

**Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
“Уральский государственный медицинский университет”  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии**

**Литусов Н.В.**

## **ЧАСТНАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ**

**Электронное иллюстрированное учебное издание**

**Екатеринбург  
2017**

УДК 579

Рецензент: профессор кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России доктор медицинских наук профессор Слободенюк А.В.

Литусов Н.В. Частная бактериология. Электронное иллюстрированное учебное издание. – Екатеринбург: УГМУ, 2017. – 707 с.

Электронное иллюстрированное учебное издание “Частная бактериология” подготовлено в качестве информационного сопровождения самостоятельной работы студентов, осваивающих основные образовательные программы высшего образования, разработанные на основе ФГОС ВО.

Электронное иллюстрированное учебное издание “Частная бактериология” содержит сведения по морфологическим культуральным, биохимическим свойствам возбудителей основных бактериальных инфекций, их антигенной структуре, факторам патогенности, патогенезу развития заболеваний, клинической картине, лабораторной диагностике, профилактике и лечению отдельных инфекций.

Каждый раздел пособия сопровождается контрольными вопросами и тренировочными тестами. Учебное издание иллюстрировано рисунками, схемами, таблицами для лучшего усвоения изучаемого материала. Часть рисунков выполнена автором, другая часть – заимствована из научной литературы и Интернет-ресурсов.

Электронное иллюстрированное учебное издание “Частная бактериология” предназначено для самостоятельной работы студентов при подготовке к практическим занятиям.

© ФГБОУ ВО УГМУ, 2017

© Литусов Н.В.

## Содержание

1. Грамположительные аэробные кокки .....	4
1.1. Стафилококки .....	4
1.2. Стрептококки .....	44
1.3. Пневмококки .....	66
2. Грамотрицательные аэробные кокки .....	80
2.1. Менингококки .....	83
2.2. Гонококки .....	103
3. Грамотрицательные факультативно-анаэробные палочки .....	118
3.1. Энтеробактерии .....	118
3.1.1. Эшерихии .....	118
3.1.2. Шигеллы .....	148
3.1.3. Сальмонеллы .....	174
3.2. Иерсинии .....	216
3.3. Вибрионы .....	259
4. Грамотрицательные аэробные палочки .....	295
4.1. Бордетеллы .....	295
4.2. Бруцеллы .....	319
4.3. Франциселлы .....	353
5. Грамотрицательные анаэробные палочки .....	379
5.1. Бактероиды .....	379
6. Грамположительные спорообразующие палочки .....	390
6.1. Бациллы .....	390
6.1.1. Возбудитель сибирской язвы .....	391
6.2. Клостридии .....	427
6.2.1. Возбудитель ботулизма .....	427
6.2.2. Возбудитель столбняка .....	450
6.2.3. Возбудители анаэробной клостридиальной инфекции .....	469
7. Грамположительные палочки неправильной формы .....	483
7.1. Коринебактерии .....	483
7.2. Микобактерии .....	514
8. Спирохеты .....	554
8.1. Трепонемы .....	555
8.2. Боррелии .....	581
9. S-образные бактерии .....	613
9.1. Кампилобактерии .....	613
9.2. Хеликобактерии .....	627
10. Риккетсии .....	640
11. Хламидии .....	670
12. Микоплазмы .....	692
Список учебной литературы .....	705

## 1. Грамположительные аэробные кокки

Кокки представляют собой микроорганизмы шарообразной формы. Среди кокков имеются грамположительные и грамотрицательные, аэробные и анаэробные бактерии. Кокки имеют важное медицинское значение (таблица 1.1).

Таблица 1.1 – Основные представители кокков, имеющих медицинское значение

Тип дыхания бактерий	Грамположительные кокки	Грамотрицательные кокки
Аэробный	стафилококки стрептококки энтерококки лейкопостоки педиококки лактококки	менингококки гонококки
Анаэробный	пептококки пептострептококки	вейлонеллы

Грамположительные аэробные кокки широко распространены в природе и объединяют патогенные, условно-патогенные и непатогенные микроорганизмы. С одной стороны, грамположительные аэробные кокки входят в состав нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек тела человека. С другой стороны, они способны вызывать у человека различные инфекционные заболевания. Основными представителями грамположительных аэробных кокков являются стафилококки, стрептококки, пневмококки и энтерококки.

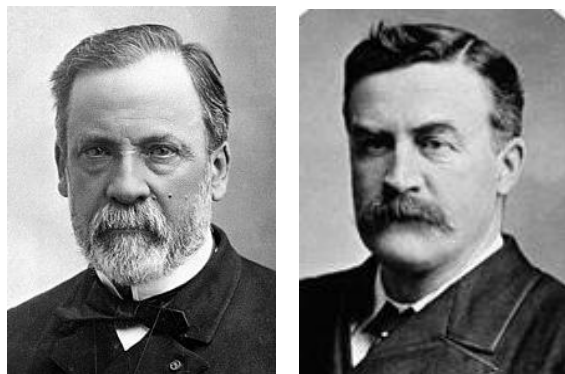
### 1.1. Стафилококки

Впервые стафилококки были описаны в 1878 г. известным немецким микробиологом Р. Кохом (рисунок 1.1).



Рисунок 1.1 – Роберт Кох (Heinrich Hermann Robert Koch, 1843-1910 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В чистой культуре стафилококки выделили французский микробиолог Л. Пастер из гноя фурункула человека и шотландский хирург А. Огстон из гноя абсцессов пациентов хирургического стационара (рисунок 1.2).



А

Б

Рисунок 1.2 – А – Луи Пастер (Louis Pasteur, 1822-1895 гг.); Б – Александр Огстон (Alexander Ogston, 1844-1929 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1881 г. А. Огстон предложил родовое название - *Staphylococcus*. Подробное описание разных видов стафилококков представил в 1884 г. немецкий врач, профессор патологии и терапии О. Розенбах (рисунок 1.3).



Рисунок 1.3 – Оттомар Эрнст Феликс Розенбах (Ottomar Ernst Felix Rosenbach, 1851-1907 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Таксономическое положение и классификация стафилококков.** Название стафилококков происходит от греческих слов “*staphylos*” – виноград, гроздь и “*coccus*” – ягода, зерно.

Стафилококки относятся к типу *Firmicutes*, классу *Bacilli*, порядку *Bacillales*, семейству *Staphylococcaceae*, роду *Staphylococcus*. Этот род включает более 35 видов. Клинически значимыми для человека видами стафилококков являются *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. intetrmedius* и некоторые другие.

Среди стафилококков выделяют патогенные виды (в частности, *S. aureus*), условно-патогенные виды (например, *S. epidermidis*) и непатогенные виды (в частности, *S. saprophyticus*).

С точки зрения патогенетических признаков важной является классификация стафилококков по способности продуцировать плазмокоагулазу. По этому признаку стафилококки подразделяются на **коагулазоположительные** или **коагулазопозитивные** (к ним относится золотистый стафилококк – *S. aureus*) и **коагулазоотрицательные** или **коагулазонегативные** стафилококки (к ним относятся эпидермальный и сапрофитный стафилококки – *S. epidermidis* и *S.*

*saprophyticus*). Внутри вида по чувствительности к бактериофагам *S. aureus* подразделяется на фагогруппы и фаговары.

### Морфологические и тинкториальные свойства стафилококков.

Стафилококки имеют шаровидную форму, диаметр клеток составляет 0,5-1,5 мкм. В мазках из культур, выросших на плотных питательных средах, они образуют скопления, напоминающие виноградные грозди. Такое расположение обусловлено делением клеток в разных плоскостях (рисунок 1.4).

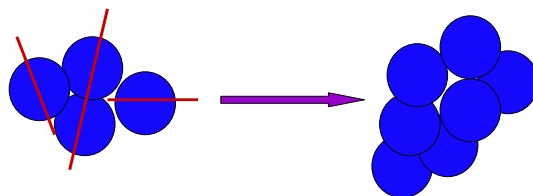


Рисунок 1.4 – Схема образования виноградной грозди при делении стафилококков (красные линии показывают расположение плоскостей, в которых происходит деление отдельных клеток).

В патологическом материале стафилококки располагаются небольшими группами (рисунок 1.5).

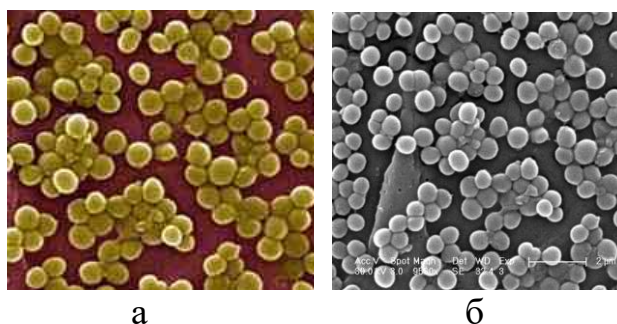


Рисунок 1.5 – Стафилококки. Компьютерная визуализация (а) и сканирующая электронная микроскопия (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Стафилококки неподвижны, спор не образуют. Некоторые стафилококки могут образовывать микрокапсулу. По Граму стафилококки окрашиваются положительно (рисунок 1.6).

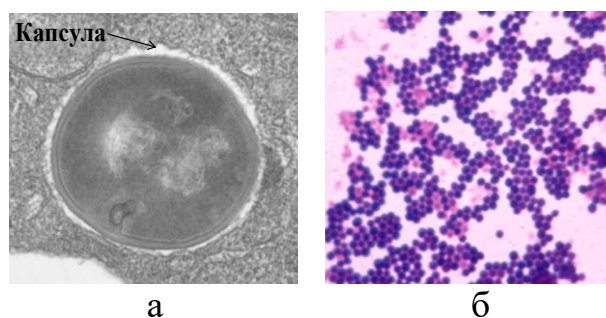


Рисунок 1.6 – Стафилококки. Просвечивающая электронная микроскопия (а) и иммерсионная микроскопия, окраска по Граму (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

### Культуральные и биохимические свойства стафилококков.

Стафилококки являются факультативными анаэробами, хорошо растут в аэробных условиях при температуре 35-40<sup>0</sup>С на простых питательных средах (на мясо-пептонном агаре – МПА и в мясо-пептонном бульоне - МПБ) при рН 7,0-7,5. На МПА стафилококки образуют ровные круглые колонии S-формы диаметром 2-4 мм, которые могут быть окрашены в желтый, белый, оранжевый, кремовый цвета. Цвет колоний обусловлен наличием пигмента, синтезируемого стафилококками в аэробных условиях. Однако пигментообразование не является видовым признаком стафилококков. При размножении в жидких питательных средах стафилококки вызывают равномерное помутнение (рисунок 1.7).

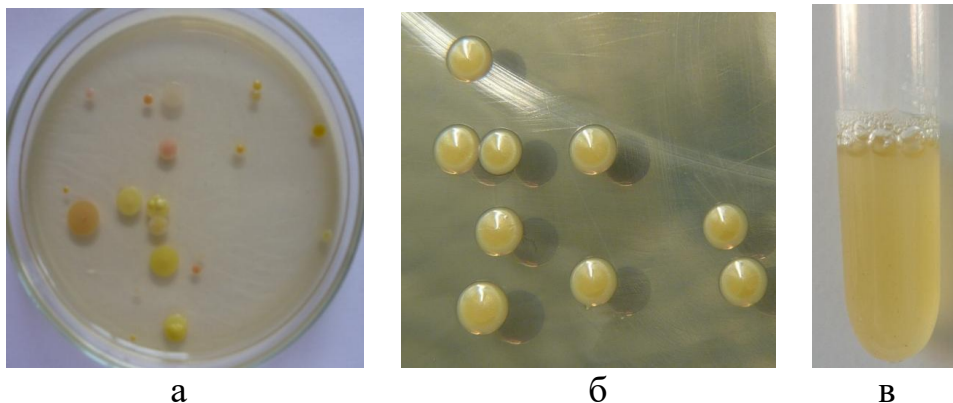


Рисунок 1.7 – Колонии стафилококков на МПА (а), внешний вид колоний золотистого стафилококка на МПА (б, заимствовано из Интернет-ресурсов) и характер роста стафилококков в МПБ (в).

Стафилококки являются представителями галофильных (солеустойчивых) бактерий: они хорошо растут при содержании в питательной среде 10-15% хлорида натрия. Поэтому **элективными** для стафилококков являются питательные среды с повышенным содержанием NaCl: **желточно-солевой агар (ЖСА), молочно-солевой агар (МСА), молочно-желточно-солевой агар (МЖСА)**. На желточно-солевом агаре патогенные стафилококки формируют колонии, окруженные радужным венчиком за счет разложения лецитина яичного желтка с помощью синтезируемого фермента лецитиназы (рисунок 1.8).

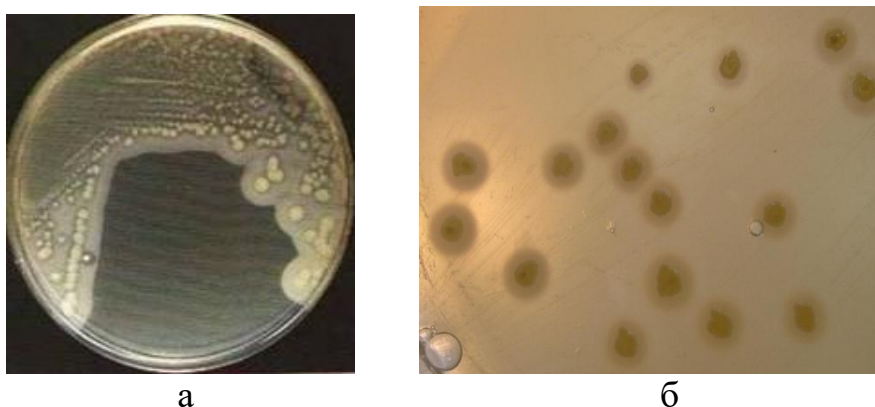
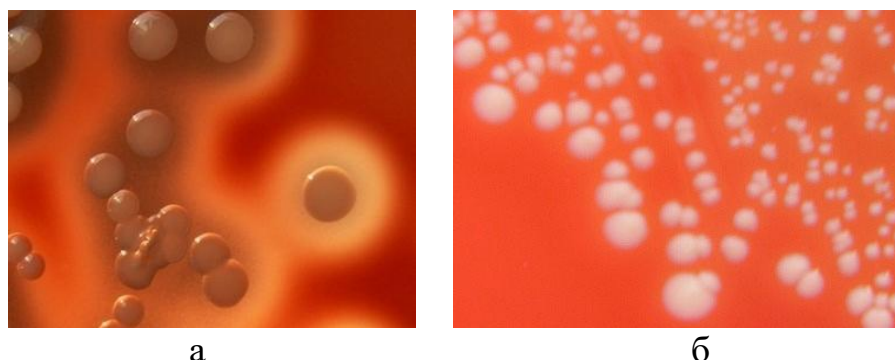


Рисунок 1.8 – Характер роста стафилококков на желточно-солевом агаре (а) и зоны опалесценции вокруг колоний (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На кровяном агаре золотистый стафилококк формирует колонии, окруженные зоной гемолиза, эпидермальный стафилококк зон гемолиза не образует (рисунок 1.9).



а

б

Рисунок 1.9 – Характер роста на кровяном агаре золотистого стафилококка (а) и эпидермального стафилококка (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Стафилококки обладают высокой биохимической активностью: они ферментируют в аэробных условиях многие углеводы до уксусной кислоты без газа. В частности, *S. aureus* разлагает до кислоты глюкозу, сахарозу, лактозу, маннит и не ферментирует мальтозу (рисунок 1.10).

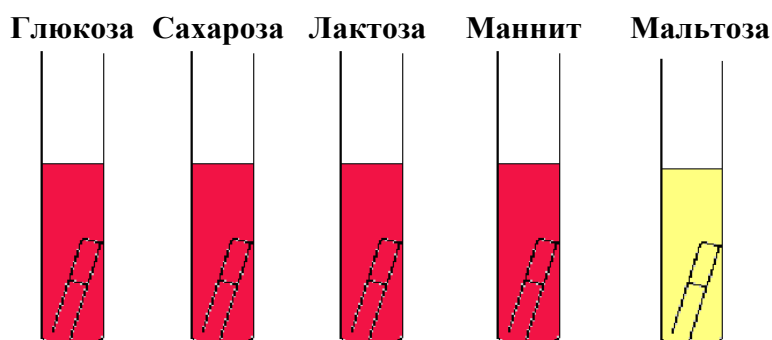


Рисунок 1.10 – Ферментация углеводов золотистым стафилококком.

Разные виды стафилококков ферментируют разный спектр углеводов. Дифференциально-диагностическое значение имеет **тест на сбраживание глюкозы в анаэробных условиях**. Ферментация глюкозы в анаэробных условиях с образованием молочной кислоты характерна для стафилококков и отличает их от стрептококков. Для проведения этого теста используют готовую среду с индикатором ВР (водорастворимым голубым) или среду Хью-Лейфсона с индикатором бромтимоловым синим. Исходная среда имеет лиловый (среда с индикатором ВР) или зеленый (среда Хью-Лейфсона) цвет. Аэробные бактерии окисляют глюкозу, то есть образуют кислоту только в среде без вазелинового масла (в аэробных условиях). Анаэробные бактерии ферментируют глюкозу, то есть образуют кислоту, только в среде с вазелиновым маслом (в анаэробных условиях). Факультативные анаэробы, к которым относится золотистый стафилококк, утилизируют глюкозу как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Посев осуществляют уколом в столбик питательной среды в две пробирки. После посева для создания анаэробных условий среду в одной из пробирок заливают слоем



стерильного вазелинового масла. Культивирование проводят в течение 3-4 суток. Образование кислоты приводит к желтому окрашиванию столбика среды (рисунок 1.11).

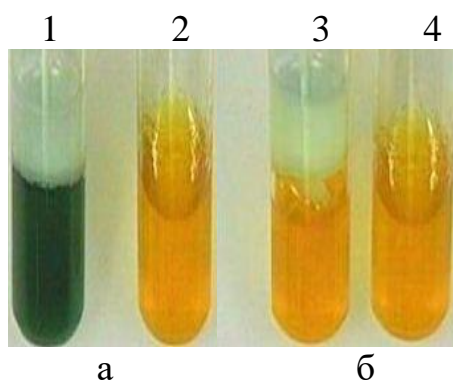


Рисунок 1.11 – Окисление глюкозы аэробными бактериями (а) и сбраживание глюкозы факультативными анаэробами (б). Пробирки 1 и 3 – с вазелиновым маслом (анаэробные условия), пробирки 2 и 4 – без вазелинового масла (аэробные условия).  
Займствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Стафилококки разжижают желатин в виде воронки, белки расщепляют до аммиака и сероводорода, не образуют индола.

Патогенные виды стафилококков (в частности, *S. aureus*) продуцируют плазмокоагулазу (**коагулазоположительные**) и фибринолизин. *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* не продуцируют плазмокоагулазу (**коагулазоотрицательные**). Плазмокоагулазу и фибринолизин выявляют следующим образом. В пробирку с плазмой крови кролика вносят исследуемую культуру и инкубируют в течение суток при температуре 36°C. При положительной реакции на плазмокоагулазу образуется плотный сгусток. Для выявления фибринолитической активности пробирку со сгустком оставляют в термостате еще на сутки. При наличии фибринолизина сгусток разжижается (рисунок 1.12). В последние годы в материале от больных со стафилококковой инфекцией все чаще обнаруживают коагулазоотрицательные стафилококки, считавшиеся ранее непатогенными бактериями.

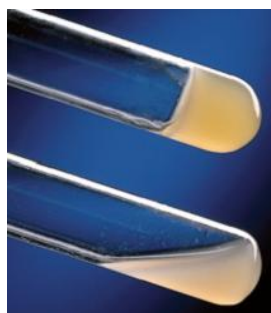


Рисунок 1.12 – Свертывание плазмы крови коагулазой (верхняя пробирка) и разжижение сгустка фибринолизином (нижняя пробирка). Займствовано из Интернет-ресурсов.

Стафилококки продуцируют каталазу (**каталазоположительные**), что отличает их от стрептококков и энтерококков, которые являются **каталазоотрицательными** бактериями. Каталаза разрушает перекись водорода, в

результате чего стафилококки защищены от высокотоксичных производных кислорода. Продуцирование каталазы выявляется при добавлении к микробной культуре (на плотной питательной среде или на стекле) 1% раствора перекиси водорода. Положительная реакция проявляется выделением пузырьков газа (рисунок 1.13).

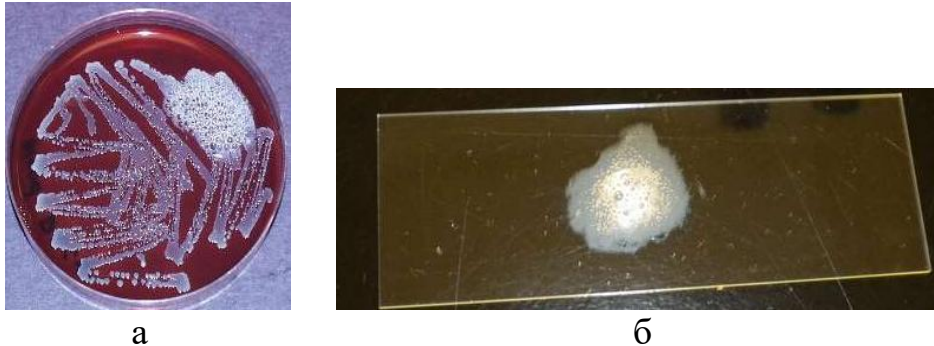


Рисунок 1.13 – Выявление каталазы стафилококков с помощью перекиси водорода на питательном агаре (а) и на стекле (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Стафилококки являются **оксидазоотрицательными**, то есть не продуцируют оксидазу. Например, цитохромоксидазу выявляют путем нанесения капли суточной микробной культуры на фильтровальную бумажку, смоченную специальным реактивом (1% спиртовой раствор  $\alpha$ -нафтола; 1% водный раствор N-диметил- $\beta$ -фенилендиамина дигидрохлорида). В положительном случае на месте нанесения культуры появляется синее окрашивание. Для постановки этого теста выпускаются специальные слайды, пропитанные указанными реактивами (рисунок 1.14).

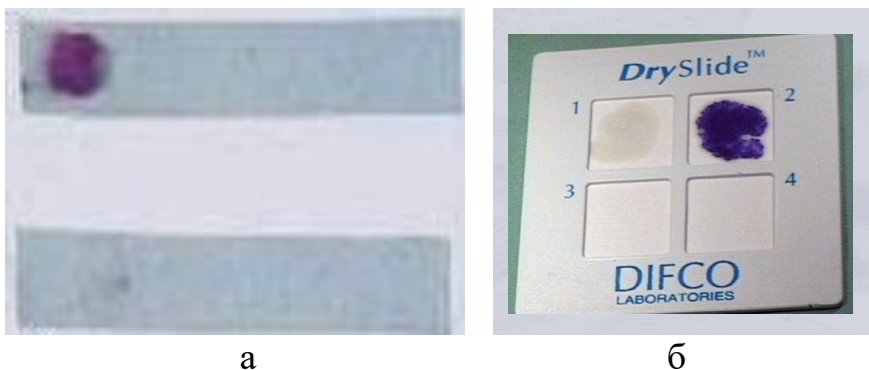


Рисунок 1.14 – Тест на оксидазу с использованием индикаторных полосок (а) и слайдов (б). Синее окрашивание указывает на положительный результат. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Стафилококки синтезируют каротиноидные пигменты, защищающие микробные клетки от оксидантов. Пигменты определяют цвет колоний стафилококков на МПА.

Синтез ДНКазы характерен для золотистого стафилококка. ДНКазы катализируют расщепление ДНК. Для ее выявления используют агар, содержащий водный раствор ДНК и раствор кальция хлорида. После выращивания культуры на чашку наносят раствор соляной кислоты. Положительная реакция проявляется прозрачной зоной деполимеризованной ДНК вокруг колоний на мутном фоне,

образующемся в результате взаимодействия ДНК с соляной кислотой (рисунок 1.15).

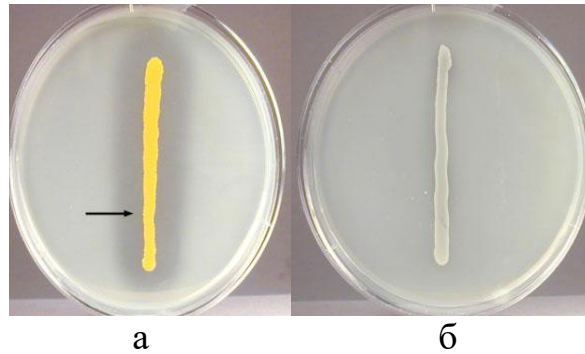


Рисунок 1.15 – Выявление ДНКазы стафилококков: а – положительная реакция, б – отрицательная реакция. Стрелкой показана зона деполимеризованной ДНК. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Сапрофитный и эпидермальный стафилококки продуцируют **уреазу**, которая расщепляет мочевину до аммония. Для определения уреазы культуру высевают в бульон с мочевиной. Изменение окраски среды на розовый свидетельствует о присутствии уреазы (рисунок 1.16).

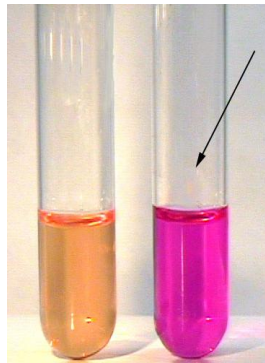


Рисунок 1.16 – Тест на уреазу. Стрелкой показана положительная проба. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В таблице 1.2 представлены дифференциальные признаки основных видов стафилококков, имеющих медицинское значение.

Таблица 1.2 – Дифференциальные признаки основных видов стафилококков

Признак	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Способность к росту в анаэробных условиях	+	+	+/-
Рост на среде с 10% натрия хлорида	+	+/-	+
Рост при: 15 <sup>o</sup> C	+	-	+
45 <sup>o</sup> C	+	+	+/-
Ферментация углеводов до кислоты в аэробных условиях: - арабиноза	-	-	-

- галактоза	+	+/-	-
- ксилит	-	-	+/-
- ксилоза	-	-	-
- лактоза	+	+/-	+/-
- маннит	+	-	+/-
- манноза	+	+/-	-
- раффиноза	-	-	-
- сахароза	+	+	+
- трегалоза	+	-	+
- фруктоза	+	+	+
Щелочная фосфатаза	+	+	-
Гиалуронидаза	+	+/-	?
Уреаза	+/-	+	+
Плазмокоагулаза	+	-	-
Фибринолизин	+/-	+/-	?
Гемолитическая активность	+	-	-
ДНКаза	+	-	-
Чувствительность к новобиоцину	+	+	-

Примечание: “+” - признак выражен; “+/-“ - признак наблюдается непостоянно; “-“ - признак отсутствует; “?” – признак сомнительный.

**Антигенными свойствами** обладают пептидогликан, тейхоевые кислоты, белок А клеточной стенки, капсула стафилококков. Видоспецифическими антигенами для стафилококков являются тейхоевые кислоты: для *S. aureus* – рибитолтейхоевые, для *S. epidermidis* – глицеринтейхоевые, для *S. saprophyticus* – оба типа тейхоевых кислот.

**Резистентность стафилококков.** Во внешней среде стафилококки достаточно устойчивы. В пыли они сохраняются до 100 суток, в гное – до 200 суток. Прямой солнечный свет убивает их за 10-12 часов. При температуре 70-80<sup>0</sup>С стафилококки погибают через 20-30 минут, при 150<sup>0</sup>С – через 10 минут.

Стафилококки устойчивы к высоким концентрациям хлорида натрия (растут на средах в присутствии 10-15% хлорида натрия). Галофильность стафилококков способствует тому, что соленые пищевые продукты и концентраты могут быть контаминированы золотистым стафилококком, способным вызывать пищевые отравления.

К большинству дезинфектантов стафилококки чувствительны. Они также чувствительны к анилиновым красителям (фуксину, кристаллическому фиолетовому, бриллиантовому зеленому) и йоду, что позволяет использовать эти препараты местно для лечения стафилококковых пиодермий. Фуксин и бриллиантовый зеленый входят также в состав селективных сред для выделения энтеробактерий (среды Эндо, Плоскирева) в качестве факторов, подавляющих рост грамположительных бактерий, в том числе стафилококков.

Стафилококки не обладают природной устойчивостью к антибиотикам. Однако в настоящее время широкое распространение получили штаммы стафилококков, обладающие множественной устойчивостью к антибиотикам ( $\beta$ -лактамам, эритромицину, тетрациклинам, хлорамфениколу и др.). Устойчивость к антибиотикам чаще всего детерминируется генами, расположенными на

бактериальной хромосоме (результат мутаций) или R-плазмидах (результат генетического переноса). Особое внимание уделяется метициллин-резистентным стафилококкам (**MRS-штаммам**), регистрируемым как при внутрибольничных вспышках, так и при внебольничных инфекциях. Среди метициллин-резистентных стафилококков чаще всего выявляются штаммы золотистого (**MRSA**) и эпидермального (**MRSE**) стафилококков. Резистентность стафилококков к  $\beta$ -лактамам обусловлена присутствием *mec A* гена, который кодирует пенициллин-связывающий белок (ПСБ) 2а. Ген *mec A* располагается на мобильном генетическом элементе (стафилококковой хромосомной кассете – *SCCmec*). Расположение некоторых генов на хромосоме уникального штамма (устойчивого к антибиотикам) и хромосоме чувствительных штаммов золотистого стафилококка представлено на рисунке 1.17.

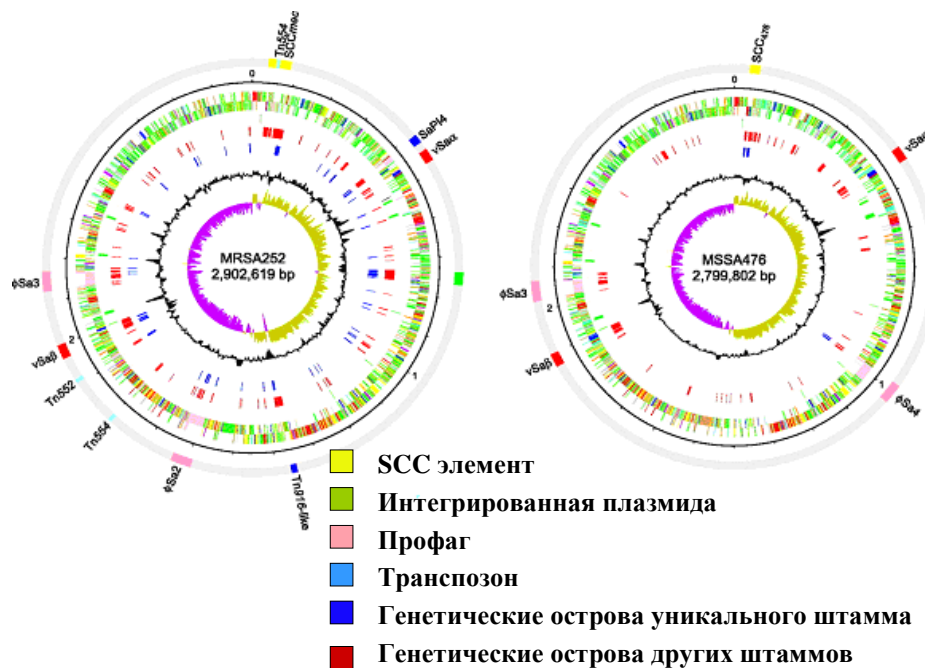


Рисунок 1.17 – Хромосомные карты разных штаммов золотистого стафилококка. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Метициллин-резистентный золотистый стафилококк устойчив ко всем  $\beta$ -лактамам антибиотикам (пеницилинам, цефалоспорином, монобактамам, карбапенемам). По микробиологическим и эпидемиологическим признакам различают внутрибольничные (нозокомиальные) и внебольничные MRSA. Нозокомиальный метициллин-резистентный *S. aureus* (healthcare-associated MRSA – **HA-MRSA**) выделяется от пациентов отделений интенсивной терапии. Внебольничный метициллин-резистентный *S. aureus* (community-associated MRSA – **CA-MRSA**) распространен за пределами лечебных учреждений. Особенностью внебольничных штаммов MRSA является наличие гена, детерминирующего синтез лейкоцидина Пантона-Валентина.

**Факторы патогенности стафилококков.** В настоящее время у стафилококков выявлено большое количество факторов, участвующих в проявлении патогенных свойств возбудителя. Среди факторов патогенности стафилококков выделяют как структурные компоненты клеток (капсула, белки клеточной стенки),

так и секретируемые во внешнюю среду субстанции (экзотоксины, экзоферменты). Каждый фактор патогенности выполняет специфическую функцию. Разные виды стафилококков обладают разным набором факторов патогенности. Основные факторы патогенности стафилококков представлены в таблице 1.3 и на рисунке 1.18.

Таблица 1.3 – Факторы патогенности стафилококков

Название факторов	Выполняемая функция
<b>1. Факторы клеточной поверхности</b>	
<b>1.1. Микробные поверхностные компоненты, распознающие адгезивные матричные молекулы (MSCRAMM)</b>	
Стафилококковый протеин А (SpA)	Связывание с IgG, препятствие опсонизации и фагоцитозу
Фибронектин-связывающие белки (FnbpA и FnbpB)	Связывание бактерий с фибронектином
Коллаген-связывающий белок	Связывание микробных клеток с коллагеном
Белковые клампинг-факторы (ClfA и ClfB), хлопьеобразующие факторы	Фактор слипания, участвующий в формировании “псевдокапсулы”
Эластин-связывающий белок	Связывание с эластином
Тейхоевые кислоты	Адгезия к эпителиальным клеткам
<b>1.2. Полисахаридная капсула</b>	Препятствие фагоцитозу, колонизация и персистенция на слизистой оболочке
<b>1.3. Стафилоксантин (каротиноидный пигмент)</b>	Резистентность к фагоцитозу
<b>2. Секретируемые факторы</b>	
<b>2.1. Токсины</b>	
Стафилококковые энтеротоксины (SE A, B, C, D, E)	Активация ферментных систем энтероцитов
Токсин синдрома токсического шока (TSSR-1)	Нейротропные и вазотропные эффекты
Эксфолиативные токсины А и В (ETA и ETB)	Разрушение межклеточных контактов в эпидермисе
Цитолитические (порообразующие) токсины: 1. Цитолизины: - альфа-гемолизин - бета-гемолизин (сфингомиелиназа) - гамма-гемолизин - дельта-гемолизин 2. Лейкоцидин Пантона-Валентина (PVL)	Индуцированный лизис клеток
<b>2.2. Внеклеточные ферменты</b>	
Плазмокоагулаза	Свертывание плазмы крови
Лецитиназа (лецитовиттеллаза)	Гидролиз липидов, липопротеинов
Протеазы: - цистеиновая (стафопаин) - металлопротеаза (ауреолизин)	Расщепление белковых продуктов, распространение бактерий по организму
Гиалуронидаза	Дегградация гиалуроновой кислоты
Нейраминидаза	Дегградация нейраминовой кислоты
Стафилокиназа (SAK)	Активация пламиногена, инактивация антимикробных пептидов
ДНКаза	Разрушение ДНК
<b>3. Медиаторы межмикробного взаимодействия</b>	

Бактериоцины (стафилококцины)	Подавляют рост непатогенных стафилококков, заселяющих биотоп в норме
Бактериолизины	Разрушают пептидогликан клеточной стенки грамположительных бактерий
Феромоны	Сигнальные белковые молекулы, регулирующие плотность популяции (кворум-сенсинг)
Бета-лактамаза	Разрыв бета-лактамного кольца, инактивирование бета-лактамных антибиотиков
<b>4. Прочие факторы патогенности</b>	
Стафилококковый ингибитор комплемента (SCIN)	Ингибирование системы комплемента
Протеин <i>S. aureus</i> , ингибирующий хемотаксис (CHIPS)	Ингибирование хемотаксиса нейтрофилов
Устойчивость к солям и жирным кислотам.	Размножение в потовых и сальных железах
Внеклеточные полисахариды	Образование экзополисахаридной матрицы на слизистых оболочках или на плотных поверхностях (формирование биопленок)

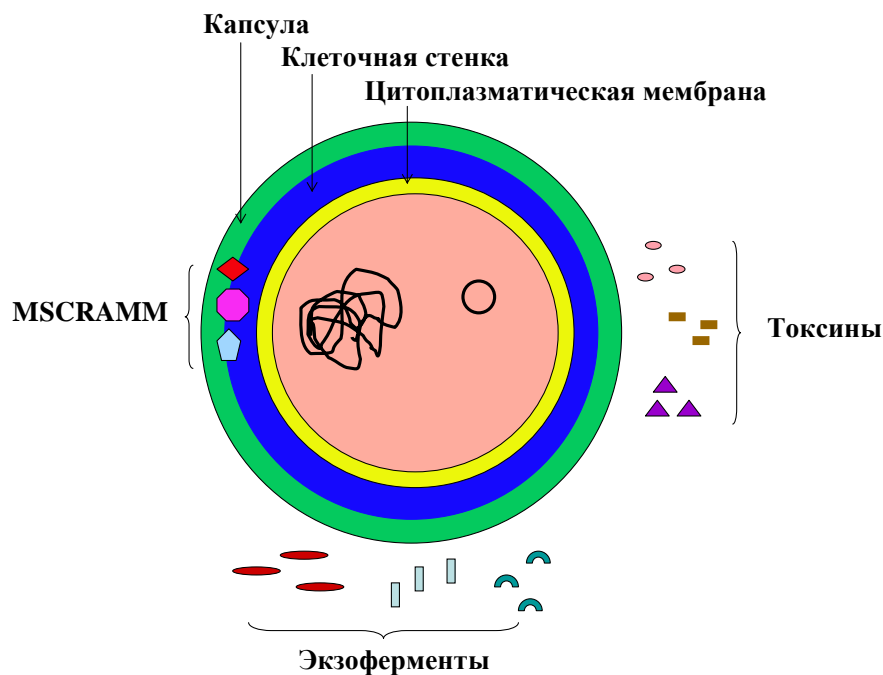


Рисунок 1.18 – Факторы патогенности стафилококков.

Факторы патогенности золотистого стафилококка детерминируются не только хромосомными генами, но и генами интегрированных профагов (9NM1, 9NM2, 9NM3, 9NM4) и автономных плазмид. Гены, определяющие патогенность стафилококков, сгруппированы в острова патогенности. Наиболее полный набор представленных факторов патогенности встречается у штаммов золотистого стафилококка. Штаммы других видов стафилококков могут иметь лишь некоторые факторы патогенности.

Факторы патогенности стафилококков по выполняемой функции можно подразделить на следующие группы:

1. Факторы, обеспечивающие адгезию стафилококков (клампинг-фактор, тейхоевые кислоты, капсула и др.).

2. Факторы, способствующие распространению стафилококков по тканям организма (гиалуронидаза, устойчивость к жирным кислотам).
3. Факторы с токсической функцией (токсины).
4. Факторы, препятствующие фагоцитозу (полисахаридная капсула, белок А).
5. Факторы, инактивирующие защитные системы организма (факторы с антилизоцимной, антиинтерфероновой, антикомплементарной, антикарнозиновой, антилактоферриновой, антигемоглобиновой активностями).

**Микробные поверхностные компоненты**, распознающие адгезивные матриксные молекулы (MSCRAMM), или адгезины взаимодействуют с различными рецепторами клеток макроорганизма (муцином слизистых оболочек, протеогликанами соединительной ткани и эндотелиоцитов), белками внеклеточного матрикса (коллагеном, фибронектином, ламинином и др.), сывороточными белками (фибриногеном и др.).

**Фибронектин-связывающие белки.** Фибронектин присутствует в организме в виде фибриллярной сети на клеточной поверхности и во внеклеточном матриксе. Фибронектин-связывающие белки стафилококков способствуют как адгезии бактерий на поверхности клеток, так и распространению их во внеклеточном пространстве.

**Коллаген-связывающий белок** экспрессируется некоторыми штаммами золотистого стафилококка, выступает фактором адгезии и играет важную роль в патогенезе остеомиелита и септического артрита.

**Белок А** стафилококков располагается поверхностно, связан с пептидогликаном клеточной стенки бактерий, термолабилен, не разрушается трипсином. Белок А способен связываться с Fc-фрагментом IgG, образующийся при этом комплекс блокирует опсонизирующую активность антител и предотвращает поглощение бактерий фагоцитами (рисунок 1.19).

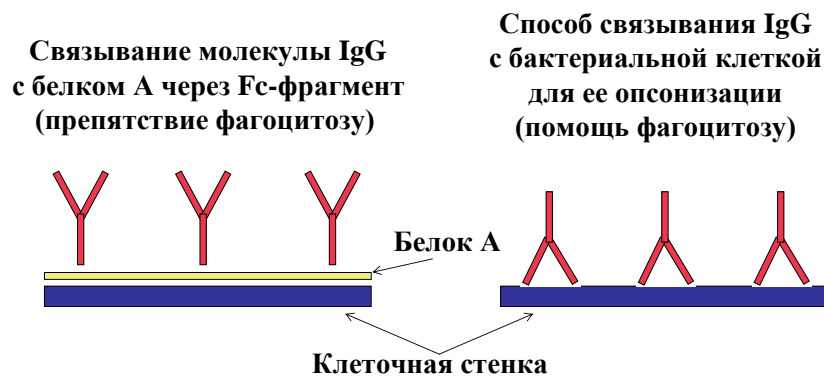


Рисунок 1.19 – Схема антифагоцитарного действия белка А стафилококка.

**Клампинг-факторы** стафилококков (хлопьеобразующие факторы ClfA и ClfB) представляют собой фибриноген-связывающие белки клеточной стенки. Наличие этих факторов приводит к склеиванию стафилококков в виде хлопьев при контакте микробных клеток с плазмой крови (рисунок 1.20).



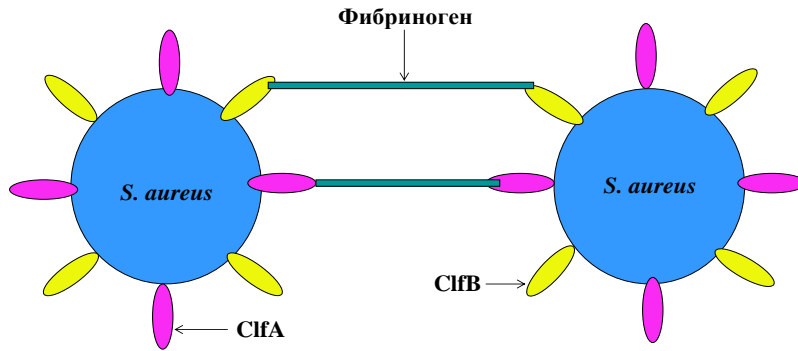


Рисунок 1.20 – Склеивание стафилококков с участием клампинг-факторов.

Внешне этот феномен напоминает реакцию агглютинации, поэтому некоторые авторы называют его реакцией плазмоагглютинации. В результате превращения фибриногена в фибрин вокруг микробных клеток при участии клампинг-фактора формируется псевдокапсула, защищающая бактерии от фагоцитирующих клеток хозяина (рисунок 1.21).

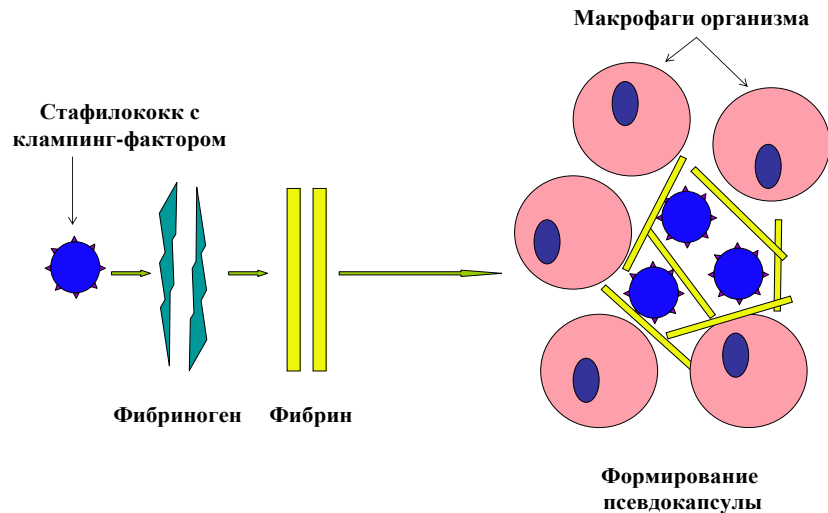


Рисунок 1.21 – Формирование псевдокапсулы под влиянием клампинг-фактора стафилококка.

**Эластин-связывающий белок** принимает участие в бактериальной колонизации тканей, богатых эластином (легкие, кожа, стенки кровеносных сосудов).

**Капсула** стафилококков препятствует фагоцитозу (защита бактерий от опсонизации комплементом и соответственно комплемент-опосредованного поглощения фагоцитами), но способствует адгезии бактерий к клеткам организма и распространению патогенов по тканям. Микрокапсула обнаруживается у 70% штаммов стафилококков. Роль капсулы в фагоцитозе бактерий отражена на рисунке 1.22.

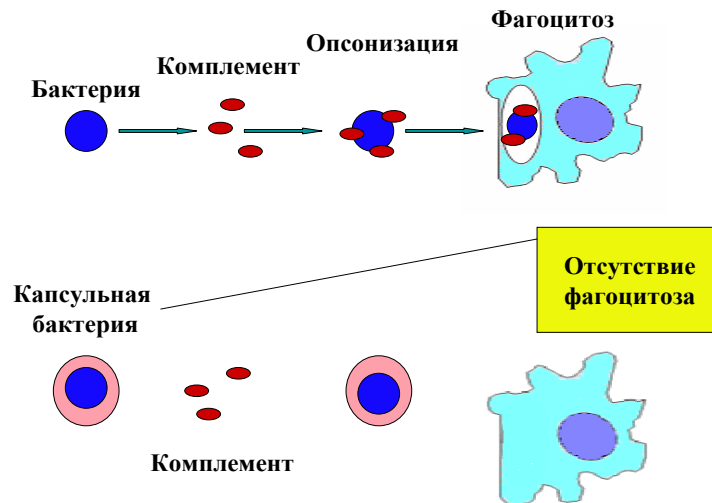


Рисунок 1.22 – Роль бактериальной капсулы в комплемент-опосредованном фагоцитозе.

**Энтеротоксины** стафилококков обуславливают пищевые отравления. Энтеротоксины А, В, С1, С2, С3, D, Е, F являются термостабильными низкомолекулярными белками. Они устойчивы к действию спирта, формалина, протеолитических ферментов. Энтеротоксины взаимодействуют с эпителиальными клетками и активируют их ферментные системы, вызывая увеличение в клетках кишечного эпителия количества циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и циклического гуанидинмонофосфата (цГМФ). В результате этого увеличивается секреция солей и воды в просвет желудочно-кишечного тракта, развивается обильная рвота и диарея.

**Токсин синдрома токсического шока (TSST-1)** вызывает развитие нейротропных и вазотропных эффектов за счет резкой стимуляции выделения фактора некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ) и интерлейкина 1. Синтез этого токсина обусловлен наличием у стафилококков профага (лизогенная конверсия).

**Эксфолиативные токсины А и В** вызывают разрушение межклеточных контактов между кератиноцитами в гранулярном слое эпидермиса и его отслойку или эксфолиацию (рисунок 1.23).

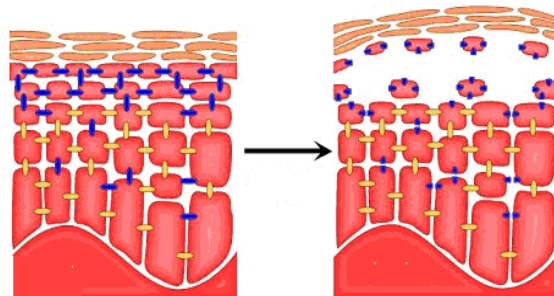


Рисунок 1.23 – Процесс отслойки (эксфолиации) эпидермиса в результате действия эксфолиативных токсинов. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Эксфолиативный токсин А является термостабильным и контролируется хромосомными генами, а эксфолиативный токсин В - термолабильный и детерминируется плазмидными генами.

**Цитолитические токсины** вызывают образование пор в клеточных мембранах (рисунок 1.24), в результате чего нарушается осмотическое давление и происходит лизис клеток (эритроцитов) или их набухание и гибель (лейкоцитов).

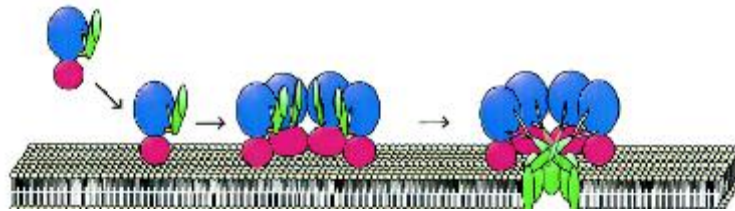


Рисунок 1.24 – Схема образования пор в клеточной мембране цитолитическими токсинами. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Альфа-гемолизин** (альфа-токсин) формирует поры в мембране клеток, в результате чего снижается их активность и происходит лизис. Именно альфа-гемолизин обуславливает бета-гемолиз, проявляющийся на кровяном агаре при культивировании *S. aureus*.

**Бета-гемолизин** представляет собой сфингомиелиназу. Он разлагает сфингомиелин (компонент клеточных мембран) с образованием фосфохолина и керамидов, что способствует проникновению возбудителя в ткани.

**Лейкоцидин Пантона-Валентина (PVL)** – токсин, вызывающий дегрануляцию и разрушение лейкоцитов. Эпидемиологически он ассоциируется с тяжелыми инфекциями кожи и некротической пневмонией. Синтез PVL кодируется двумя генами (*luk-S-PV* и *luk-F-PV*), которые переносятся между разными штаммами *S. aureus* с помощью бактериофагов. PVL синтезируется преимущественно штаммами внебольничного метициллин-резистентного золотистого стафилококка – MRSA (рисунок 1.25).

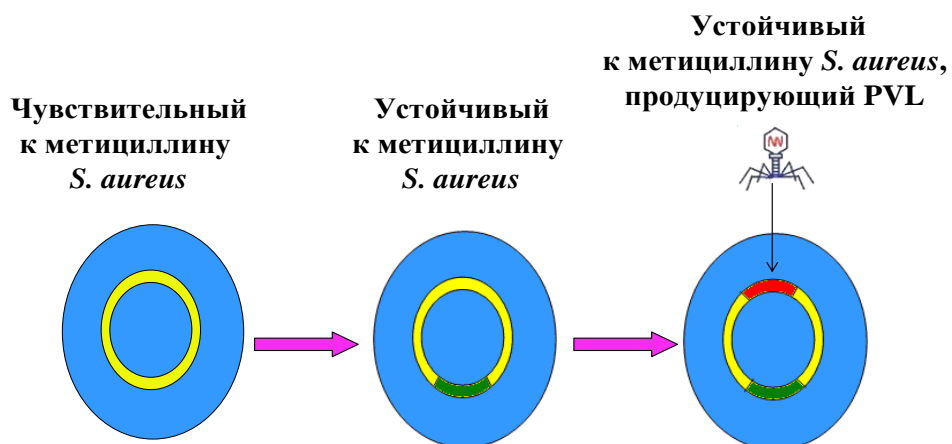


Рисунок 1.25 – Схема формирования метициллин-резистентного золотистого стафилококка, продуцирующего лейкоцидин Пантона-Валентина (PVL).

**Ауреолизин** модифицирует поверхностные белки, что способствует отделению микробных клеток от колонизируемой ткани и распространению инфекции.

**Гиалуронидаза** вызывает деполимеризацию гиалуроновой и хондроитинсерной кислот, благодаря чему ткани разрыхляются, увеличивается их проницаемость, разрушается межклеточный матрикс и облегчается проникновение стафилококка в глубину тканей.

