной применяет контактные линзы, исследуют их внутреннюю поверхность.

Исследуемый материал наносят на поверхность предметного стекла для микроскопии. Сразу после взятия материала в кабинете врача проводят посев на сывороточный бульон и тиогликолевую среду. Результаты бактериоскопии могут быть сообщены врачу в виде предварительного ответа. Дальнейший ход микробиологического исследования в ряде случаев определяется видом предполагаемых возбудителей.

Исследования отделяемого ушей. При воспалительных заболеваниях наружного, среднего и внутреннего уха исследуют гнойное или серозное отделяемое.

При поражении наружного уха проводят обработку кожи 70% спиртом с последующим промыванием физиологическим раствором, затем гнойное отделяемое собирают на стерильный ватный тампон. При поражениях среднего и внутреннего уха исследуют пунктаты и материал, полученный во время оперативных вмешательств, собранный в стерильную посуду или транспортную среду.

Производят посев на несколько питательных сред. При появлении роста оценивают количество микробов (единичные колонии, умеренный, обильный рост), выделяют чистую культуру и идентифицируют предполагаемого возбудителя.

При выявлении патогенных возбудителей интерпретация результатов не вызывает трудностей. Если процесс вызван условно-патогенными бактериями, необходимо применение количественных критериев оценки. При этом следует учитывать, что в норме в наружном ухе, слуховом проходе присутствует нормальная микрофлора. Высокая концентрация одного вида микроба, повторность выделения культур дают возможность сделать заключение о возможном возбудителе процесса.

19.3. Внутрибольничная инфекция

Внутрибольничная (госпитальная, или нозокомиальная, инфекция, от лат. *nosocomium* — больница, греч. *nosokomeo* — ухаживать за больным) — это любое клинически распознаваемое заболевание микробного происхождения, которое появляется у пациента в результате его обращения в лечебно-профилактическое учреждение, а также любое инфекционное заболевание его сотрудника, развившееся вследствие его работы вне зависимости от времени появления симптомов.

Проблема внутрибольничных инфекций — одна из важнейших в современной медицине и здравоохранении. Ее значимость определяется повсеместным распространением, развитием новой, нередко тяжелой патологии, отягчающей основное заболевание, значительным увеличением времени пребывания в стационаре и огромным экономическим ущербом.

Причинами высокой заболеваемости внутрибольничными инфекциями в лечебных учреждениях являются снижение сопротивляемости организма пациентов при все усложняющихся процедурах при одновременном наличии большого числа источников инфекции и условий для ее распространения,

Этиология. Возбудителями внутрибольничных инфекций могут быть как патогенные (10%), так и условно-патогенные микробы (90%). Условно-патогенные микробы вызывают гнойно-воспалительные заболевания различной локализации — пневмонию, абсцессы, нагноения ран и др. (см. табл. 19.2). Из патогенных микробов наибольшую опасность для внутрибольничного распространения представляют возбудители сальмонеллеза, эшерихиозов и шигеллеза, легионеллеза, хеликобактериоза, брюшного тифа, дифтерии, коклюша, менингококковой инфекции, хламидиоза, ротавирусной инфекции, герпеса, гриппа, ОРВИ, энтеровирусных заболеваний. Особое значение имеют инфекции, передающиеся с кровью: вирусные гепатиты В, С, D, ВИЧ-инфекция.

Таблица 19.2

Условно-патогенные микробы при различных патологических состояниях

Патология	Микроорганизм
Сепсис, бактериемия	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Candida spp.</i> и др.
Воспалительные процессы в мочевой системе (пиелонефрит, цистит, уретрит и др.)	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Serratia spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Mycoplasma spp.</i> , <i>Candida spp.</i> и др.
Холецистит, желчнокаменная болезнь	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Peptococcus spp.</i> и др.
Воспалительные процессы дыхательных путей (фарингит, ларингит, трахеит, бронхит, синуситы, пневмония и др.)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Neisseria spp.</i> , <i>Corynebacterium spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Candida spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i> и др.
Менингит	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> и др.
Мастит	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> и др.
Отит	<i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Haemophilus spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> и др.
Конъюнктивит	<i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Neisseria spp.</i> , <i>Moraxella spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Haemophilus spp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Escherichia spp.</i> и др.

Ведущее место принадлежит гнойно-септическим внутрибольничным инфекциям. Наиболее часто они регистрируются у больных хирургического профиля. Вторая по значимости группа — кишечные инфекции (внутрибольничные сальмонеллезы и шигеллезы). Доля вирусных гепатитов (В, С, D) составляет 6–7%. Прочие инфекции в структуре внутрибольничных инфекций занимают 5–6%.

Циркулирующие в стационаре возбудители внутрибольничных инфекций приобретают устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды (УФ-облучению, высушиванию, действию антибиотиков, дезинфицирующих препаратов) и имеют преимущества перед другими представителями популяции, что приводит к их селекции, дальнейшему доминированию и формированию **госпитальных штаммов** (штаммы, наиболее адаптированные к условиям стационара).

Главная особенность госпитальных штаммов — повышенная вирулентность (у них меньшая инфицирующая доза и выше активность факторов патогенности), специфическая адаптация к используемым лечебным препаратам (антибиотики, антисептики, дезинфектанты), непритязательность в процессе роста и размножения, постоянная циркуляция среди больных и персонала.

Причины. Основными причинами развития внутрибольничных инфекций является создание крупных больничных комплексов со своей специфической экологией — скученностью ослабленных людей, замкнутостью помещений (палаты, процедурные кабинеты), формирование и селекция госпитальных штаммов микроорганизмов, обладающих высокой вирулентностью и множественной лекарственной устойчивостью.

Как ни странно, рост внутрибольничных инфекций связан с достижениями в области здравоохранения. В результате применения современных методов лечения и диагностики происходит ослабление иммунной системы организма. В качестве наиболее значимых причин развития иммунодефицитных состояний выделяют: сложные и продолжительные операции, применение иммуносупрессивных лечебных препаратов и манипуляций (цитостатики, кортикостероиды, лучевая и радиотерапия), длительное и массивное применение антибиотиков и антисептиков. Появляются искусственные (артифициальные) механизмы передачи микробов, что связано с усложнением медицинской техники и прогрессирующим увеличением числа инвазивных процедур, ведущих к открытию эволюционно не обусловленных входных ворот для инфекции. Это приводит к поражению тех тканей, которые имеют слабые или даже минимальные естественные ресурсы местной защиты (мышечная ткань, суставы, брюшина, плевра и др.). Наиболее опасными с точки зрения передачи внутрибольничных инфекций являются:

- **диагностические манипуляции** (забор крови, зондирование желудка, двенадцатиперстной кишки, тонкого кишечника, эндоскопия, пункции (люмбальная, стеральная, органов, лимфатических узлов), биопсия органов и тканей, венесекция, мануальные исследования (вагинальные, ректальные) — особенно при наличии на слизистых оболочках эрозий и язв);
- **лечебные процедуры** (трансфузии крови, сыворотки, плазмы), инъекции, трансплантация тканей и органов, операции, интубация, ингаляционный наркоз, искусственная вентиляция легких, катетеризация (сосудов, мочевого пузыря), гемодиализ, ингаляции лечебных аэрозолей, бальнеологические лечебные процедуры и др.

Источниками внутрибольничной инфекции могут быть больные, больные со стертыми формами заболевания, бессимптомные носители из числа медицинского персонала, больных и родственников, а также объекты окружающей среды. Возможно развитие аутоинфекции (эндогенной), которая возникает при ослаблении естественного иммунитета организма и вызывается микроорганизмами своей собственной микрофлоры.

Факторами передачи возбудителя могут быть контаминированный инструментарий, аппараты искусственной вентиляции легких и другая медицинская аппаратура, белье, постельные принадлежности, кровати, предметы ухода за больными, перевязочный и шовный материал, эндопротезы и дренажи, трансплантаты, спецодежда, обувь, руки персонала и больных и др.

В больничной среде могут формироваться эпидемически опасные резервуары, в которых микробы сохраняются длительное время и размножаются. Такими резервуарами могут быть краны, раковины, сливные трапы, инфузионные жидкости, питьевые растворы, кондиционеры, душевые установки, некоторые части лечебно-диагностических приборов и аппаратов и даже дезинфицирующие средства.

Механизм передачи. Распространение внутрибольничных инфекций обеспечивают множественные естественные механизмы передачи: фекально-оральный, аэрогенный, контактный. Кроме того, здесь присоединяются такие пути, которые возможны только при медицинском вмешательстве: инъекционный, трансфузионный, ингаляционный, ассоциированный с инвазивными лечебными и диагностическими процедурами.

Микробиологическая диагностика внутрибольничных инфекций осуществляется стандартными методами, специфичными для каждого вида возбудителя. Между тем здесь есть определенные особенности. Особое значение имеет выявление **госпитальных штаммов** как наиболее опасных в эпидемическом отношении. Для этого проводят эпидемиологическое маркирование (внутривидовое типирование) выделяемых от пациентов микробов (определяют фаговары, антибиотиковары, биовары, хемовары, серовары и др.). Обнаружение однотипных штаммов сразу у нескольких пациентов говорит о наличии внутрибольничной инфекции. Для выявления ее источника сравнивают штаммы, выделенные от пациентов и из окружающей среды (смывы с поверхностей, медицинского оборудования, из воздуха, различных растворов, от медицинских работников, родственников и др.). Одновременное присутствие одного и того же штамма в вышеперечисленных объектах и выделение его от пациента говорит о возможных источниках и путях передачи возбудителя. Важно определять чувствительность выделенного микроба к антибиотикам и дезинфицирующим средствам и подбирать адекватное лечение для элиминации выявленных микроорганизмов из лечебно-профилактических учреждений.

Профилактика внутрибольничных инфекций осуществляется путем организации и проведения комплекса мероприятий, направленных на источник инфекции, механизм передачи и восприимчивый организм. Эффективность борьбы с внутрибольничными инфекциями определяется:

- сооружением больничных помещений в соответствии с последними научными достижениями (изоляция секций, палат, операционных блоков, соблюдение и разделение потоков больных, персонала, «чистых» и «гряз-

- ных» потоков, рациональное размещение отделений по этажам, правильный воздухообмен, водоснабжение и водоотведение);
- санитарно-противоэпидемическими мероприятиями (эпидемиологический надзор за внутрибольничными инфекциями, включая анализ заболеваемости, выявление источников и путей передачи инфекции);
 - дезинфекционно-стерилизационными мероприятиями (эффективная стерилизация и дезинфекция оборудования, инструментов, помещений и др.);
 - а также специфической профилактики, включающей плановую и экстренную иммунизацию пациентов и медицинского персонала.

19.4. Микрофлора полости рта и ее роль в патологии человека

Микрофлора полости рта — это сложный динамичный биоценоз постоянных и изменяющихся популяций, который сложился эволюционно в результате взаимодействия множества эндогенных и экзогенных факторов, обусловленных влиянием окружающей среды и состоянием макроорганизма. 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.

У новорожденного в полости рта встречаются микроорганизмы, которые попали туда из родовых путей матери, а также из воздуха и с пищей. Первыми ротовую полость колонизируют главным образом стрептококки, актиномицеты и лактобактерии. В дальнейшем, с появлением у ребенка зубов, доля этих бактерий уменьшается, и в микробном сообществе начинают преобладать грамотрицательные анаэробы, более адаптированные к этим условиям (особенно в местах соприкосновения зубов и десен — десневых бороздах). Сформированное сообщество микробных видов — сложная и динамичная микроэкосистема, называемая **биопленкой зубов (зубной налет, зубная бляшка)**.

По мере развития организма, изменений в эндокринной, иммунной системах, ввиду особенностей питания и образа жизни микрофлора полости рта изменяется. Для того чтобы колонизировать ротовую полость с ее уникальными условиями обитания и вегетировать в ней, микроорганизмы должны обладать рядом свойств, среди которых особенно важна способность прикрепляться к поверхностям тканей полости рта. Удалению бактерий из полости рта способствуют постоянное слюноотделение, механические воздействия, связанные с движением губ и языка. Кроме того, в полости рта могут меняться физические параметры среды — температура, парциальное давление кислорода, рН, осмотическое давление, концентрация питательных веществ. Адаптированные к таким экстре-

мальным условиям обитания бактерии получают селективное преимущество и их численность возрастает. Бактерии, не способные к длительному существованию в полости рта, можно отнести к временной (транзиторной) микрофлоре.

Традиционными методами (культуральным, микроскопическим и др.) в полости рта взрослого человека обнаруживают примерно 250 видов микроорганизмов, а при использовании современных молекулярно-генетических методов, позволяющих выявлять также некультивируемые формы, их число оказывается значительно большим (более 700 видов). В основном микроорганизмы присутствуют в составе зубного налета, на слизистой оболочке, в межзубных промежутках, в слюне, кариозных полостях, у шейки зубов, на спинке языка и в других участках полости рта, малодоступных для обмывания слюной (в 1 мл слюны содержится до 10^9 микроорганизмов, а в десневых карманах — в 100 раз больше).

С возрастом состав микробиоты и ее средняя активность продолжают меняться. В период полового созревания происходят гормональные изменения, способствующие колонизации полости рта грамотрицательными анаэробами и спирохетами. У взрослых количество и соотношение бактерий в полости рта зависит от возрастных изменений, физической активности, стрессов, которые могут воздействовать на иммунную систему или слюноотделение. На состав микрофлоры влияют также стиль жизни (курение, частое потребление углеводов) или беременность. В пожилом возрасте ухудшение слюноотделения и общего состояния отражаются на микробной колонизации — возрастает частота носительства грибов *Candida albicans* и соответственно риск развития кандидоза полости рта.

Основную массу микроорганизмов ротовой полости в норме составляют бактерии (грамположительные и грамотрицательные, аэробные и анаэробные): кокки и аспорогенные палочки, актиномицеты, спирохеты, микоплазмы. Преобладают стрептококки, лактобактерии, грамотрицательные палочки — строгие анаэробы (бактероиды, превотеллы, порфиромонады, лептотрихии и веретенообразные фузобактерии) и факультативные анаэробы (гемофилы). Спирохеты представлены непатогенными трепонемами, лептоспирами и боррелиями. Присутствуют также некоторые простейшие.

В полости рта выделяют несколько биотопов, которые отличаются по составу микрофлоры.

Слизистая оболочка полости рта — наиболее обширный по площади и разнообразный по условиям обитания биотоп. Поэтому микрофлора слизистой существенно варьирует в разных участках. На поверхности слизистой оболочки вегетируют преимущественно грамотрицательные анаэробные и факультативно анаэробные бактерии, а также микроаэрофильные бактерии. В подъязычной области, на внутренней поверхности щек, в складках и криптах слизистой оболочки полости рта преобладают облигатно-анаэробные виды: вейлонеллы, пептострептококки, лактобактерии, а также *Streptococcus mitis* (*S. salivarius* обычно

колонируют спинку языка). На слизистой твердого и мягкого нёба, нёбных дужках, миндалинах в большом количестве встречаются стрептококки, корини-бактерии, нейссерии, гемофилы и псевдомонады, а также нокардии и дрожже-подобные грибы.

Десневая жидкость и десневой желобок. Десневая жидкость представляет собой транссудат, который секретируется в области десневого желобка и практически сразу контаминируется микрофлорой слизистой десны и ротовой жидкости. В данном биотопе преобладают нитевидные и извитые облигатно-анаэробные бактерии: фузобактерии, лептотрихии, актиномицеты, спириллы, анаэробовибрио, кампилобактеры и спирохеты. Это основное место обитания представителей родов *Bacteroides*, *Porphyromonas* и *Prevotella*. Здесь также встречаются простейшие, дрожжеподобные грибы и микоплазмы.