**Нейраминидаза** разрушает нейраминную кислоту, входящую в состав соединительной ткани. Это способствует проникновению стафилококков в ткани и их распространению в межклеточном пространстве.

Механизм действия гиалуронидазы и нейраминидазы стафилококков на ткани представлен на рисунке 1.26.

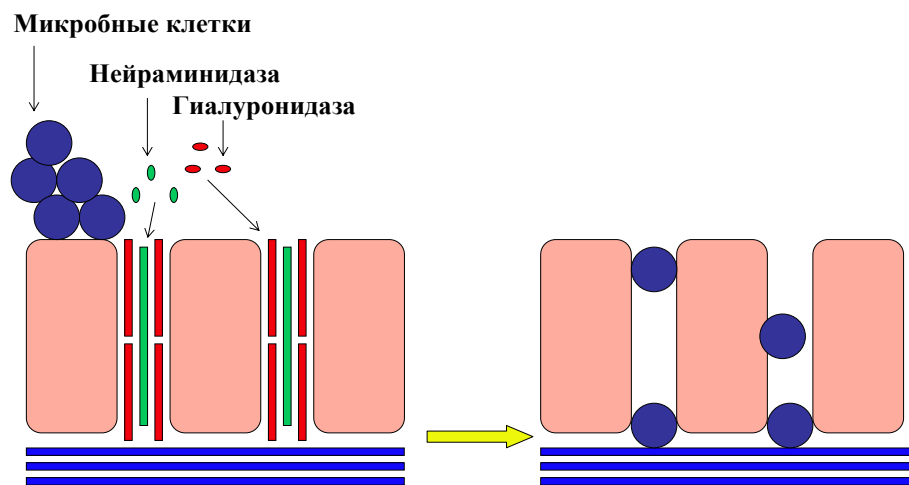


Рисунок 1.26 – Схематическое изображение механизма действия нейраминидазы и гиалуронидазы стафилококков в организме.

**Стафилокиназа** (стафилококковый фибринолизин) разрушает фибрин, соединяющий клетки организма, в результате чего бактерии способны распространяться по тканям из первичного очага (фактор тканевой инвазии). Стафилокиназа разрушает также фибрин, образуемый стафилококковой коагулазой. В результате этого формируются инфицированные микротромбы, которые с током крови разносятся по организму.

**Коагулаза** вырабатывается стафилококками в виде профермента, который активируется после контакта с плазмой крови. Комплекс коагулазы с активатором плазмы крови называется **стафилотромбином**. Этот комплекс из белков организма формирует вокруг микробной клетки фибриновую псевдокапсулу, которая защищает микробную клетку от фагоцитоза и бактерицидного действия сыворотки крови. Этот механизм защиты микробной клетки играет большую роль в персистенции стафилококков.

**Каталаза** защищает бактерии от действия токсических радикалов кислорода. Стафилококки после проникновения в организм могут подвергаться опсонизации комплементом или антителами и фагоцитироваться нейтрофилами или макрофагами. Большинство фагоцитированных бактерий внутри фагосом погибают в результате действия перекисных соединений. Однако каталаза стафилококков

превращает перекисные соединения в молекулярный кислород и воду и тем самым способствует выживанию бактерий внутри фагоцитов.

**Лецитиназа** (лецитовителлаза) – фермент из группы липаз. Этот фермент разрушает лецитин, содержащийся в клеточных мембранах. Благодаря этому ферменту бактерии способны персистировать в секрете сальных желез кожи, разрушать жировые соединения в устьях волосяных фолликулов, подавлять фагоцитоз.

**Медиаторы межмикробного взаимодействия** являются факторами колонизации патогенными стафилококками определенных биотопов. С помощью этих факторов стафилококки способны конкурировать с другими микроорганизмами при заселении определенных ниш.

**Экология стафилококков.** Стафилококки широко распространены в окружающей среде. Они являются представителями нормального микробиоценоза кожи и слизистых оболочек носа, ротовой полости, зева, половых органов. На коже человека доминирующим видом является *S. epidermidis*. Эпидермальный стафилококк может быть причиной гнойно-воспалительных процессов при снижении общей резистентности организма у лиц пожилого возраста, новорожденных, пациентов стационаров в послеоперационном периоде. *S. epidermidis* является одним из возбудителей внутрибольничных инфекций (инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи). Особенно часто эпидермальный стафилококк инфицирует сосудистые катетеры и протезы. Внутрисосудистые и имплантируемые устройства (катетеры, шунты, клапаны и др.) подвержены отложению на их поверхностях белков внеклеточного матрикса (фибриногена, фибронектина и др.). Это создает благоприятные условия для адгезии коагулазоотрицательных стафилококков. После адгезии они с помощью синтезируемых экзополисахаридов быстро формируют биопленку, в составе которой микробные клетки защищены от действия повреждающих факторов макроорганизма и антибактериальных препаратов (рисунок 1.27).

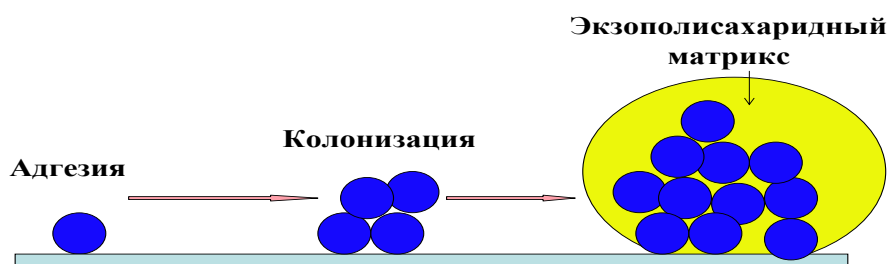


Рисунок 1.27 – Процесс формирования биопленки.

Отдельные виды стафилококков проявляют своеобразный тропизм к различным участкам кожи. Так, *S. capitis* преобладает на волосистой части головы, *S. epidermidis* – на коже лица, *S. auricularis* – в области наружного слухового прохода, *S. hominis* – в подмышечных впадинах, в области промежности, на коже конечностей и туловища.

*S. saprophyticus* способен вызывать гнойные осложнения в послеоперационном периоде. Сапрофитный стафилококк часто является причиной

инфекций мочевыводящих путей, так как обладает повышенной способностью к адгезии на эпителиальных клетках мочевыводящего тракта.

Наибольшее значение в этиологии стафилококковых инфекций имеет *S. aureus*. Носителем этого микроорганизма является до 40% взрослых людей. Золотистый стафилококк заселяет передние отделы носовых ходов (внутреннюю поверхность крыльев носа) у 70-90% здоровых лиц, при этом у 20-30% здоровых людей он может выделяться в течение продолжительного времени. Высокий уровень носительства золотистого стафилококка отмечается у персонала больниц и пациентов стационаров. У здоровых людей *S. aureus* чаще всего вызывает развитие пиодермий. Слизистые оболочки поражаются золотистым стафилококком редко.

**Эпидемиология стафилококковых инфекций.** Источником инфекции при стафилококковых заболеваниях является больной человек или бактерионоситель. Заболевание может иметь как эндогенный, так и экзогенный характер.

**Эндогенная стафилококковая инфекция** развивается при снижении естественной резистентности макроорганизма. В этом случае представители нормального микробиоценоза вызывают развитие патологического процесса в разных биотопах организма. Предрасполагающими факторами для развития эндогенной стафилококковой инфекции являются диабет, почечная и печеночная недостаточность, прием иммунодепрессантов и цитостатиков. При эндогенной инфекции входными воротами являются поврежденные участки кожи и слизистых оболочек (микротравмы), закупоренные волосяные фолликулы и протоки сальных желез. Большинство тяжело протекающих стафилококковых инфекций глубоких тканей начинается именно с кожных очагов.

**Экзогенная стафилококковая инфекция** в настоящее время часто регистрируется как инфекция, связанная с оказанием медицинской помощи. Вспышки стафилококковых инфекций отмечаются в ожоговых отделениях, отделениях интенсивной терапии, отделениях для новорожденных. Заражение происходит либо от здоровых носителей госпитальных штаммов, либо от больных со стертыми формами инфекции. Наибольшую эпидемиологическую опасность представляет медицинский персонал, у которого отмечается носительство госпитальных штаммов. Инфицированию в стационарах способствуют оперативные вмешательства, катетеризация кровеносных сосудов, использование лечебной и диагностической эндоскопической аппаратуры. Поэтому выделяют вентилятор-ассоциированные пневмонии, катетер-ассоциированные инфекции, инфекции имплантатов. Инфекции, обусловленные инфицированием сосудистых протезов, шунтов, других внутрисосудистых устройств, называют **ангиогенными**.

**Механизмы и пути передачи стафилококковой инфекции:**

1. Контактный механизм:
  - прямой контакт;
  - опосредованный контакт через предметы быта.
2. Аэрогенный механизм:
  - воздушно-капельный путь;
  - воздушно-пылевой путь.
3. Фекально-оральный механизм:
  - алиментарный (пищевой) путь.

#### 4. Артифициальный механизм:

- через медицинские инструменты при проведении лечебных и диагностических процедур.

**Патогенез стафилококковых инфекций.** Стафилококки способны поражать любые органы и системы организма. При инфицировании могут развиваться как местные патологические процессы, так и системные поражения вплоть до сепсиса и септикопиемии. Через неповрежденный эпителий или неповрежденные кожные покровы стафилококки не проникают в организм. Проникновение патогена внутрь организма происходит при механическом повреждении кожного или эпителиального барьера, а также при закупорке выводных протоков потовых и сальных желез кожи и волосяных фолликулов.

Инфекционный процесс начинается с адгезии (прикрепления) стафилококка к молекулам клеточной поверхности или межклеточного матрикса. **Адгезия** протекает с помощью специфических молекул (адгезинов), входящих в состав клеточной стенки бактерий (белки, тейхоевые кислоты). **Рецепторы** – это комплементарные адгезинам структуры на поверхности эукариотической клетки и в межклеточном матриксе (фибриноген, фибронектин, ламинин, коллаген и др.).

После адгезии происходит **колонизация** тканей. При поражении наружных покровов местное размножение стафилококков сопровождается воспалительной реакцией. Одновременно происходит тромбоз прилегающих капилляров и отложение фибрина по периферии очага (формирование фиброзной капсулы). В центре очага клетки постепенно разрушаются, образуя характерный густой гной. Когда защитные механизмы макроорганизма не в состоянии ограничить инфекцию входными воротами, происходит проникновение стафилококков в лимфу, а затем в кровяное русло и поражение других органов и систем.

**Клиника стафилококковых инфекций.** Инфекции, вызываемые у человека стафилококками, объединяют более 100 нозологических форм. Стафилококки не имеют органного тропизма, поэтому поражения встречаются во многих органах и тканях (рисунок 1.28).

В зависимости от поражаемых органов и тканей выделяют следующие стафилококковые инфекции:

1. **Болезни кожи и подкожной клетчатки** (пиодермии, панариций, фурункул, карбункул, абсцесс, флегмона).

2. **Инфекции опорно-двигательного аппарата** (остеомиелиты, артриты). При этом процесс обычно начинается с гнойного поражения кожи и мягких тканей, затем микроб гематогенным путем проникает в костную ткань.

3. **Поражения органов дыхания** (ангины, синуситы, пневмонии, абсцессы легких, гнойный плеврит и т. д.).

4. **Поражения, вызванные действием токсинов** (синдром “ошпаренных младенцев”, синдром “ошпаренной кожи”, пищевые отравления).



Рисунок 1.28 – Патогенез стафилококковых инфекций

В зависимости от вовлечения в патологический процесс тех или иных анатомических структур кожи и подкожной клетчатки заболевания подразделяются на инфекции эпидермиса (импетиго), инфекции поверхностных слоев дермы (фолликулит), инфекции глубоких слоев дермы (фурункулы, карбункулы, гидраденит), инфекции подкожной клетчатки (рожа, целлюлит, фасцит).

**Пиодермия** – это поверхностное поражение кожи в виде импетиго, фолликулита, пузырчатки (рисунок 1.29).



Рисунок 1.29 – Стафилококковая пиодермия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Панариций** представляет собой гнойно-воспалительное заболевание околоногтевого валика (рисунок 1.30).





Рисунок 1.30 – Панариций. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Фурункул** (лат. *furunculus*) - острое гнойно-некротическое воспаление волосяного мешочка и окружающей ткани (рисунок 1.31).



Рисунок 1.31 – Схема образования и внешний вид фурункула. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Фурункул часто начинается с фолликулита – поражения волосяного фолликула без вовлечения в процесс окружающих участков кожи и глубоких тканей. Фурункулы формируются в местах локализации волосяных фолликулов (лицо, шея, подмышечные впадины, бедра). При этом стафилококковая инфекция может распространяться на апокриновые потовые железы (открывающиеся не на поверхность кожи, а в волосяные фолликулы) в подмышечной впадине или паховой области с развитием гнойных **гидраденитов** (рисунок 1.32).



Рисунок 1.32 – Гнойный гидраденит. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В некоторых случаях возможны множественные фурункулы – фурункулез (рисунок 1.33).



Рисунок 1.33 – Множественные фурункулы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Карбункул** (лат. *carbunculus* - уголёк) - острое гнойно-некротическое воспаление кожи и подкожной клетчатки вокруг группы волосяных фолликулов и сальных желёз (рисунок 1.34).

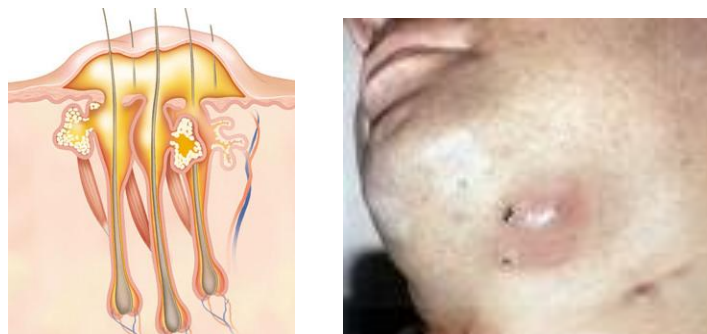


Рисунок 1.34 – Схема образования и внешний вид карбункула. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Абсцесс** (*abscessus* – нарывать) – полость, заполненная гноем и отграниченная от окружающих тканей фибриновой оболочкой (рисунок 1.35).

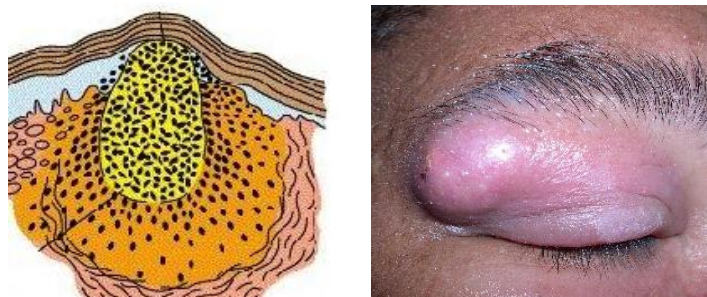


Рисунок 1.35 – Схема образования и внешний вид абсцесса. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Осложнением стафилококковых абсцессов могут быть бактериемия и септикопиемия с последующим поражением многих органов.

**Остеомиелит** – это острое или хроническое воспалительное заболевание костей, возникающее чаще всего в результате гематогенного заноса возбудителя (рисунок 1.36).

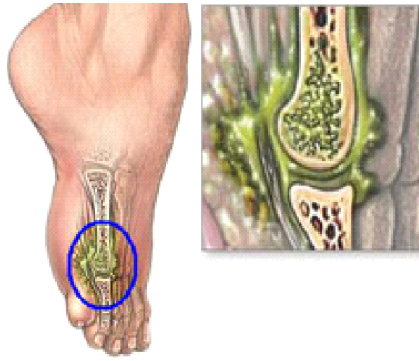


Рисунок 1.36 – Остеомиелит. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Ангина** (острый тонзиллит) – острое воспаление миндалин, сопровождающееся симптомами общей интоксикации организма (рисунок 1.37).



Рисунок 1.37 – Стафилококковая ангина. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Синдром “ошпаренных младенцев”** (болезнь Риттера) наблюдается у новорожденных, инфицированных штаммами, продуцирующими эксфолиативный токсин. Заболевание начинается бурно, вначале появляются очаги эритемы на коже, через 2-3 суток на этих участках образуются большие пузыри (как при термических ожогах). После вскрытия пузырей обнажаются эрозированные участки (рисунок 1.38).



Рисунок 1.38 – Синдром ошпаренных младенцев. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Синдром ошпаренных младенцев возникает при инфицировании ребенка во время родов.

**Синдром “ошпаренной кожи”** (синдром Лайелла) наблюдается у детей старших возрастных групп и у взрослых. Он характеризуется появлением очагов эритемы и пузырей, тяжелой интоксикацией и отслоением субэпидермального слоя (рисунок 1.39).



Рисунок 1.39 – Синдром ошпаренной кожи. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Синдром токсического шока** развивается при инфицировании штаммами, продуцирующими токсин TSST-1. Впервые описан в 1980 г. у женщин, пользующихся сорбирующими тампонами в период менструаций. Заболевание проявляется высокой температурой, снижением артериального давления, развитием шока.

**Пищевые отравления** стафилококковой этиологии проявляются рвотой, болями в животе, водянистой диареей уже через 2-6 часов после употребления в пищу инфицированных продуктов (кондитерских изделий с кремом, молочных продуктов, консервов в масле, мясных и овощных салатов и др.). Устойчивость стафилококков к высоким концентрациям поваренной соли позволяет им долго сохраняться в различных пищевых продуктах. Пищевые отравления чаще вызывают энтеротоксины типов А и D.

Особое место занимают инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) и обусловленные коагулазонегативными стафилококками, в частности, *S. epidermidis*. Эти бактерии являются маловирулентными, но способны вызывать инфекции у лиц с ослабленной резистентностью организма. Развивающиеся при этом инфекции имеют следующие особенности:

- вялое течение (между заражением и первыми симптомами отмечается длительный инкубационный период);
- в большинстве случаев заболевание развивается как внутрибольничная инфекция;
- возбудитель инфекции обладает в большинстве случаев множественной устойчивостью к антибиотикам;
- большинство инфекций, обусловленных коагулазонегативными стафилококками, связано с имплантацией медицинских устройств (катетеров, протезов и др.).

Основными факторами патогенности коагулазонегативных стафилококков – возбудителей ИСМП являются поверхностные адгезины, способствующие

прикреплению бактерий к инородным устройствам и их колонизации (полисахаридный адгезин, экзополисахарид, формирующий слизистый слой на поверхности инородного материала).

**Лабораторная диагностика стафилококковых инфекций.** Основным методом диагностики стафилококковых инфекций является бактериологический (культуральный). Бактериоскопический метод имеет ориентировочное значение, так как он позволяет обнаружить грамположительные кокки, расположенные скоплениями в виде виноградной грозди. В качестве исследуемого материала используют гной, отделяемое ран, слизь, кровь, мочу. Вид исследуемого материала зависит от локализации патологического процесса. Исследуемый материал засевают на ЖСА (молочно-желточный солевой агар) и кровяной агар. Получив чистую культуру, устанавливают родовую и видовую принадлежность возбудителя с помощью следующих тестов:

- продукция каталазы;
- продукция лецитиназы;
- ферментация глюкозы и маннита в анаэробных условиях;
- продукция плазмокоагулазы;
- наличие ДНКазы;
- синтез фосфатазы;
- чувствительность к новобиоцину;
- гемолитическая активность.

При необходимости проводят определение чувствительности стафилококков к антибиотикам и фаготипирование культур.

Для выделения и количественного учета *S. aureus* в пищевых продуктах используют среду **Байрда-Паркера**. Среда содержит яичный желток для выявления лецитиназы, хлорид лития и теллурид калия для подавления роста сопутствующей микрофлоры, пируват натрия и глицин для стимулирования роста стафилококков. На среде Байрда-Паркера формируются черные колонии стафилококков, вокруг которых образуются характерные зоны опалесценции в результате разложения лецитиназой яичного желтка (рисунок 1.40).

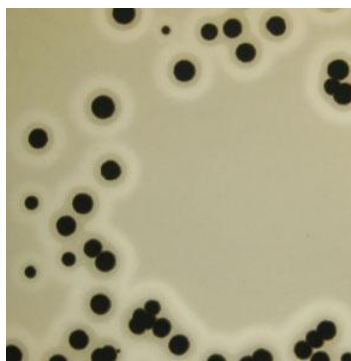


Рисунок 1.40 – Рост золотистого стафилококка на среде Байрда-Паркера.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Патогенные коагулазоположительные стафилококки (в частности, *S. aureus*) ферментируют маннит, а коагулазоотрицательные стафилококки не ферментируют маннит. Поэтому для выделения клинически значимых культур стафилококков из

пищевых продуктов используют солевой агар с маннитом и феноловым красным. Штаммы *S. aureus* на этой среде образуют желтые колонии и вызывают изменение розового цвета среды на желтый. Коагулазоотрицательные стафилококки образуют красные колонии без изменения цвета среды (рисунок 1.41).

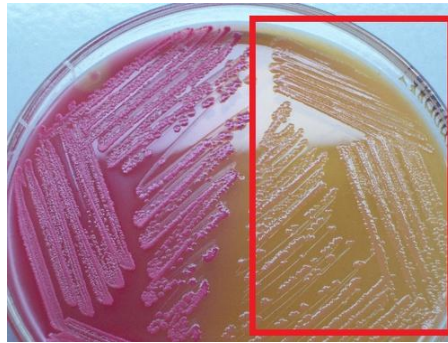


Рисунок 1.41 – Рост коагулазоотрицательных (слева) и коагулазоположительных (справа) стафилококков на солевом агаре с маннитом. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Биохимическую активность стафилококков изучают с помощью коммерческих тест-систем (рисунок 1.42).

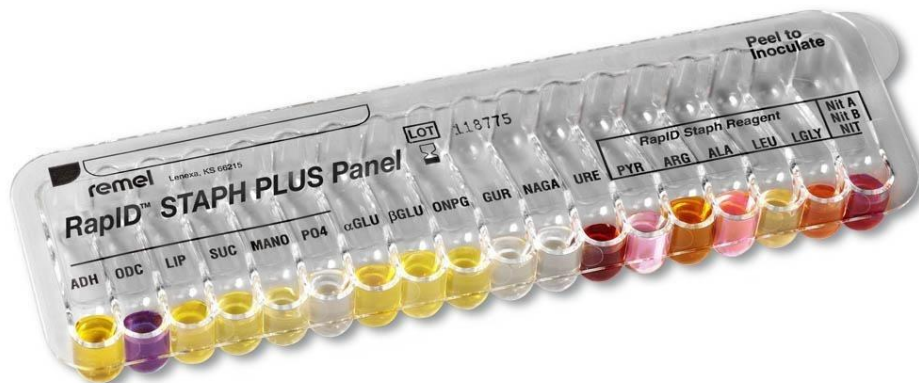


Рисунок 1.42 – Тест-система для определения биохимических свойств стафилококков. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Синтез фосфатазы стафилококков выявляют путем добавления в питательную среду паранитрофенилфосфата. После суточного инкубирования посевов в термостате у положительных культур вокруг колоний формируется желтая зона.

Определение чувствительности к новобиоцину осуществляется диско-диффузионным методом. Диаметр зоны задержки роста более 16 мм свидетельствует о чувствительности культуры, а менее 16 мм – о резистентности культуры.

Для изучения фагочувствительности стафилококков используют набор из 23 бактериофагов (рисунок 1.43).



Рисунок 1.43 – Бактериофаги стафилококковые диагностические. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Этот набор позволяет провести фаготипирование выделенных штаммов (определить фаговар), то есть осуществить эпидемиологическое маркирование выделенной культуры (рисунок 1.44).

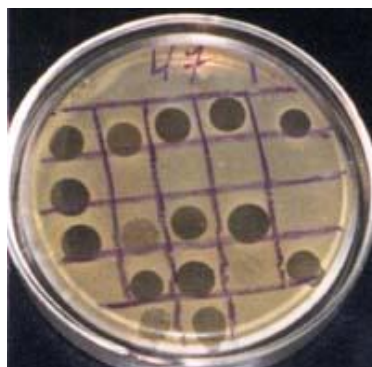


Рисунок 1.44 – Фаготипирование стафилококков. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Чувствительность к антибиотикам проверяют стандартным диско-диффузионным методом (рисунок 1.45).

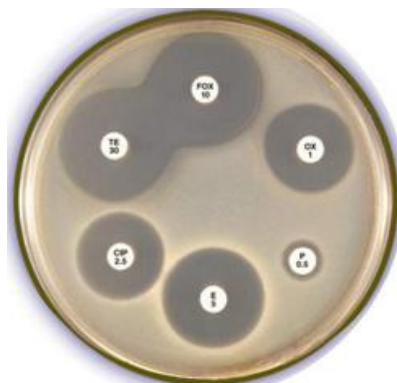


Рисунок 1.45 – Определение чувствительности стафилококков к антибиотикам диско-диффузионным методом. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для эпидемиологического маркирования штаммов изучают также плазмидный профиль выделенных культур. Стафилококки имеют плазмиды различной молекулярной массы. Изоляты стафилококков, содержащие плазмиды, как правило, обладают множественной устойчивостью к антибиотикам.

**Лечение стафилококковых инфекций.** Поверхностные стафилококковые инфекции (пиодермии) чаще всего лечатся с помощью препаратов для местного применения: бриллиантового зеленого, фукоцина, калия перманганата и других средств. Для лечения глубоких стафилококковых инфекций используют антибиотики. При необходимости предварительно определяют чувствительность выделенных культур к антибиотикам диско-диффузионным методом.

В лечении стафилококковых инфекций применяют также стафилококковый бактериофаг (рисунок 1.46), антистафилококковый иммуноглобулин (рисунок 1.47) и другие препараты.



Рисунок 1.46 – Стафилококковый бактериофаг. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



Рисунок 1.47 – Антистафилококковый иммуноглобулин. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Профилактика стафилококковых инфекций.** Эффективных средств специфической профилактики стафилококковых инфекций не разработано. **Неспецифическая профилактика** заключается в соблюдении санитарно-гигиенического и противоэпидемического режима, применении современных дезинфицирующих и антисептических средств, выявлении и санации бактерионосителей (особенно среди персонала хирургических стационаров и



родильных домов для профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи). Для санации носителей метициллин-резистентных штаммов *S. aureus* используют интраназальное применение антибиотика **мупицина**.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение, морфологические, тинкториальные и биохимические свойства стафилококков.
2. Факторы патогенности стафилококков.
3. Источник инфекции, механизмы и пути передачи инфекции при стафилококковых заболеваниях.
4. Клинические проявления стафилококковых инфекций.
5. Диагностика, профилактика и лечение стафилококковых инфекций.

### Тренировочные тесты

1. Стафилококки относятся к семейству (один правильный ответ):
  - 1.1 *Vibrionaceae*
  - 1.2 *Staphylococcaceae*
  - 1.3 *Pseudomonadaceae*
  - 1.4 *Bacillaceae*
  - 1.5 *Streptococcaceae*
  
2. *S. aureus* относится к роду (один правильный ответ):
  - 2.1 *Spirillum*
  - 2.2 *Streptococcus*
  - 2.3 *Staphylococcus*
  - 2.4 *Shigella*
  - 2.5 *Salmonella*
  
3. Родовое название *Staphylococcus* отражает следующие признаки (один правильный ответ):
  - 3.1 тинкториальные свойства
  - 3.2 физиологические особенности
  - 3.3 генетические особенности
  - 3.4 морфологические свойства
  - 3.5 экологические особенности
  
4. Видовое название золотистого стафилококка (*S. aureus*) отражает следующие признаки (один правильный ответ):
  - 4.1 тинкториальные свойства
  - 4.2 культуральные особенности
  - 4.3 морфологические свойства
  - 4.4 экологические особенности
  - 4.5 патогенность

5. К стафилококкам относятся следующие виды (несколько правильных ответов):

- 5.1 *S. sonnei*
- 5.2 *S. typhi*
- 5.3 *S. aureus*
- 5.4 *S. flexneri*
- 5.5 *S. saprophyticus*

6. В мазке стафилококки располагаются в виде (один правильный ответ):

- 6.1 одиночных палочек
- 6.2 цепочек палочек
- 6.3 виноградной грозди
- 6.4 цепочек кокков
- 6.5 тетракокков

7. Цвет стафилококков при окраске по Грамму (один правильный ответ):

- 7.1 красный
- 7.2 синий
- 7.3 черный
- 7.4 зеленый
- 7.5 желтый

8. Характерные признаки стафилококков (несколько правильных ответов):

- 8.1 грамотрицательные кокки
- 8.2 грамположительные кокки
- 8.3 неподвижные бактерии
- 8.4 строгие анаэробы
- 8.5 факультативные анаэробы

9. К признакам, общим для стафилококков и стрептококков, относятся (несколько правильных ответов):

- 9.1 отсутствие спорообразования
- 9.2 наличие цитохромов
- 9.3 каталазная активность
- 9.4 сферическая форма клеток
- 9.5 положительная окраска по Граму.

10. Для эпидермального стафилококка характерны следующие признаки (несколько правильных ответов):

- 10.1 наличие фосфатазы
- 10.2 способность аэробно расщеплять манит
- 10.3 наличие плазмокоагулазы
- 10.4 способность к гемолизу
- 10.5 наличие чувствительности к новобицину

11. Для *S. saprophyticus* характерны следующие признаки (один правильный ответ):

- 11.1 наличие фермента ДНКазы

- 11.2 способность расщеплять сахарозу
- 11.3 наличие плазмокоагулазы
- 11.4 наличие фосфатазы
- 11.5 способность к гемолизу

12. Основным компонентом клеточной стенки стафилококков является (один правильный ответ):

- 12.1 миколовые кислоты
- 12.2 пептидогликан
- 12.3 липиды
- 12.4 липополисахарид
- 12.5 хитин

13. Элективной средой для стафилококков является (один правильный ответ):

- 13.1 среда Плоскирева
- 13.2 среда Эндо
- 13.3 среда Левина
- 13.4 желточно-солевой агар
- 13.5 висмут-сульфитный агар

14. Селективной средой для стафилококков является (один правильный ответ):

- 14.1 мясо-пептонный агар
- 14.2 желточно-солевой агар
- 14.3 щелочной агар
- 14.4 висмут-сульфитный агар
- 14.5 среда Эндо

15. Питательные среды, позволяющие выявить патогенетически значимые признаки *S. aureus* (несколько правильных ответов):

- 15.1 среда Эндо
- 15.2 желточно-солевой агар
- 15.3 кровяной агар
- 15.4 мясо-пептонный агар
- 15.5 агар Левина

16. По типу дыхания стафилококки являются (один правильный ответ):

- 16.1 облигатными анаэробами
- 16.2 микроаэрофилами
- 16.3 облигатными аэробами
- 16.4 факультативными анаэробами
- 16.5 капнофилами

17. Стафилококки – это (один правильный ответ):

- 17.1 грамотрицательные диплококки
- 17.2 грамположительные диплококки
- 17.3 грамположительные кокки в виде виноградной грозди

17.4 грамотрицательные палочки

17.5 грамположительные кокки, расположенные цепочкой

18. Антигены стафилококков (несколько правильных ответов):

18.1 белок М

18.2 Vi-антиген

18.3 К-антиген

18.4 белок А

18.5 Н-антиген

19. Характерно для золотистого стафилококка (несколько правильных ответов):

19.1 грамотрицательная палочка

19.2 грамположительная палочка

19.3 образование зон гемолиза на кровяном агаре

19.4 грамположительный кокк

19.5 отсутствие зон гемолиза на кровяном агаре

20. Характерно для сапрофитного стафилококка (несколько правильных ответов):

20.1 грамотрицательная палочка

20.2 грамположительная палочка

20.3 образование зон гемолиза на кровяном агаре

20.4 грамположительный кокк

20.5 отсутствие зон гемолиза на кровяном агаре

21. Для *Staphylococcus aureus* характерно (несколько правильных ответов):

21.1 продукция плазмокоагулазы

21.2 отрицательная окраска по Граму

21.3 положительная окраска по Граму

21.4 отсутствие плазмокоагулазы

21.5 спорообразование

22. Для внутривидовой дифференциации стафилококков используют следующие тесты (несколько правильных ответов):

22.1 наличие плазмокоагулазы

22.2 наличие гиалуронидазы

22.3 наличие каталазы

22.4 продукция лецитиназы

22.5 продукция нейраминидазы

23. Стафилококки являются представителями нормальной микрофлоры следующих биотопов (несколько правильных ответов):

23.1 кожи

23.2 легких

23.3 носовой полости

23.4 мочевого пузыря

23.5 почек

24. Для рода *Staphylococcus* характерны следующие признаки (несколько правильных ответов):

- 24.1 расположение клеток в виде гроздьев
- 24.2 наличие спор
- 24.3 подвижность
- 24.4 анаэробная ферментация глюкозы
- 24.5 наличие тейхоевых кислот

25. Липохромный пигмент имеется у следующих видов бактерий (один правильный ответ):

- 25.1 *S. aureus*
- 25.2 *S. intermedius*
- 25.3 *S. epidermidis*
- 25.4 *S. sonnei*
- 25.5 *S. flexneri*

26. Стафилококки (несколько правильных ответов):

- 26.1 каталазоотрицательные
- 26.2 спорообразующие
- 26.3 каталазоположительные
- 26.4 подвижные
- 26.5 неподвижные

27. Характерные признаки стафилококков (несколько правильных ответов):

- 27.1 грамотрицательные
- 27.2 грамположительные
- 27.3 неподвижные
- 27.4 строгие анаэробы
- 27.5 факультативные анаэробы

28. Представители семейства *Staphylococcus* (один правильный ответ)

- 28.1 грамнегативные кокки
- 28.2 грамотрицательные палочки
- 28.3 грампозитивные кокки
- 28.4 грамположительные спорообразующие палочки
- 28.5 грампозитивные неспорообразующие палочки

29. Патогенный вид стафилококков (один правильный ответ):

- 29.1 *S. aureus*
- 29.2 *S. epidermidis*
- 29.3 *S. saprophiticus*
- 29.4 *S. flexneri*
- 29.5 *S. sonnei*

30. К факторам патогенности стафилококков относятся (несколько правильных ответов):

- 30.1 экзотоксины
- 30.2 споры
- 30.3 белок А
- 30.4 эндотоксин
- 30.5 гиалуронидаза

31. Факторами патогенности золотистого стафилококка являются (несколько правильных ответов):

- 31.1 шига-токсин
- 31.2 плазмокоагулаза
- 31.3 оксидаза
- 31.4 эндотоксин
- 31.5 эксфолиативный токсин

32. Плазмокоагулазу продуцируют (один правильный ответ):

- 32.1 эпидермальный стафилококк
- 32.2 все стафилококки
- 32.3 золотистый стафилококк
- 32.4 только *S. epidermidis*
- 32.5 только *S. saprophyticus*

33. Белок А *S. aureus* (один правильный ответ):

- 33.1 препятствует фагоцитозу
- 33.2 способствует инвазии
- 33.3 обладает свойствами экзотоксина
- 33.4 повреждает мембрану лейкоцитов
- 33.5 вызывает гемолиз эритроцитов

34. Гиалуронидаза золотистого стафилококка (один правильный ответ):

- 34.1 разрушает эритроциты
- 34.2 способствует адгезии
- 34.3 повреждает мембрану лейкоцитов
- 34.4 препятствует фагоцитозу стафилококков
- 34.5 способствует распространению микроба по тканям

35. Ферменты патогенности *S. aureus* (несколько правильных ответов):

- 35.1 лецитиназа
- 35.2 пероксидаза
- 35.3 гиалуронидаза
- 35.4 муциназа
- 35.5 плазмокоагулаза

36. Антифагоцитарные факторы *S. aureus* (несколько правильных ответов):

- 36.1 липаза
- 36.2 белок А
- 36.3 стафилолизины

36.4 плазмокоагулаза

36.5 лейкоцидин

37. Фактор *S. aureus*, определяющий образование псевдокапсулы (несколько правильных ответов):

37.1 клампинг-фактор

37.2 альфа-токсин

37.3 стафилокиназа

37.4 плазмокоагулаза

37.5 гиалуронидаза

38. Плазмокоагулаза вызывает (один правильный ответ):

38.1 разрушение гиалуроновой кислоты

38.2 свертывание плазмы крови

38.3 разрушение эритроцитов крови

38.4 разрушение лецитина

38.5 растворение фибрина

39. Гиалуронидаза вызывает (один правильный ответ):

39.1 разрушение гиалуроновой кислоты

39.2 нарушение свертываемости крови

39.3 разрушение лецитина

39.4 растворение фибрина

39.5 разрушение лейкоцитов

40. Лецитиназа вызывает (один правильный ответ):

40.1 разрушение гиалуроновой кислоты

40.2 нарушение свертываемости крови

40.3 разрушение лецитина

40.4 растворение фибрина

40.5 разрушение эритроцитов

41. Фибринолизин вызывает (один правильный ответ):

41.1 разрушение гиалуроновой кислоты

41.2 разрушение эритроцитов

41.3 растворение сгустков фибрина

41.4 разрушение лецитина

41.5 разрушение нейраминовой кислоты

42. Укажите факторы патогенности стафилококков (несколько правильных ответов):

42.1 микрокапсула

42.2 споры

42.3 плазмокоагулаза

42.4 каталаза

42.5 жгутики

43. Эксфолиативный токсин золотистого стафилококка обуславливает (один правильный ответ):

- 43.1 скарлатинозную сыпь
- 43.2 активацию образования цАМФ
- 43.3 синдром токсического шока
- 43.4 синдром “ошпаренной кожи”
- 43.5 гемолиз эритроцитов

44. Основной фактор патогенности стафилококков при пищевых отравлениях (один правильный ответ):

- 44.1 плазмокоагулаза
- 44.2 гиалуронидаза
- 44.3 фибринолизин
- 44.4 энтеротоксин
- 44.5 эксфолиативный токсин

45. Источник стафилококковых инфекций (несколько правильных ответов):

- 45.1 больные люди
- 45.2 бактерионоситель
- 45.3 членистоногие
- 45.4 вода
- 45.5 инфицированные продукты питания

46. Источник стафилококковых инфекций (один правильный ответ):

- 46.1 больные люди и бактерионосители
- 46.2 предметы обихода
- 46.3 вода
- 46.4 продукты питания
- 46.5 членистоногие

47. Основной путь передачи патогенных стафилококков (один правильный ответ):

- 47.1 шприцевой
- 47.2 инъекционный
- 47.3 трансплацентарный
- 47.4 алиментарный
- 47.5 контактный

48. К патогенным стафилококкам относятся (несколько правильных ответов):

- 48.1 *S. aureus*
- 48.2 *S. saprophyticus*
- 48.3 *S. epidermidis*
- 48.4 коагулазопозитивные стафилококки
- 48.5 коагулазонегативные стафилококки

49. Стафилококки - облигатные представители нормальной микрофлоры (несколько правильных ответов):



49.1 *S. aureus*

49.2 *S. saprophyticus*

49.3 *S. epidermidis*

49.4 коагулазопозитивные стафилококки

49.5 коагулазонегативные стафилококки

50. *Staphylococcus aureus* вызывает (один правильный ответ):

50.1 фурункулез

50.2 гепатиты

50.3 ревматизм

50.4 менингококцемию

50.5 гонорею

51. К стафилококковым инфекциям относятся (несколько правильных ответов):

51.1 синдром “ошпаренных младенцев”

51.2 скарлатина

51.3 карбункул

51.4 синдром токсического шока

51.5 дифтерия

52. Заболевания, вызываемые стафилококками (несколько правильных ответов):

52.1 брюшной тиф

52.2 дизентерия

52.3 фурункул

52.4 абсцесс

52.5 ангина

53. Основной метод микробиологической диагностики стафилококковых инфекций (один правильный ответ):

53.1 аллергический

53.2 серологический

53.3 биологический

53.4 бактериологический

53.5 микроскопический

54. Для первичного выделения стафилококков используют следующие среды (один правильный ответ):

54.1 среда Левенштейна-Йенсена

54.2 среда Эндо

54.3 среда Левина

54.4 среда Плоскирева

54.5 ЖСА

55. Для определения наличия плазмокоагулазы производят посев (один правильный ответ):

55.1 на сывороточный агар

- 55.2 на желточно-солевой агар
- 55.3 на кровяной агар
- 55.4 в цитратную плазму
- 55.5 на среду Эндо

56. Для определения лецитиназной активности используют (один правильный ответ):

- 56.1 реакцию преципитации
- 56.2 посев на желточно-солевой агар
- 56.3 посев на среду Левина
- 56.4 посев на сывороточный агар
- 56.5 биопробу

57. Механизм действия стафилококкового энтеротоксина (один правильный ответ):

- 57.1 подавляет синтез белка на рибосомах
- 57.2 нарушает целостность ЦПМ
- 57.3 необратимо активирует аденилатциклазную систему
- 57.4 блокирует передачу нервных импульсов
- 57.5 вызывает поликлональную активацию Т-лимфоцитов

58. Продолжительность инкубационного периода при стафилококковой интоксикации (один правильный ответ):

- 58.1 2 - 24 часа
- 58.2 3 - 4 дня
- 58.3 1 - 2 недели
- 58.4 3 - 4 недели
- 58.5 1 - 6 месяцев

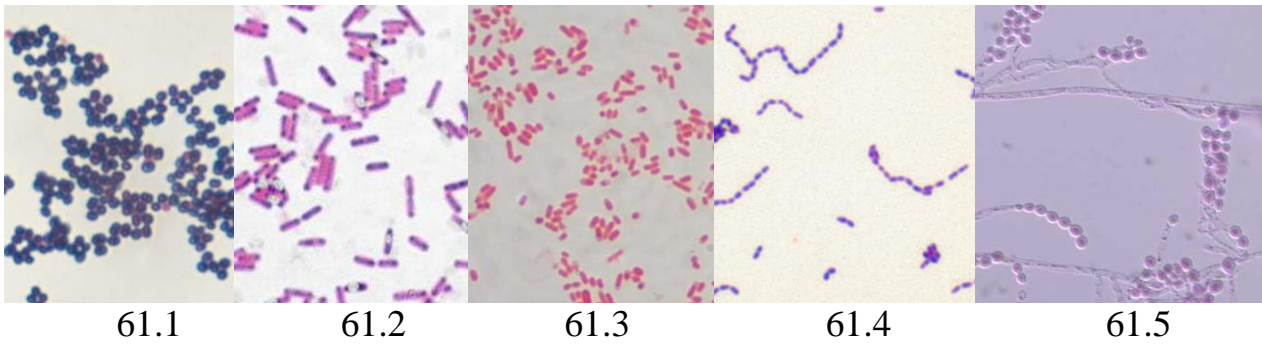
59. Лечение стафилококковых инфекций осуществляют с помощью (несколько правильных ответов):

- 59.1 противовирусных препаратов
- 59.2 антибиотиков
- 59.3 убитой вакцины
- 59.4 живой вакцины
- 59.5 бактериофагов

60. Специфическая профилактика стафилококковых инфекций предусматривает использование (один правильный ответ):

- 60.1 живой вакцины
- 60.2 инактивированной вакцины
- 60.3 химической вакцины
- 60.4 не разработана
- 60.5 антибиотиков

61. Выберите изображение, соответствующее *S. aureus*, окраска по Граму (один правильный ответ):



Правильные ответы: 1.2; 2.3; 3.4; 4.2; 5.3, 5.5; 6.3; 7.2; 8.2, 8.3, 8.5; 9.2, 9.4, 9.5; 10.1, 10.5; 11.2; 12.2; 13.4; 14.2; 15.2, 15.3; 16.4; 17.3; 18.3, 18.4; 19.3, 19.4; 20.4, 20.5; 21.1, 21.3; 22.1, 22.3, 22.4; 23.1, 23.3; 24.1, 24.4, 24.5; 25.1; 26.3, 26.5; 27.2, 27.3, 27.5; 28.3; 29.1; 30.1, 30.3, 30.5; 31.2, 31.5; 32.3; 33.1; 34.5; 35.1, 35.3, 35.5; 36.2, 36.4; 37.1, 37.4; 38.2; 39.1; 40.3; 41.3; 42.1, 42.3, 42.4; 43.4; 44.4; 45.1, 45.2; 46.1; 47.5; 48.1, 48.4; 49.3, 49.5; 50.1; 51.1, 51.3, 51.4; 52.3, 52.4, 52.5; 53.4; 54.5; 55.4; 56.2; 57.3; 58.1; 59.2, 59.5; 60.4; 61.1.

## 1.2. Стрептококки

Стрептококки – это бактерии сферической формы, располагающиеся цепочками. Стрептококки впервые обнаружил при рожистом воспалении и раневых инфекциях немецкий хирург Т. Биллрот в 1874 г., а при септицемии и гнойных поражениях в 1878 г. французский микробиолог и химик Л. Пастер (рисунок 1.48).



А

Б

Рисунок 1.48 – А - Теодор Биллрот (Christian Albert Theodor Billroth, 1829-1894 гг.); Б – Луи Пастер (Louis Pasteur, 1822-1895 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Немецкий врач Ф. Фелейзен в 1883 г. в лимфатических узлах и подкожной клетчатке обнаружил возбудителя рожистого воспаления.

**Таксономическое положение и классификация стрептококков.** Название стрептококков происходит от греческих слов *streptos* – цепочка, *kokkos* – зерно, ягода. Это название связано с расположением микробных клеток в виде цепочки. Такое расположение обусловлено делением клеток в одной плоскости (рисунок 1.49).

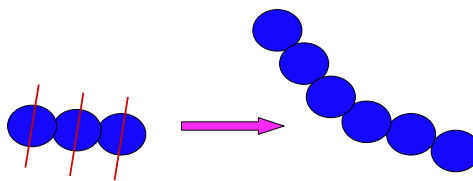


Рисунок 1.49 – Расположение клеток при делении стрептококков.

Стрептококки относятся к типу *Firmicutes*, классу *Bacilli*, порядку *Lactobacillales*, семейству *Streptococcaceae*, роду *Streptococcus*. Род *Streptococcus* включает большое количество видов, среди которых клинически значимыми для человека являются *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. mutans*, *S. agalactiae*, *S. mitis* и некоторые другие.

По характеру гемолиза стрептококки подразделяются на 3 группы: альфа-гемолитические, бета-гемолитические и негемолитические или гамма-стрептококки (рисунок 1.50).

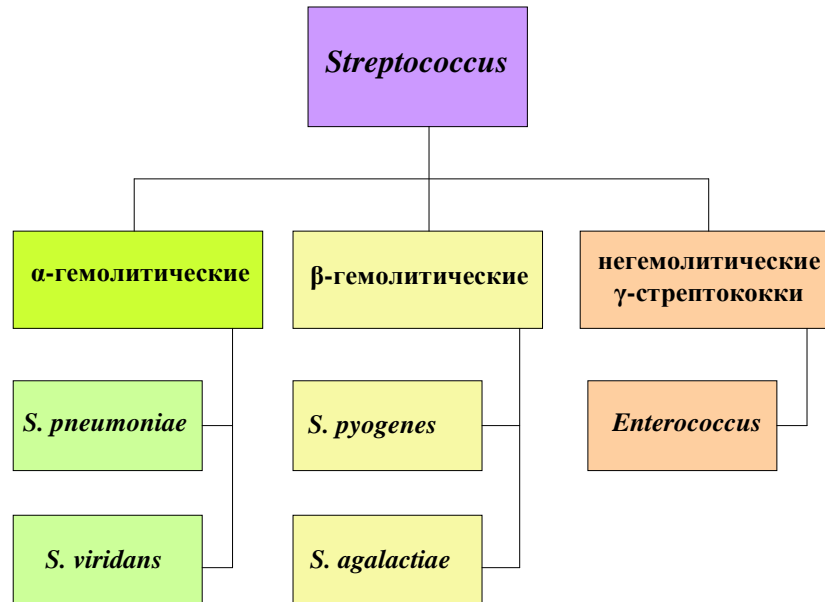


Рисунок 1.50 – Распределение стрептококков по характеру гемолиза.

В 1933 г. американский микробиолог Р. Лэнсфильд (рисунок 1.51) разделила  $\beta$ -гемолитические стрептококки по С-полисахаридному антигену (С-субстанции) на 20 серогрупп (А, В, С, D и т. д.).



Рисунок 1.51 – Ребекка Лэнсфильд (Rebecca Craighill Lancefield, 1895-1981 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Например, *S. pyogenes* относится к серогруппе А, *S. agalactiae* – к серогруппе В, *S. dysgalactiae* – к серогруппе С и так далее. Заболевания у людей вызывают чаще всего стрептококки серогрупп А, В и С. Внутри серогрупп она предложила выделять серовары по М-белку (более 100 сероваров).

В настоящее время выделяют около 40 видов стрептококков, которые объединяют в 6 групп (кластеров): Pyogenic, Anginosus, Mitis, Salivarius, Bovis, Mutans.

**Морфологические и тинкториальные свойства стрептококков.** Стрептококки представляют собой грамположительные клетки сферической формы

размером 0,5-2,0 мкм. Неподвижные, не образуют спор. Некоторые виды стрептококков формируют капсулу. Имеют пили (фимбрии). В мазках из агаровых культур стрептококки располагаются короткими цепочками, в препаратах из бульонных культур – длинными цепочками (рисунок 1.52).

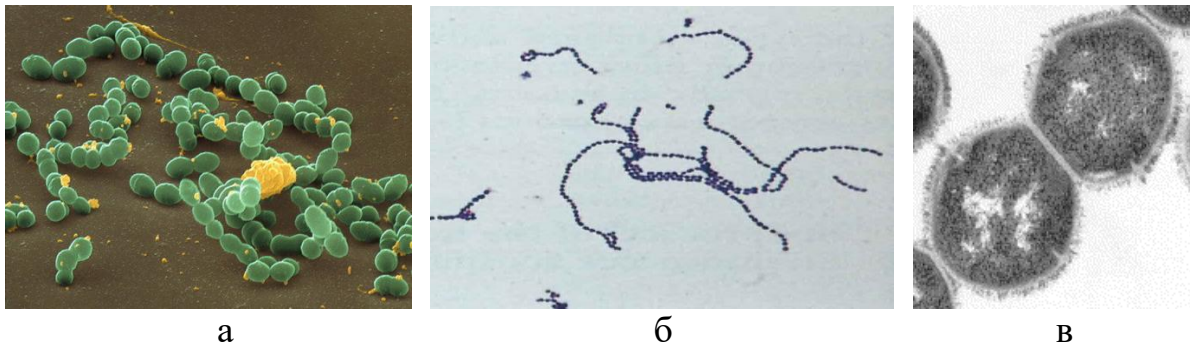


Рисунок 1.52 – Компьютерная визуализация (а), окраска по Граму (б) и электронная фотография (в) стрептококков. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Клеточная стенка стрептококков имеет наружный белковый слой (содержит Т- и М-белки), средний полисахаридный слой (состоит из N-ацетилглюкозамина и L-рамнозы) и внутренний слой (представлен пептидогликаном). Из клеточной стенки через гиалуроновую капсулу выступают фимбрии, содержащие М-белок и липотейхоевую кислоту.

**Культуральные и биохимические свойства стрептококков.** Стрептококки являются факультативными анаэробами. Хорошо растут в аэробных условиях на питательных средах с кровью, сывороткой крови, асцитической жидкостью, глюкозой. На плотных средах образуют мелкие сероватые колонии. В жидких средах растут в виде небольшого осадка (рисунок 1.53).

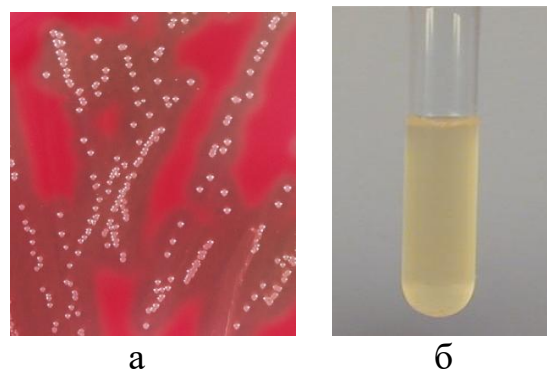


Рисунок 1.53 – Характер роста стрептококков на кровяном агаре (а) и в жидкой питательной среде (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Стрептококки ферментируют глюкозу, мальтозу, сахарозу и некоторые другие углеводы с образованием кислоты без газа (рисунок 1.54), протеолитическими свойствами не обладают. Каталазоотрицательные.

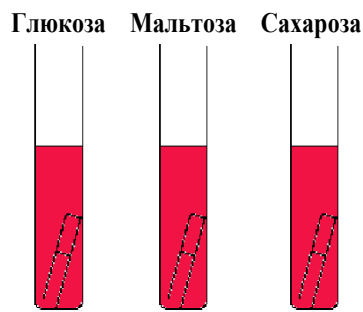


Рисунок 1.54 – Ферментация углеводов стрептококками.

По характеру роста на кровяном агаре выделяют три группы стрептококков:

-  **$\alpha$ -гемолитические стрептококки** вызывают образование вокруг колоний зоны зеленоватого цвета, обусловленное превращением гемоглобина в метгемоглобин (условно-патогенные стрептококки, “зеленящие стрептококки” или стрептококки группы “viridans”, например, *S. mutans*);

-  **$\beta$ -гемолитические стрептококки** формируют колонии, окруженные зоной полного гемолиза (рисунок 1.55); к ним относятся патогенные стрептококки, основные возбудители гнойно-воспалительных заболеваний человека, в частности, *S. pyogenes*;

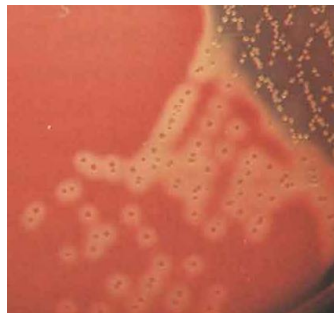


Рисунок 1.55 – Гемолиз эритроцитов  $\beta$ -гемолитическими стрептококками.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

-  **$\gamma$ -стрептококки (негемолитические стрептококки)** не образуют зоны гемолиза вокруг колоний (например, *S. mitis*).

Проявление гемолитической активности разных видов стрептококков хорошо иллюстрирует рисунок 1.56.



Рисунок 1.56 – Характер гемолиза у разных видов стрептококков. Займствовано из Интернет-ресурсов.

Альфа-гемолитические стрептококки широко представлены в ротовой полости, поэтому часто называются оральными стрептококками. Бета-гемолитические стрептококки редко выделяются от здоровых людей, большинство из них являются болезнетворными. Негемолитические стрептококки входят в состав облигатной микробиоты человека.

**Антигенная структура стрептококков.** Стрептококки имеют групповой полисахаридный **С-антиген**, в зависимости от особенностей строения которого стрептококки разделены на серогруппы. С-антиген локализуется в клеточной стенке стрептококков. Некоторые виды стрептококков не имеют С-антигена.

В клеточной стенке стрептококков локализуется также белковый **М-антиген**. Он обладает типовой специфичностью. Структурно М-белок представляет филаменты (пили, фимбрии). По строению М-антигена стрептококки группы А подразделяются на серовары (более 100 сероваров).

Стрептококки имеют так называемые **перекрестно реагирующие антигены**. Антитела к таким антигенам взаимодействуют (перекрестно реагируют) с тканями миокарда, скелетных мышц, почек.

**Резистентность стрептококков.** Во внешней среде стрептококки сохраняются в течение нескольких дней. Они выдерживают нагревание до 50-70°C в течение 30 минут, хорошо переносят низкие температуры. Стрептококки продолжительное время сохраняются на предметах, окружающих больного, в пыли. В гное, мокроте стрептококки сохраняются месяцами. Чувствительны к дезинфицирующим веществам: например, в 3% феноле они погибают через 15 минут.

Стрептококки чувствительны к пенициллину, устойчивость к пенициллину у них возникает очень редко. К другим же антибиотикам и сульфаниламидам у стрептококков часто развивается резистентность.

**Факторы патогенности стрептококков.** Основные факторы патогенности стрептококков представлены в таблице 1.4 и на рисунке 1.57. Наличие тех или иных факторов патогенности и их соотношение определяет различную вирулентность разных штаммов стрептококков. Наибольшей патогенностью для человека обладают бета-гемолитические стрептококки серологической группы А.

Таблица 1.4 – Факторы патогенности стрептококков

Факторы	Роль в развитии инфекции
<b>1. Структурные компоненты клетки</b>	
М-протеин и М-подобные поверхностные протеины (Т-, R-белки)	Предотвращают активацию комплемента по альтернативному пути и препятствуют фагоцитозу; медиаторы адгезии к кератиноцитам кожи
Капсула	Защита от фагоцитоза, фактор адгезии и тканевой инвазии
Фибронектин - связывающие белки (протеины F1, F2, Sfb1, Sfb2, SOF, PFBP, FbaA, FbaB)	Обеспечивают адгезию, связывают фибронектин, способствуют формированию обширных бактериальных агрегатов и обеспечивают защиту от фагоцитоза в присутствии опсонизирующих антител
Липотейхоевая кислота (LTA)	Адгезия к клеткам эпителия
<b>2. Секретируемые факторы</b>	
<b>2.1. Ферменты агрессии</b>	
Стрептокиназа (фибринолизин)	Фибринолитическая активность, распространение



	стрептококков в тканях
Гиалуронидаза	Фактор инвазии
Пептидаза	Способствует распространению бактерий в тканях
ДНКаза (стрептодорназа)	Фактор инвазии
IgG-разрушающий фермент	Защищает бактерии от опсонизирующих антител, ингибирует фагоцитоз
<b>2.2. Токсины</b>	
Стрептолизины O и S (гемолизины)	Порообразующие цитотоксины
Стрептококковые пирогенные экзотоксины (streptococcal pyrogenic exotoxins, SPE) типов A, B и C	Некротическое действие на эндотелий сосудов
Лейкоцидин	Разрушение лейкоцитов
<b>3. Медиаторы межмикробного взаимодействия</b>	
Стрептоцины (бактериоцины)	Участие в заселении определенных биотопов

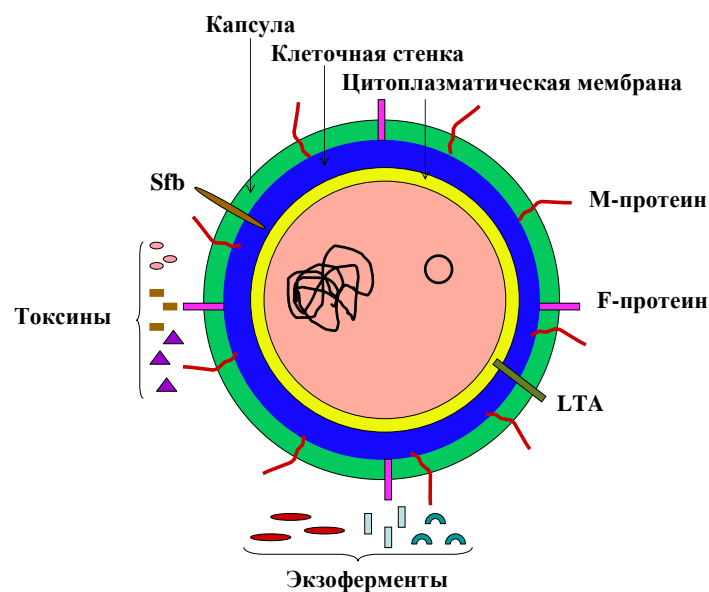


Рисунок 1.57 – Факторы патогенности стрептококков.

**Белок М** (mucoid - слизистый) является одним из основных факторов патогенности стрептококков группы А. По структуре он напоминает пили (ворсинки), определяет адгезивные свойства, угнетает фагоцитоз, адсорбирует на своей поверхности фибриноген и фибрин, маскируя рецепторы для комплемента и опсонин. Молекула М-белка состоит из двух цепей, образующих спираль. М-белок включает в себя консервативный и гипервариабельный участки. Консервативный участок связывает фибриноген и Fc-фрагменты IgG, формируя псевдокапсулу на поверхности стрептококка. Гипервариабельный участок отвечает за разнообразие эпитопов: известно более 100 вариантов белка, характерных определенному серотипу. Эти варианты отличаются друг от друга последовательностью аминокислот в дистальной (N-концевой) части молекулы (рисунок 1.58).

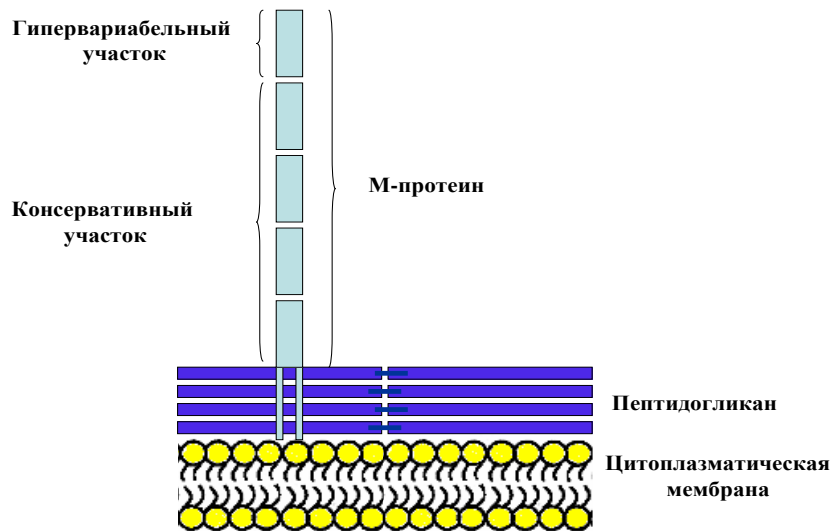


Рисунок 1.58 – Структура М-белка *S. pyogenes*.

**Т-белки** у большинства стрептококков представлены в виде стабильных комплексов, включающих 2-3 белка. Среди них один белок является основным, а два – вспомогательными. Основной белок определяет Т-тип стрептококка. По Т-белку стрептококки группы А также подразделяются на серовары (несколько десятков).

**Р-белок** обнаруживается у стрептококков серогрупп В, С и D. Он чувствителен к пепсину, разрушается при высокой температуре. Его роль в развитии инфекций окончательно не ясна.

**Капсула** у стрептококков групп А и С образована гиалуроновой кислотой, а у *S. pneumoniae* – полисахаридом. Капсула облегчает адгезию микробных клеток к эпителию, препятствует фагоцитозу, экранирует пептидогликан. Гиалуроновая кислота капсулы *S. pyogenes* аналогична гиалуроновой кислоте млекопитающих, поэтому затрудняет формирование эффективного иммунного ответа на возбудителя инфекции. Кроме собственной капсулы стрептококк способен фиксировать на своей поверхности белки макроорганизма (фибриноген, плазминоген, фибронектин, коллаген и др.), создавая капсулоподобную структуру, защищающую микробную клетку от повреждающих факторов макроорганизма.

**Фибронектин-связывающие белки** (F1, F2, Sfb1, Sfb2, SOF, PFBP, FbaA, FbaB) способствуют формированию агрегатов и защищают микробные клетки от фагоцитоза. Каждый из этих белков присущ определенному М-типу стрептококка. М-типы, обладающие высокой вирулентностью, могут экспрессировать сразу несколько фибронектин-связывающих белков.

**ДНКаза** (стрептодорназа) гидролизует ДНК, способствует инвазивности стрептококков, повышает мобильность возбудителя, снижая вязкость экссудата. В клинической практике стрептодорназа используется для разжижения гнойных экссудатов и очищения инфицированных ран.

**Стрептокиназа** (фибринолизин) представляет собой фермент, способствующий растворению фибриновых сгустков и в результате этого повышающий инвазивные свойства стрептококка. Стрептокиназу используют при лечении легочных эмболий и тромбоза вен (рисунок 1.59).



Рисунок 1.59 – Коммерческий препарат стрептокиназы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Гиалуронидаза** является фактором инвазии, разрушает гиалуроновую кислоту соединительной ткани (межклеточного матрикса) хозяина, способствуя распространению возбудителя по организму.

**Пептидаза** (С5а-пептидаза) расщепляет С5а-компонент комплемента, препятствует миграции в очаг воспаления нейтрофилов, подавляет подвижность фагоцитов.

**Стрептолизин S** (*stable*) – гемолизин, вызывает лизис эритроцитов, обуславливая образование зон гемолиза вокруг колоний на чашках с кровяным агаром. Синтезируется  $\beta$ -гемолитическими стрептококками группы А. Он способен связываться с фосфолипидами и в результате этого повреждать мембраны клеток почек, сердца, легких.

**Стрептолизин O** (*oxygen-sensitive*) – белок, относящийся к порообразующим цитотоксинам. Нарушает процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях. Антитела к стрептолизину O блокируют гемолиз. Синтезируется  $\beta$ -гемолитическими стрептококками групп А, С и G.

**Стрептококковые пирогенные экзотоксины** (эритрогенный токсин Дика, токсин сыпи, скарлатинозный токсин, эритрогенин) кодируются генами умеренных бактериофагов или хромосомными генами. У больных скарлатиной эритрогенный токсин вызывает появление ярко-красной сыпи на коже и слизистых оболочках. Скарлатину могут вызывать только те штаммы *S. pyogenes*, которые продуцируют эритрогенный токсин. Синтез эритрогенного токсина у возбудителя скарлатины связан с лизогенией: токсин синтезируют только те штаммы, которые заражены умеренным бактериофагом. Штаммы, не зараженные умеренным фагом, не продуцируют токсин. Эритрогенный токсин обладает некротическим действием на эндотелий сосудов.

Стрептококковые пирогенные токсины вызывают активацию Т-лимфоцитов и последующий выброс цитокинов, которые оказывают системный токсический эффект на организм (лихорадка, рвота, диарея, сыпь, боли в мышцах, снижение артериального давления).

**Лейкоцидин** разрушает лейкоциты, подавляет фагоцитоз.

**Кардиогепатический токсин** продуцируют некоторые штаммы стрептококков группы А. Этот токсин вызывает поражение миокарда и образование гранулем в печени.

**Стрептоцины** (бактериоцины) стрептококков относятся к группе медиаторов межмикробного взаимодействия. Они участвуют в колонизации стрептококками определенного биотопа организма, препятствуя размножению других бактерий.

**Экология стрептококков.** Стрептококки широко распространены в природе. Они входят в состав нормальной микрофлоры слизистых оболочек дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального трактов, часто колонизируют кожные покровы человека и животных. Стрептококки постоянно обитают в ротовой полости, носоглотке, толстом кишечнике, влагалище. При проникновении в первично стерильные области организма они способны вызывать инфекционные заболевания. Среди стрептококков наибольшее клиническое значение имеют следующие виды: *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. agalactiae*, *S. anginosus*.

*S. pyogenes* обнаруживается на слизистой оболочке переднего отдела носа, носоглотки, миндалин, относится к  $\beta$ -гемолитическим стрептококкам группы А, является патогенным для человека, вызывает гнойно-воспалительные заболевания кожи и подкожной клетчатки, ангину, скарлатину, ревматизм, гломерулонефрит и другие заболевания.

*S. pneumoniae* (пневмококк) относится к  $\alpha$ -гемолитическим стрептококкам, обнаруживается на слизистой оболочке верхних отделов респираторного тракта, является возбудителем крупозной пневмонии, отитов, менингитов, конъюнктивитов, сепсиса.

*S. mitis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mutans* являются условно-патогенными микроорганизмами, колонизируют ротовую полость, участвуют в образовании зубных бляшек и в развитии кариеса зубов. Они синтезируют гликозилтрансферазу - фермент, который превращает сахарозу в декстран, способствующий адгезии стрептококков к зубной эмали.

*S. agalactiae* относится к  $\beta$ -гемолитическим стрептококкам группы В. Он встречается на коже и слизистой оболочке дыхательных путей, но в основном он колонизирует слизистую оболочку влагалища у женщин. Способен вызывать тяжелые эндометриты, сепсис и менингит у новорожденных (особенно у недоношенных детей).

*S. anginosus* является возбудителем респираторных инфекций и заболеваний мочеполовой системы.

**Эпидемиология стрептококковых инфекций.** Стрептококки являются обитателями слизистых оболочек верхних дыхательных путей, пищеварительного и мочеполового трактов. Поэтому вызываемые ими заболевания могут быть эндогенного или экзогенного характера. Основным источником экзогенной инфекции – больной человек или бактерионоситель. **Эндогенное инфицирование** возникает при снижении естественной резистентности организма. **Механизмы и пути передачи** инфекции: аэрогенный (путь передачи – воздушно-капельный), контактный (пути передачи – прямой контакт и опосредованный контакт через бытовые предметы). Возможны случаи внутрибольничных стрептококковых инфекций (инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи).

**Патогенез стрептококковых инфекций.** Стрептококки вызывают острые и хронические гнойно-воспалительные процессы в различных органах, в том числе сепсис и септикопиемию. Проникшие в организм стрептококки вначале адгезируются на эпителиальных клетках. В адгезии стрептококков принимают участие фимбриальный белок, фибронектин-связывающие, коллаген-связывающие, галактозо-связывающий протеины, капсула и другие компоненты. После адгезии

стрептококки колонизируют ткани. При этом некоторые факторы стрептококков (белок М, капсула) маскируют рецепторы для опсоинов и препятствуют фагоцитозу. Из входных ворот инфекции (местного очага) стрептококки могут распространяться лимфогенным и гематогенным путями по организму.

Бета-гемолитический стрептококк группы А, продуцирующий эритрогенный токсин, является **возбудителем скарлатины**. Источником инфекции при скарлатине является больной человек или бактерионоситель. Механизм передачи – аэрогенный, путь передачи – воздушно-капельный. Входными воротами инфекции служит слизистая оболочка миндалин, мягкого неба, задней стенки глотки. В месте входных ворот возбудитель размножается, продуцирует эритрогенный токсин и вызывает воспалительную реакцию.

**Клиника заболеваний, вызываемых стрептококками.** Выделяют **острые стрептококковые заболевания** (пиодермия, рожистое воспаление, флегмона, ангина, скарлатина, острый гломерулонефрит) и **хронические стрептококковые заболевания** (ревматизм или острая ревматическая лихорадка, хронический тонзиллит).

**Пиодермия** (стрептодермия) – одна из распространенных форм стрептококковых инфекций. Она характеризуется появлением на различных участках кожи пузырьков с серозным, а затем гнойным содержимым, на месте которых в последующем образуются рыхлые корочки желтого цвета (рисунок 1.60).



Рисунок 1.60 – Клиническое проявление стрептодермии. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Оральные стрептококки (*S. mitis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mutans* и др.) вызывают наиболее частые поражения слизистой оболочки ротовой полости и зубов: кариес, пародонтит и др. (рисунок 1.61).



Рисунок 1.61 – Схема развития кариеса. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Рожистое воспаление** (“огонь Святого Антония”) – острая инфекция, сопровождающаяся вовлечением в процесс лимфатических сосудов кожи, массивным плотным отеком с четкими границами на месте внедрения возбудителя (рисунок 1.62). Процесс локализуется преимущественно в области лица и нижних конечностей.



Рисунок 1.62 – Рожистое воспаление. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В зарубежной литературе рожистое воспаление носит название *erysepilas* (греч. красная кожа). Признаки воспаления – покраснение и отечность кожи, зона поражения приподнята и резко отграничена от здоровой ткани. Случаи рожи всегда единичны, групповые заболевания не встречаются. Осложнением рожистого воспаления может быть развитие флегмоны в подкожной клетчатке с вовлечением в процесс мышечной ткани.

**Флегмона** – острое диффузное воспаление рыхлой соединительной ткани с тенденцией к распространению по межтканевым пространствам (рисунок 1.63). В процесс вовлекаются также лимфатические сосуды (лимфангоит) и лимфатические узлы (лимфаденит).



Рисунок 1.63 – Флегмона. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Ангина** - острое воспаление зева (дужек, мягкого нёба, миндалин). Процесс может локализоваться с одной стороны или распространяться на обе стороны (рисунок 1.64).



Рисунок 1.64 – Стрептококковая ангина. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Скарлатина** представляет собой разновидность пиrogenной интоксикации, которая возникает вслед за стрептококковой ангиной. Болеют преимущественно дети 5 – 10 лет. Скарлатину вызывают  $\beta$ -гемолитические стрептококки группы А, имеющие М-белок и продуцирующие эритрогенный токсин. Характерными симптомами скарлатины являются ангина, боли в горле при глотании, яркая мелкоточечная сыпь на лице, туловище, в местах естественных кожных складок (паховых, подмышечных, ягодичных). На фоне ярко-розовой кожи лица выделяется бледный носогубный треугольник (рисунок 1.65).



Рисунок 1.65 – Сыпь при скарлатине. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Сыпь держится 3-5 дней, затем исчезает. Через 14 дней от начала заболевания начинается шелушение кожи. На ладонях и подошвах шелушение пластинчатое (рисунок 1.66), на туловище, шее – отрубевидное.



Рисунок 1.66 – Пластинчатое шелушение на подошвах и ладонях. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На ранней стадии болезни язык покрыт белым налетом, сквозь который проступают гипертрофированные отечные сосочки (“белый клубничный язык”). К 4-5 дню налет на языке исчезает, а язык становится ярко-красным с блестящими сосочками - “малиновый язык” (рисунок 1.67).



Рисунок 1.67 – “Малиновый язык” при скарлатине. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

После перенесенной скарлатины развивается стойкий антитоксический иммунитет.

**Лечение** скарлатины проводят с помощью антибиотиков пенициллинового ряда, цефалоспоринов, эритромицина.

**Осложнения стрептококковой инфекции.** После острой инфекции, вызванной стрептококками группы А, у части больных развивается **ревматическая лихорадка** и **постстрептококковый гломерулонефрит**. Ревматическая лихорадка развивается только после острого тонзиллита и фарингита, а постстрептококковый гломерулонефрит развивается как после тонзиллита, так и после инфекций кожи. Острая ревматическая лихорадка развивается через 2-3 недели после фарингита. При этом М-белок провоцирует образование аутоантител к тканям сердца и суставов. Гломерулонефрит развивается через 1 неделю после импетиго или фарингита. Для профилактики ревматической лихорадки и гломерулонефрита используют антибиотики пенициллинового ряда.

После перенесенной стрептококковой инфекции развивается нестойкий клеточный и гуморальный типоспецифический иммунитет, за исключением скарлатины, после которой развивается напряженный антитоксический иммунитет.

**Лабораторная диагностика стрептококковых инфекций.** **Исследуемым материалом** в зависимости от локализации поражения служат кровь, гной, слизь из зева, налет с миндалин. Из полученного материала готовят мазок, окрашивают по Граму и микроскопируют. При обнаружении грамположительных кокков, расположенных в цепочках, производят посев на чашки с кровяным агаром.

Основной метод диагностики - бактериологический. Из выросших на кровяном агаре блестящих вязких колоний с зоной гемолиза делают мазки и окрашивают их по Граму. При наличии грамположительных стрептококков определяют каталазную активность бактерий. У стрептококков **каталазный тест** должен быть отрицательным.

Серогруппу выделенных стрептококков определяют с помощью реакции преципитации в геле или ИФА с группоспецифическими сыворотками. Серотип



стрептококков определяют путем постановки реакции латекс-агглютинации с М-антисыворотками (рисунок 1.68).



Рисунок 1.68 – Наборы для определения серогрупп стрептококков. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для диагностики ревматической лихорадки и оценки активности ревматического процесса определяют титр антител к стрептолизину О (ASO-тест) с помощью специального набора (рисунок 1.69).



Рисунок 1.69 – Набор для проведения ASO-теста. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Титр антистрептолизина О (ASO, АСЛ-О) в сыворотке крови более 160-200 ЕД считают высоким, указывающим на недавно перенесенную стрептококковую инфекцию. Стойкое повышение уровня АСЛ-О при стрептококковых инфекциях увеличивает вероятность возникновения осложнений.

При эпидемиологическом надзоре за стрептококковой инфекцией дополнительно проводят такие исследования выделенных культур как М- и *emm*-типирование, OF-типирование, T- и *tee*-типирование, мультилокусное сиквенсное типирование (MLST).

Система серологического М-типирования основана на использовании типоспецифических анти-М-сывороток в иммунологических реакциях (например, в реакции преципитации). Для идентификации М-типа разработаны методы определения последовательности гена, кодирующего М-белок (*emm*-гена). Этот подход называют “золотым стандартом” молекулярного типирования стрептококков. Методика типирования включает в себя выделение ДНК исследуемого штамма, амплификацию *emm*-гена с помощью ПЦР и его секвенирование. В результате исследования можно идентифицировать М-типы и определить разновидности стрептококков внутри М-типов. Процедура *emm*-

типирования позволяет выявлять циркуляцию эпидемически значимых штаммов и прогнозировать изменение эпидемической обстановки.

**ОФ-типирование** (opalescence factor – фактор опалесценции) основано на выявлении и идентификации липопротеиназы. Наличие ОФ-фактора определяется с помощью ОФ-типоспецифических сывороток. Существует множество вариантов ОФ-фактора. По этому фактору М-типы подразделяются на ОФ-положительные и ОФ-отрицательные.

**Т- и tee-типирование** предусматривает определение Т-типов стрептококков с помощью реакции агглютинации типоспецифическими Т-антисыворотками. Ген *tee*, кодирующий основную субъединицу Т-белка, идентифицируется молекулярными методами.

**Мультилокусное сиквенсное типирование (MLST)** основано на определении последовательности так называемых генов “домашнего хозяйства” - housekeeping genes (*aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi*, *xpt*, *ddl*), отвечающих за протекание основных метаболических реакций. Эти гены характеризуются низкой частотой возникновения мутаций, поэтому позволяют устанавливать степень родства внутри всей популяции стрептококков. Сведения о последовательностях накапливаются в единых базах данных, что позволяет устанавливать эволюционные связи выделяемых культур. Наиболее широко этот прием используется при типировании пневмококков (единая база данных PMEN - Pneumococcal Molecular Epidemiology Network).

**Лечение** стрептококковых инфекций проводится с помощью антибиотиков (пенициллины, ванкомицин, рифампицин и др.). При кожных поражениях местно используют антимикробные средства. При необходимости проводят хирургическое вмешательство (санацию гнойных очагов).

**Профилактика.** Средства специфической профилактики стрептококковых инфекций не разработаны. Неспецифические профилактические меры направлены на выявление больных и носителей, их санацию. Для исключения инфицирования пациентов при инструментальных манипуляциях и оперативных вмешательствах необходимо строгое соблюдение правил асептики и антисептики.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение и классификация стрептококков.
2. Морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические особенности стрептококков.
3. Факторы патогенности стрептококков.
4. Клинические проявления заболеваний, вызванных стрептококками.
5. Особенности возбудителя скарлатины и клиника заболевания.
6. Принципы диагностики, профилактики и лечения заболеваний, вызванных стрептококками.

### Тренировочные тесты

1. Стрептококки относятся к семейству (один правильный ответ):
  - 1.1 *Vibrionaceae*

- 1.2 *Staphylococcaceae*
- 1.3 *Pseudomonadaceae*
- 1.4 *Bacillaceae*
- 1.5 *Streptococcaceae*

2. *S. pyogenes* относится к роду (один правильный ответ):

- 2.1 *Staphylococcus*
- 2.2 *Streptococcus*
- 2.3 *Shigella*
- 2.4 *Salmonella*
- 2.5 *Spirillum*

3. К роду *Streptococcus* относятся возбудители (несколько правильных ответов):

- 3.1 дизентерии
- 3.2 дифтерии
- 3.3 скарлатины
- 3.4 ангины
- 3.5 туберкулеза

4. Стрептококки – это (один правильный ответ):

- 4.1 грамотрицательные диплококки
- 4.2 грамположительные тетракокки
- 4.3 грамположительные кокки в виде виноградной грозди
- 4.4 грамотрицательные кокки
- 4.5 грамположительные кокки, расположенные цепочкой

5. Основным компонентом клеточной стенки стрептококков является (один правильный ответ):

- 5.1 миколовые кислоты
- 5.2 липополисахарид
- 5.3 пептидогликан
- 5.4 фосфолипид
- 5.5 эргостерол

6. Цвет стрептококков в мазке при окраске по Грамму (один правильный ответ):

- 6.1 розовый
- 6.2 красный
- 6.3 синий
- 6.4 желтый
- 6.5 зеленый

7. В мазке стрептококки располагаются (один правильный ответ):

- 7.1 попарно
- 7.2 в виде тетракокков
- 7.3 одиночно
- 7.4 цепочками

7.5 в виде виноградной грозди

8. Родовое название (*Streptococcus*) отражает следующие признаки стрептококков (один правильный ответ):

- 8.1 образование эндоспор
- 8.2 тинкториальные свойства
- 8.3 особенности метаболизма
- 8.4 морфологию и взаиморасположение клеток
- 8.5 патогенность

9. Стрептококки распределяются на серогруппы по следующим компонентам (один правильный ответ):

- 9.1 тейхоевые кислоты
- 9.2 полисахариды клеточной стенки
- 9.3 пептидогликан
- 9.4 капсульные антигены
- 9.5 М-белок

10. Для стрептококков характерно (несколько правильных ответов):

- 10.1 грамположительные кокки
- 10.2 грамотрицательные кокки
- 10.3 располагаются цепочками
- 10.4 тетракокки
- 10.5 образуют споры

11. Для внутривидовой дифференциации стрептококков используют (один правильный ответ):

- 11.1 морфологические признаки
- 11.2 гемолитическую активность
- 11.3 серологические исследования
- 11.4 биохимическая активность
- 11.5 тинкториальные свойства

12. Серологический метод классификации стрептококков по Р. Ленсфильд основан (один правильный ответ):

- 12.1 на изучении биохимической активности
- 12.2 на выявлении специфического группового полисахарида клеточной стенки
- 12.3 на определении стрептолизина
- 12.4 на определении гиалуронидазы
- 12.5 на определении стрептокиназы.

13. Для *S. pyogenes* характерно (несколько правильных ответов):

- 13.1 принадлежит к группе А
- 13.2 облигатный анаэроб
- 13.3 является представителем нормальной микрофлоры
- 13.4 возбудитель рожистого воспаления

13.5 вызывает бета-гемолиз

14. У стрептококков обнаруживают следующие антигены (несколько правильных ответов):

14.1 белок М

14.2 Vi-антиген

14.3 К-антиген

14.4 белок А

14.5 Н-антиген

15. Селективной средой для стрептококков является (один правильный ответ):

15. агар Эндо

15. агар Плоскирева

15.3 агар Левина

15.4 кровяной агар

15.5 висмут-сульфитный агар

16. Для культивирования стрептококков применяют (несколько правильных ответов):

16.1 висмут-сульфитный агар

16.2 кровяной агар

16.3 сывороточный агар

16.4 среду Эндо

16.5 среду Левина

17. Среда для определения гемолитических свойств стрептококков (один правильный ответ):

17.1 мясо-пептонный агар

17.2 агар с 5% крови

17.3 висмут-сульфитный агар

17.4 сывороточный агар

17.5 желточно-солевой агар

18. Для выделения стрептококка могут быть использованы следующие питательные среды (несколько правильных ответов):

18.1 кровяной агар

18.2 желточно-солевой агар

18.3 сывороточный агар

18.4 среда Эндо

18.5 висмут-сульфитный агар

19. Альфа-гемолитические стрептококки на кровяном агаре образуют (один правильный ответ):

19.1 колонии, окруженные прозрачной бесцветной зоной гемолиза

19.2 колонии, окруженные зоной гемолиза зеленого цвета

19.3 колонии темно-красного цвета с металлическим блеском

19.4 колонии без зоны гемолиза

19.5 черные колонии с бесцветной зоной гемолиза

20. Альфа-гемолитические стрептококки на кровяном агаре образуют (один правильный ответ):

20.1 крупные желтые колонии

20.2 мелкие колонии, окруженные зоной гемолиза зеленого цвета

20.3 мелкие колонии без зоны гемолиза

20.4 крупные колонии красного цвета

20.5 мелкие желтые колонии

21. Бета-гемолитические стрептококки на кровяном агаре образуют (один правильный ответ):

21.1 колонии, окруженные прозрачной бесцветной зоной гемолиза

21.2 колонии, окруженные зоной гемолиза зеленого цвета

21.3 колонии без зоны гемолиза

21.4 черные колонии с металлическим блеском

21.5 зеленые колонии

22. Гамма-стрептококки на кровяном агаре образуют (один правильный ответ):

22.1 колонии, окруженные прозрачной бесцветной зоной гемолиза

22.2 колонии, окруженные зоной гемолиза зеленого цвета

22.3 колонии без зоны гемолиза

22.4 колонии черного цвета

22.5 зеленые колонии

23. К факторам патогенности стрептококка относятся (несколько правильных ответов):

23.1 белок А

23.2 белок М

23.3 стрептолизины

23.4 дифтерийный экзотоксин

23.5 холероген

24. Функция М белка *S. pyogenes* (один правильный ответ):

24.1 гемолиз эритроцитов

24.2 инвазия в М-клетки

24.3 защита от фагоцитоза

24.4 свертывание плазмы

24.5 разрушение гиалуроновой кислоты

25. Бета-гемолитический стрептококк серогруппы А вызывает (несколько правильных ответов):

25.1 ангину

25.2 энтероколит

25.3 диарею

25.4 фурункулез

25.5 скарлатину

26. Скарлатину вызывает стрептококк, способный продуцировать (один правильный ответ):

26.1 эндотоксин

26.2 эритрогенный токсин

26.3 липополисахарид

26.4 фибринолизин

26.5 плазмокоагулазу

27. Определение титра антител к стрептолизину O используют для диагностики (один правильный ответ):

27.1 цистита

27.2 пиелонефрита

27.3 гепатита

27.4 ревматизма

27.5 менингита

28. К осложнениям стрептококковой ангины относится (один правильный ответ):

28.1 ревматизм

28.2 энтероколит

28.3 дизентерия

28.4 брюшной тиф

28.5 фурункулез

29. Этиологическим фактором ревматизма является (один правильный ответ):

29.1 стафилококк

29.2 бета-гемолитический стрептококк

29.3 сальмонелла

29.4 кишечная палочка

29.5 пневмококк

30. Для профилактики обострений ревматизма используют (один правильный ответ):

30.1 анатоксин

30.2 антитоксическую сыворотку

30.3 бактериофаг

30.4 стрептолизин

30.5 пенициллин

31. После перенесенной скарлатины у человека формируется (один правильный ответ):

31.1 естественный антимикробный иммунитет

31.2 искусственный антимикробный иммунитет

31.3 естественный антитоксический иммунитет

31.4 искусственный антитоксический иммунитет

31.5 пассивный антитоксический иммунитет

32. *Streptococcus pyogenes* вызывает (один правильный ответ):

32.1 брюшной тиф

32.2 энтероколит

32.3 гастроэнтерит

32.4 дизентерию

32.5 рожистое воспаление

33. *Streptococcus pyogenes* вызывает (один правильный ответ):

33.1 гастроэнтерит

33.2 энтероколит

33.3 дизентерию

33.4 ангину

33.5 брюшной тиф

34. *Streptococcus pyogenes* вызывает (один правильный ответ):

34.1 энтероколит

34.2 брюшной тиф

34.3 скарлатину

34.4 дизентерию

34.5 паратиф А

35. Скарлатину вызывает (один правильный ответ):

35.1 золотистый стафилококк

35.2 эпидермальный стафилококк

35.3 бета-гемолитический стрептококк

35.4 менингококк

35.5 гонококк

36. Возбудитель скарлатины (один правильный ответ):

36.1 *Staphylococcus albus*

36.2 *Streptococcus faecalis*

36.3 *Streptococcus pyogenes*

36.4 *Staphylococcus epidermidis*

36.5 *Staphylococcus aureus*

37. Возбудитель ангины (один правильный ответ):

37.1 сальмонелла

37.2 шигелла

37.3 кампилобактер

37.4 стрептококк

37.5 кишечная палочка

38. Возбудителем скарлатины является (один правильный ответ):

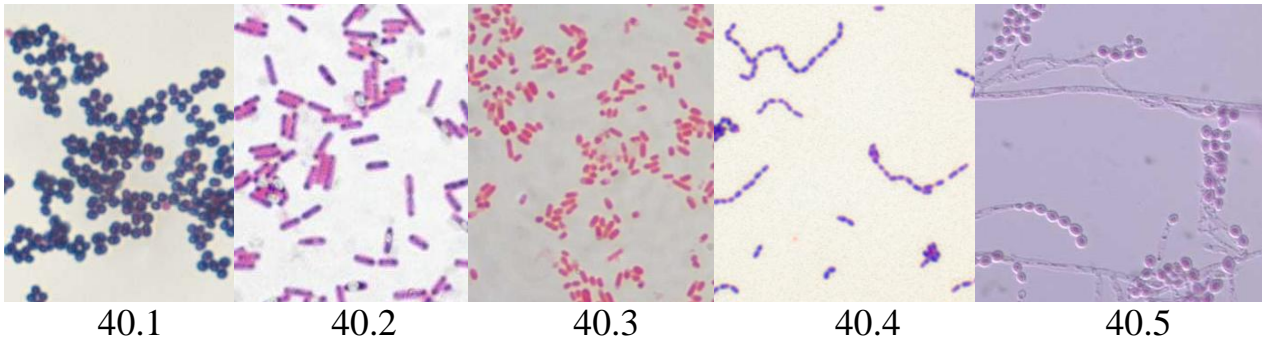


- 38.1 *S. aureus*
- 38.2 *S. pyogenes*
- 38.3 *E. faecalis*
- 38.4 *S. pneumoniae*
- 38.5 *S. salivarius*

39. Для стрептококковых инфекций основным методом лабораторной диагностики является (один правильный ответ):

- 39.1 бактериоскопический
- 39.2 бактериологический
- 39.3 биологический
- 39.4 аллергодиагностика
- 39.5 серологический

40. Выберите изображение, соответствующее стрептококкам (окраска по Граму):



Правильные ответы: 1.5; 2.2; 3.3, 3.4; 4.5; 5.3; 6.3; 7.4; 8.4; 9.2; 10.1, 10.3; 11.2; 12.2; 13.1, 13.5; 14.1, 14.3; 15.4; 16.2, 16.3; 17.2; 18.1, 18.3; 19.2; 20.2; 21.1; 22.3; 23.2, 23.3; 24.3; 25.1, 25.5; 26.2; 27.4; 28.1; 29.2; 30.5; 31.3; 32.5; 33.4; 34.3; 35.3; 36.3; 37.4; 38.2; 39.2; 40.4.

### 1.3. Пневмококки

Особое положение среди представителей рода *Streptococcus* занимает вид *S. pneumoniae* (пневмококк). Этот микроб впервые обнаружил в плевральной жидкости у пациентов с пневмонией в 1875 г. немецкий бактериолог Э. Клебс (рисунок 1.70).



Рисунок 1.70 – Эдвин Клебс (Edwin Klebs, 1834 – 1913 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1881 г. Л. Пастер и Дж. Стернберг независимо друг от друга описали фатальную септицемию у кроликов, вызванную подобным стрептококком.

В 1886 г. немецкий врач А. Френкель при крупозной пневмонии обнаружил расположенные попарно коки и назвал их *Diplococcus pneumoniae*. Подобные диплококки описал А. Вексельбаум (рисунок 1.71). В связи с этим диплококки часто называют диплококком Френкеля или диплококком Вексельбаума.



А



Б

Рисунок 1.71 – А - Альберт Френкель (Albert Fraenkel, 1848 – 1916 гг.), Б - Антон Вексельбаум (Anton Weichselbaum, 1845-1920 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В начале XX века немецкий бактериолог Ф. Нейфельд (рисунок 1.72) впервые с помощью типоспецифических антисывороток разделил пневмококки на серотипы.



Рисунок 1.72 – Фред Нейфельд (Fred Neufeld, 1869-1945 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для серотипирования пневмококков Ф. Нейфельд использовал метод набухания капсулы (рисунок 1.73).

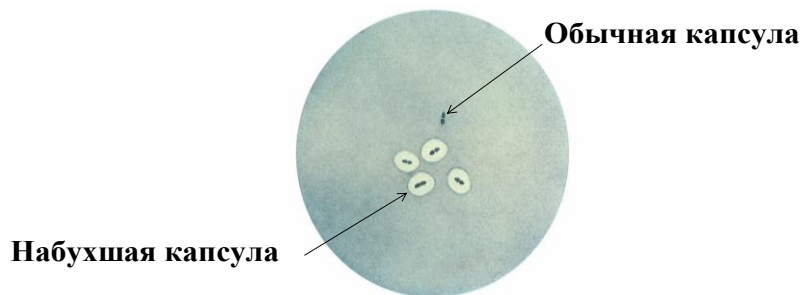


Рисунок 1.73 – Набухание капсулы пневмококка при добавлении сыворотки, содержащей антитела против капсульных полисахаридов данного серотипа. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1974 г. этот микроорганизм получил современное название *Streptococcus pneumoniae*.

**Морфологические и тинкториальные свойства пневмококков.** Пневмококки представляют собой грамположительные бактерии ланцетовидной формы размером 0,8-1,25 мкм, располагающиеся попарно. Такое расположение клеток обусловлено их делением в одной плоскости (рисунок 1.74).

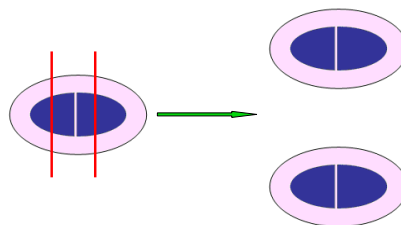


Рисунок 1.74 – Расположение клеток при делении пневмококков.

Каждая пара кокков окружена капсулой полисахаридной природы. Пневмококки имеют пили, они неподвижны, не образуют спор (рисунок 1.75).

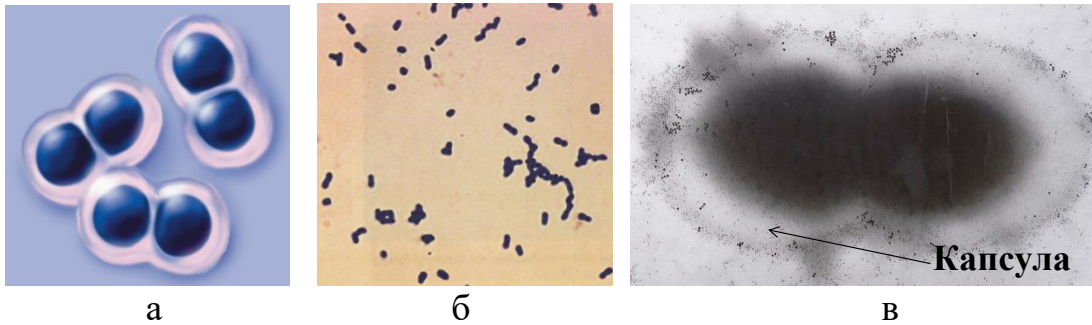


Рисунок 1.75 – Схематическое изображение (а), окраска по Граму (б) и электронная фотография пневмококка (в). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Геном пневмококка представляет собой кольцевую хромосому. В природе пневмококк подвержен генетической изменчивости путем трансформации, поэтому в его геноме обнаруживаются чужеродные гены. Именно на примере пневмококков в 1928 году британским ученым Ф. Гриффитом был описан феномен генетической трансформации.

**Культуральные и биохимические свойства пневмококков.** Пневмококки являются факультативными анаэробами. Их рост усиливается в атмосфере 5-10% углекислого газа. На агаре пневмококки формируют мелкие выпуклые колонии влажной консистенции. При инкубировании более 48 часов центральная часть колоний опускается, образуя характерную блюдцеобразную форму (рисунок 1.76).

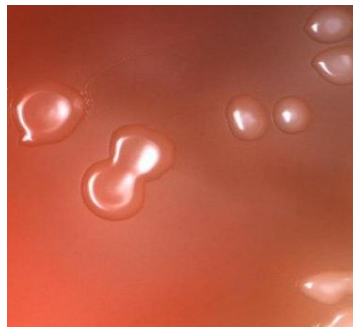


Рисунок 1.76 – Блюдцеобразная форма колоний пневмококков. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Оптимальная температура роста для пневмококков 37°C. Они требовательны к питательным средам, для их выращивания используют сывороточный или кровяной агар с добавлением глюкозы. На средах с кровью пневмококки вызывают  $\alpha$ -гемолиз - формируют мелкие колонии, окруженные зоной зеленого цвета за счет неполного гемолиза и образования метгемоглобина (рисунок 1.77).

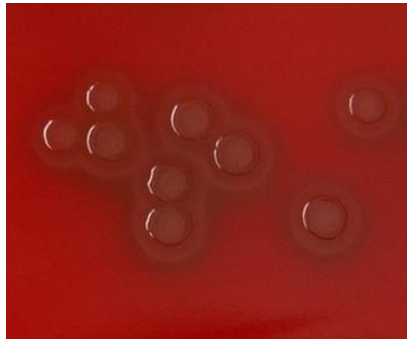


Рисунок 1.77 – Характер роста пневмококков на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В жидких средах пневмококки вызывают диффузное помутнение и небольшой хлопьевидный осадок. Они ферментируют некоторые углеводы (левулезу, маннозу, глюкозу, галактозу, лактозу, мальтозу, сахарозу). Пневмококк является **каталазоотрицательным** и **оксидазоотрицательным** микроорганизмом. Важным отличительным признаком пневмококков является ферментация инулина, позволяющая отличить его от зеленеющего стрептококка, не обладающего способностью разлагать инулин. Пневмококк свертывает молоко, желатин не разжижает.

**Антигенная структура** пневмококка сложная. В клетке локализуется антиген белковой природы, обладающий типовой специфичностью. В клеточной стенке имеется несколько антигенов. **Капсульные полисахаридные К-антигены** состоят из повторяющихся сочетаний моносахаридов (D-глюкозы, D-галактозы и L-рамнозы). В зависимости от химического строения капсулы выделяют более 90 серотипов пневмококков. В настоящее время используются 2 номенклатурные схемы: американская и датская. В соответствии с **американской схемой** серотипы пневмококков имеют нумерацию в порядке их описания, без учета перекрестного реагирования. Согласно **датской (международной) схеме**, серотипы пневмококков объединены в 47 групп с учетом антигенного родства. Серогруппы обозначают арабскими цифрами, а серотипы – заглавными латинскими буквами. Чаще всего заболевание вызывают около 20 серотипов пневмококков, на основе которых конструируют пневмококковые вакцины. В России наиболее часто колонизируют носоглотку штаммы пневмококков серотипов 19F, 6B, 14.

Другой **антиген клеточной стенки** представляет собой тейхоевую кислоту. **М-белок** пневмококков также представляет собой антиген клеточной стенки и аналогичен М-белку других видов стрептококков.

**Факторы патогенности пневмококков.** Среди факторов патогенности пневмококков выделяют структурные компоненты клетки, выполняющие в основном функцию адгезии, и секретируемые субстанции (ферменты агрессии и токсины). Основные факторы патогенности пневмококков представлены в таблице 1.5 и на рисунке 1.78.

Таблица 1.5 – Факторы патогенности пневмококков

Название фактора	Выполняемая функция
<b>1. Структурные компоненты клетки</b>	
<b>1.1 Капсула</b>	Препятствие фагоцитозу
<b>1.2. Структуры и белки системы MSCRAMM</b>	
Пили	Адгезия
Концевой пилиновый белок RrgA	Адгезия
M-белок	Фактор адгезии и защиты от фагоцитоза
Тейхоевая кислота	Связывание с эпителием носоглотки
Холин-связывающие белки PspA, PspC	Участвуют в адгезии и колонизации
Фибронектин-связывающий белок (Fbp)	Адгезия
<b>2. Секретируемые компоненты</b>	
<b>2.1. Ферменты агрессии</b>	
Нейраминидаза	Расщепляет нейраминную кислоту
Гиалуронидаза	Расщепляет гиалурон-содержащие компоненты внеклеточного матрикса
Энолаза	Связывается с плазминогеном
Аутолизин А (LytA)	Расщепляет клеточную стенку, способствуя освобождению пневмолизина
IgA-протеаза	Расщепляет IgA человека
Лух-контролируемая система quorum sensing	Образование биопленки
Бактериоцин (пневмоцин)	Подавление других представителей экологической ниши
<b>2.2. Токсины</b>	
Пневмолизины (Ply) - $\alpha$ и $\beta$ - цитотоксины	Порообразующие токсины
Лейкоцидин	Разрушение лейкоцитов

На поверхности пневмококков обнаружено 69 белков, которые могут участвовать в колонизации. Прикрепление пневмококков к клеткам организма осуществляется с помощью поверхностных адгезинов. К ним относятся пневмококковые поверхностные адгезины А и С, а также холин-связывающие белки. Со стороны эпителиальных клеток в формировании контакта участвуют сиаловая кислота и некоторые другие компоненты.

**Капсула** является основным фактором патогенности пневмококков. Бескапсульные варианты пневмококков авирулентны. Капсула обладает антифагоцитарной активностью.

**Белки системы MSCRAMM** являются поверхностными микробными компонентами, распознающими адгезивные матриксные молекулы. К ним относятся концевой пилиновый белок RrgA, холин-связывающие белки, фибронектин-связывающий белок.

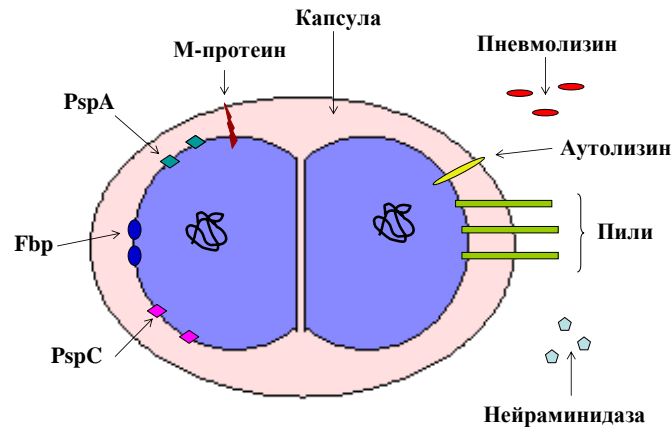


Рисунок 1.78 – Основные факторы патогенности пневмококка.

**Концевой пилиновый белок RrgA** представляет собой плазминоген-связывающий белок.

**Холин-связывающие белки (пневмококковые поверхностные белки PspA и PspC)** участвуют в адгезии микробной клетки. Белок PspA предотвращает фиксацию комплемента на бактериальной клетке и тем самым спасает микроб от опсонизации и последующего фагоцитоза. Кроме того этот белок связывает лактоферрин, имеющийся на слизистой оболочке респираторного тракта. Эти белки способствуют также транслокации пневмококков через респираторный эпителий и гемато-энцефалический барьер.

**Тейхоевая кислота** клеточной стенки содержат фосфорилхолин, с помощью которого она специфически взаимодействуют с С-полисахаридом и поверхностными холин-связывающими белками. Тейхоевая и липотейхоевая кислоты выполняют роль адгезинов.

**Фибронектин-связывающий белок (Fbp)** выполняет функцию адгезии и распространения микробных клеток в тканях.

**Пили.** У пневмококка описано 2 типа пилей – P1-1 и P1-2. Синтез пилей кодируется генами, входящими в состав двух островков патогенности. Пили выполняют функцию адгезии пневмококка к эпителию дыхательных путей.

**М-белок** обеспечивает адгезию и устойчивость к фагоцитозу.

**Протеаза** разрушает секреторный иммуноглобулин А, что снижает защитную функцию слизистой оболочки дыхательных путей.

**Гиалуронидаза** разрушает гиалуроновую кислоту соединительной ткани, способствуя распространению пневмококков в организме.