Для микробиологического исследования содержимого десневой жидкости обычно используют метод количественного забора микропипетками, канюлями, капиллярами. Концентрация бактерий у здорового человека в десневой жидкости составляет не более 10×10^5 клеток/мл, а при развитии гингивита или пародонтита — десятки и сотни миллионов клеток в миллилитре.

Ротовая жидкость (смешанная слюна) представляет собой важнейший биотоп полости рта. Через нее осуществляется взаимодействие между другими частями микробиоценоза полости рта и реализуются различные регуляторные воздействия со стороны макроорганизма. Основой ротовой жидкости является слюна, секретируемая из протоков слюнных желез, которая заселяется разнообразной микрофлорой, поступающей из слизистой оболочки рта, десневого желобка, карманов, складок и из зубной бляшки. В ротовой жидкости в значительном количестве содержатся вейлонеллы, микроаэрофильные стрептококки (*S. salivarius*), факультативно-анаэробные стрептококки, аэрококки, микоплазмы, а также подвижные формы — вибрионы, селеномонады, спирохеты, спириллы.

Для изучения микрофлоры ротовой жидкости используют количественное культуральное исследование. Концентрация бактерий составляет в норме от нескольких десятков миллионов до миллиардов клеток в миллилитре.

Зубная бляшка представляет собой наиболее сложный и многокомпонентный биотоп, формирующийся на поверхности зуба. В составе зубной бляшки определяются практически все представители микробной флоры полости рта. Однако их количество существенно варьирует у разных людей и в разные периоды их жизни. В формировании зубной бляшки несомненно определяющая роль макроорганизма и экологических факторов, оказывающих на него влияние в течение жизни (диета, образ жизни, профессиональные вредности и др.).

Согласно современным представлениям, зубная бляшка является типичным вариантом **биофлексы** — симбионтного сообщества микробных видов, формирующегося в условиях текучих жидких сред. Это органический матрикс, состоящий из скопления бактерий, полисахаридов и белков, который прочно прикреплен к поверхности зуба.

Первой стадией образования зубной бляшки считают формирование пелликулы — мягкого зубного налета. Процесс адгезии разных микроорганизмов происходит в течение нескольких часов, количество бактериальных клеток быстро увеличивается, они образуют скопления — «кукурузные початки» (множество бактериальных видов, прилипших к нитевидной бактерии). Сначала преобладают аэробные бактерии и факультативные анаэробы (стрептококки, коринебактерии, актиномицеты), которые создают условия для развития строгих анаэробов.

Количественные и качественные нарушения в составе симбионтов данного биотопа, нарушения их взаимодействия с макроорганизмом играют решающее значение в возникновении таких важнейших нозологических форм, как кариес зубов и пародонтит.

Для изучения состава зубной бляшки используют методику взятия материала зондом или металлическим шпателем с последующим взвешиванием на аналитических весах. Затем проводят механическое растирание бляшки или ее дезинтеграцию ультразвуком и количественный посев с использованием техники анаэробного культивирования.

Кокки в ротовой полости в основном представлены зелеными 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. Количественно около половины всех резидентов полости рта — стрептококки, их выявляют во всех пробах материала, взятого из любого участка полости рта. В пробах слюны их примерно в 2 раза больше, чем в материале из зубной бляшки или десневого желобка. Наиболее значительной группой стрептококков полости рта следует считать микроаэрофильные α -гемолитические (зеленящие) стрептококки, γ -негемолитические стрептококки, а также анаэробные пептострептококки. Однако надо отметить, что от 40 до 90% штаммов, относящихся к виду *S. milleri*, широко распространенному в полости рта, могут быть β -гемолитическими. Считается, что этот вид достаточно вирулентен, он часто выделяется при патологических процессах. Из α -зеленящих видов наиболее вирулентны *S. intermedius*, входящие в группу пародонтопатогенных видов, а также отдельные штаммы *S. sanguis*, способные при малейших стоматологических вмешательствах (удаление зуба, кюретаж) вызывать бактериемию и септические процессы (септический эндокардит).

Разные виды стрептококков преобладают в различных биотопах из-за разной адгезивной активности. Так, *S. mutans* и *S. sanguis* обладают высокой способностью прилипать к эмали зуба и доминируют в зубной бляшке. *S. salivarius* заселяет преимущественно спинку языка, откуда смывается слюной, составляя значительную часть микрофлоры ротовой жидкости. Стрептококки *S. mitis*, *S. milleri* и *S. sanguis* обладают высокими адгезивными свойствами по отношению к эпителиальным клеткам слизистой оболочки полости рта.

Стрептококки вида *S. salivarius*, постоянно присутствующие в полости рта, вырабатывают из глюкозы нерастворимый в воде биополимер (декстрин), который способствует прикреплению бактерий к поверхности зуба и образованию зубных бляшек. С появлением первых зубов во рту обнаруживаются *S. sanguis* и *S. mutans*. Колонизация полости рта *S. sanguis* в среднем происходит на 9-м месяце жизни (этот период называют «окном инфицирования»). Колонизация *S. mutans* (основным из кариесогенных микробов) происходит значительно позже (примерно на 26-м месяце) и связана со снижением численности *S. sanguis*, т.е. наблюдаются конкуренция или антагонизм этих двух видов. Ранняя колонизация полости рта ребенка *S. sanguis* способствует нарушению (замедлению) колонизации *S. mutans* и соответственно снижению риска развития кариеса. Начальная адгезия (первичная колонизация) тканей может определять состав микробного сообщества в бляшке и, следовательно, его патогенный потенциал в плане развития стоматологических заболеваний.

В полости рта находятся также пептострептококки (*Peptostreptococcus asaccharolyticus* и *P. stomatis*), 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 препятствует деминерализации тканей зуба.

Палочковидные грамположительные и грамотрицательные бактерии в основном представлены родами *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas* и *Fusobacterium*. Лактобактерии (*L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. fermentum*) участвуют в обеспечении колонизационной резистентности, оказывают антагонистическое действие на различные патогенные микроорганизмы, блокируя рецепторы эпителиоцитов. Однако, ферментируя углеводы, 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 протеолитические ферменты. *P. melaninogenica* постоянно присутствует в десневых карманах у взрослых, вызывает заболевания пародонта.

Фузобактерии (*F. periodontium*, *F. nucleatum*) являются представителями аутохтонной (постоянной) микрофлоры полости рта. Они могут образовывать из пептона и глюкозы масляную и молочную кислоты. Часто обнаруживаются в ассоциациях 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 бактериоидами они могут вызывать язвенно-некротический гингивостоматит Венсана. Актиномицеты (*Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*)

и актинобациллы (*Aggregatibacter spp.*) постоянно присутствуют на слизистой оболочке полости рта, принимают участие в образовании зубного налета и камня. Вместе с другими микроорганизмами могут обуславливать развитие кариеса зубов и заболевания пародонта.

19.4.1. Роль микроорганизмов при заболеваниях челюстно-лицевой области

Абсолютное большинство стоматологических заболеваний есть результат нарушения гомеостаза в биопленках полости рта. Обычно такие нарушения обусловлены влиянием микрoэкологических факторов, например погрешностями диеты, применением антибиотиков, гормональными изменениями, уменьшением слюноотделения вследствие радиоактивного облучения или воздействия препаратов, вызывающих гипосаливацию.