**Нейраминидаза** (сиалидаза) отщепляет сиаловую кислоту от гликопротеинов, липопротеинов и олигосахаридов, входящих в состав тканей организма, и тем самым оголяет клеточные рецепторы для пневмококковых адгезинов.

**Пневмолизины** – мембраноповреждающие токсины, разрушают реснички мерцательного эпителия, подавляют фагоцитоз. Протомеры пневмолизина адсорбируются холестерином билипидного слоя мембран эритроцитов, затем после ряда конформационных изменений протомеры преобразуются в гептамеры, проникают через мембрану и формируют пору, через которую происходит выход из клетки и проникновение в клетку небольших молекул и ионов, обуславливающих

осмотический лизис эритроцитов. Пневмолизин способен поражать клетки бронхиального эпителия, альвеолярного эпителия и эндотелий легочных артерий, то есть те клетки, которые участвуют в создании легочно-капиллярного барьера. Кроме этого, пневмолизин стимулирует высвобождение фактора некроза опухоли и интерлейкинов макрофагами, что усиливает воспалительную реакцию.

**Лейкоцидин** разрушает нейтрофилы, моноциты, макрофаги.

**Патогенез пневмококковой инфекции.** Механизм проникновения пневмококка в организм – аэрогенный. На слизистой оболочке верхних дыхательных путей возбудитель размножается, с помощью ферментов агрессии разжижает слизь, достигает эпителия и прикрепляется к эпителиальным клеткам и элементам соединительной ткани с помощью адгезинов (пилей, многочисленных поверхностных молекул системы MSCRAMM). В результате этого происходит колонизация слизистой оболочки. В процессе колонизации формируется биопленка, состоящая вначале из бескапсульных высоко адгезивных клеток, а затем из капсульных более инвазивных клеток. Заключенные в биопленку клетки пневмококков устойчивы к действию антибиотиков. Колонизация пневмококками слизистых оболочек верхних дыхательных путей и образование биопленки протекает бессимптомно (здоровое носительство). Распространение патогена в нижние отделы респираторного тракта проявляется клиническими симптомами заболевания. В кровоток из инфицированных тканей пневмококк проникает путем эндоцитоза эндотелиальными клетками и разрыва межклеточных связей с помощью ферментов агрессии. На всех этапах соприкосновения с внутренней средой организма пневмококк защищает себя с помощью капсулы, пневмолизина и поверхностных белков.

**Резистентность пневмококков.** Вне организма пневмококки малоустойчивы. Они могут сохраняться во внешней среде не более 3-4 недель. Быстро погибают под влиянием высокой температуры, например, при 85<sup>0</sup>С погибают через 30 минут. Пневмококки чувствительны к обычно используемым дезинфицирующим веществам: от действия 1% раствора формалина, 2% раствора едкого натра гибель пневмококков наступает в течение 1-2 минут.

**Экология.** Пневмококк колонизирует верхние отделы дыхательных путей человека. У людей он является одним из возбудителей менингита, среднего отита, синусита, внебольничной пневмонии. Реже пневмококк вызывает эндокардиты, септический артрит, флегмоны и другие инфекции. Пневмококковая инфекция поражает как взрослых, так и детей и часто проявляется как осложнение других инфекций, в частности, вирусных. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире от инфекций, обусловленных пневмококком, умирает более 1,8 млн. человек, из них более половины – дети в возрасте до 5 лет.

**Эпидемиология пневмококковой инфекции.** Возможно экзогенное и эндогенное инфицирование человека пневмококком. **Источник** пневмококковой **экзогенной** инфекции – больной человек или бактерионоситель. **Механизм передачи** – аэрогенный. Инфекция передается воздушно-капельным путем. **Эндогенное** инфицирование наблюдается в случаях колонизации пневмококками слизистой оболочки верхних дыхательных путей (носительство вирулентных штаммов). Носительство обусловлено тропизмом пневмококков к слизистой дыхательных путей в результате наличия специфических адгезинов.



Предрасполагающими факторами к развитию эндогенной инфекции являются застойные явления в легких, разрушение сурфактанта, снижение уровня секреторного иммуноглобулина А.

Различают “инвазивные” и “неинвазивные” формы пневмококковой инфекции. При “**инвазивных**” пневмококковых инфекциях (ИПИ) возбудитель обнаруживается в жидкостях и тканях организма, стерильных в нормальных условиях (кровь, спинномозговая, перитонеальная и плевральная жидкости и др.). К таким формам инфекции относятся пневмококковый менингит, острый средний отит, пневмококковая пневмония, септический артрит, остеомиелит и др.

К “**неинвазивным**” формам пневмококковой инфекции относятся “небактериальная” пневмония (при отсутствии возбудителя в крови), синусит и другие поражения.

**Лабораторная диагностика пневмококковой инфекции.** Исследуемый материал – кровь, спинномозговая жидкость (при диагностике инвазивных форм пневмококковой инфекции), мокрота, жидкость из полости среднего уха (при неинвазивных заболеваниях).

Микроскопическое исследование окрашенного по Граму мазка, приготовленного из исследуемого материала, позволяет обнаружить капсульные грамположительные диплококки (рисунок 1.79).

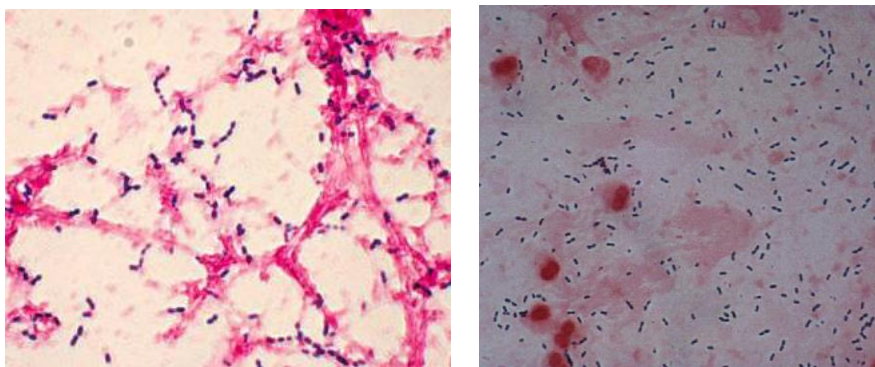


Рисунок 1.79 – Капсульные диплококки в мазке из исследуемого материала, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Основным методом лабораторной диагностики пневмококковой инфекции является бактериологический (культуральный) метод. Он основан на выделении *S. pneumoniae*. Для выделения пневмококков материал высевают на кровяной агар и инкубируют в атмосфере углекислого газа при температуре 37°C в течение суток. Дальнейшему исследованию подвергают сероватые колонии, образующие α-гемолиз (зеленое окрашивание агара вокруг колоний). Пневмококки, имеющие сильно развитую капсулу, на кровяном агаре образуют выпуклые сероватые слизистые (напоминающие капли масла) колонии диаметром несколько миллиметров.

Характерным для *S. pneumoniae* является ингибирование роста культуры оптохином (чувствительность к оптохину). Для этого культуру высевают на кровяной агар и сверху на засеянную поверхность помещают бумажные диски, содержащие 5 мкг оптохина. Инкубирование проводят в течение 18-24 часов при температуре 35°C в атмосфере с 5-7% углекислого газа. Зона задержки роста ≥14 мм

(диск диаметром 6 мм) или  $\geq 16$  мм (диск диаметром 10 мм) свидетельствует о присутствии пневмококка (рисунок 1.80).

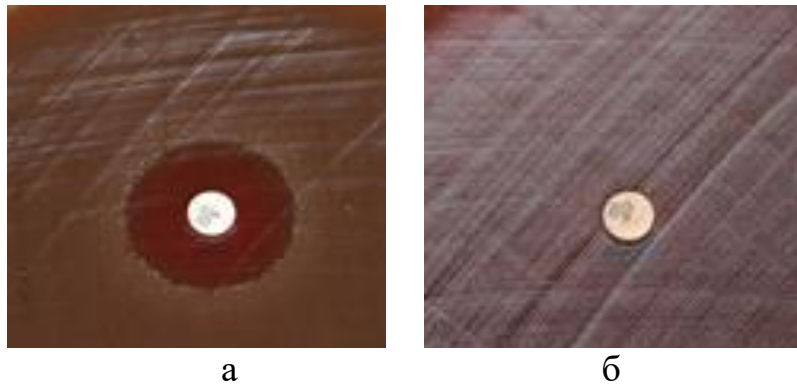


Рисунок 1.80 – Проба с оптохином: а - положительная проба, б – контроль (отрицательная проба). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Зона задержки роста  $< 14$  мм ( $< 16$  мм) требует проведения других тестов, в частности, теста лизиса в присутствии солей желчных кислот. Соли желчных кислот обладают способностью избирательно лизировать колонии *S. pneumoniae* на агаре или в бульоне. При этом происходит активация пневмококковых аутолизинов – ферментов, участвующих в синтезе клеточной стенки. Для проведения этого теста к микробной суспензии добавляют 10% раствор дезоксихолата натрия, тщательно перемешивают и инкубируют в течение 0,5-2 часов при температуре  $35^{\circ}\text{C}$ . У большинства штаммов пневмококков в течение этого времени наступает визуальный лизис культуры, выявляемый по изменению мутности суспензии (просветление жидкости).

Серологическое типирование пневмококка проводится с помощью реакции латексной агглютинации (РЛА) или реакции набухания капсулы по Нейфельду. Для **реакции латекс-агглютинации** используют групповые диагностические сыворотки (например, наборы PNEUMOTEST LATEX). Образование крупных хлопьев на фоне полного просветления указывает на положительную реакцию (рисунок 1.81).

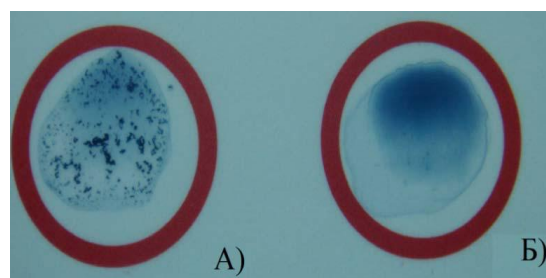


Рисунок 1.81 – Реакция латекс-агглютинации: А – положительная реакция, Б – отрицательная реакция (Алябьева Н.М., 2014 г.).

**Феномен набухания капсулы** проявляется в резком увеличении размеров капсулы в присутствии противокапсульной сыворотки. Результат реакции наблюдают с помощью фазово-контрастного микроскопа (рисунок 1.82).

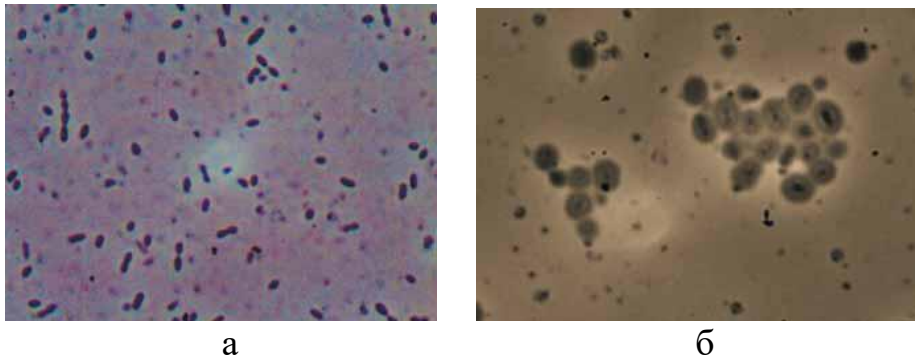


Рисунок 1.82 – Реакция набухания капсулы по Нейфельду: а - отрицательная реакция, б – положительная реакция (Алябьева Н.М., 2014 г.).

Антигены пневмококка в сыворотке крови, спинномозговой жидкости, моче можно обнаружить с помощью латекс-агглютинации, встречного иммуноэлектрофореза, иммунохроматографического теста (рисунок 1.83).



Рисунок 1.83 – Иммунохроматографический экспресс-тест Пневмококк Винах NOW для качественного определения антигена пневмококка в моче, спинномозговой жидкости. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**ПЦР** основана на выявлении фрагментов специфических генов, кодирующих синтез аутолизина, пневмолизина, поверхностных белков клеточной стенки и др.

**Профилактика пневмококковой инфекции.** С целью специфической профилактики пневмококковой инфекции в Российской Федерации зарегистрированы 7-валентная, 10-валентная, 13-валентная конъюгированные вакцины и поливалентная пневмококковая вакцина.

**Вакцина пневмококковая конъюгированная адсорбированная 7-валентная** содержит конъюгаты генно-модифицированного нетоксичного дифтерийного белка CRM197 с пневмококковыми полисахаридами серотипов 4, 6В, 9V, 14, 18С, 19F и 23F.

**Вакцина пневмококковая 10-валентная конъюгированная с D-протеином нетипируемой *Haemophilus influenzae*, столбнячным и дифтерийным анатоксинами** адсорбированная содержит полисахариды 1, 4, 5, 6В, 7F, 9V, 14, 18С, 19F, 23F. К таким препаратам относится вакцина Синфлорикс.

**Вакцина пневмококковая полисахаридная конъюгированная адсорбированная 13-валентная** представляет собой комплекс полисахаридов 13 серотипов пневмококка (1, 3, 4, 5, 6А, 6В, 7F, 9V, 14, 18С, 19А, 19F, 23F),

индивидуально конъюгированных с дифтерийным белком CRM197 и адсорбированных на фосфате алюминия.

Конъюгированные вакцины предназначены, в первую очередь, для вакцинации детей с первого года жизни (рисунок 1.84).



Рисунок 1.84 – Конъюгированные пневмококковые вакцины. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Полисахаридная поливалентная пневмококковая вакцина** содержит капсульные полисахариды *S. pneumoniae* 23 серотипов (1, 2, 3, 4, 5, 6В, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15В, 17F, 18С, 19А, 19F, 20, 22F, 23F, 33F). Вакцину Пневмо 23, содержащую полисахариды 23 серотипов, применяют детям старше 2 лет. Для вакцинации необходима всего одна доза вакцины (рисунок 1.85).



Рисунок 1.85 – Вакцина Пневмо 23. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Длительность иммунитета после вакцинации составляет от 3-5 лет до 10 лет. Прививка особенно рекомендуется пациентам из групп риска:

- лицам в возрасте старше 65 лет (летальность от пневмококковой пневмонии у них достигает 40%);
- пациентам с хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой, дыхательной систем, сахарным диабетом, циррозом печени;
- детям в возрасте до 5 лет, часто болеющим инфекциями дыхательных путей.

**Лечение** пневмококковой инфекции проводится с использованием антибиотиков. Однако в последние годы возросло количество сообщений о распространении пневмококков, устойчивых к пенициллинам, макролидам, триметоприму/сульфаметоксазолу, цефалоспорином III поколения.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Особенности морфологических и культуральных свойств пневмококка.
2. Факторы патогенности пневмококков.
3. Диагностика пневмококковой инфекции.
4. Профилактика пневмококковой инфекции.

### Тренировочные тесты

1. Пневмококки относятся к семейству (один правильный ответ):
  - 1.1 *Vibrionaceae*
  - 1.2 *Staphylococcaceae*
  - 1.3 *Pseudomonadaceae*
  - 1.4 *Bacillaceae*
  - 1.5 *Streptococcaceae*
  
2. Возбудитель крупозной пневмонии относится к роду (один правильный ответ):
  - 2.1 *Staphylococcus*
  - 2.2 *Shigella*
  - 2.3 *Salmonella*
  - 2.4 *Spirillum*
  - 2.5 *Streptococcus*
  
3. При окраске мазка по Граму пневмококки приобретают цвет (один правильный ответ):
  - 3.1 красный
  - 3.2 розовый
  - 3.3 синий
  - 3.4 желтый
  - 3.5 коричневый
  
4. В мазке пневмококки располагаются (один правильный ответ):
  - 4.1 одиночно
  - 4.2 попарно
  - 4.3 скоплениями в виде виноградной грозди
  - 4.4 длинными цепочками
  - 4.5 в виде пакетов
  
5. Для пневмококков характерно (несколько правильных ответов):
  - 5.1 наличие подвижности
  - 5.2 являются диплококками
  - 5.3 растут на простых питательных средах
  - 5.4 образуют споры
  - 5.5 имеют капсулу
  
6. Для *S. pneumoniae* характерны следующие признаки (несколько правильных ответов):
  - 6.1  $\alpha$ -гемолиз

- 6.2 чувствительность к оптохину
- 6.2 лизис желчью
- 6.4 отсутствие капсулы
- 6.5 отрицательная окраска по Граму

7. К факторам патогенности пневмококка относится (один правильный ответ):

- 7.1 каталаза
- 7.2 белок А
- 7.3 эндотоксин
- 7.4 капсула
- 7.5 жгутики

8. Для *S. pneumoniae* характерно (несколько правильных ответов):

- 8.1 отрицательная окраска по Граму
- 8.2 наличие альфа-гемолиза
- 8.3 наличие бета-гемолиза
- 8.4 положительная окраска по Граму
- 8.5 наличие капсулы

9. Возбудителем крупозной пневмонии является (один правильный ответ):

- 9.1 *S. pyogenes*
- 9.2 *S. faecalis*
- 9.3 *S. pneumoniae*
- 9.4 *S. epidermidis*
- 9.5 *S. aureus*

10. Для культивирования пневмококков используют (один правильный ответ):

- 10.1 висмут-сульфитный агар
- 10.2 среду Эндо
- 10.3 сывороточный агар
- 10.4 желточно-солевой агар
- 10.5 среду Плоскирева

11. Для специфической профилактики пневмококковых инфекций применяют (один правильный ответ):

- 11.1 антибиотики
- 11.2 витамины
- 11.3 вакцину
- 11.4 бактериофаги
- 11.5 сульфаниламиды

12. Внутривидовой дифференцировки *S. pneumoniae* основана на (один правильный ответ):

- 12.1 строении ЦПМ
- 12.2 структуре клеточной стенки
- 12.3 структуре капсулы

12.4 структуре пептидогликана

12.5 наличии фимбрий

13. Основным фактором патогенности пневмококков является (один правильный ответ):

13.1 экзотоксин

13.2 эндотоксин

13.3 капсула

13.4 гиалуронидаза

13.5 нейраминидаза

14. Для пневмококков характерно (несколько правильных ответов):

14.1 являются диплококками

14.2 располагаются в виде виноградной грозди

14.3 грамположительные

14.4 в организме образуют капсулу

14.5 образуют споры

15. Основные препараты для лечения пневмококковой пневмонии (один правильный ответ):

15.1 пробиотики

15.2 антибиотики

15.3 вакцины

15.4 асептики

15.5 иммуноглобулины

Правильные ответы: 1.5; 2.5; 3.3; 4.2; 5.2, 5.5; 6.1, 6.2, 6.3; 7.4; 8.2, 8.4, 8.5; 9.3; 10.3; 11.3; 12.3; 13.3; 14.1, 14.3, 14.4; 15.2.

## 2. Грамотрицательные аэробные кокки

**Общая характеристика аэробных кокков.** К грамотрицательным аэробным коккам относятся нейссерии. Род *Neisseria* назван в честь немецкого врача А. Нейссера (рисунок 2.1), обнаружившего возбудителя в выделениях больного гонореей.

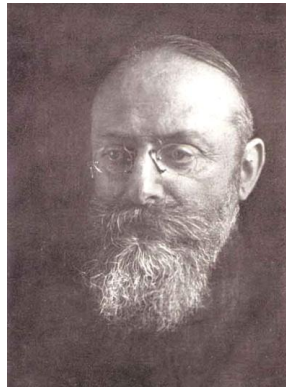


Рисунок 2.1 - Альберт Людвиг Сигезмунд Нейссер (Albert Ludwig Sigismund Neisser, 1855-1916 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Род *Neisseria* относится к типу *Proteobacteria*, классу *Betaproteobacteria*, порядку *Neisseriales*, семейству *Neisseriaceae*. Этот род включает несколько видов: *Neisseria meningitidis* (менингококки), *Neisseria gonorrhoeae* (гонококки), *N. flava*, *N. subflava*, *N. perflava*, *N. sicca*, *N. mucosa*, *N. flavescens*, *N. cinerea*, *N. elongate*, *N. lactamica* и др. Видами, патогенными для человека, являются менингококки и гонококки.

Непатогенные нейссерии являются представителями нормальной микрофлоры слизистой оболочки ротовой полости, верхних дыхательных путей и мочеполового тракта человека (*N. sicca*, *N. flavescens*, *N. perflava*, *N. mucosa*, *N. lactamica*). Условно-патогенные нейссерии являются этиологическими агентами отитов, синуситов и других гнойно-воспалительных заболеваний у лиц со сниженной резистентностью организма.

**Морфологические и тинкториальные свойства нейссерий.** Нейссерии представляют собой грамотрицательные кокки диаметром 0,6-10 мкм, неподвижные, спор не образуют. Отличительной особенностью нейссерий является то, что клетки располагаются попарно (диплококки), а обращенные друг к другу поверхности ровные или вогнутые, то есть нейссерии внешне напоминают кофейные зерна или бобы (рисунок 2.2).



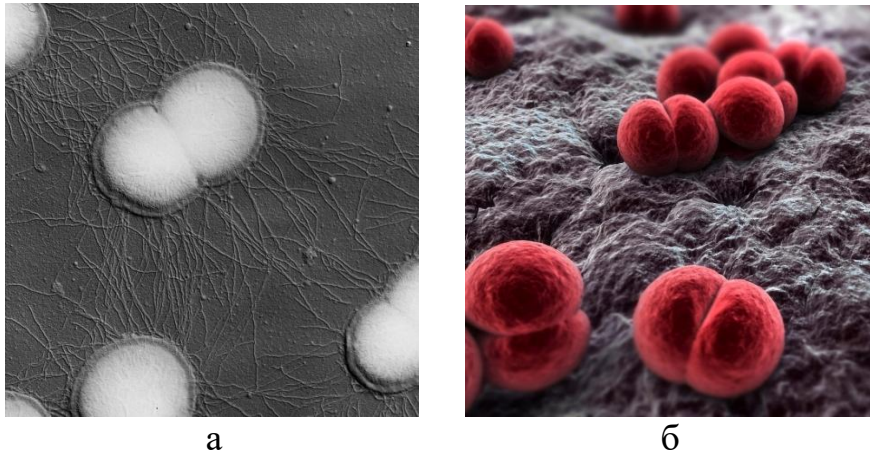


Рисунок 2.2 – Нейссерии, электронная микрофотография (а) и компьютерная визуализация (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Среди нейссерий встречаются также короткие (0,5 мкм) палочки (диплобациллы), располагающиеся в цепочках (например, *Neisseria elongate*). Некоторые виды нейссерий имеют капсулу и микроворсинки - пили (рисунок 2.3).

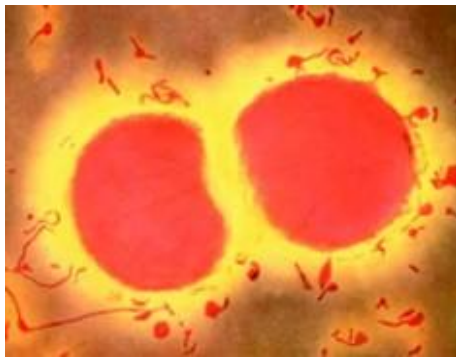


Рисунок 2.3 - Капсула и пили у нейссерий, компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства нейссерий.** Нейссерии являются аэробами. Оптимальная температура роста 35-37°C, патогенные виды могут расти в интервале температур 24-41°C, а непатогенные виды способны к росту при температурах ниже 24°C. Оптимальное значение рН питательных сред для выращивания нейссерий составляет 6-8. Патогенные виды прихотливы к условиям культивирования, не растут на обычных питательных средах; непатогенные виды менее прихотливы. Для выращивания патогенных нейссерий используют среды с кровью, сывороткой крови, дополнительными факторами роста (сывороточный агар, кровяной агар, шоколадный агар, среда Мак-Конки и др.). Культивирование проводят в атмосфере углекислого газа (5-7%). На плотных питательных средах через 24 часа нейссерии образуют нежные мелкие выпуклые круглые колонии с ровными краями (рисунок 2.4).

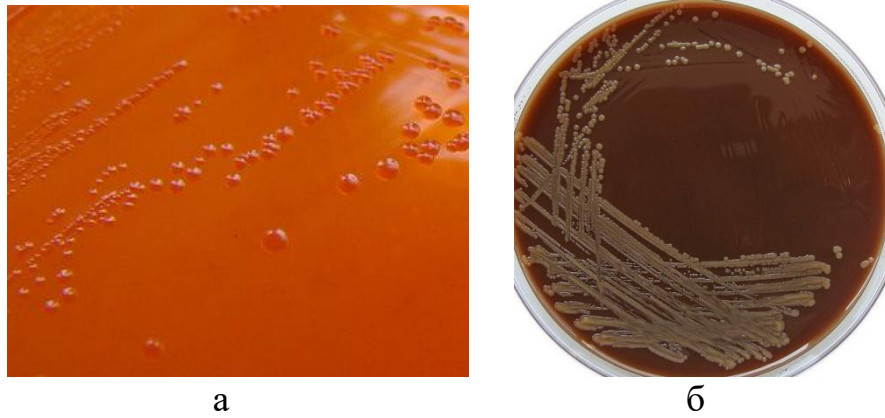


Рисунок 2.4 - Рост *N. subflava* на агаре Мак-Конки (а) и на колумбийском шоколадном агаре (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Ферментативная активность** нейссерий низкая. Они продуцируют каталазу (за исключением *Neisseria elongata*) и цитохромоксидазу, ферментируют некоторые углеводы с образованием кислоты. Многие виды нейссерий редуцируют нитриты, некоторые - восстанавливают нитраты. Отличительные признаки бактерий рода *Neisseria* представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 - Основные дифференциально-диагностические свойства нейссерий

Вид	Рост на агаре без сыворотки	Зависимость роста от CO <sub>2</sub>	Желтый пигмент	Ферментация					Образование полисахарида на среде с 5% сахарозы	Редукция**	
				глюкозы	мальтоза	сахароза	фруктоза	лактоза		нитратов	нитритов
<i>N. gonorrhoeae</i>	-	+	-	К	-	-	-	-	-	-*****	-*****
<i>N. meningitidis</i>	-	+	-	К	К	-	-	-	-	-*****	-*****
<i>N. subflava</i>	+/*	-	+	К	К	К/-	К/-	-	-/+ ***	-	+
<i>N. flava</i>	+/-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
<i>N. mucosa</i>	+	-	+/-	К	К	К	К	-	+	+	+
<i>N. sicca</i>	+/-	-	+/-	К	К	К	К	-	+	-	+
<i>N. lactamica</i>	+	-	+	К	К	-	-	К	-	-	+

Примечание:

\* Биовар *N. perflava* не растет на бессывороточном агаре.

\*\* Тест используется только для дифференциации условно-патогенных нейссерий.

\*\*\* Биовар *N. perflava* имеет положительную реакцию.

\*\*\*\* Некоторые штаммы редуцируют нитриты в низких концентрациях (0,01%).

**Антигенная структура.** Все виды нейссерий имеют полисахаридный соматический О-антиген. Штаммы, образующие капсулу, также имеют капсульный антиген. В клеточной мембране патогенных нейссерий содержится нейссерияльный поверхностный белок А (NspA).

**Резистентность.** Во внешней среде патогенные нейссерии не устойчивы. В связи с этим исследуемый материал доставляют в лабораторию в транспортных средах (транспортная среда для нейссерий, среда Эймса) в термоконтейнерах, обеспечивающих температуру 30-35°C. Нейссерии чувствительны к действию многих антисептиков и дезинфектантов. Они обладают высокой чувствительностью к пенициллинам, тетрациклинам, стрептомицину и другим антибиотикам. Однако в последнее время все чаще в клинической практике встречаются штаммы нейссерий, устойчивые к антибиотикам.

## 2.1. Менингококки

**Менингококковая инфекция** - это острое инфекционное заболевание человека, вызываемое *Neisseria meningitidis* и характеризующееся локальным поражением слизистой оболочки носоглотки с последующей генерализацией процесса в виде менингококковой септицемии (менингококцемии или менингококкемии) и воспаления мягких мозговых оболочек (менингококкового менингита, эпидемического цереброспинального менингита).

Первые клинические описания менингококкового менингита представили английские врачи Т. Уиллис (Вилизий) и Т. Сиденхэм (рисунок 2.5).



А



Б

Рисунок 2.5 – А - Томас Уиллис (Thomas Willis, 1621 – 1675 гг.); Б - Томас Сиденхэм (Thomas Sydenham, 1624 – 1689 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Возбудитель менингита обнаружил в спинномозговой жидкости больного и детально описал в 1887 г. австрийский бактериолог А. Вайхзельбаум (рисунок 2.6).



Рисунок 2.6 - Антон Вайхсельбаум (A. Weichselbaum, 1845 – 1920 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Таксономия.** Вид *Neisseria meningitidis* относится к семейству *Neisseriaceae* роду *Neisseria*. В составе этого вида по капсульным полисахаридным антигенам выделяют 13 серогрупп (А, В, С, D, X, Y, Z, W и др.). По белковым и полисахаридным антигенам клеточной стенки выделяют 20 сероваров или серотипов. Наиболее частыми возбудителями генерализованной менингококковой инфекции являются серогруппы А, В и С.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Менингококки имеют округлую форму диаметром 0,6-1,0 мкм, располагаются попарно. Поверхности, обращенные друг к другу, вогнутые или ровные (рисунок 2.7).

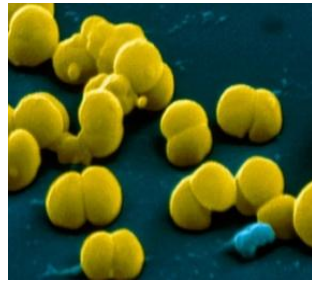


Рисунок 2.7 - Менингококки в препарате, компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Менингококки по Граму окрашиваются в красный цвет (грамотрицательные). В мазках часто наблюдается неравномерное окрашивание: молодые клетки окрашиваются интенсивно, а старые клетки воспринимают краситель очень слабо (рисунок 2.8).

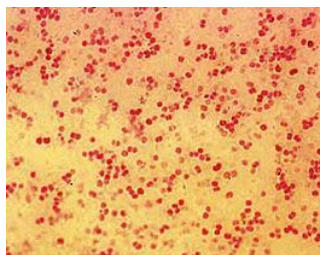


Рисунок 2.8 - Чистая культура *N. meningitidis*. Окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Клеточная стенка менингококков содержит липоолигосахарид (ЛОС), состоящий из липида А и олигосахарида. ЛОС отличается от липополисахаридов (ЛПС) других грамотрицательных бактерий отсутствием разветвленных углеводных О-боковых цепей (рисунок 2.9).

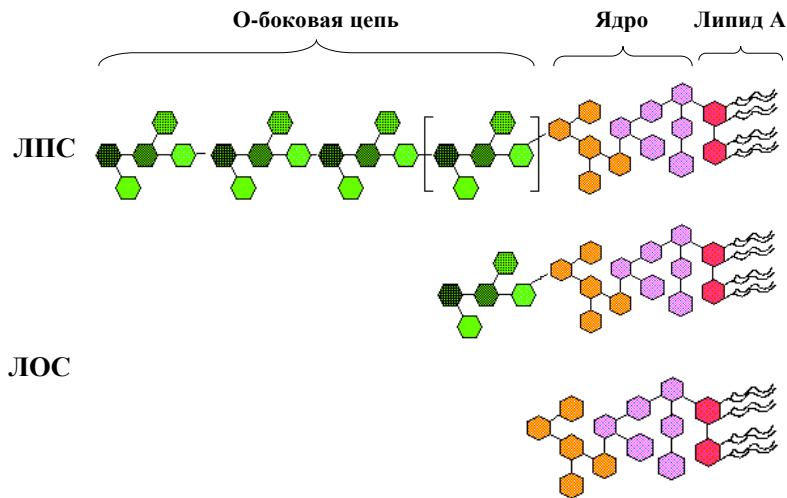


Рисунок 2.9 – Сравнительная структура липополисахарида (ЛПС) и липоолигосахаридов (ЛОС).

По структуре ЛОС напоминает гликофинголипид клеточной мембраны организма, поэтому микроб “маскируется” от действия защитных факторов макроорганизма. Кроме того, ЛОС-эндотоксин содержит нейраминную (сиаловую) кислоту, что обеспечивает устойчивость менингококков к комплементу (блокирование альтернативного пути активации комплемента).

Менингококки не имеют жгутиков, спор не образуют. Они способны образовывать пили и капсулу (рисунок 2.10).

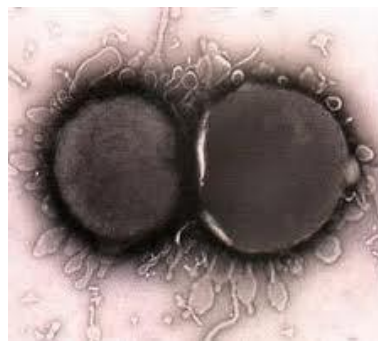


Рисунок 2.10 – Капсула и пили *N. meningitidis*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** Менингококки являются строгими аэробами и капнофилами. Они очень требовательны к условиям культивирования и хорошо растут в присутствии 5-7% углекислого газа. На простых питательных средах менингококки не растут, для их культивирования используют среды, содержащие кровь, сыворотку крови, яичный желток, аминокислоты, витамины. Оптимальное значение pH среды составляет 7,2-7,4. Оптимальная температура выращивания 37°C. На плотной питательной среде менингококки образуют полупрозрачные

нежные колонии с ровными краями и блестящей поверхностью (S-форма) диаметром 0,5-1,5 мм. На кровяном агаре формируются полупрозрачные сероватые колонии маслянистой консистенции без зоны гемолиза (рисунок 2.11).

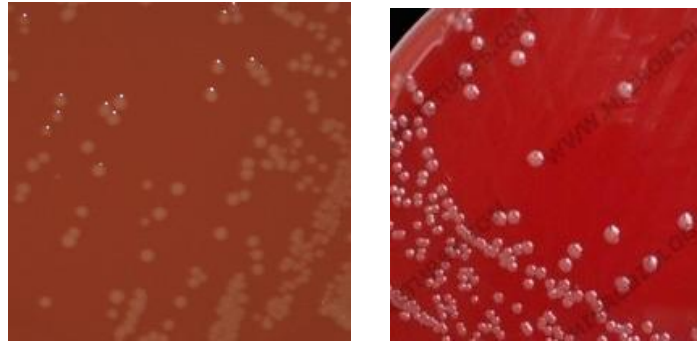


Рисунок 2.11 – Рост менингококков на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В столбике 0,1% полужидкого сывороточного агара менингококк вызывает интенсивное помутнение в верхней части столбика.

В сывороточном бульоне менингококки вызывают гомогенное помутнение ближе к поверхности среды.

**Биохимическая активность** менингококков низкая. Они разлагают глюкозу и мальтозу до кислоты без газа (рисунок 2.12), не разжижают желатин, не образуют индол и сероводород, не восстанавливают нитраты.

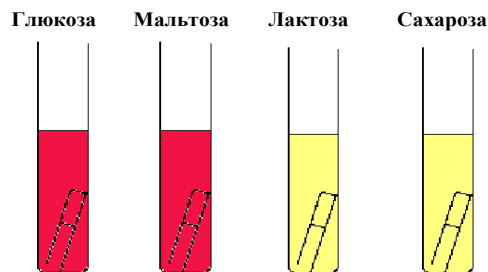


Рисунок 2.12 – Разложение углеводов менингококками.

**Антигенная структура.** По капсульным антигенам менингококки подразделяются на 13 серологических групп (А, В, С, D, 29-Е, Н, I, К, L, X, Y, Z, W-135). Наиболее часто от больных выделяют **серогруппы А, В и С**. Штаммы серогруппы А вызывают эпидемические вспышки, а штаммы серогрупп В и С выделяются при спорадических заболеваниях.

В клеточной мембране менингококков содержится нейссерияльный **видоспецифический поверхностный белок А (NspA)** и **поверхностные типоспецифические белки 5 классов** (класс 1 - PоrА, классы 2 и 3 - PоrВ, класс 4 - Rmp и класс 5 – Ора и Орс). Часть этих белков выполняет функцию поринов (PоrА и PоrВ). Белки наружной мембраны класса 5 (Ора и Орс) называются белками мутности, так как штаммы, имеющие эти белки, формируют мутные колонии.

На основании типоспецифических белков вид *N. meningitidis* делят на **серотипы** (по PоrВ-белку выделяют 20 серотипов). В свою очередь, по составу

белков класса 1 (по PorA-белку) серотипы подразделяются на 10 **субтипов**. Одни и те же типовые и субтиповые белки встречаются у менингококков разных серогрупп. Таким образом, антигенный состав каждого штамма включает капсульный групповой полисахарид, типовой белок и субтиповой белок. В практической работе изучение антигенной структуры штаммов ограничивается определением серогруппы, реже – серотипа и субтипа. Типовые и субтиповые антигены используются в качестве эпидемических маркеров штаммов менингококков.

Липоолигосахариды клеточной стенки *N. meningitidis* в антигенном отношении неоднородны, в результате чего менингококки подразделяются на **иммунотипы** (L1, L2, L3 и т. д.).

**К факторам патогенности** менингококков относятся пили, поверхностные белки (белки наружной мембраны), “железо-обеспечивающие” белковые системы, полисахаридная капсула, ЛОС-эндотоксин, гиалуронидаза, нейраминидаза, протеаза и другие факторы (рисунок 2.13).

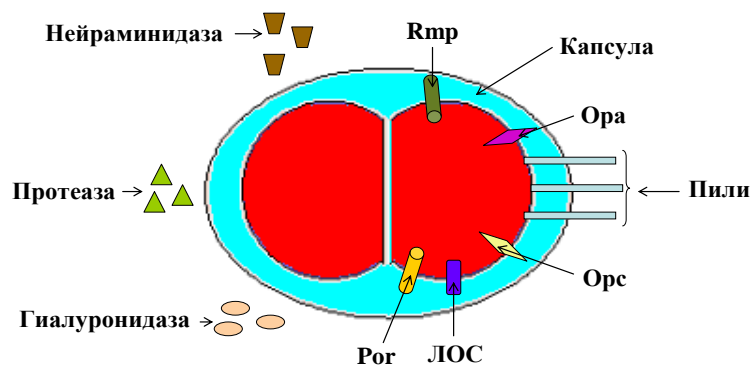


Рисунок 2.13 – Основные факторы патогенности менингококков.

**Пили** обеспечивают адгезию возбудителя к слизистой оболочке носоглотки. За адгезию и поверхностную колонизацию носоглоточного эпителия отвечает концевой ассоциированный с пилиями белок PilC. Рецептором для этого белка служит CD46, имеющийся на эпителиальных клетках и специфичный только для человека. Белок PilC “оповещает” менингококк об адгезии. В эпителиальной клетке под местом прикрепления PilC происходит перестройка цитоскелета. После получения сигнала от белка PilC о прикреплении бактерии к эпителиальной клетке менингококки убирают пили путем ретракции (сокращения) и утрачивают капсулу. В результате этого происходит непосредственное соприкосновение менингококка своей наружной мембраной с поверхностной мембраной эпителиальной клетки.

**Белки наружной мембраны** PorA и PorB (порины), Rmp M (reduction modifiable protein), Ора (А, В, D), Орс выполняют у менингококков функции адгезии и инвазии. При этом белки мутности Ора и Орс участвуют в адгезии микробных клеток, а белок Орс является еще и инвазином, отвечающим за проникновение менингококков в эпителиальные клетки. Белки Ора А и D способствуют адгезии бактерий к эпителию и эндотелию путем взаимодействия с рецептором CD66. Белки наружной мембраны PorA и PorB встраиваются в мембрану эпителиальных клеток и образуют ионные каналы. Белок PorB участвует в реорганизации актина эпителиальных клеток, что способствует инвазии микробной клетки.

**Капсула** полисахаридной природы защищает от фагоцитоза менингококки, находящиеся в кровяном русле.

**“Железо-обеспечивающие”** белковые системы располагаются в наружной мембране менингококков и объединяют белки, конкурирующие за ионы железа:

- лактоферрин-связывающие белки (LbpA и LbpB);
- трансферрин-связывающие белки (TbpA и TbpB);
- гемоглобин-связывающие белки (HbmR и HruA/B).

Эти белки участвуют в метаболизме железа. У разных штаммов менингококков они различаются по молекулярной массе и свойствам.

**Эндотоксин** (ЛОС) оказывает выраженное пирогенное и сенсibiliзирующее действие, участвует в развитии сосудистых поражений и кровоизлияний во внутренние органы. Результатом этого действия является экзантема в виде характерной геморрагической сыпи. Выраженная токсинемия возникает при размножении менингококков в кровяном русле.

**Гиалуронидаза, нейраминидаза и фибринолизин** способствуют распространению возбудителя по организму.

**Протеаза** (IgA-протеаза) расщепляет секреторный иммуноглобулин А в шарнирной области, защищая бактерии от действия антител.

**Резистентность.** Менингококки слабоустойчивы во внешней среде. Вне организма человека и при низкой температуре они быстро погибают. Поэтому при доставке материала в лабораторию используют не только специальную транспортную среду, но и транспортировочные контейнеры, обеспечивающие заданный температурный режим. При температуре 10°C менингококки погибают через 2 часа, при температуре 55°C - через 5 минут, при 80°C – через 1-2 минуты, при кипячении - моментально. Ультрафиолетовые лучи оказывают на них летальное действие. Менингококки чувствительны к действию большинства антисептиков и дезинфектантов. Под действием 1% раствора фенола, 0,5-1% раствора хлорамина, 70% этанола, 3-5% раствора карболовой кислоты они погибают через 1 минуту. Большинство антибиотиков оказывает на менингококки бактерицидное действие. Однако менингококк обладает естественной резистентностью к ванкомицину, полимиксину, ристомицину, линкомицину.

**Эпидемиология.** **Источником возбудителя** при менингококковой инфекции являются больные генерализованными формами (около 1% от общего числа инфицированных лиц), больные назофарингитом (10-20% от общего числа инфицированных лиц) и здоровые носители (80-90% от числа инфицированных). Бактерионосительство у детей 1-2 лет встречается редко, чаще всего носительство отмечается в возрасте 14-19 лет. Бактерионосительство продолжается в течение 2-3 недель. **Механизм передачи** - аэрогенный, **путь передачи** - воздушно-капельный. Менингококковый менингит регистрируется в осенне-зимний период.

Менингококковой инфекцией болеют в основном дети до 15 лет (70-80%) и лица юношеского возраста (10-15%). Возникновению вспышек способствует скученность детей в детских организованных коллективах, учащихся в школах, студентов. Уровень заболеваемости зависит от распространенности носительства менингококка: заболевания не регистрируются в коллективах, где носительство составляет 20% и выше. В этих случаях интенсивная циркуляция менингококка обеспечивает “естественную иммунизацию” людей.



В настоящее время менингококковая инфекция зарегистрирована более чем в 150 странах мира. В Африке имеется зона высокой заболеваемости менингококковой инфекцией (“менингитный пояс”). Эта зона располагается к югу от пустыни Сахара и распространяется от Эфиопии на востоке до Гамбии на западе. Она включает 15 стран и население более 260 млн. человек (рисунок 2.14).

Эпидемии менингококкового менингита происходят в этих странах через каждые 7-14 лет. В этой зоне регистрируются высокие показатели заболеваемости менингококковой инфекцией. Например, за эпидемический сезон 2009 г. в 14 странах было зарегистрировано 88199 случаев заболевания, из которых 5352 случая закончились летальным исходом.



Рисунок 2.14 - “Менингитный пояс” в Африке. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Заболеваемость менингококковой инфекцией в Российской Федерации за 1998-2002 годы составила 2,7 на 100 тыс. населения, в 2003 г. показатель заболеваемости составил 3,01 на 100 тыс. населения. За 2007-2009 гг. число генерализованных форм менингококковой инфекции по Российской Федерации снизилось с 2246 случаев (1,58 на 100 тыс. населения) до 1795 случаев (1,26 на 100 тыс. населения), а число летальных исходов – с 293 до 239 случаев.

**Патогенез** менингококковой инфекции включает несколько этапов (рисунок 2.15). На первом этапе менингококки, проникнув в организм человека с вдыхаемым воздухом, попадает на слизистую оболочку носоглотки (входные ворота инфекции). Нейраминидаза способствует продвижению возбудителя через слой вязкой слизи, а IgA-протеаза разрушает секреторный иммуноглобулин А на слизистой оболочке. Затем менингококк с помощью пилей связывается с рецепторами CD46 эпителиоцитов и колонизирует слизистую оболочку. На стадии колонизации возбудитель не образует капсулу. В этот период в месте входных ворот не возникает выраженных морфологических изменений, поэтому процесс называют **“здоровым” носителем**. В большинстве случаев колонизация длится от 1 недели до 1 месяца и прекращается благодаря действию защитных сил организма.

Большое значение в колонизации слизистых оболочек имеет способность менингококков формировать **биопленку**. Она состоит из экзополисахаридного волокнистого матрикса и содержит каналы, обеспечивающие питанием находящиеся в матриксе бактерии. Менингококковая биопленка образуется на поверхности эпителия в течение 12 часов после проникновения возбудителя в организм. Находящиеся в биопленке клетки лишены капсул. Друг с другом бактерии

в биопленке сцеплены с помощью пилей. Биопленка защищает микробные клетки от антител, лекарственных препаратов и других неблагоприятных факторов окружающей среды. От поверхностных слоев биопленки периодически могут “отрываться” отдельные бактерии (так называемые планктонные клетки). Такие клетки могут образовывать капсулу. Следовательно, носительство обусловлено как капсульными, так и бескапсульными клетками, временно прекратившими синтез капсульной субстанции.

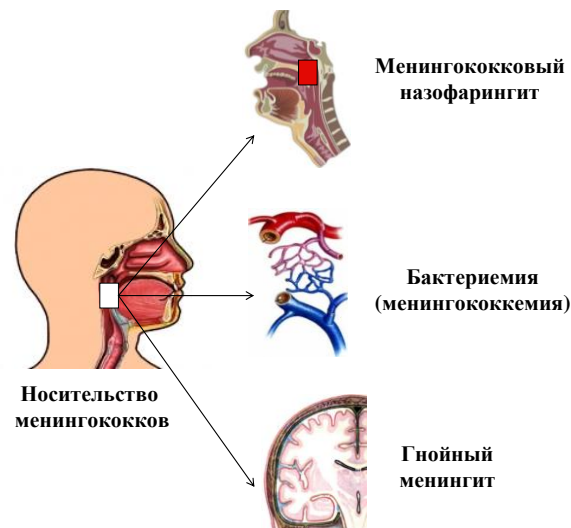


Рисунок 2.15 – Схема патогенеза менингококковой инфекции.

Примерно у 30-50% бактерионосителей инфекционный процесс переходит в следующий этап – **инвазия** микробов в подслизистый слой. В этом случае бескапсульные менингококки “убирают” пили и клеточной стенкой соприкасаются с поверхностной мембраной эпителиальной клетки. Затем с помощью поверхностных белков Ора и Орс менингококк прикрепляется к мембране эпителиальных клеток и внедряется в них путем инвагинации (фагоцитоз путем сигналинга). Те менингококки, которые сохранили капсулу, проникают в эпителиальные клетки путем “непрофессионального” фагоцитоза (поглощение бактерии эпителиальной клеткой по механизму эндоцитоза). Проникшие в эпителиальные клетки менингококки стимулируют выброс цитокинов, которые вызывают воспаление слизистой оболочки. Поглощенные менингококки транспортируются сквозь эпителиальную клетку в субэпителиальный слой (транзитоз). В месте входных ворот (в носоглотке) развивается катаральное воспаление. При этом в кровь проникает эндотоксин, обуславливая интоксикацию организма, которая длится в течение 3-7 дней. Это состояние называется **острым менингококковым назофарингитом**.

У незначительной части инфицированных лиц менингококк, проникнув в кровь, вызывает **бактериемию**. Генерализованную инфекцию обуславливают капсульные клетки, имеющие пили. В кровяном русле часть клеток погибает, а другие начинают усиленно размножаться. В результате гибели клеток в кровоток поступает эндотоксин (**эндотоксинемия**), а быстрое размножение возбудителя приводит к бактериемии. При бактериемии происходит гематогенная диссеминация менингококков в различные органы и системы. В местах оседания возбудителя

формируются очаги гнойного воспаления. Развивается сепсис, известный как **менингококцемия (менингококкемия)**. Эндотоксин возбудителя угнетает фагоцитарную активность нейтрофилов, усиливает свертывание крови, активирует систему комплемента и образование цитокинов ( $\alpha$ -ФНО, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10). Эндотоксинемия приводит к незавершенности фагоцитоза, вазодилатации, тромбообразованию в мелких капиллярах, множественным кровоизлияниям в слизистых оболочках, коже и внутренних органах. При резком нарушении свертывающей системы крови вначале увеличивается содержание фибриногена, затем происходит выпадение фибрина в мелких сосудах с образованием тромбов. Снижение содержания фибриногена в крови является причиной кровотечений и кровоизлияний в различные органы и ткани.

Попав в головной мозг, менингококки с помощью пилей прикрепляются к эндотелию сосудов мягкой и паутинной оболочек, а с помощью белка Орс проходят сквозь эндотелий. Так происходит преодоление менингококком гематоэнцефалического барьера. Проникновение возбудителя из крови в ЦНС вызывает воспаление мозговых оболочек. Воспаление носит вначале серозный, а затем - гнойный характер (**гнойный менингит**). В субарахноидальном пространстве менингококки размножаются. Воспалительный процесс вызывает чрезмерное образование спинномозговой жидкости, приводящее к повышению внутричерепного давления и отеку головного мозга.

В патогенезе **генерализованной менингококковой инфекции** кроме бактериемии и интоксикации большую роль играет развитие гиперчувствительности замедленного типа, что выражается накоплением циркулирующих иммунных комплексов, которые обуславливают клиническую картину миокардита, перикардита, артрита.

Необходимо отметить, что для клинических штаммов (штаммов, вызывающих заболевание) характерно наличие капсулы, наличие белков-поринов в составе внешней мембраны и отсутствие пилей, тогда как для штаммов, выделенных от бактерионосителей, характерно отсутствие капсулы, низкая экспрессия белков-поринов и наличие пилей.

**Клиника.** Менингококковая инфекция клинически протекает в виде первично-локализованных форм (менингококконосительство, острый назофарингит) или в виде генерализованных форм (менингококцемия или менингококкемия, менингококковый сепсис, менингококковый менингит, менингоэнцефалит). При генерализованных формах возможно развитие эндокардита, артрита, полиартрита, иридоциклита, пневмонии.

**Менингококковый назофарингит** проявляется повышением температуры тела до  $38^{\circ}\text{C}$ , насморком, болью в горле, головной болью. При этом кожа остается бледной и сухой.

При **менингококцемии** температура повышается до  $39-40^{\circ}\text{C}$ , наблюдаются озноб, боли в мышцах и суставах. Характерным симптомом менингококцемии является сыпь, которая начинается с образования розовых пятен размером 2-10 мм. Чаще всего эти пятна локализуются на ягодицах, туловище, ногах (рисунок 2.16).



Рисунок 2.16 - Геморрагическая сыпь при менингококцемии. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В последующем розовые пятна превращаются в багровые пятна неправильной (звездчатой) формы, не выступающие над поверхностью кожи. Выражен полиморфизм сыпи – от едва заметных петехий диаметром 2-3 мм до крупных кровоизлияний диаметром 2-5 см (рисунок 2.17).



Рисунок 2.17 - Элементы сыпи при менингококцемии. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Отличие геморрагической сыпи при менингококковой инфекции от других высыпаний заключается в том, что она не изменяет свою окраску при надавливании. Для проверки этого признака проводится тест с помощью стакана: элементы сыпи не бледнеют и остаются заметными при прижатии боковой поверхности стакана к коже (рисунок 2.18).