Таблица 19.3

Роль микроорганизмов в возникновении и развитии заболеваний челюстно-лицевой области

Характер заболевания	Поражаемая ткань	Заболевание	Возбудитель или ассоциированные микроорганизмы
Невоспалительные одонтогенные инфекции	Твердые ткани зуба	Кариес	Стрептококки (<i>S. mutans</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. oralis</i> , вейлонеллы, <i>S. mitis</i> биовар I, <i>S. gordonii</i>), актиномицеты, лактобактерии
Воспалительные одонтогенные инфекции	Пульпа зуба	Пульпит	Зеленящие стрептококки (<i>S. milleri</i>), лактобактерии, анаэробы (бактероиды, пептококки, пептострептококки, актиномицеты)
	Периодонт	Периодонтит	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (25–30%), <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>Eikenella corrodens</i> , <i>Eubacterium spp.</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Treponema denticola</i>
	Надкостница	Периостит	<i>Staphylococcus aureus</i> (30–50%), стрептококки, анаэробы (<i>Peptococcus niger</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i>)
	Костная ткань	Остеомиелит	Те же, энтеробактерии, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (при травматическом остеомиелите)
	Мягкие ткани лица и шеи	Абсцесс, флегмона	Преобладают анаэробы (бактероиды, пептострептококки), часто встречаются энтеробактерии, вейлонеллы, стрептококки, стафилококки, <i>Eikenella spp.</i> , а в ассоциациях — <i>Fusobacterium nucleatum</i> , актиномицеты. У детей преобладают стрептококки и стафилококки, при буккальной флегмоне (целлюлите) — <i>Haemophilus influenzae</i> типа B и <i>S. pneumoniae</i>

Характер заболевания	Поражаемая ткань	Заболевание	Возбудитель или ассоциированные микроорганизмы
	Верхнечелюстная пазуха	Синусит	Анаэробы (<i>Bacteroides spp.</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i>), <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , реже <i>S. intermedius</i> , <i>B. catarrhalis</i> , <i>S. pyogenes</i>
	Лимфоузлы	Лимфаденит, аденофлегмона	β -гемолитические стрептококки группы А и <i>S. aureus</i> (до 80%), анаэробы (бактероиды, пептококки, пептострептококки, <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Propionibacterium acnes</i>)
	Генерализованная инфекция, поражение отдаленных органов	Сепсис, поражения клапанов сердца, медиастинит, менингит, абсцесс головного мозга и др.	Стрептококки, анаэробы (бактериоды и др.), <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> и ряд других грамположительных и грамотрицательных бактерий
Воспалительные пародонтальные инфекции	Пародонт	Пародонтит	Острый пародонтит — <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Eikenella corrodens</i> , <i>Capnocytophaga sputigena</i> , <i>Prevotella intermedia</i> . Хронический пародонтит — <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , спирохеты, пептострептококки, бактериоды, стрептококки, стафилококки, энтеробактерии. В поддесневой части — нитевидные и жгутиковые бактерии
	Ткани десны	Гингивит, перикоронарит	Спирохеты, актиномицеты, кампилобактеры, <i>Prevotella intermedia</i> , пептострептококки, вейлонеллы, <i>Fusobacterium nucleatum</i> , множество нитевидных и грамотрицательных бактерий
Воспалительные неodontогенные инфекции	Слизистая оболочка	Стоматит	<i>Candida albicans</i> , герпес-вирусы, актиномицеты, стафилококки, гемофильные бактерии, коринебактерии; при глубоком стоматите преобладают анаэробы
	Большие слюнные железы	Паротит	Вирусы паротита, Коксаки, гриппа, парагриппа и др.; <i>S. aureus</i> , анаэробы, энтеробактерии, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Eikenella corrodens</i> , ряд бактерий, обитающих в полости рта
	Кожа и подкожная клетчатка	Фурункул, карбункул, лимфаденит, рожа, абсцесс	Как при других инфекциях кожи и мягких тканей
	Другие ткани	Гематогенный остеомиелит	Стафилококки, стрептококки, грибы рода <i>Candida</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , сальмонеллы

Также в полости рта и в челюстно-лицевой области могут проявляться специфические (классические) инфекции: дифтерия, туберкулез, сифилис, актиномикоз, гонококковая инфекция и др. В полости рта проявляются также вирусные инфекции — везикулярный стоматит и другие герпетические инфекции, герпангина, ВИЧ-инфекция, ячур.

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 рН 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).

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 меньшим содержанием в дентине неорганических веществ (солей кальция). В каналах дентина заложены отростки одонтобластов, содержащие малообызвествленное 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 рН в щелочную сторону. По мере углубления кариозной полости в процесс постепенно вовлекаются почти все представители микрофлоры полости рта. При этом наиболее многочисленны группы строгих анаэробов, энтерокок-

ков и лактобактерии. По количеству лактобактерий принято судить о степени развития кариеса и прогнозировать его течение.

Профилактика состоит из мероприятий общей и местной направленности. Она включает сбалансированное питание, т.е. потребление с пищей достаточного количества белков, жиров, минеральных солей и витаминов (соли кальция, фосфора, ретинол, аскорбиновая кислота, тиамин, эргокальциферол), УФ-облучение, особенно для женщин в период беременности (для нормального развития зубочелюстной системы ребенка). В качестве противокариозных мер рекомендуют использование препаратов фтора при его низком содержании в питьевой воде (пасты, лак). Чистка зубов щеткой со специальными пастами в сочетании с другими механическими способами (использование зубной нити, 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.

Воспалительные одонтогенные инфекции. Кариозный процесс дает начало ряду воспалительных одонтогенных заболеваний микробной природы. В зависимости от поражаемых тканей и распространенности среди них различают пульпит, периодонтит, периостит, остеомиелит, абсцесс, флегмону, синусит, лимфаденит, аденофлегмону, генерализованные инфекции и дистальные очаги поражения (табл. 19.3). В развитии этих заболеваний могут принимать участие различные группы микроорганизмов. Отмечается, как правило, ассоциация из трех и более микробных видов. При этом состав микрофлоры может меняться в зависимости от возраста и состояния антиинфекционной резистентности пациента, стадии заболевания, проводимого лечения и других факторов. Так, при серозном пульпите (воспалении мягких тканей зуба) чаще обнаруживают стрептококки, лактобактерии, бактероиды, при гнойном — гемолитический стрептококк и *Staphylococcus aureus*. У взрослых при периодонтите преобладают грамотрицательные палочки: облигатные анаэробы (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythus*, *Prevotella melaninogenica*), факультативные анаэробы (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) и трепонемы (*T. denticola*), а у подростков причиной чаще являются *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Capnocytophaga spp.*

Заболевания пародонта — воспалительно-дистрофические процессы, происходящие в тканях, окружающих зуб, сопровождающиеся разрушением коллагена, рассасыванием костной ткани лунок альвеолярного отростка, гингивитом, выпадением зубов. 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 *A. actinomycetemcomitans*. Велика роль стрептококков, стафилококков, бактероидов, *Capnocytophaga spp.*

Гингивит — воспаление слизистой оболочки и подлежащей ткани десен. Инфекционный гингивит часто вызывают микроорганизмы из состава зубного налета, в том числе спирохеты и *Prevotella intermedia*. В возникновении язвенно-некротического гингивостоматита Венсана принимают участие фузобактерии, спирохеты (*F. nucleatum*, *T. vincentii*), а также *P. intermedia*, *P. melaninogenica* и *P. gingivalis*.

Стоматит — воспаление слизистой оболочки ротовой полости. Различают катаральный (поверхностный) и язвенно-гангренозный (глубокий) стоматит. В очаге воспаления при поверхностном стоматите обнаруживаются стафилококки, нейссерии, гемофильные бактерии, условно-патогенные коринебактерии, а при глубоком — фузобактерии и трепонемы Венсана, бактероиды, пептострептококки, вейлонеллы, актиномицеты (преобладает анаэробная микрофлора).

Лечение одонтогенной инфекции часто ограничивается местной терапией, включающей стандартные стоматологические манипуляции. Системная антибактериальная терапия проводится только при распространении одонтогенной инфекции за пределы пародонта (под надкостницу, в кости, мягкие ткани лица и шеи), при наличии повышенной температуры тела, регионарного лимфаденита, интоксикации.

При выборе антимикробной терапии в условиях стационара в случаях тяжелой гнойной инфекции необходимо учитывать возможность присутствия среди предполагаемых возбудителей резистентных штаммов.

Тестовые вопросы и задания

А. Причиной постоперационных гнойных осложнений могут быть:

- 1) протей;
- 2) эшерихии;
- 3) синегнойная палочка;
- 4) стафилококки;
- 5) стрептококки;
- 6) клебсиеллы.

Б. Синегнойная палочка:

- 1) грамотрицательная палочка;
- 2) обитает в окружающей среде;
- 3) вызывает гнойно-воспалительные заболевания различной локализации;
- 4) имеет эндотоксин;
- 5) обладает природной устойчивостью ко многим антибиотикам и антисептикам.

В. Назовите предполагаемого возбудителя пневмонии, если из мокроты больного были выделены чистые культуры *Streptococcus pneumoniae* в концентрации 10^2 КОЕ/мл и *Staphylococcus aureus* в концентрации 10^6 КОЕ/мл.

Г. Из мочи больного с предварительным диагнозом «цистит» выделены чистые культуры *Klebsiella pneumoniae* в концентрации 10^5 КОЕ/мл и *Escherichia coli* в концентрации 10^2 КОЕ/мл. Назовите возбудителя цистита и каким методом был выполнен посев для выявления бактериурии.

Д. Поясните степень достоверности микроскопического и серологического методов диагностики гнойно-воспалительных заболеваний, обусловленных условно-патогенными микробами.

Е. Наибольшее значение в патогенезе кариеса имеют:

- 1) стрептококки;
- 2) лактобактерии;
- 3) пептострептококки;
- 4) бактероиды;
- 5) *Haemophilus influenzae*;
- 6) *Streptococcus pneumoniae*.

Ответы к тестам

Глава 2

А (1, 3). Б (1, 3). В (2, 4). Г (1, 3). Д (2, 3). Е (2, 4). Ж (1, 3). З (1, 2, 3). И (1, 2, 3). К (1, 2, 3).

Глава 3

А (1, 3). Б (1, 2, 3). В (4). Г (4). Д (1, 3). Е (2, 3, 4, 5). Ж (1, 3, 4). З (1, 2, 3, 4).

Глава 4

А (1, 2, 3). Б (1, 2, 3, 4, 5, 6). В (1, 3). Г (1, 2, 3, 4). Д (1, 3). Е (1, 3, 4). Ж (1, 2, 3). З (1, 2, 3). И (1, 3). К (1). Л (3). М (1, 2, 3, 4, 5).

Главы 5, 6

А (1, 2, 4, 5). Б (3). В (1, 2, 3, 4). Г (1, 2, 3). Д (1, 2, 3, 4).

Глава 7

А (2). Б (1, 2, 3, 4, 5). В (1, 2, 3). Г (2, 4). Д (1, 2, 3, 4). Е (1, 2, 3, 4). Ж (1, 2, 3).

Глава 8

А (3, 4). Б (1, 3). В (1, 2, 3, 4, 5, 6). Г (1, 2, 4, 5). Д (3, 4, 5). Е (1, 2, 3, 4). Ж (3). З (1, 4, 5).

Глава 9

А (1, 2). Б (1, 2, 3). В (1). Г (2, 4, 5). Д (1, 2, 3, 4, 6, 7). Е (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Ж (1, 2, 3, 4). З (1, 2, 3, 4). И (1, 2, 3, 4). К (1, 2, 3, 4). Л (2, 4, 5). М (4). Н (3, 5). О (1, 2, 3). П (1, 3). Р (3, 5). С (1, 2, 3, 4). Т (3, 4). У (2). Ф (1, 2, 3, 4).

Главы 10, 11

А (1, 2, 3). Б (1, 2, 3, 4). В (1, 2, 3, 4, 5). Г (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Д (1, 2, 3, 4). Е (1, 2, 3, 4). Ж (1, 2, 3, 4). З (1, 2, 3, 4). И (1, 2, 3). К (1, 2). Л (1, 2, 3, 4).

Глава 12

А (1, 3). Б (1, 2). В (1, 3). Г (1, 2, 3). Д (2, 3). Е (2, 4). Ж (1). З (1, 2, 4, 5).

Глава 13

А (3, 5). Б (1). В (2). Г (1-В, 2-А, 3-Б).

Глава 14

А (2). Б (1, 2). В (1, 2, 3).

Глава 15

Параграф 15.1. А. *Staphylococcus aureus*. Б. *Neisseria meningitidis*. В. Скарлатину вызывает лизогенный *Streptococcus pyogenes* группы А, продуцирующий эритрогенный экзотоксин — *эритрогенин*, являющийся суперантигеном.

Параграф 15.2. А (1, 2, 3). Б (2, 4). В. (4). Г. Сформировав первичный очаг инфекции в пейеровых бляшках после инвазии транскитозом слизистой тонкого кишечника возбудитель брюшного тифа вызывает их воспаление с развитием лимфаденита. В результате воспаления нарушается их барьерная функция, и сальмонеллы попадают в кровь, вызывая бактериемию. Д. Бубонная форма чумы развивается при укусе инфицированными блохами или при контакте с инфицированным животным (на 1–2-й день болезни появляется лимфаденит — чумной бубон). Факторы патогенности: фибринолизин, плазмокоагулаза, F1-антиген гликопротеидной природы, который продуцируется при температуре 37 °С; F2-фракция, «мышинный токсин», необходимый для колонизации кишечника блохи. Кроме этого, ТТСС, эффекторные Yops-белки (от англ. *Yersinia outer membrane proteins*), обладающие антифагоцитарной активностью. К факторам патогенности, обеспечивающим антифагоцитарную активность микроба, относят также внеклеточную аденилатциклазу и цитохромоксидазу, а также пигмент, связывающий гемин и способность к синтезу эндогенных пуринов.

Параграф 15.3. А (4). Б (1, 3). В (1). Г. Основным методом диагностики является *бактериологический*. При идентификации *P. aeruginosa* учитывают их рост на ЦПХ-агаре, возможное пигментообразование, наличие специфического запаха при росте культуры на плотной питательной среде, положительный цитохромоксидазный тест, выявление термофильности (рост при 42 °С), а также способность окислять глюкозу в OF-тесте. На плотных питательных средах *P. aeruginosa* продуцирует триметиламин, придающий культурам этих бактерий своеобразный сладковатый запах жасмина, земляничного мыла или карамели. Для внутривидовой идентификации бактерий применяют серотипирование, пиоцинотипирование, а также определяют чувствительность выделенной культуры к бактериофагам.

Параграф 15.4. А (1, 2, 3, 4). Б (1, 2, 3, 4, 5). В (1, 2, 3). Наиболее частыми клиническими признаками инфекции, вызванной неклостридиальными анаэробными бактериями, являются: резкий запах гнояного отделяемого из-за продукции летучих жирных кислот; локализация очага воспаления около места повреждения; образование газа в тканях (крепитация тканей при пальпации). Г. Возможными возбудителями данной флегмоны являются неклостридиальные анаэробы, для обнаружения которых применяют методы анаэробного культивирования с соблюдением правил транспортировки исследуемого материала в анаэробных условиях. Идентификацию облигатных анаэробных бактерий проводят по биохимическим, антигенным свойствам и по изучению конечных продуктов бактериального метаболизма с помощью газожидкостной хромато-

графии (определение летучих жирных кислот — маркеров возбудителя в исследуемом материале или чистой культуре).

Параграф 15.5. А (1, 3). Б. Важно определить тип ботулинического токсина с помощью РН на мышах, которым внутрибрюшинно вводят смеси исследуемого материала с диагностическими ботулиническими сыворотками А, В, Е, F. Этот токсин также определяется с помощью РНГА (РОНГА), РИФ, ИФА. При *бактериологическом методе* проводится посев на среду Китта–Тароцци для накопления возбудителя с последующим пересевом в столбик сахарного агара и на кровяной агар. Для лечения вводят противоботулиническую сыворотку. Назначают поливалентную противоботулиническую сыворотку, содержащую антитела против токсинов бактерий типов А, В и Е. С установлением типа токсина переходят к использованию специфической моновалентной сыворотки. В (4, 5). Г (4).