Рисунок 2.18 - Тест с помощью стакана. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Эпидемический цереброспинальный менингит** начинается после 5-7-дневного инкубационного периода. В начале болезни отмечаются сильная головная боль, рвота, высокая лихорадка. Затем развивается оболочечный симптомокомплекс (менингеальный синдром), состоящий из общемозговых и менингеальных симптомов. Общемозговыми симптомами являются головная боль распирающего характера, обильная рвота, судороги, возбуждение. К менингеальным симптомам относятся симптом контрактуры коленных суставов В.М. Кернига, оболочечный скуловой симптом В.М. Бехтерева, 4 симптома Ю. Брудзинского и др. (рисунок 2.19).

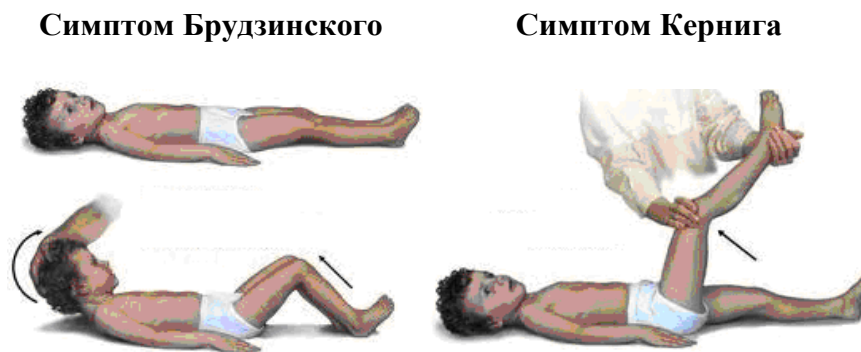


Рисунок 2.19 - Менингеальные симптомы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Больной находится в характерной позе: затылочные мышцы напряжены, голова запрокинута назад, спина вогнута, живот втянут, ноги согнуты и приведены к животу (рисунок 2.20).



Рисунок 2.20 - Поза больного менингитом. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Длительность менингококкового менингита составляет в среднем 2-6 недель.

**Иммунитет.** Менингококковая инфекция развивается у лиц, не имеющих антител к вирулентным штаммам. Дети первых 2-6 месяцев жизни болеют очень редко, так как они получают антитела от матери трансплацентарным путем. Во втором полугодии жизни материнские антитела утрачиваются, поэтому с 6 месяцев до 10 лет отмечается заболеваемость детей менингококковой инфекцией. Позднее в возрасте 10-15 лет дети становятся носителями вирулентных штаммов *N. meningitides*. В результате этого у детей вырабатываются собственные антитела к антигенам менингококка, защищающие от вирулентных штаммов возбудителя (так называемая естественная иммунизация). После генерализованных форм инфекции

вырабатывается стойкий гуморальный иммунитет, повторные случаи заболевания почти не наблюдаются.

Для **лабораторной диагностики** менингококковой инфекции в зависимости от формы заболевания отбирают носоглоточную слизь (от больных и носителей), ликвор, кровь, соскоб из элементов геморрагической сыпи на коже и др.

**Носоглоточную слизь** берут специальным изогнутым тампоном с задней стенки глотки (рисунок 2.21).



Рисунок 2.21 - Отбор носоглоточной слизи. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

После отбора слизь засевают на сывороточный агар непосредственно у постели больного или тампон помещают в транспортную среду для доставки в лабораторию.

При гнойном менингите основным исследуемым материалом является **ликвор**, который берут в день госпитализации больного в количестве 2-5 мл (рисунок 2.22).



Рисунок 2.22 - Отбор спинномозговой жидкости. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Спинномозговую жидкость (СМЖ), кровь собирают в стерильные пробирки и сразу же высевают на питательные среды или же немедленно направляют в лабораторию, соблюдая температурный режим доставки материала (в термоконтейнере при температуре 37<sup>0</sup>С). При гнойном менингите ликвор мутный (рисунок 2.23).



Рисунок 2.23 - Внешний вид ликвора при гнойном менингите. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При лабораторной диагностике менингококковой инфекции применяют бактериоскопический, бактериологический (культуральный) и серологический методы.

**Бактериоскопический метод.** Носоглоточная слизь микроскопически не исследуется, так как в ней присутствуют условно-патогенные нейссерии, морфологически сходные с менингококками.

Ликвор центрифугируют при 3500 об/мин в течение 5 минут, а затем из осадка готовят мазки, которые окрашивают по Граму в модификации Калины (использование спиртового раствора бриллиантовой зелени перед фиксированием препарата) или водно-спиртовым раствором метиленового синего. Микроскопируют с иммерсией под большим увеличением. Выявление в мазках грамотрицательных диплококков бобовидной формы, окруженных капсулой, позволяет предположить менингококковую природу заболевания. Менингококки располагаются свободно и в цитоплазме фагоцитов.

Для микроскопического исследования крови готовят препарат “толстой капли”, который высушивают и окрашивают водно-спиртовым раствором метиленового синего без предварительной фиксации. При микроскопии с иммерсией выявляются бактерии типичной морфологии, окруженные капсулой в виде бесцветного ореола.

Трупный материал исследуют только бактериоскопическим методом из-за низкой жизнеспособности менингококка.

**Бактериологическое (культуральное) исследование** проводят с целью выделения и идентификации чистой культуры менингококка. По-возможности посев материала производят у постели больного. Бактериологическому исследованию подвергают носоглоточную слизь, кровь и ликвор. Посев материала для получения чистой культуры производят на плотные или полужидкие питательные среды, содержащие сыворотку крови, кровь или асцитическую жидкость. Посевы инкубируют в течение 18-24 часов при 37°C в атмосфере углекислого газа (8-10%). Идентификацию выделенной культуры проводят на основании следующих свойств:

- продукция оксидазы;
- ферментация глюкозы и мальтозы до кислоты;
- принадлежность к серогруппам в реакции агглютинации.

**Серологические методы** используют для обнаружения бактериальных антигенов в исследуемых материалах или антител в сыворотке крови. Для обнаружения антигенов применяют реакцию латекс-агглютинации, встречный

иммуноэлектрофорез (ВИЭФ), реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) и другие методы.

Наиболее простым является **метод латекс-агглютинации**, позволяющий в течение 15 минут установить наличие или отсутствие специфических антигенов. Для латекс-агглютинации используют коммерческие наборы (рисунок 2.24).



Рисунок 2.24 – Набор для латекс-агглютинации менингококков. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**ВИЭФ** является экспресс-методом, так как позволяет с помощью специфических антисывороток выявлять полисахаридный антиген возбудителя в СМЖ и в сыворотке крови больного.

**РНГА** является дополнительным методом лабораторного подтверждения генерализованной менингококковой инфекции и позволяет выявлять специфические антитела. Для получения достоверного результата исследуют парные сыворотки крови, полученные в динамике (в первые сутки заболевания и на 10-12 день).

У больных менингококковой инфекцией антитела обнаруживаются с конца первой недели болезни, достигая максимума на 2-3 неделе, а затем их титр снижается. В разгар менингококковой инфекции повышается уровень IgM, особенно при генерализованных формах; в период реконвалесценции выявляются IgG.

**Лечение.** Для лечения менингококковой инфекции используют антибиотики. Наиболее эффективными являются бензилпенициллин, полусинтетические пенициллины (ампициллин, оксациллин), левомецетин, рифампицин. Антимикробную терапию сочетают с симптоматическими средствами. Для предотвращения отека головного мозга назначают диуретики.

**Неспецифическая профилактика** менингококковой инфекции заключается в выполнении следующих мероприятий:

- изолирование и лечение больного;
- выявление и санирование бактерионосителей;
- разобщение детских коллективов;
- проведение текущей дезинфекции в очаге заболевания.

Выявление носителей в окружении больного проводится бактериологическим исследованием носоглоточной слизи. Выявленных носителей saniруют антибиотиками.

Для создания **пассивного иммунитета** детям дошкольного возраста вводят однократно **иммуноглобулин** в дозе 1,5-3,0 мл не позднее 7 дня после регистрации



в коллективе первого случая заболевания. Профилактический эффект иммуноглобулина сохраняется в течение нескольких месяцев после введения.

Для активной специфической профилактики менингококковой инфекции используют три типа вакцин. Вначале были разработаны полисахаридные вакцины, которые бывают двухвалентными (группы А и С), трехвалентными (группы А, С и W) и четырехвалентными (группы А, С, Y и W135). В России для вакцинации групп риска используют менингококковую вакцины против бактерий серогрупп А и С (бивакцина) или группы А (рисунок 2.25).



Рисунок 2.25 - Менингококковые вакцины. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Примером четырехвалентной полисахаридной вакцины является **Менцевакс ACWY**, в состав которой входят очищенные полисахариды менингококков серогрупп А, С, W135 и Y.

Второй тип препаратов представляли вакцины, применяемые против бактерий группы В. Полисахаридные вакцины против менингококков группы В разработать невозможно из-за антигенной мимикрии (сходства) антигенов микробов с полисахаридами нервных тканей человека. Поэтому вакцины против бактерий группы В содержат наружный белок мембраны и предназначены для профилактики заболеваний, вызванных конкретными штаммами. Такие вакцины использовались на Кубе, в Норвегии.

Однако полисахаридные менингококковые вакцины не обладают защитным эффектом у детей до 2 лет, а длительность вызываемого иммунитета у более старших лиц не превышает 3 лет.

Третий тип вакцин – это конъюгированные вакцины, в которых менингококковые капсульные полисахариды соединены с дифтерийным или столбнячным анатоксином. Конъюгированные вакцины вызывают Т-зависимый иммунный ответ с развитием иммунологической памяти. К числу конъюгированных менингококковых вакцин относятся вакцины Менактра и Менюгейт. **Менактра** – это четырехвалентная менингококковая вакцина, содержащая полисахариды серогрупп А, С, W135 и Y, индивидуально конъюгированные с очищенным дифтерийным анатоксином. Эта вакцина может использоваться с 9-месячного возраста. **Менюгейт** содержит олигосахарид менингококка серогруппы С, конъюгированный с белком CRM197 нетоксигенного модифицированного штамма дифтерийного микроба (рисунок 2.26).



Рисунок 2.26 – Конъюгированные менингококковые вакцины. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При возникновении хотя бы одного случая менингококковой инфекции в замкнутом коллективе возможно проведение экстренной профилактики с использованием антибиотиков (**экстренная антибиотикопрофилактика**).

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение, морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства менингококков.
2. Факторы патогенности менингококков и патогенез менингококковой инфекции.
3. Эпидемиология и клиника менингококковой инфекции.
4. Принципы профилактики и лечения менингококковой инфекции.

### Тренировочные тесты

1. Менингококки относятся к роду (один правильный ответ):
  - 1.1 *Clostridium*
  - 1.2 *Klebsiella*
  - 1.3 *Neisseria*
  - 1.4 *Staphylococcus*
  - 1.5 *Bacteroides*
  
2. Для менингококков характерно (один правильный ответ):
  - 2.1 грамположительная окраска
  - 2.2 грамотрицательная окраска
  - 2.3 спорообразование
  - 2.4 подвижность
  - 2.5 синтез экзотоксина
  
3. По морфологии менингококки являются (один правильный ответ):
  - 3.1 грамотрицательными палочками
  - 3.2 грамотрицательными кокками
  - 3.3 грампозитивными кокками
  - 3.4 грампозитивными спорообразующими палочками
  - 3.5 грампозитивными неспорообразующими палочками
  
4. Характерные признаки менингококков (один правильный ответ):

- 4.1 диплококки
  - 4.2 тетракокки
  - 4.3 подвижные
  - 4.4 положительная окраска по Граму
  - 4.5 расположение цепочкой
5. Питательные среды для культивирования менингококков (несколько правильных ответов):
- 5.1 агар Эндо
  - 5.2 среда Плоскирева
  - 5.3 кровяной агар
  - 5.4 сывороточный агар
  - 5.5 висмут-сульфитный агар
6. Для менингококков характерно (несколько правильных ответов):
- 6.1 облигатные аэробы
  - 6.2 облигатные анаэробы
  - 6.3 факультативные анаэробы
  - 6.4 капнофилы
  - 6.5 микроаэрофилы
7. Факторы патогенности *Neisseria meningitidis* (несколько правильных ответов):
- 7.1 тейхоевые и липотейхоевые кислоты
  - 7.2 экзотоксин
  - 7.3 полисахаридная капсула
  - 7.4 холероген
  - 7.5 пили
8. Факторами патогенности менингококков являются (несколько правильных ответов):
- 8.1 жгутики
  - 8.2 белки наружной мембраны
  - 8.3 экзотоксин
  - 8.4 протеаза
  - 8.5 нейраминидаза
9. Источником менингококковой инфекции являются (несколько правильных ответов):
- 9.1 инфицированные продукты питания
  - 9.2 предметы обихода
  - 9.3 больные люди
  - 9.4 бактерионосители
  - 9.5 медицинский инструментарий
10. Заболевания, вызываемые *Neisseria meningitidis* (несколько правильных ответов):
- 10.1 назофарингит

10.2 энтероколит

10.3 бактериальный менингит

10.4 гепатит

10.5 скарлатина

11. Источник инфекции при менингите (несколько правильных ответов):

11.1 вода

11.2 здоровые бактерионосители

11.3 больные генерализованными формами

11.4 больные назофарингитом

11.5 почва

12. Механизм передачи менингококковой инфекции (один правильный ответ):

12.1 фекально-оральный

12.2 аэрогенный

12.3 вертикальный

12.4 контактный

12.5 искусственный

13. Путь передачи менингококковой инфекции (один правильный ответ):

13.1 водный

13.2 пищевой

13.3 воздушно-капельный

13.4 трансплацентарный

13.5 инъекционный

14. Входные ворота менингококковой инфекции (один правильный ответ):

14.1 слизистая мочеполового тракта

14.2 слизистая оболочка носоглотки

14.3 кожные покровы

14.4 кишечник

14.5 раневая поверхность

15. К генерализованным формам менингококковой инфекции относятся (несколько правильных ответов):

15.1 бактерионосительство

15.2 менингококцемия

15.3 менингит

15.4 назофарингит

15.5 пневмония

16. К локализованным формам менингококковой инфекции относятся (несколько правильных ответов):

16.1 бактерионосительство

16.2 менингококцемия

16.3 менингит

16.4 назофарингит

16.5 пневмония

17. Материал для бактериоскопической диагностики менингококковой инфекции (несколько правильных ответов):

17.1 слизь из носоглотки

17.2 кровь

17.3 ликвор

17.4 испражнения

17.5 моча

18. При микробиологической диагностике менингококковой инфекции используют методы (несколько правильных ответов):

18.1 микроскопический

18.2 культуральный

18.3 серологический

18.4 аллергический

18.5 биологический

19. Основной метод микробиологической диагностики менингококкового назофарингита (один правильный ответ):

19.1 микроскопический

19.2 культуральный

19.3 серологический

19.4 аллергический

19.5 биологический

20. Для диагностики менингококковой инфекции используются методы (несколько правильных ответов):

20.1 культуральный

20.2 биологический

20.3 аллергический

20.4 латекс-агглютинации

20.5 метод микрокультур (метод Прайса)

21. Для выделения менингококков из ликвора используют (один правильный ответ):

21.1 среду Плоскирева

21.2 сывороточный агар

21.3 среду Эндо

21.4 среду Левина

21.5 висмут-сульфитный агар

22. При микроскопии мазков, приготовленных из ликвора больного менингитом, обнаруживаются (один правильный ответ):

22.1 грамотрицательные диплококки

22.2 грамположительные диплококки

22.3 грамотрицательные палочки в цепочке

22.4 грамположительные палочки

22.5 извитые бактерии

23. Препараты специфической профилактики менингококковой инфекции (один правильный ответ):

23.1 вакцины

23.2 антибиотики

23.3 пребиотики

23.4 пробиотики

23.5 диагностикумы

24. После генерализованных форм менингококковой инфекции формируется иммунитет (несколько правильных ответов):

24.1 длительный напряженный преимущественно гуморальный

24.2 длительный напряженный преимущественно клеточный

24.3 нестерильный

24.4 антибактериальный

24.5 антитоксический

Правильные ответы: 1.3; 2.2; 3.2; 4.1; 5.3, 5.4; 6.1, 6.4; 7.3, 7.5; 8.2, 8.4, 8.5; 9.3, 9.4; 10.1, 10.3; 11.2, 11.3, 11.4; 12.2; 13.3; 14.2; 15.2, 15.3; 16.1, 16.4; 17.1, 17.2, 17.3; 18.1, 18.2, 18.3; 19.2; 20.1, 20.4; 21.2; 22.1; 23.1; 24.1, 24.4.

## 2.2. Гонококки

**Гонококковая инфекция** (гонорея) - это инфекционное заболевание человека, вызываемое *Neisseria gonorrhoeae*, которое передается половым путем и характеризуется гнойным воспалением слизистой оболочки мочеполовых путей (гонорея), конъюнктивы глаз (бленнорея) или других органов.

*N. gonorrhoeae* относится к типу *Proteobacteria*, классу *Betaproteobacteria*, порядку *Neisseriales*, семейству *Neisseriaceae*, роду *Neisseria*.

Возбудитель гонореи был открыт А. Нейссером в 1879 г. Этиологическую роль *N. gonorrhoeae* в развитии гонореи доказал в 1885 г. немецкий акушер-гинеколог Э. Бумм (рисунок 2.27).



Рисунок 2.27 - Эрнст Бумм (Ernst Bumm, 1858 – 1925 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Гонококки представляют собой неподвижные диплококки размером  $1,25 \div 1,0 \times 0,7 \div 0,8$  мкм. Они хорошо окрашиваются анилиновыми красителями (метиленовым синим, бриллиантовым зеленым и др.). По Граму окрашиваются в розовый цвет, то есть являются грамотрицательными (рисунок 2.28).

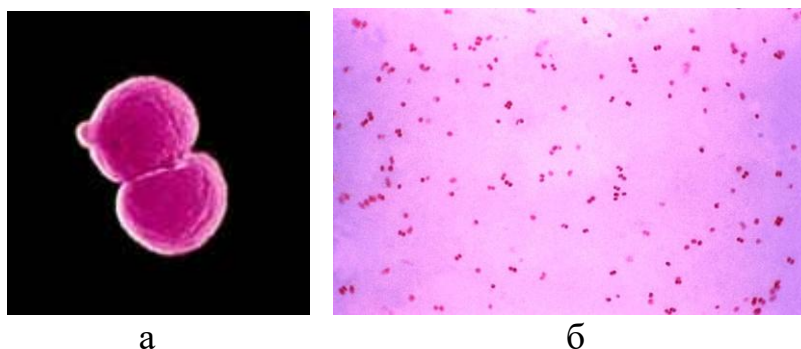


Рисунок 2.28 - Гонококки, форма клеток, компьютерная визуализация (а) и окраска по Граму (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Под действием пенициллина гонококки способны образовывать L-формы: округлые образования, превышающие в несколько раз в диаметре исходные клетки (рисунок 2.29).

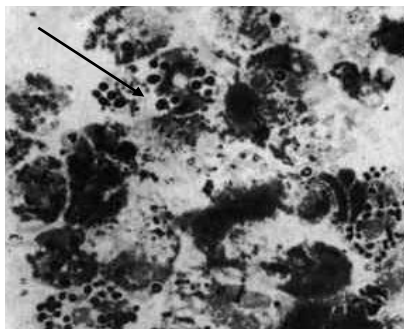


Рисунок 2.29 - L-формы гонококков (указаны стрелкой). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Гонококки образуют нежную капсулу (рисунок 2.30) и пили, спор не образуют.

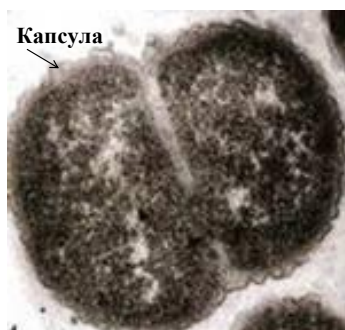


Рисунок 2.30 - Капсула у гонококков. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** Гонококки являются аэробными микроорганизмами. Оптимальная температура культивирования  $37^{\circ}\text{C}$ , оптимальное значение pH - 7,2-7,4. Гонококки требовательны к питательным средам. Для их выращивания используют среды, содержащие кровь, сыворотку крови или асцитическую жидкость. На плотных питательных средах через 24 часа инкубирования при оптимальной температуре гонококки образуют слегка мутные или прозрачные бесцветные колонии круглой формы с ровными краями диаметром 1-3 мм. На средах с кровью гемолиза не вызывают (рисунок 2.31).



Рисунок 2.31 - Колонии гонококка на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



В жидких питательных средах гонококки образуют поверхностную пленку, через несколько дней оседающую на дно пробирки.

**Биохимическая активность** гонококков крайне низкая. Они разлагают только глюкозу с образованием кислоты без газа (рисунок 2.32), продуцируют каталазу и цитохромоксидазу.

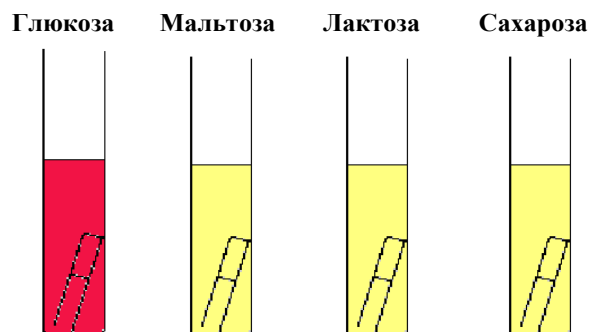


Рисунок 2.32 – Ферментация углеводов гонококками.

Протеолитическая активность отсутствует, аммиака, сероводорода и индола не образуют.

**Резистентность.** Гонококки неустойчивы во внешней среде. При температуре 56<sup>0</sup>С они погибают в течение 5 минут, при 100<sup>0</sup>С - мгновенно. Гонококки чувствительны к действию многих антисептиков и дезинфектантов. Они обладают высокой чувствительностью ко многим антибиотикам, в том числе к пенициллинам. Однако в последнее время получили распространение штаммы, устойчивые к антибиотикам. В частности, штаммы, устойчивые к пенициллину, продуцируют β-лактамазы, синтез которых обусловлен наличием R-плазмид.

**Антигенная структура.** Гонококки содержат следующие антигены:

- соматический антиген;
- капсульный антиген;
- липоолигосахарид (ЛОС);
- антигены пилей;
- белки наружной мембраны.

Среди антигенов гонококков основная роль принадлежит антигенам пилей и белкам наружной мембраны. Пили состоят из белковых субъединиц, остатков сахаров и фосфорной кислоты. Последовательность соединения белковых субъединиц пилей может меняться, в результате чего изменяются антигенные свойства клеток. Наружная мембрана содержит протеины разных классов. Эти протеины проявляют сильные иммуногенные свойства. По составу протеинов наружной мембраны выделяют несколько **серотипов** гонококков. Антитела к протеинам клеточной стенки гонококков в присутствии комплемента проявляют бактерицидные свойства.

**Факторы патогенности гонококков** (рисунок 2.33):

- капсула;
- пили (фимбрии);
- липоолигосахарид (ЛОС);

- поверхностные белки наружной мембраны;
- трансферинные рецепторы TbrA и TbrB;
- IgA-протеаза;
- гиалуронидаза;
- рибосомальный белок.

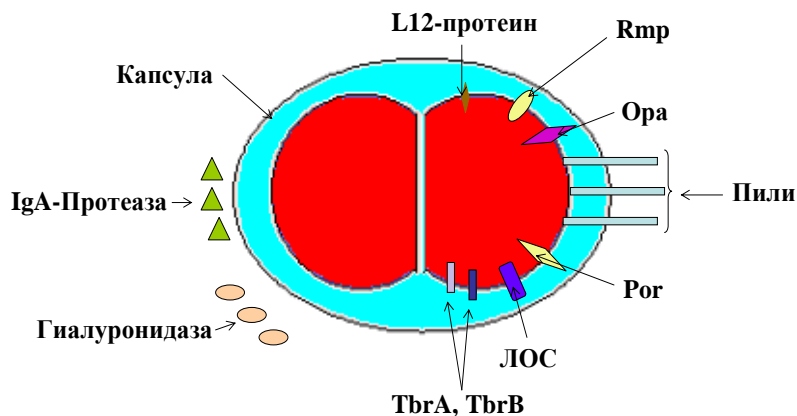


Рисунок 2.33 – Основные факторы патогенности гонококков.

Все свежевыведенные культуры имеют **капсулу**, которая состоит из полифосфатов. Капсула препятствует фагоцитозу и маскирует антигены клеточной стенки гонококков.

**Пили** (рисунок 2.34) состоят из белка пилина и обеспечивают адгезию гонококка к эпителиальным клеткам. Изменение структуры пилина приводит к изменению антигенного состава фимбрий. Вариабельность строения пилей способствует выживаемости гонококков на эпителиальных клетках при смене хозяина и воздействии антител. Клетки, не имеющие пилей, заболевания не вызывают. Утрата гонококками пилей называется сменой фаз роста. **Смена фаз роста** позволяет гонококкам отрываться от эпителиальных клеток и разноситься по организму.



Рисунок 2.34 - Капсула и пили гонококков, компьютерная визуализация.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

**Липоолигосахарид (ЛОС)** гонококков отличается от липополисахаридов других грамотрицательных бактерий тем, что имеет ядро и не имеет боковой цепи

(О-антигена). Липоолигосахарид способен изменять антигенный состав, что позволяет гонококкам уклоняться от воздействия иммунной системы. Липоолигосахарид обуславливает продукцию медиаторов воспаления – цитокинов. Схожесть гонококкового липоолигосахарид с гликофинголипидом мембран клеток организма человека позволяет микробу избегать иммунного распознавания.

**Поверхностный белок наружной мембраны I класса (белок PI, Por-белок)** является порином. Он встраивается в наружную мембрану эпителиальных клеток и формирует в ней каналы, что способствует проникновению возбудителя в клетки. Внутри эпителиальных клеток этот белок препятствует слиянию лизосомы с фагосомой, в результате чего гонококки длительное время остаются жизнеспособными внутри клеток.

**Поверхностный белок II класса (Ора-протеин, протеин мутности, инвазин)** способствует плотному прилеганию гонококков к эпителиальным клеткам и их инвазии внутрь клеток. Наличие этого белка обуславливает мутность колоний гонококков (например, при исследовании материала из уретры мужчин). При отсутствии этого белка колонии гонококков становятся прозрачными (в частности, при исследовании крови, синовиальной жидкости).

**Поверхностный белок III класса (Rmp-белок)** осуществляет защиту гонококка от антител класса IgM.

**Трансфериновые рецепторы TbrA и TbrB** взаимодействуют с трансферином человека и извлекают из него железо (“железо-добывающие” белки).

**IgA-протеаза** расщепляет секреторный иммуноглобулин А, в результате чего инактивируются антитела слизистых оболочек, препятствующие адгезии бактерий к рецепторам эпителиальных клеток.

**Гиалуронидаза** способствует распространению гонококков в межклеточном пространстве.

**Рибосомальный белок (L12-протеин)** отвечает за возникновение восходящей гонорей у женщин.

**Эпидемиология.** Гонорея относится к наиболее распространенным инфекционным заболеваниям, передаваемым половым путем. В мире ежегодно более 60 млн. человек заболевают этой инфекцией. В частности, в Российской Федерации в 2005 г. было зарегистрировано 99911 случаев гонококковой инфекции, в 2008 г. – 80100 случаев.

**Источником инфекции** при гонорее является больной человек, особенно с хронической бессимптомно протекающей формой болезни. **Механизм передачи возбудителя** - контактный, **путь передачи** - половой. Восприимчивость к гонококковой инфекции очень высокая.

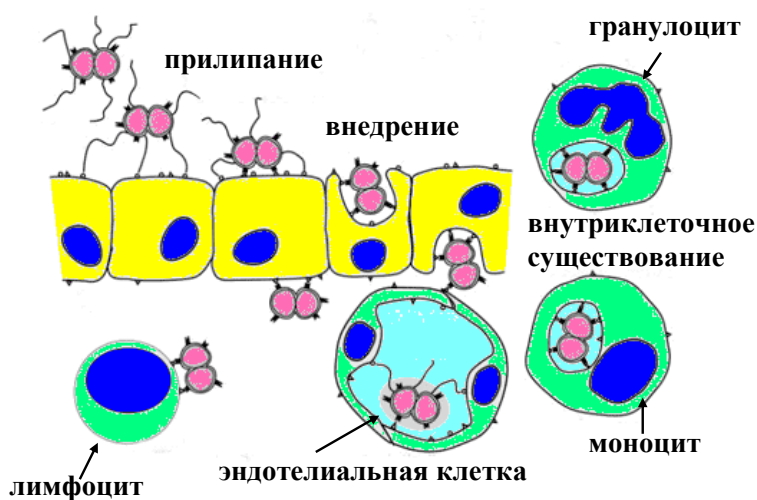
**Патогенез.** Входными воротами для возбудителя гонококковой инфекции служит цилиндрический эпителий уретры, шейки матки, конъюнктивы, глотки и дистального отдела прямой кишки. На слизистой оболочке гонококки с помощью пилей закрепляются на поверхности эпителиальных клеток. В месте входных ворот посредством IgA-протеазы и поверхностных белков возбудитель подавляет защитные факторы организма и размножается, колонизируя эпителий (рисунок 2.35).



Рисунок 2.35 - Колонизация гонококками слизистой оболочки (компьютерная визуализация). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Под действием ЛОС происходит синтез цитокинов, вызывающих развитие воспалительной реакции. В результате этого наступает гибель и слущивание эпителиальных клеток, нарушается процесс самоочищения слизистых оболочек. Затем Pore-белок гонококка встраивается в мембрану эпителиальных клеток, и с помощью Opa-белка наружной мембраны возбудитель проникает путем эндоцитоза (“непрофессионального” фагоцитоза) внутрь эпителиальной клетки с образованием фагосомы. Внутри клетки фагосома сливается, формируя вакуоли, в которых гонококки размножаются. В дальнейшем вакуоли сливаются с базальной мембраной эпителиальных клеток, а гонококки проникают в субэпителиальную ткань или в кровотоки. В субэпителиальной ткани часть гонококков, сохранивших пили, прикрепляется к клеткам и перемещается на соседние участки. Другая часть гонококков поглощается фагоцитами и инфицирует ткани. Гематогенное диссеминирование инфекции отмечают у 1% заболевших. Таким образом, в развитии гонококковой инфекции возможны локальные или системные проявления (рисунок 2.36).

### Локальная инфекция



### Системная инфекция

Рисунок 2.36 - Патогенез гонококковой инфекции. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Генерализованная гонококковая инфекция возникает редко. При генерализованной форме поражаются суставы, кожа, сердце, мозговые оболочки.

**Клиника.** Инкубационный период составляет от 12 часов до 7 суток (в среднем 3 суток). У женщин и у 10% мужчин гонококковая инфекция протекает бессимптомно. Гонококковая инфекция проявляется в виде гнойного воспаления слизистой мочеполовых путей (гонорея), конъюнктивы глаз (бленнорея) и других органов. **Гонококковый уретрит** (воспаление слизистой мочеиспускательного канала) – самое частое проявление гонореи у мужчин. При этом отмечается острое начало заболевания с обильными гнойными выделениями из уретры (рисунок 2.37), резью и болью при мочеиспускании.



Рисунок 2.37 - Гонококковый уретрит. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

У женщин гонорея проявляется **гонококковым цервицитом** - поражением шейки матки и эндоцервикального канала (рисунок 2.38).

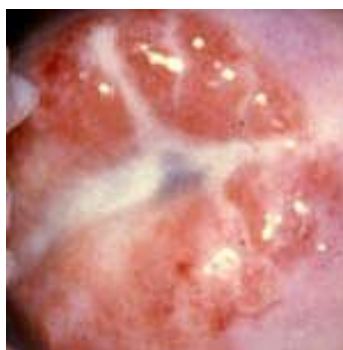


Рисунок 2.38 - Гонококковый цервицит. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Практически всегда гонококковый цервицит протекает бессимптомно. В редких случаях отмечаются жалобы на появление скудных выделений из влагалища и боль в нижней части живота. Бессимптомное течение приводит к раннему развитию осложнений гонококковой инфекции.

При **гонококковом проктите** (рисунок 2.39) наиболее часто отмечаются зуд, жжение в заднем проходе, незначительные гнойные выделения, болезненные позывы к дефекации.

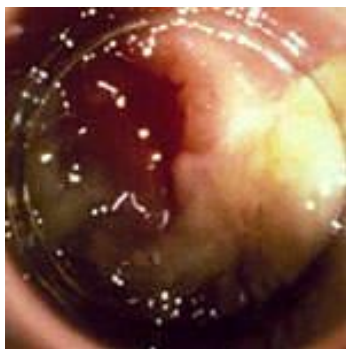


Рисунок 2.39 - Гонококковый проктит. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Гонококковый фарингит** (рисунок 2.40) возникает вследствие орогенитальных половых контактов. Клинически гонококковый фарингит зачастую протекает бессимптомно и обнаруживается лишь при бактериологическом исследовании. Изредка пациентов могут беспокоить сухость и першение в глотке, боль, усиливающаяся при глотании.

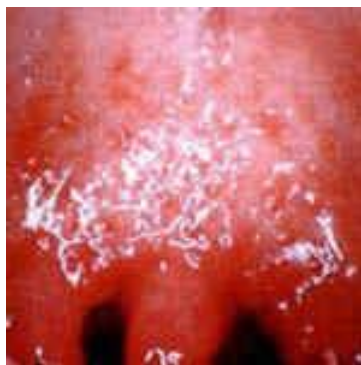


Рисунок 2.40 - Гонококковый фарингит. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Гонококковый конъюнктивит** (рисунок 2.41) сопровождается резкой болезненностью, слезотечением, припухлостью век, светобоязнью, появлением обильного гнойного отделяемого. Чаще поражается один глаз.

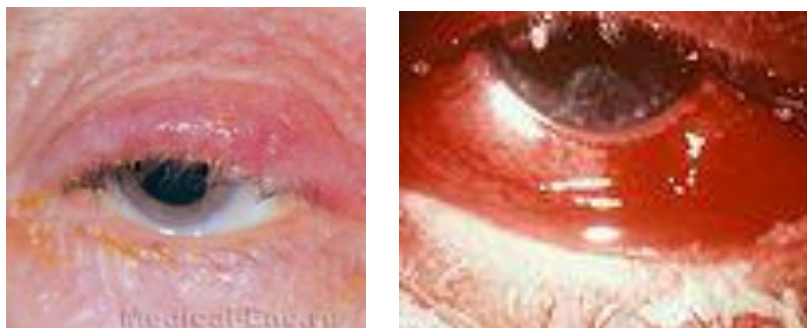


Рисунок 2.41 - Гонококковый конъюнктивит. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Гонококковая инфекция имеет тенденцию к переходу в хроническую бессимптомную форму. При отсутствии лечения гонорея часто является одной из основных причин бесплодия как у мужчин, так и у женщин.

**Диссеминированная гонококковая инфекция** возникает при гонококковой бактериемии. Диссеминация сопровождается петехиальными или пустулезными высыпаниями на коже, артралгией, артритом, эндокардитом, менингитом.

Особое значение имеет гонорея новорожденных. До 50% новорожденных заражается гонореей от больной матери при прохождении через родовые пути. В этом случае развивается **офтальмия новорожденных** (бленнорея, гонобленнорея, неонатальная гонококковая инфекция). Офтальмия новорожденных обнаруживается у ребенка на 2-3 день после рождения. Вначале она проявляется водянистыми желтоватыми выделениями из глаз. Через сутки отмечается сильная отечность и покраснение век, а выделения становятся мутными. Еще через 4-5 дней краснота век уменьшается, выделения приобретают гнойный характер (рисунок 2.42).



Рисунок 2.42 - Офтальмия новорожденных. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В этот период в процесс может вовлекаться роговая оболочка с образованием язв, на месте которых формируются рубцы, что может привести к слепоте.

**Иммунитет** после перенесенной гонореи практически отсутствует, поэтому могут регистрироваться повторные заболевания.

**Лабораторная диагностика.** В зависимости от локализации патологического процесса материалом для исследования служит гнойное отделяемое из уретры, влагалища, шейки матки, прямой кишки, глотки, с конъюнктивы глаза, а также сыворотка крови. При диагностике гонококковой инфекции применяют бактериоскопический, бактериологический (культуральный), серологические и молекулярно-биологические методы.

**Бактериоскопическое исследование** является наиболее распространенным методом диагностики гонореи, особенно у мужчин. При этом готовят два мазка, один из них окрашивают метиленовым синим, а другой - по Граму. При окраске метиленовым синим на фоне лейкоцитов и эпителиальных клеток, цитоплазма которых окрашена в бледно-голубой цвет, выделяются кокки интенсивно синего цвета. В мазке, окрашенном по Граму, на розовом фоне протоплазмы лейкоцитов выделяются гонококки ярко-розового цвета. В окрашенных препаратах наблюдается незавершенный фагоцитоз (рисунок 2.43).

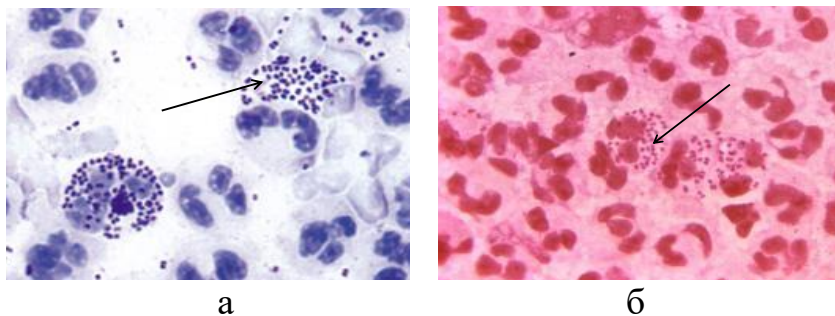


Рисунок 2.43 - Гонококки в гнойном отделяемом (незавершенный фагоцитоз), окраска метиленовым синим (а) и по Граму (б). Стрелками указаны микробные клетки. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для дифференцировки гонококков от других грамотрицательных бактерий применяют реакцию иммунофлюоресценции (**РИФ**), при которой мазки обрабатывают противогонококковыми антителами, мечеными флюоресцентным красителем (рисунок 2.44).

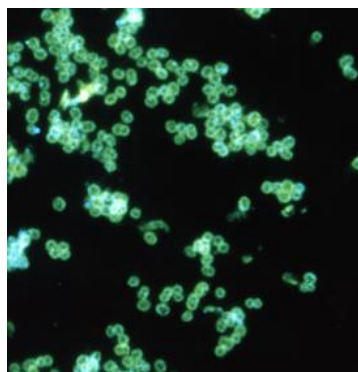


Рисунок 2.44 – Иммунофлюоресцентная микроскопия гонококков. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Иммунофлюоресцентный метод позволяет выявлять гонококки при наличии в исследуемом материале ассоциаций микроорганизмов.

**Бактериологическое (культуральное) исследование** проводят при отрицательных результатах бактериоскопического исследования, при выявлении подозрительных на гонококк бактерий и для установления излеченности гонореи. Этот метод позволяет выявлять гонококки в 1,5-4 раза чаще, чем микроскопическое исследование. Посев материала производят сразу после отбора на сывороточный или асцитический агар. При невозможности посева после сбора материала используют транспортные среды (среда Стюара, транспортная среда в модификации ЦКВИ). Добавление к среде ристомицина и полимиксина М (10 ЕД/мл) значительно повышает высеваемость гонококков. Посевы инкубируют в атмосфере углекислого газа (10%).

**Серологический метод** используют при хронической гонорее, а также в случае отсутствия у больного выделений. В качестве серологического метода используют **РСК** (реакцию Борде-Жангу). Реакция становится положительной с 3-4 недели заболевания. При острой форме болезни она положительна у 35% больных, при хронической форме - у 65% (слабоположительная у 100%). В качестве антигена



для РСК применяют гоновакцину или антиген из убитых гонококков. Однако реакция Борде-Жангу имеет вспомогательное значение, она непригодна для доказательства гонококковой инфекции и установления излеченности. Поэтому в последние годы эта реакция используется редко.

**Иммуноферментный анализ** позволяет определять антигены гонококка. Он является дополнительным диагностическим методом для обнаружения возбудителя.

В настоящее время для диагностики гонореи рекомендована полимеразная цепная реакция (ПЦР). Для забора материала используются эндоцервикальные, влагалищные тампоны и мужские уретральные тампоны. Методом ПЦР можно исследовать и мочу. Этот метод не рекомендован для исследования материала из ротоглотки и прямой кишки в связи с возможностью перекрестных реакций с другими нейссериями. С помощью ПЦР можно одновременно определять наличие в исследуемых образцах гонококков и хламидий.

Из числа молекулярно-биологических методов используется также ЛЦР (лигазная цепная реакция). Она также позволяет одновременно выявлять в пробах наличие гонококков и хламидий.

**Лечение** гонококковой инфекции зависит от формы заболевания. При острой и подострой гонорее применяют антибиотики группы пенициллина. Однако в последние годы практически все штаммы гонококков являются устойчивыми к пенициллинам. Кроме того, все чаще встречаются штаммы, обладающие устойчивостью к фторхинолонам (QRNG). Поэтому для лечения гонореи используют другие антибиотики. Эффективной считается комбинация азитромицина с цефтриаксоном.

Через 5-7 дней антибиотикотерапии воспалительные явления уменьшаются, выделения становятся скудными, гонококки в них не обнаруживаются. По истечении 7-10 дней определяют излеченность заболевания.

При хронической гонорее применяют специфическую (гоновакцина) или неспецифическую (пирогенал) иммунотерапию и местное воздействие на пораженный орган. После такого воздействия в стационарных условиях проводят курс терапии повышенными дозами антибиотиков.

Для контроля излеченности ранее использовали провокации химическим, механическим, алиментарным или термическим методами. После провокации через 24, 48 и 72 часа исследовали выделения. При отсутствии после провокации гонококков в мазках и посевах больных оставляли для диспансерного наблюдения. Через месяц повторно проводили провокацию и уретроскопию. Если в течение этого срока возбудитель и клинические проявления болезни отсутствовали, то таких лиц снимали с диспансерного учета. В настоящее время в России в соответствии со стандартом оказания медицинской помощи больным гонококковой инфекцией **методы провокации не используются**. Контроль излеченности проводят через 2 и 14 дней после окончания лечения по клинико-микробиологическим критериям.

**Профилактика** гонококковой инфекции включает следующие мероприятия:

- активное выявление и лечение больных и их половых партнеров с последующим контролем на излеченность;

- обязательное обследование декретированных групп населения (работники детских дошкольных учреждений и общепита) перед поступлением на работу и в последующем через каждые три месяца;

- обязательная первичная обработка новорожденного с внесением за веки тетрациклиновой или эритромициновой мази для профилактики бленнореи (рисунок 2.45).



Рисунок 2.45 – Первичная обработка новорожденных. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Основное внимание в профилактике гонококковой инфекции принадлежит санитарно-просветительной работе, направленной на пропаганду здорового образа жизни и исключение случайных половых связей.

Средства специфической профилактики гонореи отсутствуют.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение, морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства гонококков.
2. Факторы патогенности и патогенез гонореи.
3. Клинические проявления гонореи.
4. Принципы лечения гонореи.
5. Методы профилактики гонореи.

### Тренировочные тесты

1. Гонококки относятся к роду (один правильный ответ):
  - 1.1 *Staphylococcus*
  - 1.2 *Streptococcus*
  - 1.3 *Micrococcus*
  - 1.4 *Enterococcus*
  - 1.5 *Neisseria*
  
2. К роду *Neisseria* относятся следующие бактерии (несколько правильных ответов):
  - 2.1 клостридии
  - 2.2 гонококки
  - 2.3 менингококки
  - 2.4 йерсинии
  - 2.5 энтерококки

3. Возбудителем бленнореи является (один правильный ответ):

- 3.1 *Streptococcus pyogenes*
- 3.2 *Neisseria meningitidis*
- 3.3 *Neisseria gonorrhoeae*
- 3.4 *Staphylococcus aureus*
- 3.5 *Staphylococcus epidermidis*

4. Характерные признаки *Neisseria gonorrhoeae* (несколько правильных ответов):

- 4.1 подвижность
- 4.2 образование спор
- 4.3 способность размножаться в нейтрофилах
- 4.4 способность инфицировать плод при прохождении через родовые пути матери
- 4.5 грамположительная окраска

5. Какой фактор определяет способность гонококка инфицировать эпителий мочеиспускательного канала (один правильный ответ)?

- 5.1 ферменты, расщепляющие иммуноглобулины
- 5.2 капсульные полисахариды
- 5.3 способность размножаться внутри клеток
- 5.4 пили
- 5.5 цитотоксин

6. Факторы патогенности гонококка (несколько правильных ответов):

- 6.1 экзотоксины
- 6.2 жгутики
- 6.3 пили
- 6.4 белки наружной мембраны
- 6.5 споры

7. Адгезины гонококка (несколько правильных ответов):

- 7.1 пили
- 7.2 IgA-протеаза
- 7.3 жгутики
- 7.4 белки наружной мембраны
- 7.5 пептидогликан

8. Антифагоцитарные факторы гонококка (один правильный ответ):

- 8.1 пили
- 8.2 капсула
- 8.3 белки наружной мембраны
- 8.4 лейкоцидины
- 8.5 плазмокоагулаза

9. Протективные антигены гонококка (один правильный ответ):

- 9.1 капсульные полисахариды
- 9.2 пили

9.3 белки наружной мембраны

9.4 экзотоксины

9.5 соматический

10. Для культивирования гонококка используют (один правильный ответ):

10.1 сывороточный агар

10.2 желточно-солевой агар

10.3 висмут-сульфитный агар

10.4 среду Плоскирева

10.5 среду Левина

11. Источники инфекции при гонорее (один правильный ответ):

11.1 домашние животные

11.2 предметы обихода

11.3 медицинский инструментарий

11.4 больные

11.5 бактерионосители

12. Механизм передачи гонококковой инфекции (один правильный ответ):

12.1 фекально-оральный

12.2 контактный

12.3 аэрогенный

12.4 через укусы насекомых

12.5 трансплацентарный

13. Путь передачи гонококковой инфекции (один правильный ответ):

13.1 водный

13.2 половой

13.3 пищевой

13.4 инъекционный

13.5 шприцевой

14. Входными воротами для гонококка является (несколько правильных ответов):

14.1 слизистая мочеполовых путей

14.2 поврежденная кожа

14.3 неповрежденная кожа

14.4 конъюнктивы

14.5 слизистая тонкой кишки

15. Входными воротами для *Neisseria gonorrhoeae* является (один правильный ответ):

15.1 слизистая тонкой кишки

15.2 поврежденная кожа

15.3 слизистая прямой кишки

15.4 неповрежденная кожа

15.5 слизистая желудка

16. Положения, справедливые для гонококковой инфекции (один правильный ответ):

- 16.1 прочный постинфекционный иммунитет
- 16.2 возможность перехода в хроническую форму
- 16.3 возможность трансплацентарного инфицирования
- 16.4 возможность вторичных инфекций
- 16.5 наличие средств иммунопрофилактики

17. Методы микробиологической диагностики острой гонореи (один правильный ответ):

- 17.1 микроскопический, бактериологический
- 17.2 бактериологический, биологический
- 17.3 биологический, серологический
- 17.4 серологический, аллергический
- 17.5 биологический, аллергический

18. Основным методом диагностики хронической гонореи является (один правильный ответ):

- 18.1 бактериологический
- 18.2 бактериоскопический
- 18.3 биологический
- 18.4 серологический
- 18.5 кожно-аллергический

19. Средства специфической профилактики гонореи (один правильный ответ):

- 19.1 антибиотики
- 19.2 живая вакцина
- 19.3 не разработаны
- 19.4 убитая вакцина
- 19.5 химическая вакцина

20. Средства лечения гонореи (один правильный ответ):

- 20.1 пробиотики
- 20.2 иммуноглобулины
- 20.3 антибиотики
- 20.4 не разработаны
- 20.5 живая вакцина

Правильные ответы: 1.5; 2.2, 2.3; 3.3; 4.3, 4.4; 5.4; 6.3, 6.4; 7.1, 7.4; 8.2; 9.3; 10.1; 11.4; 12.2; 13.2; 14.1, 14.4; 15.3; 16.2; 17.1; 18.4; 19.3; 20.3.

### 3. Грамотрицательные факультативно-анаэробные палочки

#### 3.1. Энтеробактерии

##### 3.1.1. Эшерихии

**Таксономическое положение.** Эшерихии относятся к типу *Proteobacteria* классу *Gamma*proteobacteria порядку *Enterobacterales* семейству *Enterobacteriaceae* роду *Escherichia*. Основным видом рода *Escherichia*, имеющим медицинское значение, является *Escherichia coli* (кишечная палочка). По антигенным свойствам эшерихии подразделяются на серогруппы.

Эшерихии были выделены в 1885 г. немецким педиатром, профессором клиники детских болезней Т. Эшерихом (рисунок 3.1) из кала ребенка, больного “детской холерой”. Т. Эшерих назвал этот микроб *Bacterium coli communis*.



Рисунок 3.1 – Теодор Эшерих (Theodor Escherich, 1857-1911 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Эшерихии представляют собой полиморфные прямые или слегка изогнутые палочки с закругленными концами средних размеров (длина 2-6 мкм и ширина 0,4-0,6 мкм). Палочки располагаются одиночно, реже – попарно. Спор не образуют (рисунок 3.2).

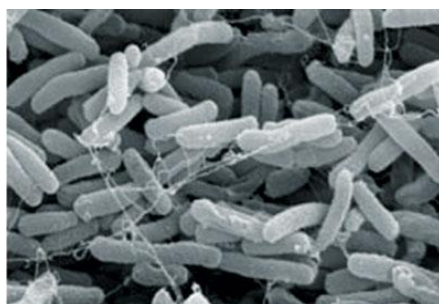


Рисунок 3.2 – Кишечная палочка, сканирующая электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Клетки *E. coli* имеют пили (фимбрии) и обладают подвижностью благодаря перитрихально расположенным жгутикам (рисунок 3.3).

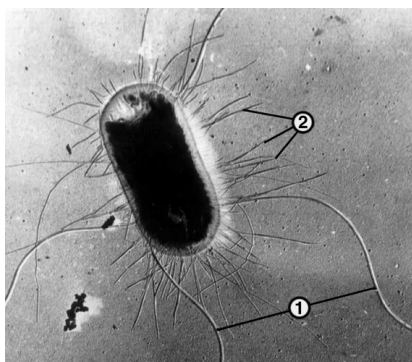


Рисунок 3.3 – Электронная микрофотография клетки кишечной палочки: 1 – жгутики, 2 – пили. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

По методу Грама эшерихии окрашиваются в розовый цвет (грамотрицательные). В мазках под микроскопом располагаются беспорядочно (рисунок 3.4)



Рисунок 3.4 – Эшерихии, окраска по Граму.

Многие штаммы эшерихий имеют микрокапсулу (рисунок 3.5).

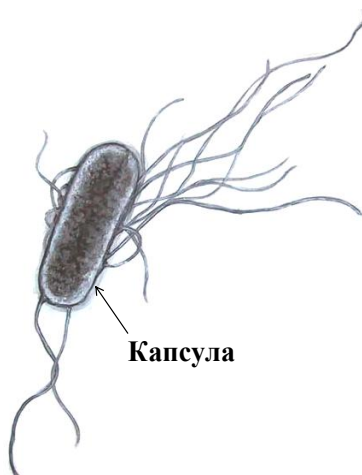


Рисунок 3.5 – Микрокапсула *E. coli*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** Эшерихии являются аэробами или факультативными анаэробами. Оптимальная температура роста 35-37°C. Хорошо растут на простых питательных средах. На МПА эшерихии образуют колонии средних размеров, серо-белые, гладкие, влажные, блестящие, с ровными краями (S-форма). В жидких средах вызывают равномерное помутнение, иногда образуют незначительный осадок (рисунок 3.6).

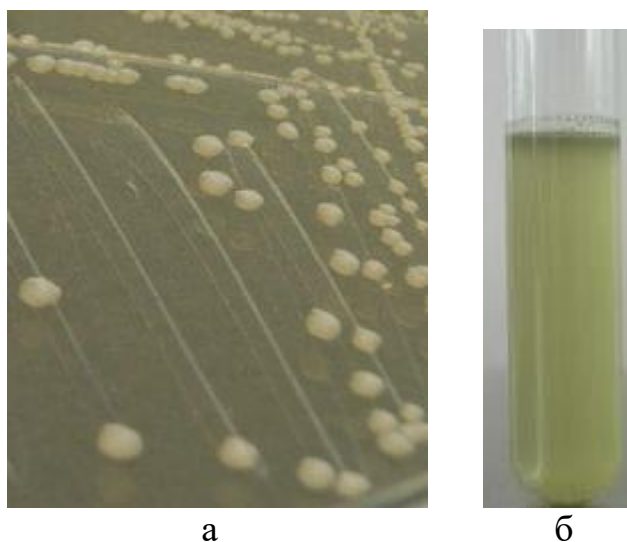


Рисунок 3.6 – Характер роста эшерихий на МПА (а) и в МПБ (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Биохимическая активность.** Эшерихии обладают высокой биохимической активностью – ферментируют с образованием кислоты и газа глюкозу, лактозу, мальтозу, арабинозу, галактозу, маннит. Дульцит и сахарозу большинство штаммов кишечной палочки не ферментирует (рисунок 3.7).

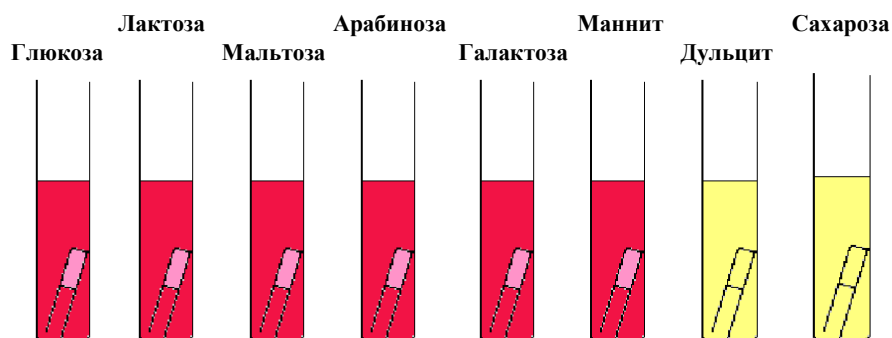


Рисунок 3.7 - Сахаролитическая активность эшерихий.

Характерным признаком эшерихий является ферментация лактозы. По способности ферментировать лактозу различают **лактозоположительные** и **лактозоотрицательные** кишечные палочки. Поэтому в качестве дифференциально-диагностических сред при выделении кишечной палочки используют среды, содержащие лактозу (среды Эндо, Левина, Плоскирева).

**Среда Эндо** содержит МПА, лактозу, фуксин и натрия сульфит. Готовая среда имеет бледно-розовый цвет. Сульфит натрия и фуксин оказывают



ингибирующее действие на большинство грамположительных микроорганизмов. При разложении эшерихиями лактозы рН смещается в кислую сторону в результате образования ацетилальдегида, который взаимодействует с сульфитом натрия и приводит к восстановлению фуксина. Лактозоположительные штаммы кишечной палочки на среде Эндо образуют темно-красные колонии с металлическим блеском (рисунок 3.8).



Рисунок 3.8 – Вид колоний лактозоположительных эшерихий на среде Эндо. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Лактозоотрицательные эшерихии, сальмонеллы, другие энтеробактерии, не ферментирующие лактозу, образуют на среде Эндо бесцветные или бледно-розовые колонии (рисунок 3.9).



Рисунок 3.9 – Характер роста лактозоположительных (черная стрелка) и лактозоотрицательных (белая стрелка) эшерихий на среде Эндо. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Среда Плоскирева** содержит агар, лактозу, желчные кислоты, йод, нейтральный красный, бриллиантовый зеленый, соли. Готовая среда имеет светло-коричневый цвет. Желчные кислоты, йод, бриллиантовый зеленый подавляют рост грамположительных бактерий. На среде Плоскирева лактозоположительные штаммы кишечной палочки образуют колонии брусничного цвета (рисунок 3.10).



Рисунок 3.10 – Характер роста эшерихий на среде Плоскирева. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Среда Левина** (ЭМС-агар) содержит МПА, лактозу, эозин и метиленовый синий. Готовая среда имеет красновато-фиолетовый цвет. На среде Левина лактозоположительные штаммы кишечной палочки образуют темно-фиолетовые (черные) колонии с зеленоватым оттенком (рисунок 3.11).



Рисунок 3.11 – Характер роста лактозоположительных эшерихий на среде Левина. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Протеолитическая активность у эшерихий выражена слабо - желатин они не разжижают, образуют индол, не образуют сероводорода. Мочевину не разлагают. Среди эшерихий выявляются как гемолитические штаммы, дающие полный  $\alpha$ -гемолиз, так и негемолитические штаммы (рисунок 3.12).

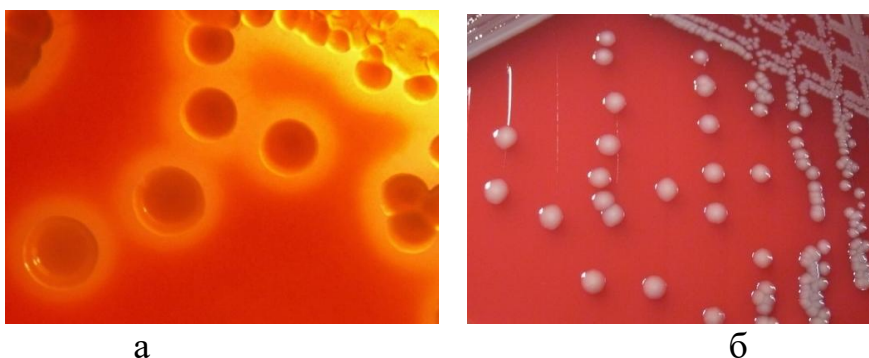


Рисунок 3.12 – Гемолитические (а) негемолитические (б) штаммы кишечной палочки на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Резистентность.** В окружающей среде эшерихии достаточно устойчивы. При 60°C они погибают в течение 15 минут, при 100°C - моментально. В воде, почве сохраняют жизнеспособность месяцами. В молоке сохраняют жизнеспособность более 30 суток, в детских питательных смесях – более 3 месяцев, на игрушках и предметах обихода – до 3-5 месяцев. Прямой солнечный свет вызывает гибель эшерихий через несколько минут. Эшерихии чувствительны к большинству дезинфицирующих веществ (формальдегиду, препаратам хлора, гидроксиду натрия и др.) и антибиотиков (тетрациклинам, аминогликозидам, рифампицину и др.). Однако они способны быстро становиться устойчивыми к антимикробным препаратам в основном за счет приобретения R-плазмид.

**Антигенная структура эшерихий.** Эшерихии содержат соматический O-антиген, капсульный K-антиген и жгутиковый H-антиген. Эти антигены являются основой серологической классификации эшерихий.

Соматический **O-антиген** (липополисахаридно-протеиновый комплекс) определяет серологическую группу эшерихий. В настоящее время по O-антигену выделяют 173 варианта (серовара) кишечной палочки. Для серологической типизации эшерихий промышленностью выпускаются диагностические O-сыворотки. O-антиген не разрушается при нагревании до 100°C в течение 2,5 часов. Белковый компонент обуславливает иммуногенные свойства, липидный – токсичность, полисахаридный – серологическую специфичность эшерихий.

Капсульный **K-антиген** представлен мукополисахаридами. У эшерихий обнаружено 97 разновидностей K-антигена. K-антиген подразделяется на 3 разновидности (A, B и L), которые различаются по чувствительности к температуре и химическим соединениям. A-разновидность термостабильная, а B и L-разновидности термолабильные. K-антиген располагается на поверхности клеток, поэтому может препятствовать агглютинации эшерихий O-сыворотками. В этом случае O-антиген можно выявить только после разрушения K-антигена кипячением культуры в течение двух часов.

Жгутиковый **H-антиген** (белок флагеллин) обладает типовой специфичностью. Эшерихии имеют 57 разновидностей H-антигена.

Количество возможных комбинаций O-, K- и H-антигенов превышает 2000. Антигенная структура эшерихий представляет собой формулу, в которой указываются буквенные и цифровые обозначения антигенов, разделенные двоеточием, например, O101:K5:H10.

**Основными факторами патогенности** эшерихий являются факторы адгезии и колонизации, факторы инвазии, эндотоксины и экзотоксины.

**Факторы адгезии и колонизации** необходимы для прикрепления бактерий к клеткам организма и колонизации тканей. Адгезины представляют собой либо поверхностные фимбриальные структуры (пили), либо нефимбриальные (афимбриальные) белки наружной мембраны.

**Адгезины CFA/I-CFA/V1** (англ. *colonization factor antigen*) представляют собой фимбриальные структуры. Гены, детерминирующие образование CFA, локализованы в плазмидах.

**Адгезин Adhesion Henle-407** также относится к фимбриальным факторам, выявляемым по способности бактерий прикрепляться к клеткам Henle-407.

Фимбриальные адгезины патогенных штаммов кишечной палочки представляют собой D-маннозочувствительные (MS) либо D-маннозорезистентные (MR) пили или фимбрии в зависимости от того, препятствует D-манноза связыванию бактерий с рецепторами на поверхности клеток или нет. Морфологически маннозочувствительные фимбрии относятся к фимбриям I типа. Они экспрессируются на поверхности практически всех *E. coli* и большинства представителей семейства *Enterobacteriaceae* (*Salmonella*, *Klebsiella* и др.). На поверхности одной клетки присутствует 200-500 фимбрий. Каждая фимбрия представляет собой молекулу специфического белка FimH, закрученную в спираль. Пили I типа узнают маннозный рецептор эпителиальных клеток.

В зависимости от того, с какими рецепторами связываются фимбриальные адгезины, выделяют фимбрии I типа (рецептором является олигосахарид кишечного эпителия), P-фимбрии (рецептор – гликофинголипид энтероцитов), S-фимбрии (рецептор – нейраминавая кислота энтероцитов).

**Белок наружной мембраны EAF** (англ. *enteropathogenic E. coli adherence factor*) или интимин относится к числу афимбриальных адгезинов. Он кодируется хромосомным геном *eaeA*. EAF обнаружен у бактерий, способных прикрепляться к клеткам HEp-2.

**Афимбриальные адгезины**, кодируемые хромосомным геном *afa*, обуславливают адгезию эшерихий на рецепторах уроэпителиальных клеток.

Еще одним афимбриальным адгезином является белок **карлин** (*curli*), который кодируется геном *csg* и связывается с фибронектином и ламинином межклеточного матрикса. Карлин обуславливает адгезию, клеточную агрегацию и образование биопленок на слизистых оболочках.

**Факторы инвазии.** Роль факторов инвазии выполняют белки наружной мембраны, кодируемые плазмидой с молекулярной массой 140 МД. Эта плазида идентична плазмиде шигелл, кодирующей синтез поверхностных белков (IPA-антигенов) и белка VirG. С их помощью энтероинвазивные *E. coli* проникают в эпителиальные клетки кишечника, размножаются в них и вызывают их разрушение.

**Интимин** - белок молекулярной массы 94 кД, кодируется геном *eae*. Комплекс интимины с рецептором Tir инициирует полимеризацию актина цитоскелета в области прикрепления бактерий. В результате этого облегчается процесс проникновения бактерий в эпителиальные клетки.

**Система секреции III типа (T3SS)** обеспечивает перенос эффекторных бактериальных белков из микробной клетки непосредственно в цитоплазму эукариотической клетки – мишени.

**Экзотоксины.** К числу экзотоксинов эшерихий относятся энтеротоксины и шига-подобные токсины.

**Энтеротоксины** стимулируют гиперсекрецию эпителиальными клетками кишечника ионов натрия, калия, хлора, бикарбонат-ионов, что приводит к нарушению водно-солевого обмена и развитию диареи. Существуют термолабильные энтеротоксины (LT - *labile toxin*) и термостабильные энтеротоксины (ST - *stable toxin*).

Среди термолабильных энтеротоксинов выделяют LT-1 и LT-2. В патологии человека ведущее значение имеет LT-1. Ген, кодирующий LT-1 (*elt* или *etx*) расположен на плазмиде. Молекула LT-1 состоит из субъединиц А и В. Фрагмент В

связывается с рецепторами на мембране энтероцитов (Gm1-ганглиозид) и формирует трансмембранный канал, по которому субъединица А проникает в клетку и активирует аденилатциклазу. В результате этого в клетке повышается уровень цАМФ и нарушается водно-солевой обмен: подавляется всасывание натрия, хлоридов и воды на вершине ворсинок и стимулируется секреция этих ионов в криптах.

Среди термостабильных энтеротоксинов также выделяют два типа: ST-1 (STa) и ST-2 (STb). Гены, кодирующие синтез ST-1 (*estA*), входят в состав мобильного генетического элемента. От человека выделяют кишечные палочки, синтезирующие преимущественно ST-1. Энтеротоксин ST-1 связывается с рецептором энтероцитов и увеличивает внутриклеточную концентрацию циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ). В результате этого стимулируется секреция хлоридов и ингибируется абсорбция натрия, что приводит к потере жидкости кишечником. Рецепторы к этому токсину в большей степени имеются на энтероцитах тонкой кишки, поэтому тонкая кишка преимущественно и вовлекается в патологический процесс при инфицировании такими штаммами.

**Шига-подобный токсин** аналогичен экзотоксину *Shigella dysenteriae*. Его называют SLT, Stx (*Shiga-like toxin* или *Shiga toxin*) или VT (*Verotoxin*). Шига-подобный токсин *E. coli* и токсин *S. dysenteriae* отличаются только одной аминокислотой. Различают два типа этого токсина: SLT-1 (Stx-1) и SLT-2 (Stx-2). SLT-1 нейтрализуется антисывороткой к токсину Шига, а SLT-2 не нейтрализуется антисывороткой к токсину Шига. Шига-подобные токсины внутри энтероцитов блокируют биосинтез белка. Синтез токсинов SLT-1 и SLT-2 контролируется как генами бактериальной хромосомы, так и генами умеренных бактериофагов 933J (SLT-1) и 933W (SLT-2). Рецепторами для SLT служат гликолипиды Gb3 и Gb4. Штаммы эшерихий образуют оба токсина одновременно или только какой-нибудь один из этих токсинов. Кишечные палочки, продуцирующие Шига-подобный токсин, обозначаются как STEC. К этой группе относится штамм *E. coli* O157:H7. Именно этот токсин обуславливает развитие геморрагического колита, гемолитико-уремического синдрома (ГУС, HUS).

**Эндотоксин** эшерихий представляет собой липополисахарид (ЛПС), который определяет специфичность О-антигена бактерий (рисунок 3.13).

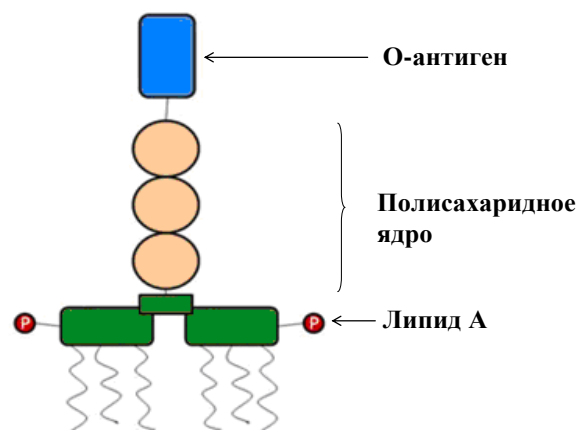


Рисунок 3.13 – Структура липополисахарида.

Антигенная специфичность обусловлена структурой повторяющейся боковой цепочки (О-антигена). ЛПС вызывает повреждение сосудов микроциркуляторного русла слизистой оболочки кишечника, обуславливает экспрессию цитокинов, что приводит к развитию воспаления.

**Гемолизин** – термолabileный высокомолекулярный белок, лизирующий эритроциты. Гемолизин является порообразующим цитолизинном. Ген гемолизина (*hly*) может локализоваться как на хромосоме, так и на плазмиде патогенных эшерихий. Синтез гемолизина отмечается у многих энтеропатогенных, энтеротоксигенных, уропатогенных штаммов кишечной палочки. Возможен горизонтальный перенос плазмид, содержащих *hly*-ген, между энтеробактериями.

**CNF** (цитотоксический некротический фактор) типа 1 и 2 (CNF 1/2) представляет собой деамидазу, повреждающую белки, которые являются регуляторами актинового цитоскелета. Этот фактор обнаружен у уропатогенных штаммов кишечной палочки. Ген, кодирующий CNF, локализуется на хромосоме в составе “островка патогенности”. В эукариотических клетках CNF вызывает складчатость мембраны, реорганизацию актиновых волокон, изменение репликации ДНК с образованием гигантских многоядерных клеток.

**CLDT** (*cytolethal distending toxin* - цитолетальный дилатирующий или разрыхляющий токсин) обуславливает фрагментацию ядра, увеличение и гибель клетки. Кодирован геном *cdt*.

**Колицины** – термостабильные белки, подавляющие рост родственных бактерий. Известно 25 различных колицинов (А, В, С, D и др.). Считают, что колициногенность у патогенных эшерихий способствует их распространению в кишечнике и поэтому может рассматриваться как один из факторов патогенности.

Факторы патогенности диареогенных *E. coli* контролируются не только хромосомными генами, но и генами плазмид и умеренных бактериофагов. У *E. coli* обнаружены Col-, R-, F-, Hly- и Ent-плазмиды. Расположение факторов патогенности энтеропатогенных *E. coli* представлены на рисунке 3.14.

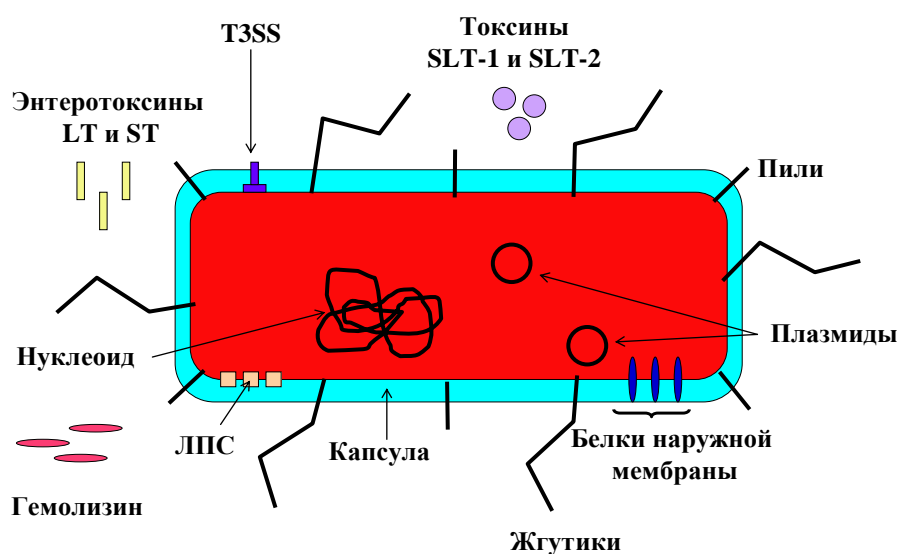


Рисунок 3.14 – Факторы патогенности энтеропатогенных *E. coli*.

Эшерихии, способные вызывать заболевания, обладают разным набором факторов патогенности. Гены, детерминирующие патогенность эшерихий, обнаруживаются в составе хромосомы в виде островов патогенности (PAI – *Pathogenicity island*), переносятся с помощью плазмид, бактериофагов, транспозонов. Острова патогенности содержат гены, определяющие синтез адгезинов, факторов колонизации, инвазии. Плазмиды эшерихий несут гены, детерминирующие синтез энтеротоксинов, фимбриальных факторов адгезии и колонизации, устойчивость к антибиотикам. Гены, отвечающие за продукцию термостабильного энтеротоксина, находятся в составе транспозонов. Умеренные бактериофаги переносят гены, кодирующие шига-подобные токсины энтерогеморрагических эшерихий (рисунок 3.15).

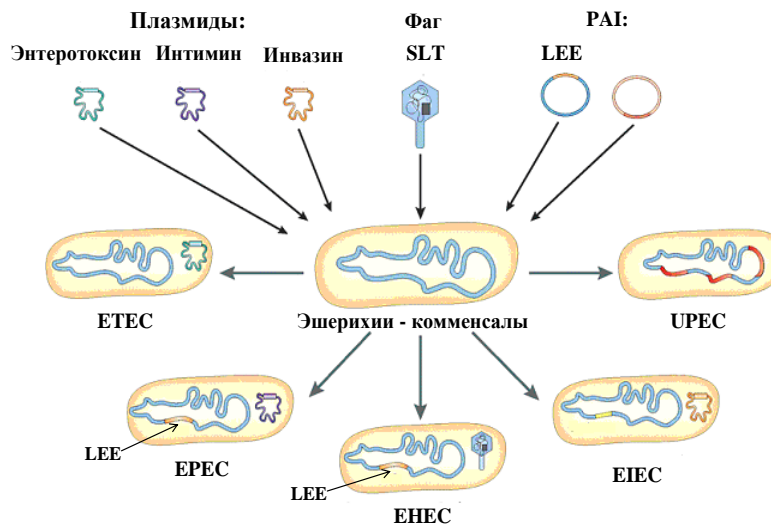


Рисунок 3.15 – Схема происхождения патогенных кишечных палочек: SLT – шига-подобный токсин (*Shiga-like toxin*), PAI - островки патогенности (*Pathogenicity island*), LEE – локус сглаживания энтероцитов (*Locus enterocyte effacement*).

Займствовано из Интернет-ресурсов.

**Экология эшерихий.** Естественным местом обитания эшерихий является дистальный отдел кишечника человека, животных, птиц, пресмыкающихся, рыб. Эшерихии относятся к санитарно-показательным микроорганизмам. Присутствие кишечной палочки в воде, почве, на пищевых продуктах, предметах обихода свидетельствует о фекальном загрязнении объектов внешней среды.

**Эпидемиология. Источником инфекции** при эшерихиозе является больной человек или бактерионоситель, хотя здоровое носительство выявляется редко – в 2-3% случаев. В некоторых случаях источником инфекции является крупный рогатый скот и овцы (при инфицировании энтерогеморрагическими эшерихиями). **Механизм передачи инфекции** – фекально-оральный. **Пути передачи** – водный, пищевой, бытовой. По данным ВОЗ, заражение энтеротоксигенными и энтероинвазивными эшерихиями чаще происходит пищевым путем, а энтеропатогенными эшерихиями – контактно-бытовым путем. Нередко заболевания связаны с инфицированным молоком и молочными продуктами. Заболевания, вызванные патогенными эшерихиями, чаще всего встречается у путешественников (диарея путешественников), посещающих страны с жарким климатом. Предполагается, что

распространению инфекций способствует загрязнение объектов внешней среды сточными водами, нарушение санитарно-гигиенических условий, контаминация эшерихиями продуктов питания (мясных, молочных и овощных продуктов). По данным ВОЗ, эшерихиозы занимают первое место среди диарейных заболеваний у новорожденных и детей раннего возраста.

**Патогенез и клиника заболеваний.** Заболевания, вызванные эшерихиями, отличаются механизмами развития и клиническими проявлениями. Различают следующие группы кишечных палочек:

- непатогенные (резидентные) эшерихии;
- эшерихии, вызывающие внекишечные заболевания и имеющие эндогенное происхождение;
- диареегенные эшерихии экзогенного происхождения.

**Непатогенные (резидентные) эшерихии** являются представителями нормального микробиоценоза кишечника человека. Они совместно с другими представителями нормального микробиоценоза кишечника обеспечивают колонизационную резистентность организма. Типичным представителем непатогенных кишечных палочек является штамм *E. coli* O6:K5:H1 Nissle 1917, на основе которого селекционирован вариант *E. coli* M-17, используемый при производстве пробиотиков.

В некоторых случаях эшерихии могут проникать в другие экологические ниши (например, в мочеполовую систему, в желчные пути, органы дыхания и др.). В результате смены экологической ниши такие бактерии могут вызывать гнойно-воспалительные процессы, особенно на фоне иммунодефицита (**условно-патогенные эшерихии**). Такие внекишечные заболевания возникают, как правило, эндогенно и вызываются штаммами, имеющими измененную ферментативную активность по сравнению с резидентными эшерихиями.

Наконец, среди эшерихий выделяют группу **патогенных эшерихий**, способных вызывать инфекционные заболевания с локализацией патологического процесса во внутренних органах. К патогенным эшерихиям относятся **возбудители парентеральных эшерихиозов** или **экстраинтестинальные патогенные эшерихии** (Extraintestinal pathogenic *E. coli* - возбудители внекишечных заболеваний) и **диареегенные (интестинальные) эшерихии** (Diarheagenic *E. coli* - возбудители острых кишечных инфекций). Патогенные эшерихии имеют экзогенное происхождение. К возбудителям **парентеральных эшерихиозов** относятся **уропатогенные эшерихии** (UPEC - Uropathogenic *E. coli*), эшерихии, вызывающие **менингиты новорожденных** (NMES - Neonatal Meningitis *E. coli*), ассоциированные с **сепсисом** патогенные эшерихии (SePEC - Sepsis associated pathogenic *E. coli*).

**Диареегенные эшерихии** в зависимости от наличия тех или иных факторов патогенности и патогенетических особенностей заболевания подразделяются на следующие группы:

- **энтеротоксигенные *E. coli*** (Enterotoxigenic *E. coli* - ETEC, энтеротоксигенные кишечные палочки - ЭТКП);
- **энтероинвазивные *E. coli*** (Enteroinvasive *E. coli* - EIEC, энтероинвазивные кишечные палочки - ЭИКП);



- **энтеропатогенные** *E. coli* (Enteropathogenic *E. coli* - ЕРЕС, энтеропатогенные кишечные палочки - ЭПКП);
- **энтерогеморрагические** *E. coli* (Enterohemorrhagic *E. coli* - ЕНЕС, энтерогеморрагические кишечные палочки - ЭГКП).
- **энтероагрегативные** (энтероагрегирующие, энтероадгезивные или энтероадгерентные) кишечные палочки (Enteroaggregative *E. coli* - ЕАЕС, энтероагрегативные кишечные палочки - ЭАгКП);
- **диффузно-адгерентные** (диффузно-агрегативные, диффузно-агрегирующие) кишечные палочки (Diffusely Adherent *E. coli* - ДАЕС, диффузно-адгерентные кишечные палочки - ДАКП).

Распределение эшерихий на патогенетические группы представлено на рисунке 3.16.

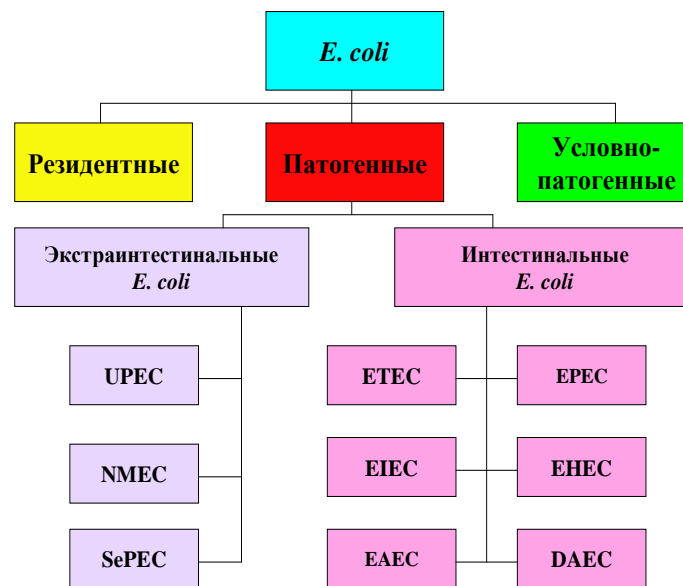


Рисунок 3.16 – Распределение эшерихий на патогенетические группы.

**Уропатогенные** кишечные палочки относятся к серогруппам, имеющим фимбриальные Р- и S-адгезины к эпителию мочевыводящих путей, специфические афимбриальные адгезины, выраженную капсулу, продуцирующим цитотоксический некротизирующий фактор и обладающим гемолитической активностью за счет наличия Hly-плазмиды. Инфицирование часто происходит у женщин, чему способствуют особенности мочевыводящей системы. Бактерии попадают в мочевой пузырь из устья уретры, размножаются в моче и вызывают воспаление (цистит). В развитии воспаления большое значение принадлежит провоспалительным цитокинам (прежде всего интерлейкину 8), продуцируемым эпителиоцитами при взаимодействии с уропатогенными штаммами. Уропатогенные эшерихии относятся к серогруппам O1, O4, O6, O18.

**Эшерихии, вызывающие менингиты**, чаще всего обнаруживаются у недоношенных детей. Они обладают микрокапсулой, состоящей из полимера сиаловой кислоты. Микрокапсула препятствует фагоцитозу бактерий. Подобные эшерихии проникают в кровяное русло и затем в центральную нервную систему. NMES обладают S-фимбриями, обеспечивающими адгезию клеток на ламинине

(гликопротеине базальных мембран) и фибронектине (гликопротеине внеклеточного матрикса). Преобладающее значение при этой патологии имеет серovar O18.

**Ассоциированные с сепсисом эшерихии** обладают фимбриальными и афимбриальными адгезинами, устойчивостью к фагоцитозу. Основными факторами патогенности SePEC являются S-фимбрии, афимбриальные адгезины и липополисахарид (ЛПС).

**Энтеротоксигенные кишечные палочки** поражают тонкий кишечник. Основными факторами патогенности ЭТКП являются факторы колонизации, термолабильный и термостабильный энтеротоксины. За счет факторов адгезии и колонизации (CFA/I, CFA/II, CFA/IV) происходит заселение проксимальных отделов тонкого кишечника. Одновременно ЭТКП продуцируют термолабильный (LT) и термостабильный (ST) энтеротоксины, которые нарушают водно-солевой обмен в кишечнике, активируя аденилатциклазную и гуанилатциклазную системы. В результате этого цАМФ подавляет всасывание электролитов и воды каемчатыми клетками ворсинок и одновременно стимулируют их секрецию клетками крипт (рисунок 3.17).

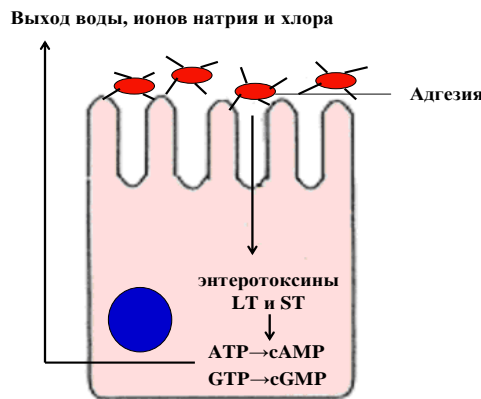


Рисунок 3.17 - Механизм действия энтеротоксигенных кишечных палочек на эпителиальные клетки.

ЭТКП вызывают **развитие диарейного синдрома - холероподобного заболевания** (диареи путешественников). Для развития заболевания достаточна заражающая доза  $10^8$ - $10^{10}$  клеток. Инкубационный период составляет 1-3 дня. Клинически инфекция начинается остро и сопровождается водянистой профузной диареей, тошнотой, рвотой, кишечными спазмами, лихорадкой, резким обезвоживанием. Стул жидкий, водянистый, до 10-15 раз в сутки. Диарея с водянистыми испражнениями без примеси слизи и крови называется секреторной вследствие гиперсекреции ионов натрия, хлора и воды каемчатыми клетками при снижении всасывания электролитов и воды ворсинчатыми клетками слизистой оболочки. Температура тела обычно нормальная, иногда – субфебрильная. Продолжительность заболевания 3-5 дней. Вспышки водные, реже - пищевые. Сезонность летняя. Болеют дети в возрасте от 1 года до 3 лет и взрослые. К числу ЭТКП относятся серогруппы O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O80, O85, O115, O128ac, O139, O148, O153, O159 и др.

**Энтероинвазивные эшерихии** внедряются и **размножаются в клетках эпителия** нижнего отдела подвздошной и толстой кишки (**внутриклеточное паразитирование**). Основными факторами патогенности ЭИКП являются факторы адгезии, колонизации и инвазии (ЕАF, СFА, инвазины). Эти факторы детерминированы как хромосомными, так и плазмидными генами. В частности, в составе крупной плазмиды находятся гены *ipa*, *ipg*, *mod*, *sra*. Гены *ipa* и *ipg* кодируют белки, опосредующие процесс проникновения бактерий в клетку. Гены *mod* и *sra* кодируют белки, формирующие систему секреции III типа. С помощью этой системы происходит поступление инвазинов IpaA-D и IpgD в клетку. Инвазины являются эффекторными белками, обеспечивающими проникновение ЭИКП в клетки слизистой оболочки кишечника и распространение возбудителя в соседние клетки в результате реорганизации цитоскелета эпителиоцитов (рисунок 3.18).

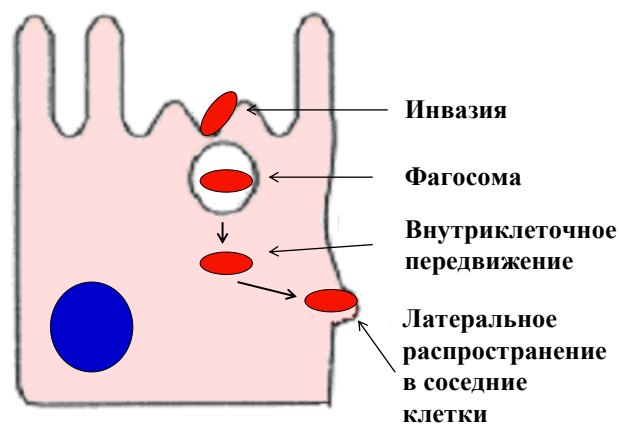


Рисунок 3.18 – Механизм действия энтероинвазивных кишечных палочек на эпителиальные клетки.

ЭИКП внедряются в эпителиальные клетки слизистой оболочки кишечника, размножаются в них и вызывают деструкцию слизистой оболочки. Инкубационный период составляет 1-2 дня. ЭИКП вызывают острое **дизентериеподобное заболевание**, характеризующееся непродолжительной водянистой диареей, токсикозом, слабостью, схваткообразными абдоминальными болями. Характерно повышение температуры тела до 38-39<sup>0</sup>С. Стул жидкий, до 10 раз в сутки. В кале возможна примесь крови и слизи (диарея инвазивного типа). Длительность заболевания 5-7 дней, иногда до 2 недель. Заражающая доза составляет 10<sup>5</sup> клеток. Болеют дети в возрасте от 1,5 до 2 лет, но могут болеть подростки и взрослые. Сезонность летне-осенняя. Вспышки пищевые, водные. К ЭИКП относятся серогруппы O28ac, O29, O124, O136, O143, O144, O152, O164, O167.

**Энтеропатогенные эшерихии** поражают тонкий кишечник. Они экспрессируют белок наружной мембраны интимин, пучок-формирующие пили IV типа (фимбрии VfrA – bundle-forming pili), эффекторные белки (Tir, EspG, EspF, Map, EspH), поверхностные белки EspA, EspB, EspD, фактор адгезии и колонизации типа EAF. Синтез пилей IV типа закодирован в плазмиде. Вначале бактерия прикрепляется к энтероцитам посредством пучок-формирующих пилей VfaA. После адгезии активируется система секреции III типа (T3SS), в результате чего в клетку

поступает перемещаемый рецептор для интимина (Tir) и эффекторные белки. Рецептор для интимина вклинивается в клеточную мембрану. Интимин и пили обеспечивают тесное соприкосновение бактерии с эпителиальной клеткой, а эффекторные белки, вводимые с помощью ТЗСС, вызывают концентрирование актина и других элементов цитоскелета под областью прикрепления микробной клетки. В результате этого мембрана эпителия возвышается в виде пьедестала (рисунок 3.19).

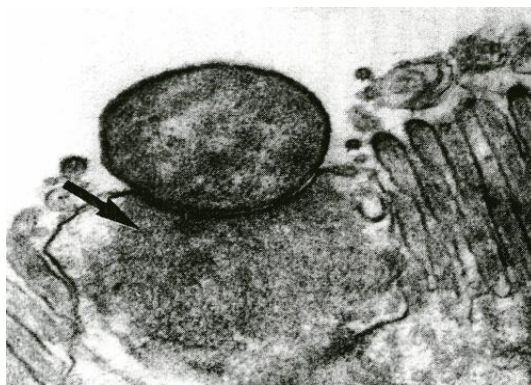


Рисунок 3.19 – Электронная микроскопия слизистой оболочки слепой кишки поросенка, инфицированного ЭПКП. Стрелкой обозначен пьедестал, образующийся при реорганизации цитоскелета в зоне прикрепления бактерий к поверхности эпителиальных клеток (Маянский А.Н., 2006).

**ЭПКП прикрепляются к клеткам эпителия, размножаются на поверхности эпителия и разрушают микроворсинки (эффект “прикрепления и сглаживания” – А/Е, attaching and effacing), что приводит к эрозиям эпителия. А/Е-активность детерминируется генами, локализованными в одном из “островков патогенности” (РАI). Заражающая доза ЭПКП составляет  $10^5$  -  $10^{11}$  клеток. Механизм действия ЭПКП представлен на рисунке 3.20.**

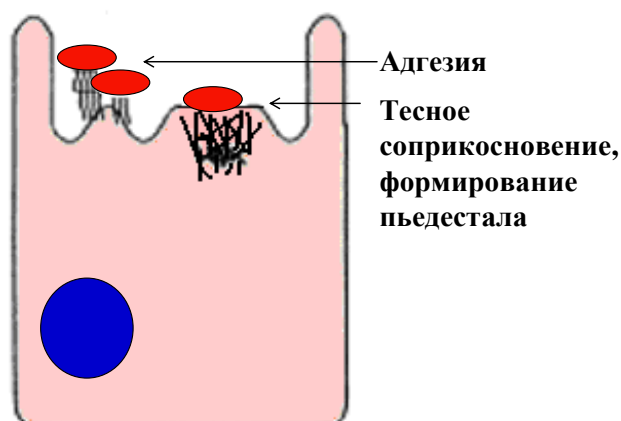


Рисунок 3.20 – Механизм действия энтеропатогенных кишечных палочек на эпителиальные клетки.

Инкубационный период при инфекции, вызванной ЭПКП, составляет 1-5 дней. Клинически при этой инфекции наблюдается продолжительная водянистая диарея, абдоминальные боли, рвота, симптомы обезвоживания (колиэнтерит). Характерна рвота 2-3 раза в день и жидкий стул до 5-8 раз в сутки. Иногда в стуле обнаруживается примесь слизи. Характерен контактно-бытовой путь инфицирования. Чаще заболевают дети в возрасте до двух лет. Заболевание может протекать как внутрибольничная инфекция в отделениях для новорожденных. Сезонность не выражена. Вспышки бытовые, редко пищевые. К ЭПКП относятся серогруппы O18, O44, O55, O86, O111, O112, O114, O119, O125, O126, O127, O128 ab, O142.

**Энтерогеморрагические эшерихии.** Основными факторами патогенности ЭГКП являются интимин, эффекторные белки, шига-подобные токсины, серинпротеаза и гемолизин. Синтез факторов патогенности ЭГКП детерминируется генами островков патогенности хромосомы, генами умеренного фага и плазмидными генами. Энтерогеморрагические кишечные палочки продуцируют шига-подобный токсин (веротоксин), поэтому обозначаются как STEC или VTES. ЭГКП с помощью пилей и интимина вначале адгезируются и размножаются на поверхности эпителиальных клеток. В последующем ЭГКП продуцируют Шига-подобные токсины SLT-I (Sth-1 или VT-1) и SLT-II (Sth-2 или VT-2), которые проникают в кровь и разрушают эндотелий кровеносных сосудов кишечника. В результате этого нарушается кровоток, возникает кровотечение, развивается ишемия и некроз клеточной стенки (геморрагический колит). Шига-подобные токсины кодируются генами, переносимыми умеренными бактериофагами. Эти токсины состоят из двух субъединиц – А и В. Субъединица В связывается с гликолипидным рецептором клетки (Gb3/Gb4) и обеспечивает внутриклеточное поступление субъединицы А. В результате этого в клетке блокируется белковый синтез, что ведет к гибели клетки. ЭГКП поражают толстый кишечник. Механизм действия ЭГКП на эпителиоциты представлен на рисунке 3.21.

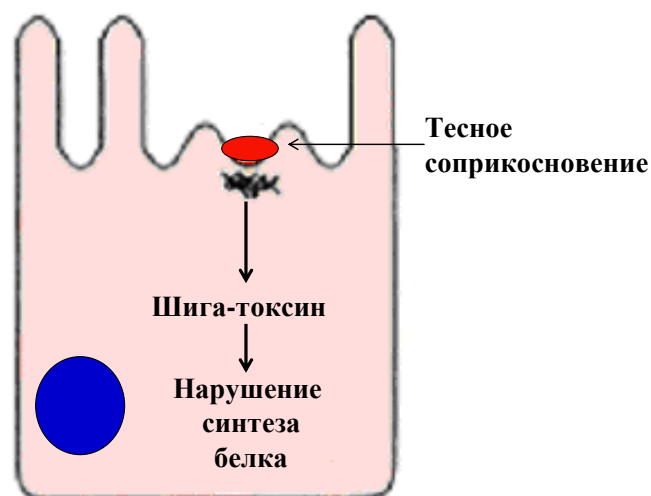


Рисунок 3.21 – Механизм действия энтерогеморрагических кишечных палочек на эпителиальные клетки кишечника.

ЭГКП обуславливают развитие колитического синдрома. Инкубационный период составляет 2-3 дня. Характерны схваткообразные абдоминальные боли, тошнота, рвота, жидкий стул до 5-10 раз в сутки. При этой инфекции кал с кровью. У части больных возможно развитие ГУС (гемолитико-уремического синдрома, синдрома Гассера), который характеризуется триадой симптомов (гемолитическая анемия, тромбоцитопения, острая почечная недостаточность) и может привести к летальному исходу. Тип вспышек – пищевой. **Источник инфекции** – крупный рогатый скот и овцы. Основной путь передачи – алиментарный (употребление в пищу не прошедших термической обработки мясных продуктов и молока). Сезонность летне-осенняя. Поражаются все возрастные группы. Болеют дети и взрослые. Больной человек заразен для окружающих. К числу ЭГКП относятся серогруппы O26, O111, O145, O157. Особую эпидемиологическую опасность представляют штаммы *E. coli* O157:H7 и *E. coli* O104:H4. Летальность при эшерихиозе, вызванном *E. coli* O157, достигает 3-5%. Кишечная палочка серогруппы O157:H7 устойчива к неблагоприятным факторам внешней среды, что способствует ее выживанию и размножению в продуктах питания. Энтерогеморрагический штамм *E. coli* O104:H4 продуцирует шига-токсин, но не синтезирует белок интимин (фактор адгезии) и отличается полирезистентностью к антибиотикам. В 2011 г. в 16 странах было зарегистрировано 4321 случай эшерихиоза, вызванного *E. coli* O104:H4. При этом отмечалось более 900 случаев ГУС. Скончалось 54 человека. Изучение показало, что этот серотип содержит гены ЭГКП и ЭАКП, а также гены антибиотикорезистентности. Структура генома *E. coli* O104:H4 представлена на рисунке 3.22.

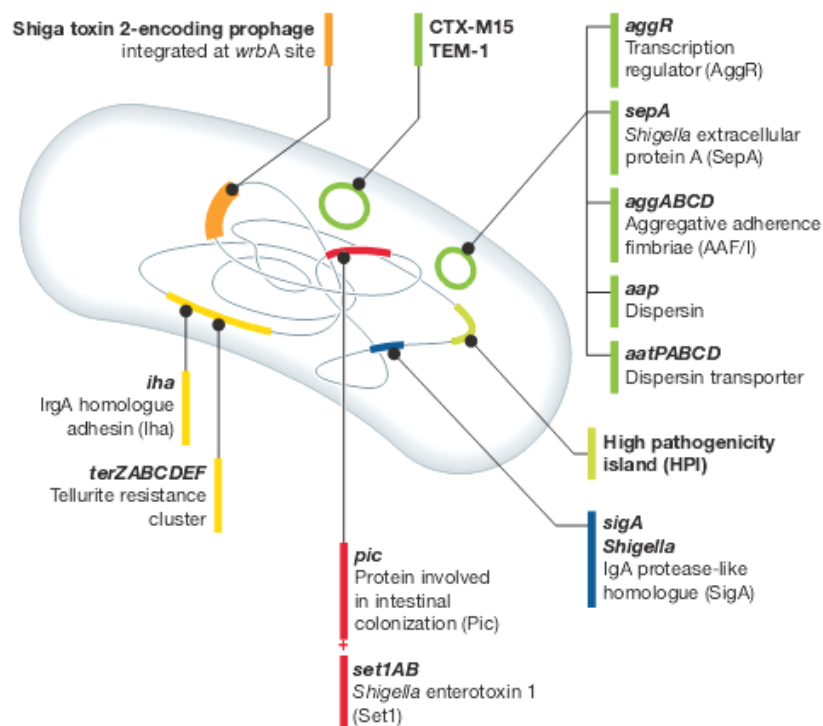


Рисунок 3.22 – Геном *E. coli* O104:H4 (Karch H. e. a., 2011).

**Энтероагрегативные кишечные палочки (ЭАКП)** не образуют цитотоксины и не проникают в эпителиальные клетки. Они поражают эпителий тонкого кишечника и склонны к аутоагглютинации. Свое название ЭАКП получили за счет быстрого прикрепления к поверхности клеток с помощью фимбриальных адгезинов ААФ (aggregative adherence fimbriae). Прикрепившись к эпителиальным клеткам, они формируют агрегаты в виде кирпичной кладки. После прикрепления ЭАКП стимулируют выработку клетками слизи, что ведет к образованию толстой слизистой биопленки. В образовании биопленки участвуют белок дисперзин. Фактором патогенности ЭАКП является также энтеротоксин ST. На рисунке 3.23 изображены агрегаты ЭАКП.



Рисунок 3.23 – ЭАКП на слизистой оболочке тощей кишки ребенка. Сканирующая электронограмма (Маянский А.Н., 2006).

На рисунке 3.24 представлен механизм действия энтероагрегативных кишечных палочек.

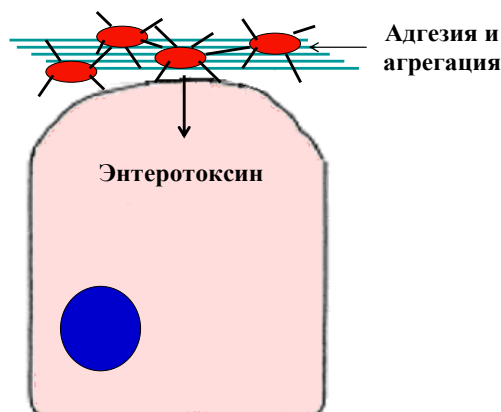


Рисунок 3.24 – Механизм действия энтероагрегативных кишечных палочек на эпителиальные клетки.

ЭАКП колонизируют тонкий и толстый кишечник, вызывают секреторную диарею, поражают как детей, так и взрослых. Агрегативную адгезию обуславливают пили ААФ/1, ААФ/2, GVVPQ. К факторам патогенности ЭАКП относятся также термостабильный энтеротоксин, гемолизин, цитотоксин.

**Диффузно-адгерентные кишечные палочки (ДАКП)** имеют как фимбриальные, так и афимбриальные адгезины. Механизм действия ДАКП на клетки слизистой оболочки кишечника представлен на рисунке 3.25.

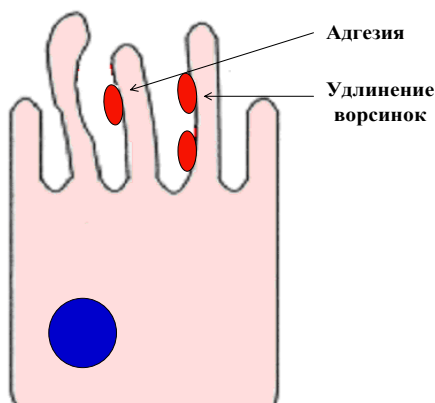


Рисунок 3.25 - Механизм действия диффузно-адгерентных кишечных палочек на эпителиальные клетки кишечника.

**Иммунитет.** После заболевания, вызванного патогенными штаммами кишечной палочки, развивается ненапряженный, серовароспецифический иммунитет.

**Лабораторная диагностика.** Основной метод диагностики эшерихиозов – бактериологический (культуральный). Исследуемый материал при эшерихиозах – фекалии, рвотные массы, пищевые продукты. При парентеральных эшерихиозах исследуют материал из соответствующего очага (моча, кровь). Первичный посев проводят на среду Эндо. Лактозоположительные колонии подвергают серологической идентификации с помощью реакции агглютинации на стекле с диагностическими поливалентными эшерихиозными сыворотками, а также пересевают на комбинированную среду и скошенный агар для последующей биохимической и серологической идентификации. Для биохимической идентификации используют диагностические среды: Эндо, Клиглера, Олькеницкого и др. (рисунок 3.26).

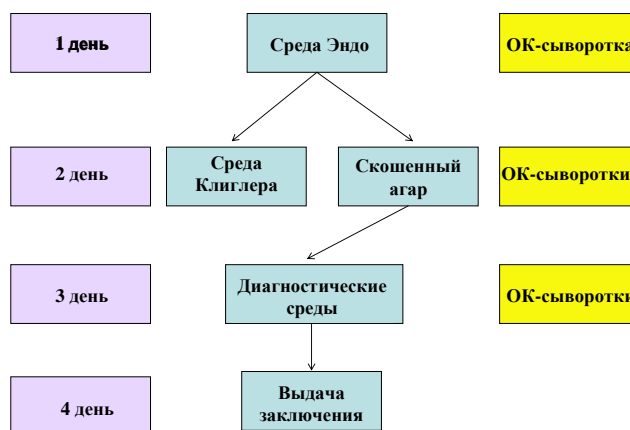


Рисунок 3.26 – Схема лабораторной диагностики эшерихиозов.



В качестве комбинированной среды используют среду Клиглера, среду Олькеницкого или другую дифференциально-диагностическую среду. Среда Клиглера позволяет выявлять ферментацию лактозы и глюкозы и образование сероводорода. Исходный цвет **среды Клиглера** – оранжево-красный. Ферментация углеводов проявляется изменением цвета скоса и столбика среды на желтый. Образование газообразных продуктов разложения сахаров проявляется характерными разрывами столбика среды и образованием пузырьков. Образование сероводорода приводит к появлению черного преципитата (рисунок 3.27).



а б

Рисунок 3.27 – Характер роста кишечной палочки на среде Клиглера: а – контроль (незасеянная среда); б – рост *E. coli*. Цвет всей среды изменился на желтый (ферментация лактозы и глюкозы), в столбике среды – пузырьки газа, разрывы (расщепление углеводов до кислоты и газа), отсутствие черного преципитата (сероводород не образуется). Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

**Среда Олькеницкого** предназначена для определения ферментации лактозы, сахарозы, глюкозы и наличия уреазы. Исходный цвет среды – розовый. Ферментация углеводов и образование газов проявляется теми же признаками, что и на среде Клиглера. Наличие уреазы сопровождается изменением цвета среды на красный.

Для изучения биохимических свойств используют среду Симмонса, среду с мочевиной, среду с лизином, среды Гисса с адонитом, инозитом, сорбитом, рамнозой, среду Кларка.