Параграф 15.6. А. У инфицированных беременных женщин в плаценте образуются некротических узелки — листериомы, из которых листерии попадают в плод, вызывая внутриутробную инфекцию и перинатальный врожденный листериоз, который характеризуется образованием листериом в печени, селезенке, ЦНС и заканчивается гибелью плода, спонтанным абортom, преждевременными родами, аномалиями развития плода. При инфицировании во время родов у новорожденного развивается менингит, который в 54–90% случаев заканчивается летально.

Параграф 15.7. А (1, 2). Б (1). В (1, 2, 3, 4). Г (1, 2, 3). Д (1, 2, 3, 4). Е (1, 2, 3). Ж (1, 2, 3). З (4). И (4).

Параграф 15.8. А (2). Б (1, 2, 3, 4). В (1, 3). Г (2, 3, 4). Д. *Серологический метод* включает *отборочные неспецифические тесты*, использующие кардиолипидный антиген и применяемые для обследования населения на сифилис, и *диагностические специфические подтверждающие тесты* (использующие трепонемальный антиген), которыми подтверждается диагноз. К отборочным тестам относится реакция микропреципитации или ее аналоги: VDRL (от англ. *venereal disease research laboratory*) и RPR (от англ. *rapid plasma regain*) — флокуляционные тесты и РНГА с кардиолипидным антигеном. Эти реакции бывают позитивными на ранних этапах заболевания. Отборочные тесты с кардиолипидным антигеном в количественном варианте используют для контроля эффективности лечения. В диагностических подтверждающих тестах при постановке ИФА, РНГА, РИФ, РИТ (реакция иммобилизации трепонем) в качестве антигена используют ультразвуковой экстракт трепонем, выращенных в яичке кролика. Е. *Treponema pallidum* представляет собой спирохету, имеющую 8–12 мелких завитков. Двигательный аппарат представлен идущими от каждого полюса клетки тремя периплазматическими фибриллами. Слабо воспринимает анилиновые красители. По Граму не окрашивается. По Романовскому–Гимзе окрашивается в бледно-розовый цвет. Выявляется при импрегнации серебром, а также с помощью фазово-контрастной и темнопольной микроскопии.

Параграфы 15.9, 15.10. А (1, 2, 3, 4). Б (2). Основой специфической диагностики риккетсиозов является *серологический метод*: на второй неделе болезни в сыворотке крови определяют специфические антитела с помощью РСК, РА, РНГА, РИФ, ИФА. Максимальных величин титры антител достигают на 15–30-е сутки (в отсутствие лечения антибиотиками). При этом обязательно должны исследоваться парные сыворотки, взятые в начале болезни и через 7–14 дней и позже от ее начала. В. Болезнь Брилла–Цинссера представляет собой рецидив после ранее перенесенного эпидемического сыпного тифа (спустя от 3 до 60 лет) вследствие активации латентно «дремлющих» риккетсий. При этом выявляются IgM-антитела в отличие от IgG-антител — характерных для острого процесса при сыпном тифе. Г (1). Е (4).

Параграфы 15.11, 15.12. А (4). Б (1, 2, 3, 4). В (1, 2, 3, 4). Г (1, 2, 3, 4).

Глава 16

А (1, 2, 3, 4). Б (1, 2, 3). В (1, 2, 3, 4). Г (1, 2, 3, 4). Д (1). Е (1, 4). Ж (1, 2, 3). З (1, 2, 3, 4). И (4). К (1, 2, 3, 4). Л (1, 2, 3, 4). М (1, 2, 3, 4). Н (1, 2, 3, 4). О (1, 3). П (1, 2, 4). Р (1, 2, 3). С (1, 3, 4). Т (2, 3, 4). У (2, 3). Ф (1, 2, 3). Х (1, 2, 3, 4, 5). Ц (2, 3). Ч. Папилломавирусы могут существовать в двух формах: кольцевой форме (эписома) или в виде линейной молекулы, интегрированной в геном клетки. Клетки раковой опухоли содержат вирусную ДНК, интегрированную в клеточную ДНК. Интеграция вирусной ДНК в клеточную ДНК часто сопровождается потерей вирусного материала, за исключением генов Е6 и Е7, экспрессия которых приводит к инактивации белков-супрессоров опухолевого роста (p53 и pRb). Ш (2, 3, 4).

Главы 17, 18

А (1, 2, 3). Б (1, 2, 3, 4). В (1, 2, 3, 4, 5, 6). Г (4). Д (1, 2). Е (1, 2, 3, 4). Ж (3). З (1, 2, 4, 5). И (1, 2, 3, 4). К (1). Л (1, 3). М (2, 4). Н (1, 2, 3).

Глава 19

А (1, 2, 3, 4, 5, 6). Б (1, 2, 3, 4, 5). В. Возбудителем пневмонии может быть *Staphylococcus aureus*, который выделяется в концентрации 10^6 КОЕ/мл, превышающей диагностически значимую концентрацию 10^5 КОЕ/мл. Г. Возбудителем цистита является *Klebsiella pneumoniae*, поскольку высевается по методу Голда в диагностически значимой концентрации 10^5 КОЕ/мл. Д. Микроскопический метод в данном случае может быть только ориентировочным в связи со сходной морфологией условно-патогенных микробов. Серологический метод также значительно менее информативен, что объясняется медленным накоплением антител против этих микробов и их сравнительно невысоким титром. Е (1, 2, 3, 4).

Предметный указатель

А

- Абзимы 308
- Авидность антител 308
- Агглютинация 354
- Адьюванты 257, 374
- Активация комплемента 288
- Актиномицеты 43, 527
- Алиментарно-токсическая алейкия 740
- Аллергены 313
- Аллергический ринит 316
- Аллергия 312
- Аллоантигены 256, 307
- Амебиаз 744
- Амебный менингоэнцефалит 746
- Американский трипаносомоз 751
- Амиотрофический лейкоспонгиоз 692
- Анаплазмы 563
- Анатоксин 215, 373
- Анафилаксия 316
- Анафилактический шок 316
- Анафилатоксины 291, 318
- Анаэробы 83
- Ангиоэдема 316
- Антибиотики 176
- Антигенная детерминанта 257
- Антигенная мимикрия 256
- Антигенпредставляющие клетки 261, 276
- Антигены 254
 - CD-антигены 265
 - Н-антигены 54, 260
 - МНС I класса 261
 - МНС II класса 261
 - МНС III класса 262
 - О-антигены 49, 259, 354
 - Vi-антигены 260
 - бактерий 259
 - гистосовместимости 261
 - опухольассоциированные 336
 - тимуснезависимые 374
 - человека 261
- Антимикробные пептиды 282
- Антисептика 141
- Антитела 303
 - естественные 303, 307
 - моноклональные 308, 380
 - нормальные 303, 307
 - свойства 307
- Антителозависимая клеточная цитотоксичность 275, 317
- Апоптоз 94, 299
- Арбовирусы 603
- Аренавирусы 658
- Артюса реакция 319
- Асептика 141
- Атопия 316
- Аттенуация 371
- Аутоантигены 328, 345
- Аутоиммунная гемолитическая анемия 317
- Аутоиммунные болезни 344
- Афлатоксикоз 741
- Аффинность антител 308
- Аэробы 82

Б

Бабезии 760
Базофилы 273
Бактериофаг 111, 377
Бактериоцины 52
Бактероиды 487
Балантидии 769
Бартонеллы 472
Беджель 540
Белая пьедра 713
Белки острой фазы 291
Белки теплового шока 292
Бифидобактерии 530
Бешенство 644
Бластомикоз 725
Бластоцистоз 770
Бляшки пейеровы 254
Болезнь 195
- Брилла–Цинссера 555
- Грейвса 317
- Кавасаки 349
- Карриона 473
- кошачьих царапин 473
- Крейтцфельда–Якоба 694
- Лайма 540
- легионеров 470
- Орф 688
- Шагаса 751
- Шенка 720
Бордетеллы 458
Боррелии 43, 540
Бородавки (папилломы) 664
Ботулизм 496
Брожение 80
Бронхиальная астма 316
Бруцеллез 464
Брюшной тиф 431
Буньявирусы 601
Буркхолдерии 480

В

В-лимфоциты 301
Вагиноз 533
Вакцины ассоциированные 374
Везикулярный риккетсиоз 561
Везикулярный стоматит 648
Венерический лимфогранулематоз 575
Ветряная оспа 679

Вирулентность 203
Вирусы 62, 94, 589
- TTV 689
- аденовирусы 666
- арбовирусы 603
- аренавирусы 658
- бокавирусы 663
- буньявирусы 601
- ВИЧ 652
- гепаднавирусы 668
- гепатита В 668, 700
- гепатита С 701
- гепатита D 700
- гепатита Е 661
- гепатита G 702
- герпеса 672
- гриппа 630
- калицивирусы 660
- кори 640
- коронавирусы 650
- краснухи 611
- метапневмовирус 636
- Нипах 636
- норовирусы 660
- ОВ-40 666
- ортомиксовирусы 630
- оспы 685
- папилломавирусы 664
- парогриппа 637
- парамиксовирусы 636
- парвовирусы 662
- паротита 639
- пикорнавирусы 589
- поксвирусы 685
- полиомавирусы 666
- рабдовирусы 644
- реовирусы 597
- респираторно-синцитиальный 642
- ретровирусы 652
- робовирусы 603
- ротавирусы 599
- тогавирусы 608
- торовирус 650
- филовирусы 649
- флавивирусы 615
- Хендра 636
- цитомегалии 682
- Эбола 650

- Эпштейна–Барр 680
ВИЧ-инфекция 653
Волосистоклеточный лейкоз 705
Волютин 50
Вторичный иммунный ответ 311

Г

Газовая гангрена 499
Гаптен 255
Гарднереллы 533
Гемагглютинация 106, 110
Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом 606
Генетика антителообразования 309
Геном бактерий 151
Гепатит А 595
Гепатит В 668, 700
Гепатит С 701
Гепатит D 700
Гепатит Е 661
Герпангина 595
Герпес 675
Гетеротроф 73
Гиардиоз 753
Гибридизация нуклеиновых кислот 163
Гибридома 308, 380
Гипермутагенез 309
Гиперчувствительность 313
- I типа 314
- II типа 316
- III типа 318
- IV типа 319
- замедленного типа 313, 319
- немедленного типа 313
Гистоплазмоз 724
Главный комплекс гистосовместимости 261
Гонорея 414
Грама метод 40, 48
Гранзим 299, 328, 331
Грибы 56, 711
Грипп 630
Группы крови 261
Гуморальный иммунный ответ 301

Д

Дезинфекция 139
Делеция клонов лимфоцитов 312

Дендритные клетки 276
Дерматомикозы 713
Дефенсины 282
Диагностикум 354
Дизентерия 427
Дисбактериоз 132
Дифтерия 509
Донованоз 425
Дрожжи 56, 60

Е

Естественные киллеры 274

Ж

Жгутики 53
Жгутиковый антиген 54
Желтая лихорадка 618
ЖКТ, микрофлора 129

З

Зигомикоз 731
Зигомицеты 58
Злокачественная миастения 317

И

Идиотип антител 308
Изоспороз 765
Изотип антител 308
Иммунитет 249, 266
- адаптивный 249, 268, 292
- активный 268
- врожденный 249, 267, 269
- гуморальный 267
- клеточный 267, 292
- нестерильный 269
- пассивный 268
- приобретенный 268
- противобактериальный 329
- противовирусный 331
- противогельминтный 334
- противогрибковый 333
- противоопухолевый 336
- противопротоzoйный 333
- трансплантационный 335
Иммунные комплексы 292, 318
Иммунный ответ 292
Иммунный статус 336
Иммуноблоттинг 365

Иммуноглобулины 303, 379
- аллотип 308
- гены 309
- идиотип 308
- изотип 308
- классы 305, 308
- нормальные 307
- строение 304
- функции 305
Иммунодепрессанты 381
Иммунодефицит 340
Иммунологическая память 310
Иммунологическая толерантность 311
Иммуномодуляторы 380
Иммунореагенты 314
Иммуностимуляторы 381
Иммуносупрессия 284, 381
Иммунотерапия 369
Иммуоферментный анализ 363
Иммуоэлектрофорез 359
Инвазия 194
Ингибиторы комплемента 291
Интегрины 271
Интерлейкины 287
Интерстициальные дендритные клетки 277
Интерфероны 286
Инфекционный мононуклеоз 680

К

К-антиген 260
Календарь прививок 376
Кандидоз 729
Капоши саркома 684
Капсульный антиген 208, 260
Карбапенемы 179, 182
Кемеровская лихорадка 598
Кишечный иерсиниоз 443
Клатрин 95
Клеточный иммунный ответ 292
Клещевой возвратный тиф 543
Клещевой сыпной тиф Азии 558
Клещевой энцефалит 619
Кожно-аллергические пробы 320, 339
Кожный лимфоцитарный антиген 328
Коклюш 458
Кокки 40, 398
Кокцидиоидомикоз 726
Колиформные бактерии 144

Колонизационная резистентность 131
Колорадская клещевая лихорадка 598
Комменсалы 136
Комплексы иммунные 318
Комплемент 288
Конверсия фаговая 116
Контагиозный моллюск 688
Контактный дерматит 314, 320
Конъюгация 158
Корецепторы лимфоцитов 294
Кортекс 55
Корь 640
Костный мозг 252
Крапивница 316
Краснуха 611
Криптококкоз 727
Криптоспоридии 766
Крым-Конго геморрагическая лихорадка 604
Ку-лихорадка 471
Куру 694
Кустарниковый тиф 562

Л

Лактобактерин 505
Лангерганса клетки 328
Легионеллез 468
Лейкотриены 314
Лейшманиозы 748
Лекарственная аллергия 316
Лепра (проказа) 522
Лептоспиры 43, 544
Лизогения 114
Лизоцим 46, 280
Лимфопоз 252
Лимфатический узел 252
Лимфома Беркитта 681
Лимфоцитарный хориоменингит 659
Линкозамиды 180
Липополисахарид 48
Листерииоз 505
Литотроф 74
Лихорадка
- денге 624
- долины Рифт 603
- Западного Нила 628
- Ласса 660
- цуцугамуши 562

М

Макролиды 179
Мезосома 50
М-клетка 254
МНС 261
Макрофаги 270
Малярия 756
Марсельская лихорадка 560
Медленные вирусные инфекции 690
Мелиоидоз 483
Мембраноатакующий комплекс 290
Менингококковая инфекция 411
Метапневмовирус 636
Метод Прайса 516
Миастения 317
Микобактериоз 525
Микопlasма 45, 579
Микроаэрофил 82
Микрокапсула 52
Микотоксикоз 739
Микроспоридии 59, 733
Микроспоридиоз 733
Микроспория 717
Микрофлора 119
- воды 120
- воздуха 121
- почвы 119
- человека 127
Мимикрия 256
Мицетомы 723
Многоочаговая лейкоэнцефалопатия 666, 691
Монобактамы 179
Моноклональные антитела 308
Моноциты 270
Мурамилдипептид 48, 131
Мутации у бактерий 155
Мутуализм 136
Мягкий шанкр 456

Н

Наивные лимфоциты 296, 298
Натуральная оспа 685
Некроз 94
Неориккетсии 563
Неферментирующие бактерии 474
Нитрификация 127
Нитроимидазолы 181

Нитрофураны 181
Нормальная микрофлора человека 127
Нормальные киллеры 274
Норовирусы 660
Нуклеоид 51