Для проведения реакции агглютинации на стекле используют диагностические поливалентные эшерихиозные сыворотками групп ОКА, ОКВ, ОКС, ОКД и ОКЕ (рисунок 3.28).



Рисунок 3.28 – Диагностические поливалентные эшерихиозные сыворотки. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Каждая группа сывороток содержит специфические О- и К-агглютинины против антигенов патогенных эшерихий. Агглютинины получают из сывороток кроликов или баранов, гипериммунизированных корпускулярными антигенами эшерихий.

Для идентификации *E. coli* по ферментативным свойствам могут быть использованы автоматизированные диагностические полоски, тест-системы API-20E (рисунок 3.29), Enterotube, пластины биохимические, дифференцирующие энтеробактерии и другие системы.



Рисунок 3.29 – Идентификация эшерихий с помощью тест-системы API-20E: верхняя пластина – контроль, нижняя пластина – опыт. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В частности, пластина биохимическая, дифференцирующая энтеробактерии (рисунок 3.30), предназначена для идентификации энтеробактерий по 20 биохимическим признакам в течение 20-24 часов.



Рисунок 3.30 – Пластины биохимические, дифференцирующие энтеробактерии ПБДЭ. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Набор ММТ Е24 (мультимикротесты для биохимической идентификации энтеробактерий) позволяет одновременно проводить идентификацию по 24 показателям (рисунок 3.31).



Рисунок 3.31 – Набор ММТ Е24. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Наборы ЭНТЕРОтест 24 представляют собой планшеты с внесенными реагентами и предназначены для биохимической идентификации энтеробактерий по 24 признакам в течение 24 часов.

В качестве экспресс-диагностики эшерихиозов используют ПЦР для обнаружения генов вирулентности и ИФА для определения типа энтеротоксина.

**Лечение** направлено, прежде всего, на восстановление водно-солевого баланса организма. Рекомендуются также использовать коли-протейный бактериофаг, полимиксин-М, эритромицин, пробиотики. Из пробиотиков наибольшее распространение получили колибактерин, бифидумбактерин, бификол, лактобактерин. Используются и другие препараты (рисунок 3.32).



Рисунок 3.32 – Пробиотики для коррекции дисбактериоза при эшерихиозах.

**Профилактика.** Специфическая профилактика эшерихиозов не разработана. Основу неспецифической профилактики составляют санитарно-гигиенические и противоэпидемические мероприятия: соблюдение правил гигиены, термическая обработка продуктов питания.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение, морфологические, тинкториальные и культуральные свойства эшерихий.
2. Особенности биохимических свойств эшерихий.
3. Факторы патогенности эшерихий.
4. Категории диареегенных эшерихий, патогенез и клиника вызываемых ими заболеваний.

5. Диагностика эшерихиозов.

6. Профилактика и принципы лечения эшерихиозов.

### Тренировочные тесты

1. Род энтеробактерий, к которому принадлежит кишечная палочка (один правильный ответ):

1.1 *Escherichia*

1.2 *Salmonella*

1.3 *Klebsiella*

1.4 *Shigella*

1.5 *Yersinia*

2. *Escherichia coli* принадлежит к семейству (один правильный ответ):

2.1 *Clostridiaceae*

2.2 *Enterobacteriaceae*

2.3 *Vibrionaceae*

2.4 *Neisseriaceae*

2.5 *Bacillaceae*

3. К какой группе по отношению к кислороду относится *Escherichia coli* (один правильный ответ):

3.1 облигатные анаэробы

3.2 факультативные анаэробы

3.3 микроаэрофилы

3.4 строгие аэробы

3.5 аэротолерантные бактерии

4. Для *Escherichia coli* характерно (несколько правильных ответов):

4.1 положительная окраска по Граму

4.2 отрицательная окраска по Граму

4.3 подвижность

4.4 образование выраженной капсулы

4.5 спорообразование

5. *Escherichia coli* имеет форму (один правильный ответ):

5.1 палочек

5.2 кокков

5.3 спирилл

5.4 спиروهет

5.5 вибрионов

6. Ферментация лактозы характерна для (один правильный ответ):

6.1 *Escherichia coli*

6.2 *Shigella flexneri*

6.3 *Salmonella Typhi*

#### 6.4 *SalmonellaTyphimurium*

#### 6.5 *Yersinia pestis*

7. О-антиген эшерихий представляет собой (один правильный ответ):

- 7.1 гликопротеид
- 7.2 гликолипид
- 7.3 липополисахарид
- 7.4 липид
- 7.5 полипептид

8. Фактором, экранирующим О-антиген эшерихий в серологических реакциях, является (один правильный ответ):

- 8.1 Н-антиген
- 8.2 К-антиген
- 8.3 пептидогликан
- 8.4 фимбрии
- 8.5 жгутики

9. Для выявления О-антигена эшерихий в РА предварительно необходимо (один правильный ответ):

- 9.1 экстрагировать О-антиген ацетоном
- 9.2 разрушить Vi-антиген кипячением
- 9.3 разрушить К-антиген кипячением
- 9.4 разрушить Н-антиген кипячением
- 9.5 нейтрализовать Vi-антиген сывороткой

10. Эшерихии, патогенетически близкие шигеллам (один правильный ответ):

- 10.1 энтероинвазивные штаммы
- 10.2 энтеротоксигенные штаммы
- 10.3 энтеропатогенные штаммы
- 10.4 энтерогеморрагические штаммы
- 10.5 энтероагрегирующие штаммы

11. Патогенные эшерихии отличаются от условно-патогенных (один правильный ответ):

- 11.1 по цвету колоний на среде Эндо
- 11.2 по антигенным свойствам
- 11.3 по способности ферментировать лактозу
- 11.4 по способности ферментировать глюкозу
- 11.5 по способности к росту в анаэробных условиях

12. Дифференциально-диагностической средой для энтеробактерий является (один правильный ответ):

- 12.1 сывороточный агар
- 12.2 мясо-пептонный бульон
- 12.3 среда Эндо

12.4 кровяной агар

12.5 желточно-солевой агар

13. Дифференциально-диагностической средой для энтеробактерий является (один правильный ответ):

13.1 сывороточный агар

13.2 мясо-пептонный бульон

13.3 желточно-солевой агар

13.4 кровяной агар

13.5 среда Плоскирева

14. К перитрихам относятся представители рода (несколько правильных ответов):

14.1 *Shigella*

14.2 *Streptococcus*

14.3 *Escherichia*

14.4 *Vibrio*

14.5 *Salmonella*

15. Источником инфекции при эшерихиозах являются (несколько правильных ответов):

15.1 больные люди

15.2 бактерионосители

15.3 пищевые продукты

15.4 почва

15.5 медицинский инструментарий

16. Дизентериеподобные заболевания вызывают (один правильный ответ):

16.1 энтеропатогенные кишечные палочки (EPEC)

16.2 энтероинвазивные кишечные палочки (EIEC)

16.3 энтеротоксигенные кишечные палочки (ETEC)

16.4 энтерогеморрагические кишечные палочки (EHEC)

16.5 энтероадгерентные кишечные палочки (EAEC)

17. Холероподобные заболевания вызывают (один правильный ответ):

17.1 энтеропатогенные кишечные палочки (EPEC)

17.2 энтероинвазивные кишечные палочки (EIEC)

17.3 энтеротоксигенные кишечные палочки (ETEC)

17.4 энтерогеморрагические кишечные палочки (EHEC)

17.5 энтероадгерентные кишечные палочки (EAEC)

18. Шига-подобный токсин продуцируют (один правильный ответ):

18.1 энтеропатогенные кишечные палочки (EPEC)

18.2 энтероинвазивные кишечные палочки (EIEC)

18.3 энтеротоксигенные кишечные палочки (ETEC)

18.4 энтерогеморрагические кишечные палочки (EHEC)

18.5 энтероадгерентные кишечные палочки (EAEC)

19. Токсин, сходный с токсином холерного вибриона продуцируют (один правильный ответ):

- 19.1 энтеропатогенные кишечные палочки (ЕРЕС)
- 19.2 энтероинвазивные кишечные палочки (ЕИЕС)
- 19.3 энтеротоксигенные кишечные палочки (ЕТЕС)
- 19.4 энтерогеморрагические кишечные палочки (ЕНЕС)
- 19.5 энтероадгезивные кишечные палочки (ЕАЕС)

20. Энтероинвазивные *Escherichia coli* (ЕИЕС) вызывают (один правильный ответ):

- 20.1 холероподобные заболевания
- 20.2 дизентериеподобные заболевания
- 20.3 колиэнтериты у детей до 2-х лет
- 20.4 гемолитический уремический синдром
- 20.5 пиодермию

21. Энтеротоксигенные *Escherichia coli* (ЕТЕС) вызывают (один правильный ответ):

- 21.1 холероподобные заболевания
- 21.2 дизентериеподобные заболевания
- 21.3 колиэнтериты у детей до 2-х лет
- 21.4 гемолитический уремический синдром
- 21.5 пиодермию

22. Энтеропатогенные *Escherichia coli* (ЕРЕС) вызывают (один правильный ответ):

- 22.1 холероподобные заболевания
- 22.2 дизентериеподобные заболевания
- 22.3 гемолитический уремический синдром
- 22.4 колиэнтериты у детей до 2-х лет
- 22.5 пиодермию

23. Какой механизм взаимодействия с эпителием характерен для шигелл и ЭИКП (один правильный ответ)?

- 23.1 колонизация поверхности эпителиоцитов и синтез энтеротоксинов
- 23.2 реорганизация цитоскелета эпителиоцитов с образованием “пьедестала”
- 23.3 инвазия в эпителиоциты и межклеточное распространение
- 23.4 инвазия сквозь эпителий и его повреждение
- 23.5 образование агрегатов и биоплёнок на поверхности эпителиоцитов

24. Какой механизм взаимодействия с эпителием характерен для холерного вибриона и ЭТКП (один правильный ответ)?

- 24.1 колонизация поверхности эпителиоцитов и синтез энтеротоксинов
- 24.2 реорганизация цитоскелета эпителиоцитов с образованием “пьедестала”
- 24.3 инвазия в эпителиоциты и межклеточное распространение
- 24.4 инвазия сквозь эпителий и его повреждение
- 24.5 образование агрегатов и биоплёнок на поверхности эпителиоцитов

25. Какой механизм взаимодействия с эпителием характерен для ЭПКП (один правильный ответ)?

- 25.1 колонизация поверхности эпителиоцитов и синтез энтеротоксинов
- 25.2 реорганизация цитоскелета эпителиоцитов с образованием “пьедестала”
- 25.3 инвазия в эпителиоциты и межклеточное распространение
- 25.4 инвазия сквозь эпителий и его повреждение
- 25.5 образование агрегатов и биоплёнок на поверхности эпителиоцитов

26. Какие эшерихии является причиной диареи, сопровождающейся появлением в фекалиях прожилок крови и лейкоцитов (один правильный ответ):

- 26.1 ЭПКП
- 26.2 ЭТКП
- 26.3 ЭИКП
- 26.4 ЭАГП
- 26.5 ЭГКП

27. Какие диареегенные эшерихии вызывает дизентериеподобное заболевание (один правильный ответ):

- 27.1 ЭПКП
- 27.2 ЭТКП
- 27.3 ЭИКП
- 27.4 ЭАГП
- 27.5 ЭГКП

28. Какие диареегенные эшерихии вызывает холероподобное заболевание (один правильный ответ):

- 28.1 ЭПКП
- 28.2 ЭТКП
- 28.3 ЭИКП
- 28.4 ЭАГП
- 28.5 ЭГКП

29. Патогенез и клиника заболеваний, вызванных ЭТКП, аналогичны патогенезу и клинике (один правильный ответ):

- 29.1 шигеллеза
- 29.2 брюшного тифа
- 29.3 сальмонеллезного гастроэнтерита
- 29.4 иерсиниоза
- 29.5 холеры

30. Патогенез и клиника заболеваний, вызванных ЭИКП, аналогичны патогенезу и клинике (один правильный ответ):

- 30.1 шигеллеза
- 30.2 брюшного тифа
- 30.3 сальмонеллезного гастроэнтерита
- 30.4 иерсиниоза



## 30.5 холеры

31. LT –токсин ЭТКП по механизму действия на клетку-мишень является (один правильный ответ):

- 31.1 активатором аденилатциклазной системы
- 31.2 ингибитором синтеза белка
- 31.3 блокаторм передачи нервного импульса
- 31.4 эксфолиативным токсином
- 31.5 порообразующим токсином

32. Какие микроорганизмы являются причиной развития гемолитико-уремического синдрома (один правильный ответ)?

- 32.1 *S. aureus*
- 32.2 *E. coli* (ЭГКП)
- 32.3 *S. pyogenes*
- 32.4 *C. trachomatis*
- 32.5 *S. sonnei*

33. Для диагностики заболеваний, вызванных патогенными эшерихиями, посев испражнений осуществляют на (один правильный ответ):

- 33.1 желточно-солевой агар
- 33.2 сывороточный агар
- 33.3 желчный бульон
- 33.4 среду Эндо
- 33.5 висмут-сульфитный агар

34. Основной метод микробиологической диагностики эшерихиозов (один правильный ответ):

- 34.1 микроскопический
- 34.2 бактериологический
- 34.3 биологический
- 34.4 серологический
- 34.5 аллергический

35. Определение серогруппы диареогенных эшерихий проводят с использованием адсорбированных сывороток (один правильный ответ):

- 35.1 О или сочетание ОК
- 35.2 сочетание КН
- 35.3 Н
- 35.4 сочетание ОН
- 35.5 Vi

36. Для выделения *Escherichia coli* из клинического материала используют (один правильный ответ):

- 36.1 среду Гисса
- 36.2 тиогликолевую среду

- 36.3 кровяной агар
- 36.4 среду Эндо
- 36.5 щелочной МПА

37. Для серотипирования энтеробактерий используют (один правильный ответ):

- 37.1 реакцию агглютинации в пробирках
- 37.2 реакцию агглютинации на стекле
- 37.3 реакцию преципитации
- 37.4 метод иммунофлуоресценции
- 37.5 иммуноферментный анализ

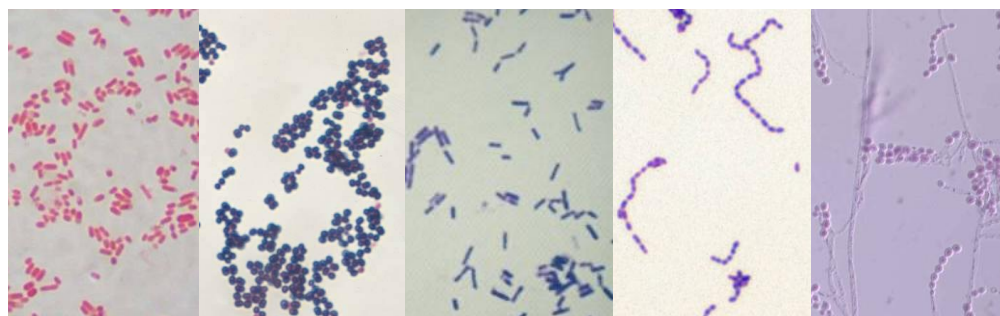
38. Основу профилактики инфекций, вызываемых эшерихиями, составляет (несколько правильных ответов):

- 38.1 применение живых вакцин
- 38.2 применение инактивированных вакцин
- 38.3 применение антибиотиков
- 38.4 снабжение населения качественной питьевой водой
- 38.5 соблюдение правил личной гигиены

39. Специфическая профилактика эшерихиозов включает (один правильный ответ):

- 39.1 санитарно-гигиенические мероприятия
- 39.2 плановую вакцинацию
- 39.3 дезинфекцию
- 39.4 антибиотикопрофилактику
- 39.5 не разработана

40. Выберите изображение, соответствующее эшерихиям (один правильный ответ):



40.1

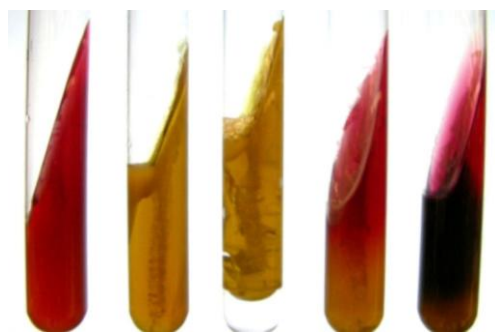
40.2

40.3

40.4

40.5

41. Выберите изображение роста эшерихий на среде Клигlera (один правильный ответ):



41.1 41.2 41.3 41.4 41.5

Правильные ответы: 1.1; 2.2; 3.2; 4.2, 4.3; 5.1; 6.1; 7.3; 8.2; 9.3; 10.1; 11.2; 12.3; 13.5; 14.3, 14.5; 15.1, 15.2; 16.2; 17.3; 18.4; 19.3; 20.2; 21.1; 22.4; 23.3; 24.1; 25.2; 26.3; 27.3; 28.2; 29.5; 30.1; 31.1; 32.2; 33.4; 34.2; 35.1; 36.4; 37.2; 38.4, 38.5; 39.5; 40.1; 41.3.

### 3.1.2. Шигеллы

Шигеллы являются возбудителями шигеллезов (бактериальной дизентерии). Термин “дизентерия” был введен Гиппократом, который разделял все кишечные заболевания на две группы: диарею, сопровождающуюся поносом, и дизентерию, отличающуюся болями в животе (греч. *dys* - нарушение, расстройство, *enteron* - кишка).

Впервые возбудителя бактериальной дизентерии описал в 1888 г. французский бактериолог А. Шантемесс (рисунок 3.33).



Рисунок 3.33 - А. Шантемесс (Andre Chantemesse, 1851 - 1919 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1891 г. русский судебный медик и микробиолог А.В. Григорьев (1860 - 1916 гг.) высказал предположение о том, что этиологическим агентом бактериальной дизентерии являются неподвижные палочки, которые он обнаружил в кишечнике умерших от этой болезни людей и изучил их морфологические и патогенные свойства.

В 1897 г. японский врач и микробиолог К. Шига (рисунок 3.34) подробно описал аналогичные бактерии, вызвавшие в Японии эпидемию дизентерии.



Рисунок 3.34 - Киёси Шига (K. Shiga, 1871 - 1957 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Выделенные бактерии стали называть палочками Григорьева-Шига. В настоящее время палочка Григорьева-Шига известна под названием *S. dysenteriae*, серовар 1.

В 1900 г. американский микробиолог С. Флекснер (рисунок 3.35) выделил дизентерийные бактерии, отличающиеся по свойствам от изученных ранее культур. Впоследствии выделенные им бактерии получили название *S. flexneri*.



Рисунок 3.35 - Саймон Флекснер (Simon Flexner, 1863 - 1946 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1915 г. датский бактериолог К. Зонне (C. Sonne, 1882 - 1948 гг.) выделил и описал дизентерийные бактерии, получившие название *S. sonnei*.

В 1917 г. немецкий бактериолог К. Шмитц (K. Schmitz) и советский бактериолог М.И. Штуцер выделили дизентерийную палочку, названную бактерией Штуцера-Шмитца. В дальнейшем этот возбудитель был отнесен к *S. dysenteriae*, серовар 2. В эту же группу включили бактерии, выделенные D. Large, A. Sachs и другими учеными.

В 1919 г. А. Кастеллани (A. Castellani) и А. Чалмерс (A.J. Chalmers) возбудителей дизентерии выделили в самостоятельный род и назвали его *Shigella* в честь К. Шига.

В 1931-1940 гг. J. Boyd описал новые разновидности дизентерийного микроба. Эти бактерии вошли в состав группы *S. boydii*.

**Таксономия и классификация шигелл.** Шигеллы относятся к типу *Proteobacteria*, классу *Gammaproteobacteria*, порядку *Enterobacteriales*, семейству *Enterobacteriaceae* и роду *Shigella*. Род *Shigella* включает 4 группы:

- серогруппа А - вид *S. dysenteriae* (15 серотипов);
- серогруппа В - вид *S. flexneri* (8 серотипов и 11 подтипов);
- серогруппа С - вид *S. boydii* (19 серотипов);
- серогруппа D - вид *S. sonnei* (1 серотип, включает 7 биохимических вариантов или хемоваров).

Представители видов *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* имеют схожие биохимические признаки, а бактерии вида *S. sonnei* отличаются от них по биохимическим свойствам. В настоящее время классификация шигелл построена с учетом их биохимических признаков и особенностей структуры О-антигена (таблица 3.1).

Таблица 3.1 - Классификация шигелл

Серогруппа	Вид	Серотип	Подтип
A	<i>S. dysenteriae</i>	1-15	-
B	<i>S. flexneri</i>	1	1a
			1b
		2	2a
			2b
		3	3a
			3b
			3c
		4	4a
			4b
		5	5a, 5b
6	-		
X-вариант	-		
Y-вариант	-		
C	<i>S. boydii</i>	1-19	-
D	<i>S. sonnei</i>	-	-

Основное внимание в классификации уделено ферментации маннита и лактозы. Группу А составляют неферментирующие маннит шигеллы, группы В и С – ферментирующие маннит шигеллы, группу D – шигеллы, ферментирующие маннит и медленно разлагающие лактозу.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Шигеллы представляют собой прямые палочки с закругленными концами размером 0,5-0,7x2-3 мкм (рисунок 3.36).

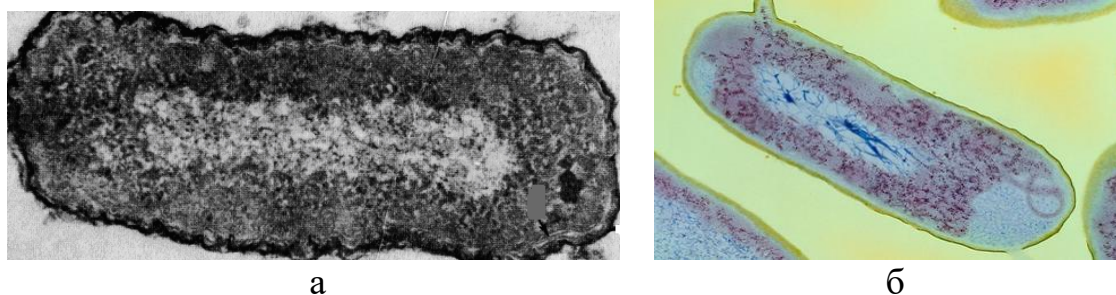


Рисунок 3.36 - Электронная фотография шигелл (а) и их компьютерная визуализация (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Шигеллы грамотрицательные - окрашиваются в красный цвет при использовании метода Грама. Неподвижные (отсутствуют жгутики). Имеют пили. Спор и капсул не образуют. Могут формировать микрокапсулу. В мазках располагаются беспорядочно одиночно (рисунок 3.37).



Рисунок 3.37 - Внешний вид шигелл, компьютерная визуализация (а) и окраска клеток по Граму (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные и биохимические свойства.** Шигеллы являются факультативными анаэробами. Оксидазаотрицательные, каталазоположительные. Они хорошо растут на простых питательных средах. Оптимальная температура роста - 37°C, рН - 6,7-7,4. На плотных средах шигеллы образуют колонии S-формы. *S. sonnei* может формировать колонии R-формы. Колонии S-формы являются мелкими, гладкими, блестящими, полупрозрачными, куполообразными. Колонии R-формы - плоские, тусклые, с шероховатой поверхностью и изрезанными краями (рисунок 3.38).

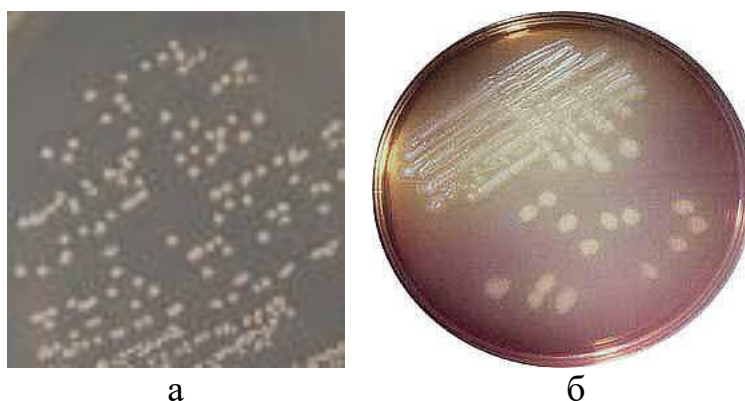


Рисунок 3.38 - Колонии шигелл S-формы (а) и R-формы (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На кровяном агаре шигеллы образуют гладкие колонии без зоны гемолиза (рисунок 3.39).

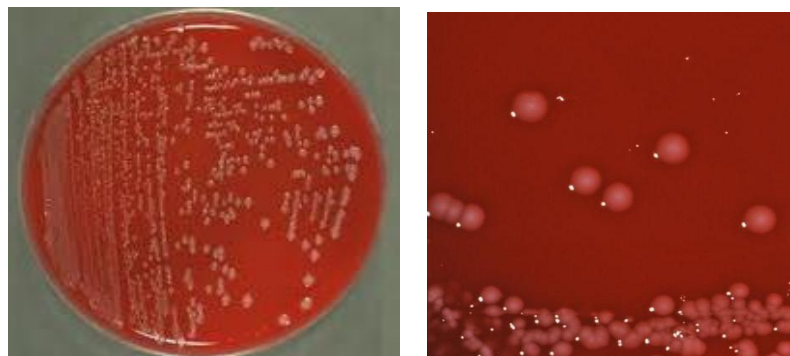


Рисунок 3.39 - Рост шигелл на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На дифференциально-диагностических содержащих лактозу средах Эндо, Левина, Плоскирева шигеллы растут в виде серовато-белых или розовых колоний, так как они не разлагают лактозу (рисунок 3.40).

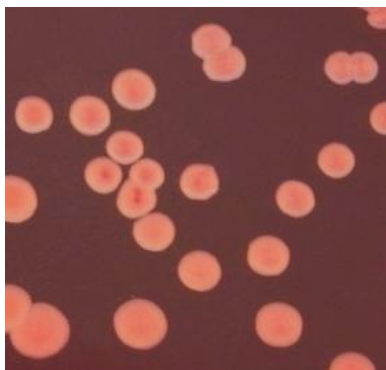


Рисунок 3.40 - Колонии *S. flexneri* на агаре Эндо. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В жидких средах шигеллы дают диффузное помутнение (S-форма) или придонный осадок (R-форма).

Шигеллы обладают слабой биохимической активностью. Для них характерны следующие биохимические особенности:

- ферментация глюкозы с образованием кислоты без газа;
- отсутствие ферментации лактозы;
- отсутствие продукции сероводорода;
- отсутствие гидролиза мочевины (отсутствие уреазы);
- отсутствие утилизации цитрата;
- положительная реакция с метиловым красным.

Желатин шигеллы не разжижают. На средах Гисса ферментация углеводов приводит к образованию кислоты и изменению цвета среды с желтого на красный. Шигеллы не ферментируют лактозу (за исключением *S. sonnei*), не образуют газ на средах с углеводами (рисунок 3.41).

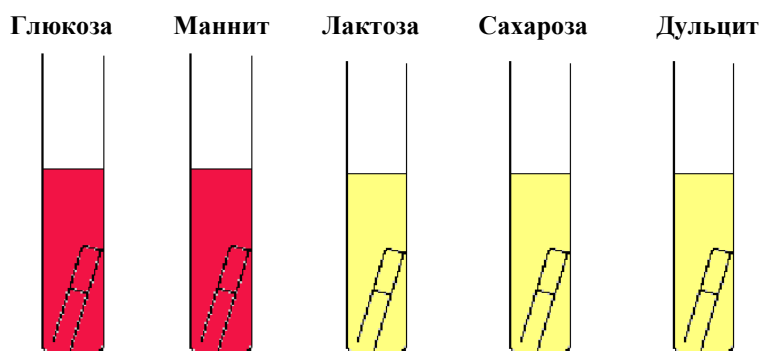


Рисунок 3.41 – Ферментация углеводов *S. flexneri*.

Биохимические свойства шигелл выявляются на дифференциально-диагностических средах. В частности, **среда Клиглера** позволяет определять способность ферментировать глюкозу и лактозу, а также образование сероводорода. Среда имеет исходный малиновый цвет. При посеве чистой культуры шигелл на



поверхность скошенного агара и вглубь столбика наблюдается пожелтение столбика среды (ферментация глюкозы), исходный малиновый цвет “язычка” скошенного агара (отсутствие разложения лактозы). Так как шигеллы не продуцируют сероводорода, то среда не чернеет (рисунок 3.42).

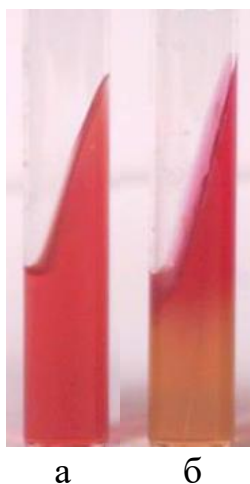


Рисунок 3.42 – Рост шигелл на среде Клиглера: а – контроль; б – *S. sonnei*.  
Займствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Двухсахарный агар (**среда Ресселя**) также позволяет изучать ферментацию лактозы и глюкозы. Среда имеет исходный зеленый цвет. Ферментация глюкозы и отсутствие разложения лактозы проявляется тем, что столбик агара приобретает желтый цвет, а “язычок” среды становится синим.

Трехсахарный агар (**среда Олькеницкого**) предназначена для определения ферментации лактозы, глюкозы, сахарозы и выявления уреазы. Готовая среда имеет красный цвет. Ферментация глюкозы и отсутствие разложения лактозы и сахарозы проявляется изменением цвета столбика среды на желтый с сохранением красного цвета “язычка” среды. Отсутствие черного преципитата указывает на то, что шигеллы не продуцируют сероводород (рисунок 3.43).



Рисунок 3.43 – Рост шигелл на среде Олькеницкого: а – контроль, б – опыт.  
Займствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Утилизацию цитрата определяют на **среде Симмонса**. Готовая среда имеет травянисто-зеленую окраску. Шигеллы не утилизируют цитрат, поэтому цвет среды не изменяется.

Реакцию с метиловым красным проводят, выращивая культуру на **среде Кларка**. Положительная реакция проявляется изменением окраски среды со светло-желтой на красную при добавлении метилового красного (рисунок 3.44).

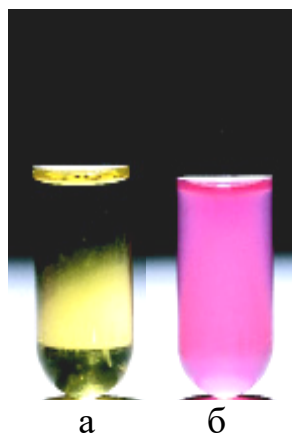


Рисунок 3.44 – Реакция с метиловым красным: а – исходная среда, б – положительная реакция. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

При исследовании биохимических свойств необходимо помнить, что некоторые штаммы *S. flexneri* расщепляют глюкозу до кислоты и газа, а *S. sonnei* способна медленно (в течение 72 часов) ферментировать лактозу. Среди шигелл встречаются как ферментирующие маннит виды (*S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. boydii*), так и виды, не ферментирующие маннит (*S. dysenteriae*).

**Резистентность.** Во внешней среде и на предметах обихода шигеллы выживают от нескольких дней до нескольких месяцев. Они хорошо переносят высушивание и низкие температуры, но быстро погибают под воздействием прямых солнечных лучей и при нагревании. Прямые солнечные лучи убивают бактерии в течение 30 минут. При температуре 60°C шигеллы погибают через 30 минут, при 100°C - мгновенно. На хлопчатобумажной ткани они выживают в течение 30-36 дней. В пробах фекалий шигеллы сохраняются не более 6-10 часов, в высохших испражнениях – до 4-5 месяцев.

Благоприятной средой для шигелл являются пищевые продукты. На фруктах и овощах шигеллы выживают до 2 недель. Наиболее устойчивыми к воздействию неблагоприятных факторов являются клетки *S. sonnei*. Они выживают в воде до 2 месяцев, а в почве – до 3 месяцев. В молоке и молочных продуктах *S. sonnei* способна не только длительно выживать, но и размножаться. Дезинфицирующие средства (гипохлориты, хлорамин, лизол и др.) в обычных концентрациях обладают бактерицидным действием. К большинству антибиотиков шигеллы чувствительны. Однако шигеллы способны приобретать R-плазмиды от других энтеробактерий и становиться устойчивыми к антимикробным препаратам. У отдельных штаммов шигелл формируется при этом множественная лекарственная устойчивость. Такие возбудители дизентерии вызывают крупные вспышки с тяжелым течением болезни.

**Антигенная структура шигелл.** Шигеллы обладают соматическим термостабильным O-антигеном и термолабильным K-антигеном. Соматический O-

**антиген** представляет собой липополисахарид клеточной стенки и является групповым. В зависимости от строения О-антигена шигеллы подразделяются на серотипы. Внутри серотипов выделяют подтипы. Серотипы обозначаются арабскими цифрами, а подтипы - арабскими цифрами с добавлением строчных латинских букв.

Капсульные **К-антигены** маскируют О-антигены и препятствуют агглютинации бактерий О-антисыворотками. К-антигены отсутствуют у шигелл Зонне и Флекснера.

**Факторы патогенности шигелл.** Основными факторами патогенности шигелл являются пили, белки наружной мембраны, инвазины, эндотоксин, экзотоксины, ферменты агрессии.

Патогенность наиболее выражена у *S. dysenteriae* серовара 1 (бактерии Григорьева-Шига), меньше у *S. flexneri* и еще меньше у других видов шигелл. Гены, кодирующие патогенность шигелл, локализованы в бактериальной хромосоме и крупных плазмидах (120-140 мДа).

**Пили и белки наружной мембраны** способствуют адгезии бактерий на эпителиальных клетках и последующей их инвазии в клетки. Колонизацию эпителия обеспечивают бактериальные ферменты, разрушающие слизь - **нейраминидаза, гиалуронидаза, муциназа.**

Способность к инвазии и межклеточному распространению связана с наличием у шигелл крупной плазмиды. Эта плазида детерминирует синтез **ира-инвазинов** BCD (invasion plasmide antigen).

**Эндотоксин** шигелл представляет собой липополисахарид клеточной стенки. Он выделяется при разрушении микробных клеток, обуславливает развитие интоксикационного синдрома. В свою очередь, ЛПС защищает бактерии от действия кислой среды желудка и желчи.

**Экзотоксины** шигелл представлены цитотоксином (токсином Шига и шига-подобным токсином) и энтеротоксинами.

**Цитотоксин** повреждает мембраны эпителиальных клеток. *S. dysenteriae* серовара 1 продуцирует белковый токсин Шига (SLT-1), остальные шигеллы продуцируют шига-подобные токсины (SLT-2). Токсин Шига кодируется хромосомным геном *stx*. Эти токсины состоят из субъединиц А и В. Субъединица В вначале связывается с гликолипидом Gb3 мембраны клетки, а затем субъединица А проникает внутрь клетки и блокирует синтез белка на рибосомах (цитотоксическое действие). Токсин Шига попадает в кровь и оказывает энтеротоксическое, нейротоксическое и нефротоксическое действие, что проявляется нарушением водно-солевого обмена, деятельности ЦНС, гибелью эпителиальных клеток толстого кишечника и поражением почечных канальцев.

**Энтеротоксины** ShET-1 и ShET-2 усиливают секрецию жидкости и солей в просвет кишечника, обуславливая диарею. Синтез токсина ShET-1 кодируется хромосомными генами. Его продуцирует только *S. flexneri* серотипа 2a. Синтез токсина ShET-2 и инвазинов кодируют плазмидные гены (рисунок 3.45).

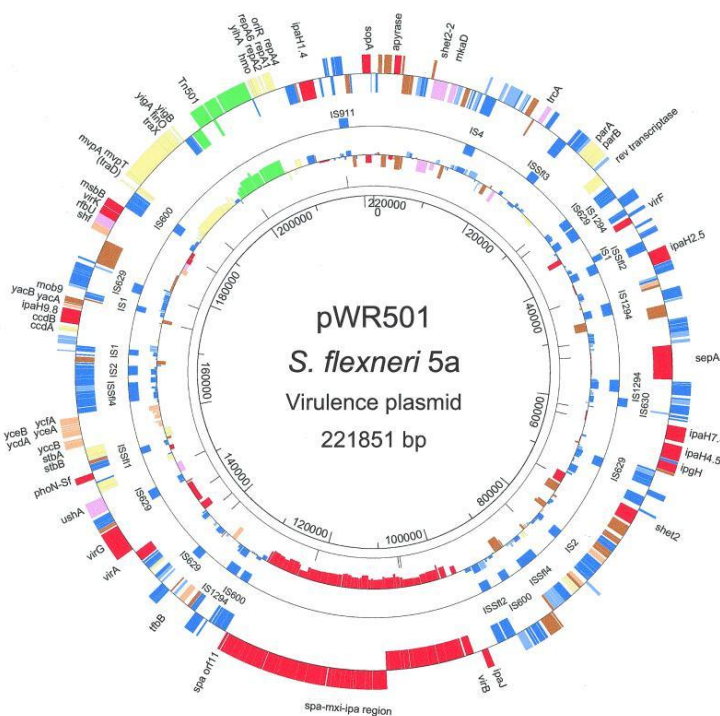


Рисунок 3.45 – Плазмида pWR501, несущая гены патогенности *S. flexneri*.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

**Патогенез.** Шигеллы, проникнув в организм через рот, частично разрушаются в желудке с высвобождением эндотоксина. Оставшиеся в живых бактерии достигают толстого кишечника, где колонизируют слизистую оболочку. Этому способствуют пили, микрокапсула, ферменты агрессии шигелл (муциназа, нейраминидаза, гиалуронидаза). Основной патологический процесс при шигеллезах развивается в дистальном отделе толстого кишечника – в сигмовидной и прямой кишках. В толстой кишке шигеллы прикрепляются к М-клеткам и проникают в них путем эндоцитоза. При этом шигелла вызывает образование на плазматической мембране эпителиальной клетки макропиноцитозных ямок (рисунок 3.46).

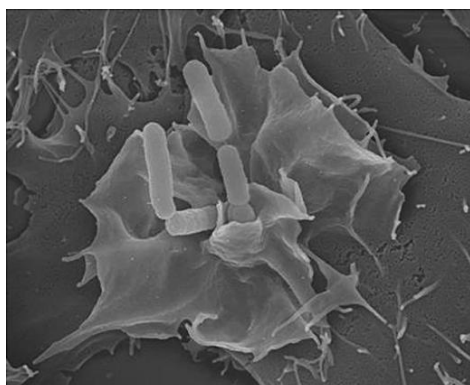


Рисунок 3.46 – Поглощение шигелл клетками эпителия с образованием макропиноцитозных ямок (P. Sansonetti, 2008 г.).

К адгезии и проникновению способны только штаммы, обладающие крупной плазмидой молекулярной массой 120-140 МД. В клетке формируется фагоцитарная

вакуоль (эндосома), внутри которой шигеллы транспортируются через М-клетку в подслизистую ткань (рисунок 3.47).

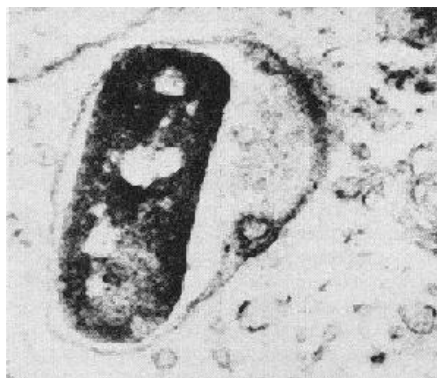


Рисунок 3.47 – Внутриклеточное расположение шигелл в эндосоме. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Проникнув через М-клетку в подслизистую, шигеллы поглощаются макрофагами. Внутри макрофагов происходит размножение шигелл (рисунок 3.48).

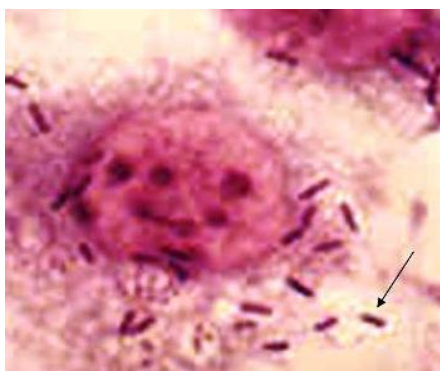


Рисунок 3.48 - Внутриклеточное размножение шигелл. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Активное размножение возбудителя в макрофагах сопровождается выделением цитокинов (ИЛ-1), вызывающих воспалительный процесс в подслизистом слое и обладающих хемотаксической активностью по отношению к моноцитам и полиморфноядерным лейкоцитам, вызывая их выход из сосудистого русла. После гибели макрофагов шигеллы проникают через базальную мембрану в другие энтероциты. Внутри энтероцитов бактерии размножаются и распространяются на соседние эпителиальные клетки через пальцеобразные выросты клеточной поверхности. Эти выросты “фагоцитируются” соседними клетками, поэтому шигеллы достигают цитоплазмы новых клеток, не выходя во внеклеточное пространство. Продвижению возбудителя из клетки в клетку способствует то, что при внутриклеточном перемещении на одном из полюсов клетки формируют хвост из коротких пучков актина, который в качестве псевдожгутика проталкивает бактерии в соседние клетки (рисунок 3.49).

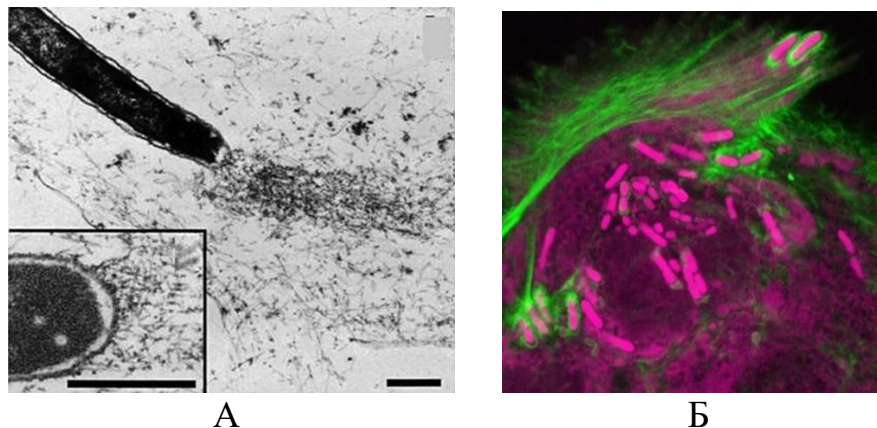


Рисунок 3.49 – А - хвост из пучков актина (P. Sansonetti, 2008 г.). Б - межклеточное перемещение шигелл (клетки розового цвета) с помощью псевдожгутиков (нити зеленого цвета).

Транслокация и внутриклеточное размножение бактерий сопровождаются высвобождением токсических субстанций (эндотоксина, токсина Шига и др.), что инициирует развитие синдрома интоксикации, который при шигеллёзе всегда предшествует развитию диарейного синдрома. Схема развития патологического процесса при шигеллёзах представлена на рисунке 3.50.

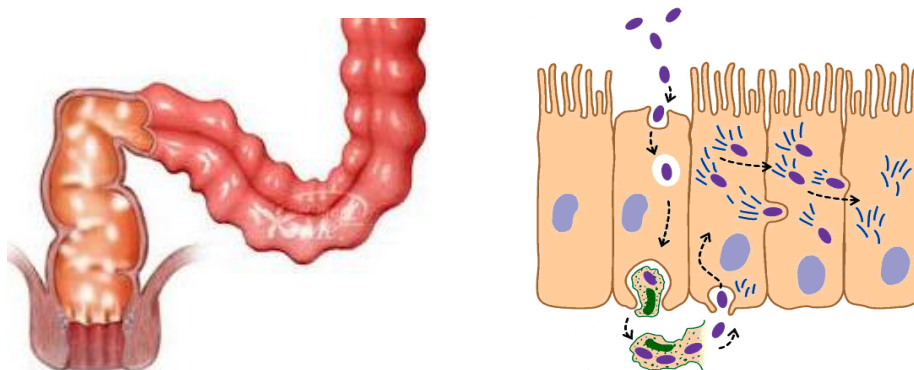


Рисунок 3.50 – Локализация патологического процесса и схема патогенеза дизентерии. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

В месте поражения развивается отек, катаральное или фибринозно-некротическое воспаление, образуются эрозии и язвы. В результате этого в испражнениях появляются слизь, кровь, гной.

Гибель шигелл приводит к выделению эндотоксина и поступлению его в кровь (эндотоксинемия). Эндотоксин вызывает интоксикацию и усиление перистальтики кишечника. Бактериемии при шигеллёзах не наблюдается. Патологический процесс ограничивается кишечником. Формирование инфекционного очага при шигеллёзах носит циклический характер, выражающийся в смене этапов: адгезия, колонизация, внедрение шигелл в энтероциты, внутриклеточное размножение возбудителя, разрушение и отторжение эпителиальных клеток, выход возбудителя в просвет кишечника и повторное инфицирование эпителия.

При хронической дизентерии ведущая роль принадлежит не интоксикации, а прогрессирующему нарушению функций желудочно-кишечного тракта.

Выздоровление при дизентерии сопровождается освобождением организма от возбудителя. Однако у части больных очищение организма от бактерий затягивается до 1 месяца и более (реконвалесцентное носительство), а иногда болезнь приобретает хроническое течение.

**Эпидемиология.** Шигеллёз является **антропонозной инфекцией с фекально-оральным механизмом** передачи. Заболевание, вызываемое *S. dysenteriae*, в основном имеет **контактно-бытовой** путь передачи возбудителя, *S. flexneri* - **водный**, а *S. sonnei* - **алиментарный**. Восприимчивость людей высокая. Заболевания распространены повсеместно, чаще всего проявляются в виде вспышек алиментарного или водного характера. Для бактериальной дизентерии характерна летне-осенняя сезонность. Инфицирующая доза при шигеллезе составляет 200-300 микробных клеток.

**Источник инфекции** – **больные** лица с острой, хронической или субклинической формами болезни и **бактерионосители**. Они выделяют возбудителя во внешнюю среду с фекалиями. Особую опасность представляют больные и бактерионосители из числа работников предприятий питания и водоснабжения. Больные дизентерией заразны с начала болезни, а иногда – с конца инкубационного периода. Длительность выделения возбудителя больными составляет 1 неделю, иногда затягивается до 2-3 недель. **Факторы передачи** – зараженная пища, вода, руки и другие объекты.

Во многих странах чаще всего выявляются шигеллы Зонне и Флекснера. Распространению шигеллезом способствует низкий уровень жизни населения, антисанитарные жилищные условия.

**Клиника.** Выделяют следующие формы и варианты течения болезни:

1. Острая дизентерия (колитический и гастроэнтероколитический варианты).

По тяжести течения выделяют легкие, среднетяжелые и тяжелые формы.

2. Хроническая дизентерия (рецидивирующая и непрерывная).

3. Бактерионосительство (реконвалесцентное и транзитное).

Основным клиническим проявлением **острой дизентерии** является колитический вариант. Инкубационный период составляет от 1 до 7 дней (в среднем - 2-3 дня). Начало заболевания острое и связано с развитием синдрома общей интоксикации. Температура тела повышается до 38-39<sup>0</sup>С. Отмечается озноб, головная боль, чувство разбитости, тошнота, рвота, режущие схваткообразные абдоминальные боли. Вначале боли носят разлитой характер, а затем локализуются в левой подвздошной области.

У больных дизентерией отмечается частый жидкий стул. Первоначально стул частый (10 раз в сутки и более) со слизью и кровью, затем - выделение небольшого количества слизи с прожилками крови и гноя - “ректальный плевок” (рисунок 3.51).

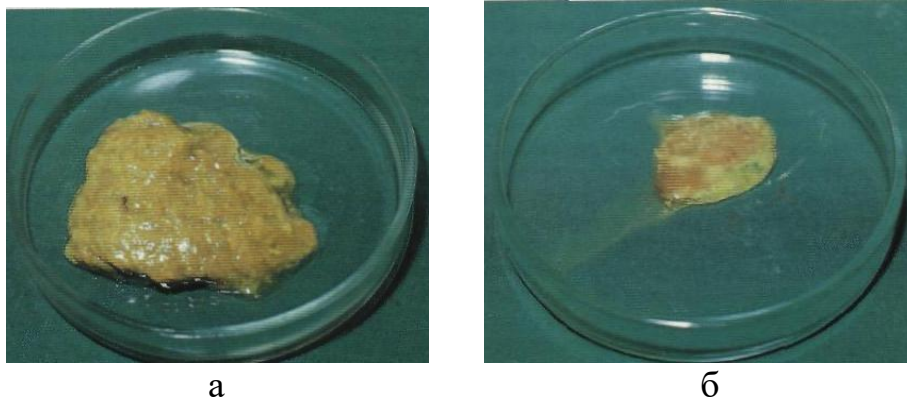


Рисунок 3.51 - Кал с примесью слизи (а) и с примесью слизи с прожилками крови (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Дефекация, как правило, не приносит облегчения. Характерны резкие коликообразные абдоминальные боли и тенезмы (ложные мучительные позывы к дефекации). Период разгара болезни продолжается от 1 до 9 дней. Полное выздоровление наступает через 3-6 недель.

Острая форма дизентерии примерно в 3% случаев переходит в **хроническую инфекцию**. Развитию хронической формы заболевания способствует внутриклеточный паразитизм шигелл. Диагноз хронического шигеллеза устанавливается в случае, когда заболевание продолжается более 3 месяцев.

Примерно в 2% случаев после острой формы заболевания формируется длительное **бактерионосительство**. Осложнениями шигеллезом являются кишечные кровотечения, прободение стенки кишечника. Часто заболевание сопровождается развитием дисбиоза. Летальность при бактериальной дизентерии в настоящее время достигает 0,3-1%. Наиболее тяжело протекает шигеллёз, вызванный *S. dysenteriae* серовара 1. *S. sonnei* вызывает заболевание в легкой форме, часто протекающее в виде бактерионосительства.

Выделение шигелл у лиц, перенесших острую дизентерию, в течение 3 месяцев при отсутствии симптомов болезни и при нормальных результатах ректороманоскопии называется **реконвалесцентным бактерионосительством**. **Транзиторное бактерионосительство** – это однократное выделение шигелл практически здоровыми лицами, не болевшими дизентерией и не имевшими дисфункций кишечника на протяжении 3 месяцев.

**Иммунитет.** В защите от шигеллезной инфекции основная роль принадлежит факторам местного иммунитета слизистой кишечника: секреторным IgA, Т-лимфоцитам, нейтрофилам. Эти факторы препятствуют адгезии шигелл на энтероцитах и способствуют их уничтожению. Исследования последних лет показали, что нейтрофилы “выбрасывают” сетевидные образования, в которых задерживаются и погибают микроорганизмы. Эти новые структуры получили название нейтрофильных экстрацеллюлярных ловушек - НЭЛ (рисунок 3.52).



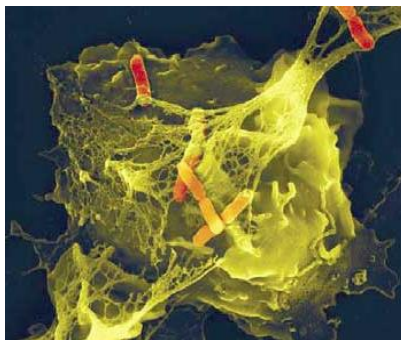


Рисунок 3.52 - Стимулированный нейтрофил с НЭЛ и “захваченными” шигеллами. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

После перенесенного заболевания формируется непродолжительный видо- и типоспецифический иммунитет. Возможны повторные заболевания.

**Диагностика.** Лабораторная диагностика шигеллезов включает следующие методы:

1. Экспресс-методы - РНГА, РКоА, РИФ.
2. Бактериологический (культуральный) метод:
  - посев на среды Плоскирева, Левина, Эндо;
  - выделение чистой культуры (пересев типичных колоний на среду Олькеницкого, агар Клиглера, цитратный агар Симмонса, среду Кларка);
  - изучение свойств чистой культуры (окраска по Граму, ферментативные свойства, антибиотикограмма, чувствительность к фагу).
3. Серологические методы (РА, РНГА).