О

О-антиген 49, 259
О-диагностикум 354
Оксазолидиноны 181
Омская геморрагическая лихорадка 622
Опоясывающий герпес 679
Опсонизация 281, 291
Оральная толерантность 326
Органотроф 74
Орнитоз (питтакоз) 578
Оройя лихорадка 473
Оспа 685
Острова патогенности 155, 219
Острые респираторные вирусные инфекции 695
Отторжение трансплантата 335

П

Память иммунологическая 310
Папилломавирусы 664
Парагрипп 637
Паразит 194
Паракокцидиомикоз 727
Паратиф 432
Паротит 639
Парша 718
Патогенность 200
Пейеровы бляшки 254
Пенициллины 182
Пептидогликан 46
Первичный иммунный ответ 340
Персистенция 106, 234
Перфорин 299, 328
Пестрый лишай 712
Пили 54
Пинта 540
Плазмиды 52, 151
Плазмоциты 301
Пневмококк 40, 407
Пневмоцистная пневмония 737
Пневмоцистоз 737
Пневмоцисты 737

Подострый склерозирующий панэнцефалит 642
Полиены 180
Полимеразная цепная реакция 164
Полиомиелит 592
Полиомавирусы 666
Полипептиды 180
Поллиноз 316
Порин 49
Пребиотики 133
Преципитация 357
Прионные болезни 691
Пробиотики 134, 377
Прогрессирующая врожденная краснуха 613
Прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия 691
Прогрессирующий краснушный панэнцефалит 614
Проказа (лепра) 522
Протеи 436
Протопласт 49
Прототроф 84
Проточная цитометрия 366
Профаг 114
Псевдомонады 474
Пятнистая лихорадка острова Флиндерс 551
Пятнистая лихорадка Скалистых гор 561

Р

Радиоиммунный анализ 365
Реакция 353
- агглютинации 354
- Артюса 319
- иммунного прилипания 360
- иммунофлюоресценции 362
- коагглютинации 356
- Кумбса 357
- Манту 521
- нейтрализации 361
- непрямой (пассивной) гемагглютинации 355
- преципитации 357
- радиального гемолиза 360
- радиальной иммунодиффузии 358
- связывания комплемента 360
- торможения гемагглютинации 356

- флоккуляции 359
- «хозяин против трансплантата» 335
Регуляторные Т-лимфоциты 297
Рекомбинация ДНК 157
Рестрикционный анализ 163
Риботипирование 166
Риккетсиозы 550
Риновирусы 595
Риноспоридиоз 722
Рифамицины 180
Робовирусная инфекция 603
Рожа 406
Ротавирусы 599
Руброфития 719

С

С-реактивный протеин 291
CD-маркеры 265
Сальмонеллы 429
Сап 481
Сапронозы 244
Сапрофит 74
Саркома Капоши 684
Североазиатский клещевой риккетсиоз 558
Селективная деконтаминация 131
Селектины 273
Семейная фатальная бессонница 694
Сепсис 233
Серологический метод 391
Сибирская язва 490
Синбиотики 134
Синегнойная палочка 474
Синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера 694
Синдром Гудпасчера 317
Синдром хронической усталости 684
Система секреции третьего типа 219
Сифилис 537
Скарлатина 405
Сонная болезнь 751
СПИД 653
Спирохеты 42, 535
Спора 54
Споротрихоз 720
Среды питательные 74
- дифференциально-диагностические 75
- обогащения 75

Стафилококки 399
Стахиботриотоксикоз 742
Стерилизация 137
Стрептококки 40, 404
Стрептолизин О 405
Столбняк 493
Стригущий лишай 717
Сульфаниламиды 181
Суперантигены 264
Суперинфекция 233
Сферопласт 49
Сыворотка адсорбированная 355
Сывороточная болезнь 318
Сыпной тиф 555

Т

Т-клеточная лимфома 704
Toll-подобные рецепторы 279
Тельца
- Бабеша–Негри 646
- Гварниери 686
- Пашена 685
Теория иммунитета новая 309
Тетрациклины 179, 182
Тимоциты 294
Тиндализация 138
Тимус 252
Т-лимфоциты 296
Токсоплазмоз 761
Толерантность иммунологическая 311
Толерогены 255
Торковир 650
Трансдукция 160
«Трансплантат против хозяина» 335
Транспозоны 154
Трансформация 161
Трансформирующий фактор роста 284, 297
Траншейная лихорадка 473
Трахима 571
Трехдневная малярия 757
Трехдневная малярия (*ovale*) 758
Трепаносомы 751
Трихомонады 754
Трихофития 717

Тропическая малярия 758
Туберкулез 515
Туберкулин 521
Туляремия 466
Тучные клетки 274, 314
Т-хелперы 296

У

Урогенитальный хламидиоз 572
Устойчивость 186
- приобретенная 187
- природная 186

Ф

Fab-фрагмент 304
Fas-система 299
Fc-рецепторы 272, 275, 305
Fc-фрагменты 305
Фавус 718
Фаг 116
Фаговар 116
Фаговая конверсия 116
Фагосома 208, 517
Фаготипирование 116
Фагоцитоз незавершенный 334, 415, 517
Фагоциты 270
Фазы роста бактерий 89
Фактор некроза опухолей 284, 300
Факторы патогенности 204
Феогифомикоз 722
Фибронектин 280
Фикомикоз 731
Флагеллин 54
Фолликулярные дендритные клетки 302, 693
Фузариоз 736
Фузарионивалетоксикоз 739
Фузариотоксикоз 739
Фторхинолоны 181

Х

Хантавирусная пневмония 606
Хеликобактериоз 547
Хемокины 273, 284
Хемотаксис 272, 290
Хемотроф 74

Хинолоны 181
Хламидии 44, 567
Хлорамфеникол 180
Холера 445
Хоминг 328
Хромобластомикоз 721
Хромовики 60

Ц

Цефалоспорины 179
Циклоспores 768
Цитокины 283
Цитомегалия 682
Цитотоксические Т-лимфоциты 299

Ч

Черная пьедра 713
Черный лишай 712
Четырехдневная малярия 758
Чума 437

Ш

Шапероны 84, 292, 691
Шига-токсин 427
Шигеллы 426
Шизогония 61, 756

Э

Экзотоксин 209
Эксфолиатины стафилококков 400
Эндотоксин 48, 209
Эндемический крысиный сыпной тиф 557
Эндоцитоз 95
Эозинофилы 273
Эпидемический возвратный тиф 542
Эпидемический паротит 639
Эпидемический сыпной тиф 555
Эписомы 152
Эпитоп 257
Эрготизм 741
Эритроцитарный диагностикум 355
Эрлихиоз 565
Эубактерии 129, 531
Эубиоз 127
Эубиотики 134
Эшерихии 420

Я

Язва сибирская 490
Японская (восточная) пятнистая лихорадка 551
Японский энцефалит 626
Ящур 597

Учебное издание

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ

Учебник

Под редакцией В.В. Зверева, А.С. Быкова

Главный редактор *А.С. Петров*

Оригинал-макет подготовлен
ООО «Медицинское информационное агентство»

Санитарно-эпидемиологическое заключение
№ 77.99.60.953.Д.000945.01.10 от 21.01.2010 г.

Подписано в печать 11.09.15. Формат 70 × 100/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура «Petersburg».
Объем 51 печ. л. Тираж 5000 экз. Заказ №

ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство»
119048, Москва, ул. Усачева, д. 62, стр. 1, оф. 6
Тел./факс: (499)245-45-55

e-mail: miapubl@mail.ru; <http://www.medagency.ru>
Интернет-магазин: www.medkniga.ru
Книга почтой на Украине: а/я 4539, г. Винница, 21037
E-mail: maxbooks@svitonline.com
Телефоны: +380688347389, 8(0432)660510

Отпечатано в полном соответствии с качеством
предоставленного электронного оригинал-макета
в типографии филиала ОАО «ТАТМЕДИА» «ПИК «Идел-Пресс».
420066, г. Казань, ул. Декабристов, 2

ISBN 978-5-9986-0227-6



9 785998 602276