Основным методом диагностики является бактериологический (культуральный), который позволяет выделить чистую культуру возбудителя и изучить ее свойства.

**Материалом для исследования** служат испражнения, пищевые продукты, иногда – рвотные массы. Для исследования отбирают слизисто-гнилые массы. Фекалии можно отбирать непосредственно из прямой кишки с помощью ватного тампона или специальных ректальных трубок Цимана (рисунок 3.53).

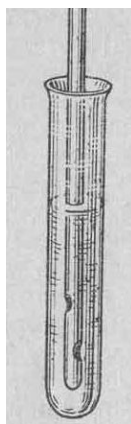


Рисунок 3.53 – Стерильная пробирка с консервирующей жидкостью и ректальной трубкой. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Слизь (гной) из мест поражения слизистой оболочки можно получать непосредственно во время колоноскопии.

Для отбора соскоба эпителиальных клеток используют петлю, которую вводят в прямую кишку на 10-20 см. Полученный соскоб со слизистой оболочки прямой кишки помещают в среду 199 с лизоцимом и инкубируют в термостате при 37°C в течение 3-6 часов, после чего центрифугат высевают на питательные среды. Посуду, используемую для отбора материала, не обрабатывают дезинфицирующими растворами, так как шигеллы чувствительны ко многим дезсредствам.

**В первый день** отобранный материал непосредственно у постели больного высевают в среду обогащения (селенитовый бульон) и в чашки Петри на лактозосодержащие дифференциальные плотные питательные среды (Плоскирева, Левина, Эндо). При невозможности посева материала на дифференциальные среды в течение первых двух часов используют консервант (глицериновая смесь, буферный раствор фосфорнокислых солей, желчный бульон, селенитовый бульон). Для посева используют слизисто-гнойные комочки испражнений.

**На второй день** среди выросших колоний отбирают мелкие прозрачные бесцветные колонии, культуру из которых микроскопируют, исследуют на подвижность и пересевают на среду Олькеницкого для выделения чистой культуры. С культурой из типичных колоний проводят ориентировочную реакцию агглютинации на стекле со смесью сывороток Флекснера и Зонне.

**На третий день** учитывают характер роста культуры на среде Олькеницкого (столбик агара желтого цвета, скошенная часть агара не изменена, почернение отсутствует). Полученную чистую культуру исследуют по биохимическим свойствам (посев в среды Гисса).

**На четвертый день** учитывают результаты определения биохимических свойств выделенной культуры.

Для изучения биохимической активности применяют также энтеротесты или энтеротубы. В частности, набор ЭНТЕРОтест 24 представляет собой пластмассовые пластинки с ячейками, содержащими высушенные питательные среды и субстраты для 24 тестов (рисунок 3.54).

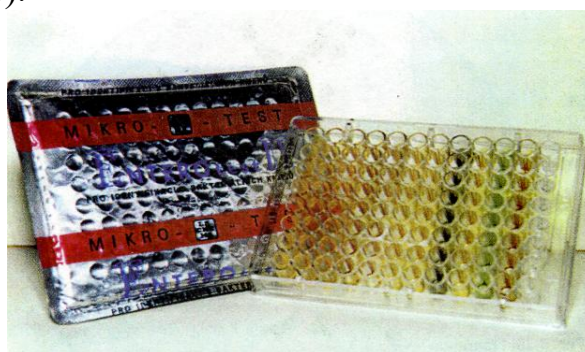


Рисунок 3.54 - Энтеротест. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Тест-система Enterotube-II (рисунок 3.55) представляет собой прозрачную пластиковую трубку с отдельными отсеками, заполненными специальными средами.



Рисунок 3.55 - Тест-система Enterotube-II. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Выделенные культуры шигелл идентифицируют до вида и серовара, культуры *S. flexneri* - до подтипов, а культуры *S. sonnei* - до хемоваров. В таблице 3.2 представлены биохимические свойства шигелл.

Таблица 3.2 – Биохимические свойства шигелл

Вид	Ферментация углеводов						Индол	Каталаза
	лактоза	глюкоза	мальтоза	маннит	дульцит	сахароза		
<i>S. dysenteriae</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>S. flexneri</i>	-	+	+	+	+	-	-	-
<i>S. boydii</i>	-	+	±	+	+	-	+	-
<i>S. sonnei</i>	+	+	+	+	-	+	-	+
	медленно					медленно		

Для установления видовой принадлежности возбудителя используют реакцию агглютинации (РА) на стекле, которую сначала ставят с видовыми сыворотками Зонне и Флекснера, и при выделении палочки Флекснера – с типовыми сыворотками. Для этого используют коммерческие поливалентные и моновалентные диагностические агглютинирующие сыворотки.

Для быстрого обнаружения антигенов шигелл в исследуемом материале применяют реакцию коаггутинации (РКоА), реакцию иммунофлюоресценции (РИФ), иммуноферментный анализ (ИФА), реакция агглютинации латекса (РАЛ), полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

Реакцию коаггутинации (РКоА) используют для определения вида шигелл. Эту реакцию можно проводить уже на второй день исследования при наличии на среде достаточного количества лактозонегативных колоний. С этой целью на типичную колонию наносят каплю протеина А стафилококка, сенсibilизированного антителами против шигелл. Чашку осторожно покачивают и через 15 минут под микроскопом наблюдают появление агглютината.

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ) может быть использована как для обнаружения возбудителя в фекалиях, так и для идентификации чистой культуры (рисунок 3.56).

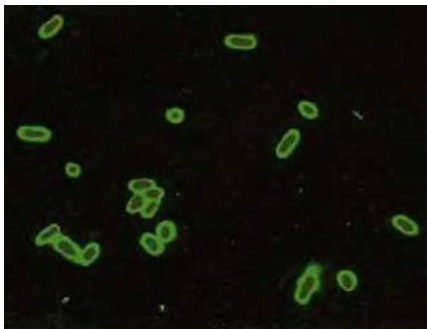


Рисунок 3.56 - РИФ с культурой *S. flexneri*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

С целью выявления антител к шигеллам применяют реакцию непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА, РПГА). Для этой цели используют коммерческие эритроцитарные диагностикумы. Диагностически достоверным считается увеличение не менее чем в 4 раза титра антител в парных сыворотках, взятых с интервалом 8-10 дней.

Для эпидемиологических целей проводят колициногенотипирование, колицинотипирование, фаготипирование, определение плазмидного профиля. Колициногенотипирование направлено на определение способности шигелл синтезировать специфические колицины с помощью наборов типовых и индикаторных штаммов. Колицинотипирование – это определение чувствительности шигелл к известным колицинам. Для этих целей используют набор эталонных колициногенных штаммов.

Вспомогательное диагностическое значение имеет внутрикожная **аллергическая проба** с дизентерином Цуверкалова (раствор белковых фракций шигелл Флекснера и Зонне). Реакцию учитывают через 24 часа после введения препарата. Она становится положительной с 4 дня болезни. При наличии гиперемии и инфильтрата диаметром 35 мм реакция считается сильно выраженной, при 20-34 мм – умеренной, при 10-15 мм - сомнительной. В настоящее время эта реакция **практически не используется**.

Для установления принадлежности выделенных культур к роду шигелл и для оценки инвазивных свойств выделенных культур в исследовательских лабораториях используют **кератоконъюнктивальную пробу** на морских свинках: введение в конъюнктивальный мешок небольшого количества агаровой или бульонной культуры приводит к развитию через 2-5 суток серозно-гнойного кератоконъюнктивита. Эта проба также **не используется в клинических лабораториях**.

В диагностике шигеллезов применяют инструментальные методы, в частности **ректороманоскопию**. Патологоанатомические изменения при дизентерии наиболее выражены в дистальном отделе толстой кишки. В начале заболевания на слизистой оболочке толстой кишки обнаруживается острое катаральное воспаление, затем – фибринозно-некротическое воспаление, переходящее в стадию образования язв. Язвы при дизентерии чаще всего поверхностные. Заживление язв протекает очень медленно.

**Лечение.** Для лечения используют бактериофаг, антибиотики после определения антибиотикограммы; в случае возникновения дисбактериоза - препараты пробиотиков для коррекции микрофлоры кишечника.

Бактериофаг дизентерийный поливалентный (Дизфаг) выпускается в жидком виде, в таблетках с кислотоустойчивым покрытием, свечах. Жидкий препарат представляет собой стерильный фильтрат фаголизатов *S. flexneri* типов 1, 2, 3, 4 и 6 и *S. sonnei*. Применяется внутрь или ректально для лечения больных бактериальной дизентерией (с 6-месячного возраста), санации реконвалесцентов (бактерионосителей) и профилактики шигеллеза (рисунок 3.57).



Рисунок 3.57 - Дизентерийный поливалентный бактериофаг.

В легких случаях назначают симптоматическое лечение (восстановление водного баланса), в тяжелых случаях – антибиотики. Обязательно учитывают антибиотикограммы выделенных культур. Наиболее эффективными антибиотиками являются фторхинолоны (ципрофлоксацин, офлоксацин, норфлоксацин), ампициллин, тетрациклины, цефалоспорины III поколения (цефтриаксон, цефтибутен), аминогликозиды (гентамицин, сизомицин, тобрамицин, амикацин), препараты нитрофуранового ряда (фуразолидон, фурадонин, фурагин), комбинированные сульфаниламиды (рисунок 3.58).



Рисунок 3.58 - Антибактериальные препараты для лечения дизентерии.

Для лечения хронических форм дизентерии вне обострения в прошлом широко использовалась **вакцина Чернохвостова**, представляющая собой инактивированные этиловым спиртом шигеллы. Она вводилась подкожно в подлопаточную область. Для этих же целей применялась и энтеральная живая вакцина (**иммуноген**). Лечебное действие вакцины заключается в усилении иммуногенеза и десенсибилизации. В настоящее время эти препараты **не используются**.

Для коррекции дисбиотических нарушений применяют пробиотические препараты (бифидобактерин, колибактерин, бификол, бактисубтил и др.).

Госпитализации подлежат лица с тяжелым течением, люди пожилого возраста, дети до 1 года, лица с тяжелыми сопутствующими заболеваниями. Выписка больного из стационара осуществляется после трехкратного отрицательного результата бактериологического исследования.

**Профилактика.** Плановая специфическая профилактика при шигеллезах не проводится. По эпидемическим показаниям (работа в баклабораториях, в сфере общественного питания, выезд в регионы с высоким уровнем заболеваемости дизентерией) используется вакцина Шигеллвак. Она представляет собой раствор липополисахарида *S. sonnei*, очищенного физико-химическими методами. Через 2-3 недели после введения вакцины обеспечивается невосприимчивость к инфекции в течение 1 года. Вакцина вводится подкожно или внутримышечно однократно. Возможна ежегодная ревакцинация (рисунок 3.59).



Рисунок 3.59 - Вакцина Шигеллвак.

Для экстренной профилактики дизентерии в очагах инфекции применяют дизентерийный бактериофаг.

Неспецифическая профилактика предусматривает раннее выявление больных и бактерионосителей, соблюдение санитарно-гигиенических правил приготовления, хранения и реализации пищевых продуктов, контроль качества питьевой воды, соблюдение правил личной гигиены, санитарно-просветительную работу среди населения.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение и классификация шигелл.
2. Морфологические и тинкториальные признаки шигелл.
3. Культуральные и биохимические свойства шигелл.
4. Факторы патогенности шигелл.
5. Патогенез и клиника шигеллезов.
6. Лабораторная диагностика шигеллезов.
7. Профилактика и лечение шигеллезов.

### Тренировочные тесты

1. Возбудители бактериальной дизентерии относятся к роду, названному в честь (один правильный ответ):

1.1 А. Шантемесса

1.2 К. Шига

1.3 С. Флекснера

1.4 Т. Эшериха

1.5 К. Зонне

2. Возбудители бактериальной дизентерии относятся к роду (один правильный ответ):

2.1 *Escherichia*

2.2 *Shigella*

2.3 *Salmonella*

2.4 *Yersinia*

2.5 *Klebsiella*

3. Род шигелл включает виды (несколько правильных ответов):

3.1 *S. dysenteriae*

3.2 *S. flexneri*

3.3 *S. boydii*

3.4 *S. sonnei*

3.5 *S. newcastle*

4. К возбудителям бактериальной дизентерии относятся (несколько правильных ответов):

4.1 *S. dysenteriae*

4.2 *S. flexneri*

4.3 *S. typhi*

4.4 *S. paratyphi*

4.5 *S. boydii*

5. *Shigella flexneri* вызывает (один правильный ответ):

5.1 брюшной тиф

5.2 паратиф

5.3 дизентерию

5.4 сальмонеллез

5.5 чуму

6. Возбудителем дизентерии является (один правильный ответ):

6.1 *S. sonnei*

6.2 *S. paratyphi A*

6.3 *E. coli*

6.4 *S. typhi*

6.5 *Y. pestis*

7. Возбудителями бактериальной дизентерии являются (несколько правильных ответов):

7.1 *S. dysenteriae*

7.2 *S. flexneri*

7.3 *S. boydii*

7.4 *S. sonnei*

7.5 *S. typhi*

8. Видовую принадлежность шигелл определяют по следующим признакам (несколько правильных ответов):

8.1 морфологические

8.2 тинкториальные

8.3 ферментативная активность

8.4 особенности О-антигенов

8.5 особенности Н-антигенов

9. Наиболее вирулентной для человека является (один правильный ответ):

9.1 *S. dysenteriae*

9.2 *S. flexneri* серотип 1

9.3 *S. flexneri* серотип 4

9.4 *S. boydii*

9.5 *S. sonnei*

10. Селективной средой для выделения шигелл является (один правильный ответ):

10.1 МПА

10.2 висмут-сульфитный агар

10.3 среда Плоскирева

10.4 среда Левенштейна-Йенсена

10.5 молочный агар

11. Для шигелл характерно (несколько правильных ответов):

11.1 наличие оксидазной активности

11.2 отсутствие оксидазной активности

11.3 окраска колоний в желтый цвет

11.4 образование слизистого налета на поверхности среды

11.5 отсутствие разложения лактозы

12. Для выделения шигелл из фекалий используют питательные среды (несколько правильных ответов):

12.1 Эндо

12.2 висмут-сульфитный агар

12.3 Плоскирева

12.4 желточно-солевой агар

12.5 щелочной агар

13. Возбудители бактериальной дизентерии (один правильный ответ):



- 13.1 строгие анаэробы
  - 13.2 микроаэрофилы
  - 13.3 термофилы
  - 13.4 не требовательны к питательным средам
  - 13.5 нуждаются в дополнительных факторах роста
14. Для шигелл характерно (один правильный ответ):
- 14.1 отсутствие подвижности
  - 14.2 образование спор
  - 14.3 наличие жгутиков
  - 14.4 образование сероводорода
  - 14.5 гидролиз мочевины
15. Для шигелл характерно (несколько правильных ответов):
- 15.1 образование спор
  - 15.2 отсутствие жгутиков
  - 15.3 положительная окраска по Граму
  - 15.4 наличие выраженной капсулы
  - 15.5 отрицательная окраска по Граму
16. Шигеллы относятся к (несколько правильных ответов):
- 16.1 представителям нормальной микробиоты кишечника
  - 16.2 условно-патогенным микроорганизмам
  - 16.3 патогенным микроорганизмам
  - 16.4 сапрофитам
  - 16.5 возбудителям кишечных инфекций
17. Для бактериальной дизентерии характерно (несколько правильных ответов):
- 17.1 зоонозная инфекция
  - 17.2 кишечная инфекция
  - 17.3 воздушно-капельная инфекция
  - 17.4 природно-очаговая инфекция
  - 17.5 регистрируется во всех возрастных группах
18. К факторам патогенности шигелл относятся (несколько правильных ответов):
- 18.1 жгутики
  - 18.2 белки наружной мембраны
  - 18.3 пили
  - 18.4 эритрогенный токсин
  - 18.5 эндотоксин
19. Механизм действия токсина Шига (один правильный ответ):
- 19.1 образование пор в мембране клеток
  - 19.2 ингибирование синтеза белка на рибосомах
  - 19.3 нарушение целостности ЦПМ
  - 19.4 активирование аденилатциклазной системы

## 19.5 блокирование передачи нервных импульсов

20. Источники инфекции при бактериальной дизентерии (несколько правильных ответов):

- 20.1 дикие животные
- 20.2 больные с острыми формами
- 20.3 больные с хроническими формами
- 20.4 бактерионосители
- 20.5 домашние животные

21. Источники инфекции при шигеллезе (один правильный ответ):

- 21.1 птицы
- 21.2 грызуны
- 21.3 больные люди
- 21.4 домашние животные
- 21.5 дикие животные

22. Пути передачи при бактериальной дизентерии (один правильный ответ):

- 22.1 воздушно-пылевой
- 22.2 алиментарный
- 22.3 трансплацентарный
- 22.4 трансмиссивный
- 22.5 воздушно-капельный

23. Пути передачи при бактериальной дизентерии (несколько правильных ответов):

- 23.1 воздушно-пылевой
- 23.2 алиментарный
- 23.3 контактно-бытовой
- 23.4 трансплацентарный
- 23.5 половой

24. Инфицирование шигеллами происходит при (несколько правильных ответов):

- 24.1 трансфузиях
- 24.2 несоблюдении правил личной гигиены
- 24.3 употреблении в пищу некачественной воды
- 24.4 травмировании кожи
- 24.5 инъекциях

25. Наиболее частый путь инфицирования шигеллами Флекснера (один правильный ответ):

- 25.1 контактно-бытовой
- 25.2 водный
- 25.3 пищевой
- 25.4 половой
- 25.5 трансплацентарный

26. Наиболее частый путь инфицирования шигеллами Зонне (один правильный ответ):

- 26.1 пищевой
- 26.2 водный
- 26.3 контактный
- 26.4 шприцевой
- 26.5 трансмиссивный

27. Для бактериальной дизентерии характерно (несколько правильных ответов):

- 27.1 образование карбункула
- 27.2 воспаление слизистой толстой кишки
- 27.3 формирование бактерионосительства
- 27.4 внутриклеточное размножение возбудителя
- 27.5 бактериемия

28. Входными воротами для *Shigella sonnei* является (один правильный ответ):

- 28.1 поврежденная кожа
- 28.2 слизистая мочеполового тракта
- 28.3 желудочно-кишечный тракт
- 28.4 слизистая верхних дыхательных путей
- 28.5 конъюнктив

29. Продолжительность инкубационного периода при дизентерии (один правильный ответ):

- 29.1 6 - 8 часов
- 29.2 24 - 48 часов
- 29.3 2 - 4 дня
- 29.4 1 - 2 недели
- 29.5 1 - 6 месяцев

30. Возбудитель дизентерии в организме больного (несколько правильных ответов):

- 30.1 поражает слизистую ротовой полости
- 30.2 поражает слизистую тонкого кишечника
- 30.3 находится внутри эпителия толстого кишечника
- 30.4 поражает слизистую толстого кишечника
- 30.5 циркулирует в крови

31. Место локализации патологического процесса при дизентерии (один правильный ответ):

- 31.1 тонкий кишечник
- 31.2 толстый кишечник
- 31.3 желудок
- 31.4 печень
- 31.5 легкие

32. Язвенно-некротический процесс в нисходящем отделе толстой кишки вызывает (один правильный ответ):

32.1 ЭПКП

32.2 *S. typhi*

32.3 *S. typhimurium*

32.4 *S. dysenteriae*

32.5 *V. cholerae*

33. Возбудитель дизентерии в организме больного (один правильный ответ):

33.1 проникает через слизистую тонкого кишечника

33.2 разносится с током крови в паренхиматозные органы

33.3 образует язвы на слизистой толстого кишечника

33.4 проникает в кровь

33.5 поражает печень

34. После заболевания бактериальной дизентерией развивается иммунитет (несколько правильных ответов):

34.1 пожизненный

34.2 непродолжительный

34.3 нестерильный

34.4 видоспецифический

34.5 типоспецифический

35. Исследуемый материал при диагностике бактериальной дизентерии (один правильный ответ):

35.1 ликвор

35.2 кровь

35.3 моча

35.4 кал

35.5 желчь

36. Основной метод микробиологической диагностики дизентерии (один правильный ответ):

36.1 бактериоскопический

36.2 биологический

36.3 культуральный

36.4 серологический

36.5 аллергический

37. При диагностике дизентерии испражнения высевают на среду (один правильный ответ):

37.1 щелочной агар

37.2 Плоскирева

37.3 желточно-солевой агар

37.4 кровяной агар

37.5 молочный агар

38. Неспецифическая профилактика дизентерии предусматривает (один правильный ответ):

38.1 вакцинацию

38.2 прием антибиотиков

38.3 соблюдение личной гигиены

38.4 прием сульфаниламидов

38.5 использование бактериофага

39. При лечении бактериальной дизентерии используют (несколько правильных ответов):

39.1 убитую вакцину

39.2 антибиотики

39.3 живую вакцину

39.4 пробиотики

39.5 специфический бактериофаг

Правильные ответы: 1.2; 2.2; 3.1, 3.2, 3.3, 3.4; 4.1, 4.2, 4.5; 5.3; 6.1; 7.1, 7.2, 7.3, 7.4; 8.3, 8.4; 9.1; 10.3; 11.2, 11.5; 12.1, 12.3; 13.4; 14.1; 15.2, 15.5; 16.3, 16.5; 17.2, 17.5; 18.2, 18.3, 18.5; 19.2; 20.2, 20.3, 20.4; 21.3; 22.2; 23.2, 23.3; 24.2, 24.3; 25.2; 26.1; 27.2, 27.3, 27.4; 28.3; 29.3; 30.3, 30.4; 31.2; 32.4; 33.3; 34.2, 34.4, 34.5; 35.4; 36.3; 37.2; 38.3; 39.2, 39.4, 39.5.

### 3.1.3. Сальмонеллы

Сальмонеллы являются возбудителями брюшного тифа, паратифов А, В, С и других сальмонеллезов. Брюшной тиф известен со времен Гиппократ. Название болезни происходит от слова *tymphos*, означающего “дым”, “туман”. Этим термином обозначали все лихорадочные заболевания, сопровождающиеся помрачением сознания (брюшной тиф, сыпной тиф). Классическое подробное описание брюшного тифа представил С. П. Боткин в 1868 г. (рисунок 3.60).



Рисунок 3.60 - Сергей Петрович Боткин (1832-1889 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1880 г. немецкий патолог и бактериолог К. Ж. Эберт (рисунок 3.61) обнаружил микробные клетки в пейеровых бляшках, селезенке и лимфатических узлах человека, умершего от брюшного тифа. Обнаруженный возбудитель получил название палочки Эберта.



Рисунок 3.61 - Карл Жозеф Эберт (Karl-Joseph Eberth, 1835-1926 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Чистую культуру возбудителя брюшного тифа выделил в 1884 г. немецкий микробиолог и эпидемиолог Г. Гаффки (рисунок 3.62). В связи с этим возбудитель заболевания длительное время назывался палочкой Эберта-Гаффки.



Рисунок 3.62 - Георг Гаффки (Georg Theodor August Gaffky, 1850-1918 гг.).  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1885 году американский ветеринарный врач Д. Е. Сальмон (рисунок 3.63) выделил из органов животных, павших от холеры свиней, бактерии, которые по своим свойствам напоминали палочку Эберта-Гаффки. Выделенные бактерии получили название *Bacterium choleraesuis*. В настоящее время этот возбудитель известен под названием *Salmonella Choleraesuis*.



Рисунок 3.63 - Даниель Сальмон (Daniel Elmer Salmon, 1850-1914 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1887 г. русский врач Моисей-Аарон Иосифович Вильчур установил бактериемию при брюшном тифе и выделил брюшнотифозную палочку из крови больного человека. С тех пор получение гемокультуры является одним из основных методов в диагностике брюшного тифа.

В 1888 году немецкий бактериолог А. Гартнер (рисунок 3.64) во время вспышки кишечной инфекции выделил идентичные бактерии из мяса вынужденно забитой коровы и селезенки умершего человека, употреблявшего это мясо. Выделенный возбудитель получил название палочки Гартнера.



Рисунок 3.64 - Август Гартнер (August Gärtner, 1848 – 1934 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1891 г. немецкий бактериолог Ф. Лёффлер (рисунок 3.65) открыл возбудителя тифа мышей, известного в настоящее время как *Salmonella typhimurium* (палочка Бреслау).



Рисунок 3.65 - Фридрих Лёффлер (Friedrich August Johannes Löffler, 1852-1915 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1894 г. американский бактериолог Т. Смит (рисунок 3.66) подробно описал возбудителя холеры свиней (*Salmonella choleraesuis*).



Рисунок 3.66 - Теобальд Смит (Theobald Smith, 1859 - 1934 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.



В 1896 г. немецкий гигиенист М. Грубер (Max Gruber, 1853-1927 гг.) установил феномен агглютинации брюшнотифозных бактерий специфической сывороткой, а французский терапевт и инфекционист Ж. Ф. Видадь (рисунок 3.67) проверил эту реакцию на большом клиническом материале. Разработанная Ж. Видадем развернутая реакция агглютинации для диагностики брюшного тифа получила название реакции Видаля или Грубер-Видалевской реакции.



Рисунок 3.67 - Жорж Фернанд-Изидор Видадь (Georges Fernand-Isidore Widal, 1862 - 1929 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1896 г. французские врачи Э. Ашар (рисунок 3.68) и Рауль Бенсод (Raoul Bensaude, 1866-1938 гг.) описали 2 случая заболевания, напоминающего по клинической картине брюшной тиф. Однако выделенные возбудители не агглютинировались сыворотками крови больных брюшным тифом, хотя имели схожие с брюшнотифозной палочкой морфологические и культуральные свойства. Это заболевание авторы назвали паратифом.



Рисунок 3.68 – Эмиль Чарльз Ашар (Emile Charles Achard, 1860 – 1944 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1900 г. немецкий терапевт и бактериолог Х. Шотмюллер (рисунок 3.69) во время эпидемии кишечной инфекции, напоминающей брюшной тиф, выделил бактерии, также отличающиеся по агглютинации от брюшнотифозных палочек.



Рисунок 3.69 - Хуго Шоттмюллер (Hugo Schottmüller, 1867-1936 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Подробное изучение этих бактерий показало, что они идентичны культурам, выделенным Э. Ашаром и Р. Бенсодом. Аналогичные бактерии описали в 1902 г. французские ученые А. Брион (A. Brion) и Х. Кайзер (H. Kayser). Тщательное изучение этих бактерий позволило разделить их на 2 вида - *S. Paratyphi* А (палочка Бриона-Кайзера) и *S. Paratyphi* В (*S. schottmülleri*). Эти бактерии являются возбудителями паратифов. Паратифы А и В схожи с брюшным тифом по патогенезу, клиническим проявлениям и эпидемиологии.

В 1915 г. польский микробиолог Л. Хиршфельд (рисунок 3.70) описал возбудителя паратифа С (*S. Paratyphi* С, *S. hirschfeldii*).



Рисунок 3.70 - Людвиг Хиршфельд (Ludwik Hirszfild, 1884 - 1954 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1900 году возбудителям брюшного тифа и паратифов было присвоено родовое название *Salmonella*. В настоящее время число представителей рода *Salmonella* превысило 2500.

По данным Роспотребнадзора, в 2009 г. в Российской Федерации было зарегистрировано 44 случая брюшного тифа, в 2010 г. - 49 случаев, в 2011 г. - 41

случай. В то же время заболеваемость другими сальмонеллезами в Российской Федерации в 2009 г. составила 49962 случая, а в 2010 г. - 50788 случаев.

**Классификация** сальмонелл. Сальмонеллы относятся к типу *Proteobacteria*, классу *Gamma proteobacteria*, порядку *Enterobacteriales*, семейству *Enterobacteriaceae*, роду *Salmonella*. Первые выделенные сальмонеллы получали название болезни, которую они вызывали (*S. typhi*, *S. paratyphi*), название страны (*S. brasil*, *S. canada*), города (*S. hamburg*, *S. moscov*) или конкретного места выделения культуры (квартала, улицы). Согласно современной классификации, основанной на строении ДНК, род *Salmonella* состоит из двух видов - вида *S. enterica* и вида *S. bongori*. В состав вида *S. enterica* включены все сальмонеллы, являющиеся возбудителями заболеваний человека и теплокровных животных. Этот вид объединяет 6 подвигов:

- подвид I - *S. enterica* (*S. enterica* subsp. *enterica*);
- подвид II - *S. salamae* (*S. enterica* subsp. *salamae*);
- подвид IIIa - *S. arizonae* (*S. enterica* subsp. *arizonae*);
- подвид IIIb - *S. diarizonae* (*S. enterica* subsp. *diarizonae*);
- подвид IV - *S. houtenae* (*S. enterica* subsp. *houtenae*);
- подвид VI - *S. indica* (*S. enterica* subsp. *indica*).

Каждый из этих подвигов включает множество серотипов, а каждый серотип объединяет десятки, сотни, а то и тысячи штаммов. Большинство патогенных для человека сальмонелл принадлежит к подвиду *enterica*.

Вид *S. bongori* ранее относили к подвиду V вида *S. enterica*. В настоящее время этот вид объединяет сальмонелл, выделенных от холоднокровных животных. Представители этого вида не являются патогенными для человека.

Название серовара сальмонелл пишется с заглавной буквы, а обозначение подвида или серотипа – с прописной буквы. Например, серовар *Salmonella Typhi*, но *Salmonella enterica* подвид *enterica* серотип *typhi*. В частности, полные названия возбудителей брюшного тифа и паратифов следующие:

- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi*;
- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Paratyphi A*;
- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Paratyphi B*;
- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Paratyphi C*.

На практике для обозначения сальмонелл часто применяют более короткие названия, например, *Salmonella heidelberg*, *Salmonella newport*.

В 1934 г. Ф. Кауфман и П. Уайт предложили распределять все штаммы сальмонелл по антигенной структуре. В соответствии с этой классификацией сальмонеллы по строению О-антигена распределены на серогруппы. Серогруппы обозначаются заглавными латинскими буквами (А, В, С и т. д.). Внутри серогрупп сальмонеллы распределяются на серовары. По строению Н-антигена сальмонеллы распределены на две фазы: фаза 1 (специфическая) и фаза 2 (неспецифическая). Фрагмент классификации сальмонелл по антигенной структуре представлен в таблице 3.3.

Таблица 3.3 - Фрагмент классификации сальмонелл по антигенной структуре по Кауфману-Уайту

Серогруппа	Название серовара	Антиген		
		О	H	
			фаза 1	фаза 2
A	<i>S. Paratyphi A</i>	1, 2, 12	a	-
B	<i>S. Derby</i>	1, 4, 5, 12	f, g	1, 2
	<i>S. Haifa</i>	1, 4, (5), 12	z <sub>10</sub>	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
C <sub>1</sub>	<i>S. Infantis</i>	6, 7	r	1, 5
	<i>S. Choleraesuis</i>	6, 7	c	1, 5
	<i>S. Virchow</i>	6, 7	r	1, 5
C <sub>2</sub>	<i>S. Newport</i>	6, 8	eh	1, 2
D	<i>S. Dublin</i>	1, 9, 12 (vi)	g, p	-
	<i>S. Enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m	-
	<i>D. Panama</i>	1, 9, 12	e, v	1, 5
	<i>S. Typhi</i>	9, 12 (vi)	d	-
E <sub>1</sub>	<i>S. Anatum</i>	3, 10	ch	1, 6

Патогенные для человека сальмонеллы принадлежат в основном к серогруппам А-Д. По состоянию на 2007 г. схема Кауфмана-Уайта насчитывала 2579 серологических вариантов сальмонелл (таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Количество серологических вариантов сальмонелл

Вид	Подвид	Количество сероваров
<i>S. enterica</i>	Всего	2557
	в том числе:	
	<i>S. enterica subsp. enterica</i>	1531
	<i>S. enterica subsp. salamae</i>	505
	<i>S. enterica subsp. arizonae</i>	99
	<i>S. enterica subsp. diarizonae</i>	336
	<i>S. enterica subsp. houtenae</i>	73
<i>S. enterica subsp. indica</i>	13	
<i>S. bongori</i>	<i>S. bongori subsp. bongori</i>	22
Всего		2579

Диагностическим лабораториям в обычной практике рекомендовано пользоваться сокращенными названиями сероваров, например, *Salmonella Typhi* или *Salmonella Typhimurium*.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Сальмонеллы представляют собой короткие грамотрицательные палочки с закругленными концами размером 0,7-1,5х2-5 мкм (рисунок 3.71).

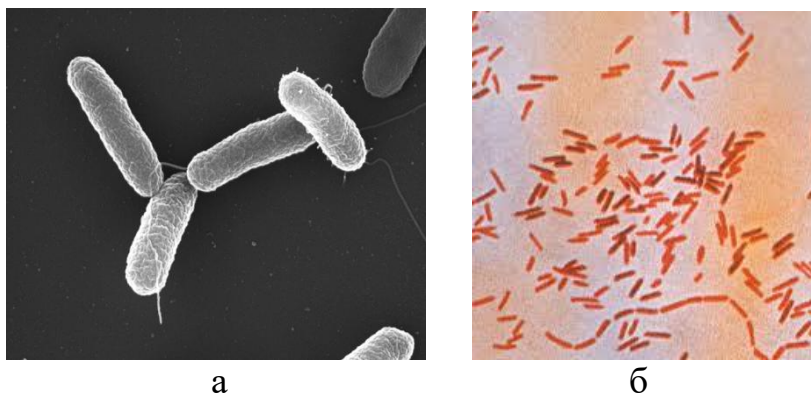


Рисунок 3.71 - Форма клеток сальмонелл (а) и их окраска по Граму (б).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Сальмонеллы подвижны за счет перитрихально расположенных жгутиков (рисунок 3.72).

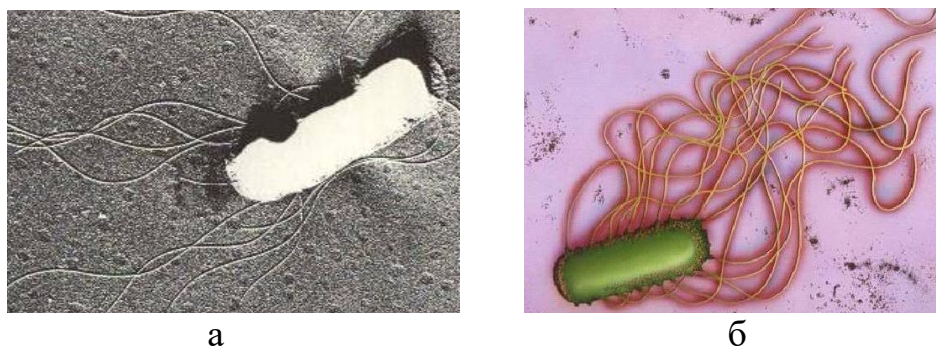


Рисунок 3.72 - Жгутики у сальмонелл: электронная микрофотография (а) и компьютерная визуализация (б). Займствовано из Интернет-ресурсов.

На поверхности сальмонелл располагаются пили (ворсинки, фимбрии), служащие для адгезии бактерий к клеткам макроорганизма (рисунок 3.73).

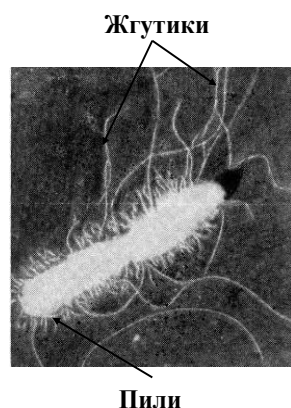


Рисунок 3.73 – Пили и жгутики сальмонелл при электронной микроскопии.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Сальмонеллы имеют несколько различных классов фимбрий, в том числе длинные полярные или полюсные фимбрии Lpf, тонкие фимбрии Pef и фимбрии

Гім. Каждый класс фимбрий обеспечивает прикрепление сальмонелл к разным видам клеток макроорганизма.

Сальмонеллы не образуют спор. Некоторые виды сальмонелл (в частности, *S. typhi* и *S. paratyphi C*) имеют микрокапсулу (рисунок 3.74).

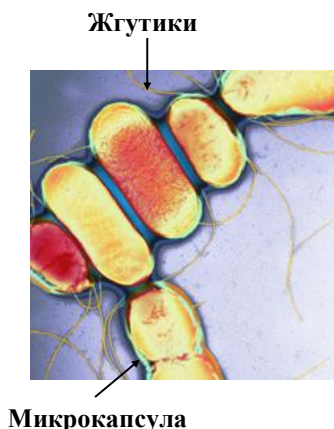


Рисунок 3.74 - Микрокапсула сальмонелл, компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Сальмонеллы размножаются поперечным делением (рисунок 3.75).



Рисунок 3.75 - Сальмонеллы в фазе деления, компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные и биохимические свойства.** Сальмонеллы являются факультативными анаэробами. Они хорошо растут в аэробных условиях на простых питательных средах при температуре от 4°C до 45°C и pH 4,1-9,0. Оптимальная температура для роста сальмонелл равна 37°C. На МПА сальмонеллы образуют серо-белые слегка выпуклые колонии R- и S-формы с голубоватым оттенком диаметром 2-4 мм (рисунок 3.76).



Рисунок 3.76 - Рост сальмонелл на МПА. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Вокруг колоний *S. schottmülleri* на МПА образуется слизистый приподнятый валик, проявляющийся на 2-5 сутки хранения культуры при комнатной температуре. Этот признак иногда используется в дифференциальной диагностике сальмонелл.

Дифференциально-диагностическими плотными питательными средами для сальмонелл являются среды Эндо, Плоскирева, Левина, висмут-сульфитный агар (ВСА). В частности, на среде Эндо сальмонеллы формируют серо-белые или розоватые лактозоотрицательные колонии (рисунок 3.77).



Рисунок 3.77 - Рост сальмонелл на среде Эндо. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На среде Плоскирева сальмонеллы также образуют серо-белые мутноватые лактозонегативные колонии (рисунок 3.78).



Рисунок 3.78 - Рост сальмонелл на среде Плоскирева. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На среде Левина вырастают слегка голубоватые или серо-белые колонии.

На висмут-сульфитном агаре сальмонеллы образуют черные колонии с ртутным блеском (рисунок 3.79), окруженные черным ободком прокрашенной среды (возбудитель брюшного тифа) или колонии темно-зеленого цвета (паратифозные бактерии). Этот признак является характерным для сальмонелл.

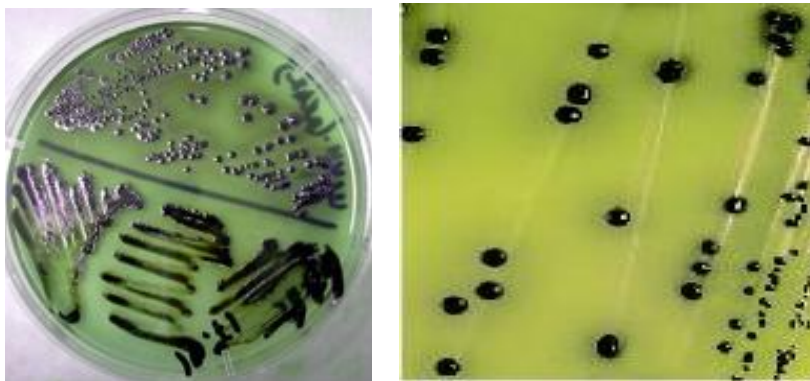


Рисунок 3.79 - Рост сальмонелл на висмут-сульфитном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В жидких средах сальмонеллы вызывают диффузное помутнение.

Сальмонеллы ферментируют глюкозу до кислоты и газа (*S. Typhi* при разложении углеводов не образует газа), продуцируют сероводород, не разлагают лактозу и сахарозу, не разжижают желатин, не образуют индол (рисунок 3.80).

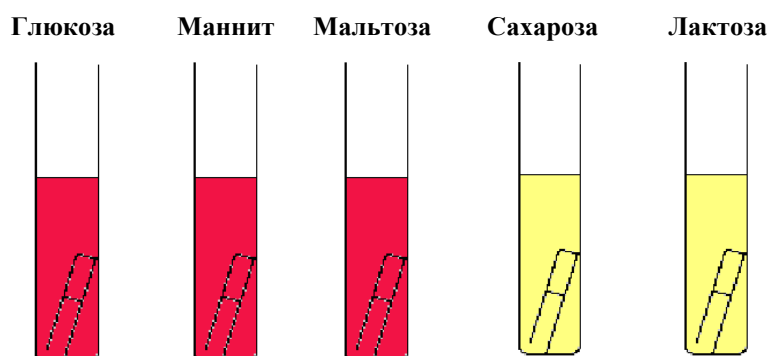


Рисунок 3.80 – Ферментация углеводов *S. Typhi*.

Ферментацию углеводов и образование сероводорода можно выявить на среде Клиглера (двухсахарном агаре, содержащем глюкозу и лактозу) или среде Олькеницкого (трехсахарном агаре, содержащем глюкозу, лактозу и сахарозу).

В частности, готовая **среда Клиглера** имеет оранжево-красный цвет. Разложение глюкозы и образование сероводорода сопровождается почернением столбика агара с сохранением красного цвета “язычка” среды (рисунок 3.81).





а б

Рисунок 3.81 - Рост сальмонелл на среде Клиглера: а – контроль; б – рост *S. Typhi*.  
Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Готовая **среда Олькеницкого** также имеет красный цвет. Ферментация глюкозы проявляется изменением цвета столбика среды на желтый с сохранением красного цвета “язычка” среды. Наличие черного преципитата на границе столбика и скошенной части указывает на то, что сальмонеллы продуцируют сероводород (рисунок 3.82).



а б

Рисунок 3.82 - Рост сальмонелл на среде Олькеницкого: а – контроль; б – *S. Typhi*.  
Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Паратифозные бактерии ферментируют глюкозу до кислоты и газа, что проявляется пожелтением среды и разрывами столбика агара (рисунок 3.83).

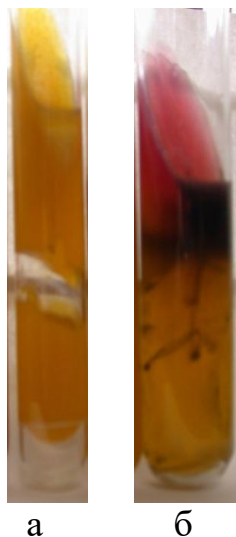


Рисунок 3.83 - Рост на среде Олькеницкого паратифозных бактерий (а) и возбудителя брюшного тифа (б). Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

**Резистентность.** Сальмонеллы в воде открытых водоемов, в почве и в комнатной пыли сохраняются до 3 месяцев. Они хорошо переносят низкие температуры, способны размножаться при температуре  $4^{\circ}\text{C}$ . В колбасных изделиях сохраняются до 6 месяцев, в замороженном мясе и яйцах - до 1 года, на овощах и фруктах - 5-10 дней, в молоке – до 20 дней, в сливочном масле – до 120 дней, на яичной скорлупе – до 24 дней. В молоке и мясе даже при низкой положительной температуре сальмонеллы способны размножаться. Соление и копчение продуктов оказывает на сальмонеллы слабое действие. При нагревании до  $56^{\circ}\text{C}$  сальмонеллы погибают через 45-60 минут, при температуре  $70^{\circ}\text{C}$  они погибают через 5-10 минут, при кипячении - мгновенно. Растворы дезинфицирующих веществ (5% фенол, 3% хлорамин, 3% лизол, этиловый спирт) убивают сальмонеллы в течение 2-3 минут. К большинству антибиотиков сальмонеллы чувствительные. Однако в настоящее время отмечается неуклонный рост штаммов, обладающих резистентностью к антибиотикам. В последние годы в странах Азии полирезистентные штаммы возбудителя брюшного тифа составляют до 80% выделенных культур.

**Антигенная структура.** Сальмонеллы обладают соматическим О-антигеном и жгутиковым Н-антигеном. Некоторые сальмонеллы обладают разновидностью капсульного антигена - Vi-антигеном (рисунок 3.84).

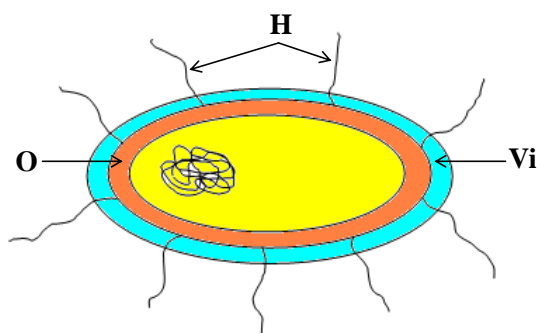


Рисунок 3.84 – Антигенная структура сальмонелл.

**Соматический О-антиген** локализуется в клеточной стенке сальмонелл.

Он представляет собой цепочку сахаров, связанных с ядром липополисахарида. Терминальные повторяющиеся единицы полисахарида располагаются на поверхности клетки в виде микроворсинок. О-антиген термостабильный, выдерживает кипячение в течение 2,5 часов, инактивируется формалином. Каждый О-антиген сальмонелл обозначается цифрой. В соответствии с содержанием тех или иных О-антигенов все сальмонеллы распределяются на серологические группы, которые обозначаются прописными буквами латинского алфавита (А, В, С, D и т. д.). В каждую серогруппу входят сальмонеллы с одним или несколькими идентичными О-антигенами. Например, серогруппа В включает сальмонеллы с О-антигенами 1, 4, 5 и 12, но специфичным для этой серогруппы является О-антиген 4. Почти все заболевания у человека вызваны сальмонеллами групп А, В, С, D и Е.

**Жгутиковый Н-антиген** представляет собой белок (флагеллин). Он может существовать в двух фазах: первой (специфической) и второй (неспецифической). Н-антигены первой фазы характерны для определенного вида сальмонелл, а антигены второй фазы встречаются у представителей разных видов. Это связано с тем, что синтез Н-антигена кодируется двумя независимыми генами. Функционирование одного гена исключает работу другого. Поэтому в каждой клетке может быть синтезирован только одна фаза Н-антигена. Первая фаза обозначается строчными латинскими буквами, вторая фаза - цифрами.

**Vi-антиген** (разновидность капсульного К-антигена) имеют некоторые серовары сальмонелл, образующие микрокапсулу, в частности, возбудитель брюшного тифа. По химической структуре он представляет собой мукополисахарид. Vi-антиген обладает выраженной иммуногенностью, поэтому используется при производстве брюшнотифозных вакцин. Этот антиген является рецептором для бактериофагов. При анализе вспышек брюшного тифа с целью определения источника инфекции с помощью набора Vi-фагов устанавливают фаговар *S. Typhi*. Vi-антиген может препятствовать агглютинации сальмонелл О-сыворотками.

**Факторы патогенности сальмонелл.** К факторам патогенности сальмонелл относятся токсины, пили, белки наружной мембраны, резистентность к фагоцитозу и Vi-антиген.

Сальмонеллы разных видов и подвидов обладают разным набором токсинов. **Эндотоксин** выделяется при разрушении бактериальной клетки. Он вызывает развитие лихорадки в случае бактериемии, вызванной сальмонеллами.

Некоторые сальмонеллы, особенно сальмонеллы животного происхождения, образуют белковые термостабильный и термолабильный **энтеротоксины**, которые схожи с холерным энтеротоксином и LT-токсином энтеротоксигенных кишечных палочек.

**Цитотоксины** (шига-подобные токсины) угнетают синтез белка на рибосомах энтероцитов.

**Пили** (ворсинки, фимбрии) способствуют адгезии бактерий на клетках слизистой оболочки кишечника. У сальмонелл идентифицировано несколько типов фимбрий, участвующих в адгезии и колонизации (Fim, Lpf, Pef). Фимбрии 1-го типа **Fim** связываются с D-маннозными рецепторами на поверхности разных клеток. Длинные полярные фимбрии **Lpf** связываются с поверхностью клеток пейеровых бляшек. Тонкие фимбрии **Pef** связываются с ворсинками энтероцитов.

**Факторы инвазии** (белки наружной мембраны) обеспечивают сальмонеллам трансцитоз через М-клетки слизистой оболочки кишечника.

**Резистентность к фагоцитозу** позволяет сальмонеллам сохраняться и размножаться внутри фагоцитов. Устойчивость к фагоцитозу обусловлена в первую очередь наличием **Vi-антигена**.

Факторы патогенности сальмонелл кодируются генами, расположенными на хромосоме. Особое значение имеют гены, расположенные в двух классах локусов: гены, кодирующие поверхностные структуры (ЛПС, жгутики, фимбрии), и специфические гены патогенности, кодирующие факторы, которые видоизменяют физиологию клеток хозяина или защищают бактерию от антимикробных систем макроорганизма. В геноме сальмонелл описано несколько участков генов, кодирующих их патогенные свойства. Эти участки обозначаются как “**островки патогенности**” (*Salmonella* pathogenicity island, SPI). Расположение SPI на хромосоме бактерии представлено на рисунке 3.85.

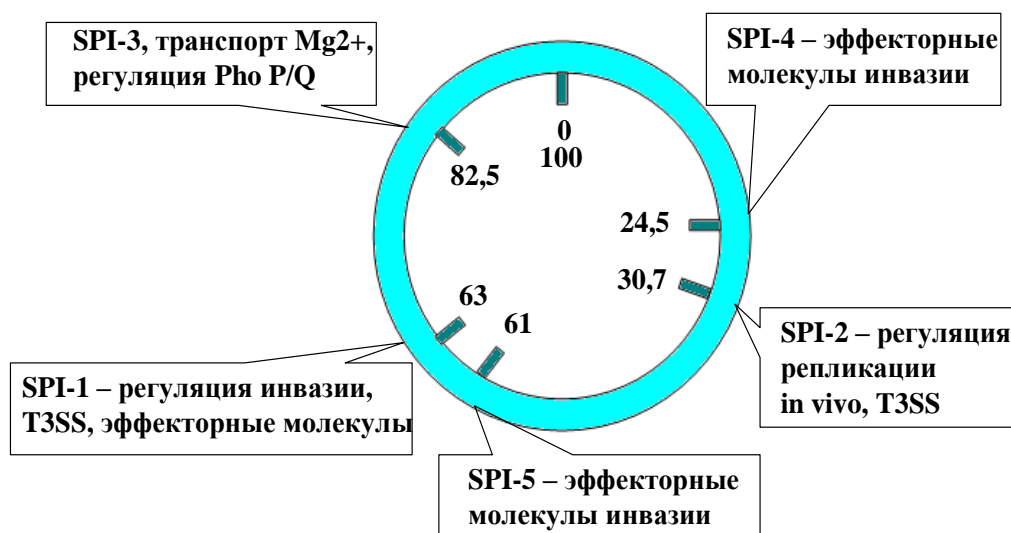


Рисунок 3.85 – Расположение островков патогенности на хромосоме сальмонелл. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

В частности, **локус SPI-1** активируется после первоначального контакта возбудителя с клеткой хозяина. Он кодирует первую систему секреции III типа (T3SS), которая транспортирует бактериальные белки (эффекторные протеины) в цитозоль клеток макроорганизма. Эти белки вызывают реорганизацию цитоскелета эукариотических клеток и способствуют поглощению сальмонелл в мембрано-связанные пузырьки, то есть способствуют инвазии возбудителя в эпителиальные клетки кишечника. Таким образом, эти белки необходимы для развития локализованного инфекционного процесса.

**Локус SPI-2** кодирует вторую систему секреции III типа, обеспечивая бактериальный рост в эпителиальных клетках и макрофагах. Следовательно, белки, кодируемые генами SPI-2, необходимы для развития генерализованной инфекции.

Островок патогенности **SPI-3** содержит гены, необходимые для сохранения жизнеспособности бактерий в условиях с низким содержанием ионов магния.

Островки патогенности **SPI-4** и **SPI-5** кодируют синтез продуктов, участвующих в развитии воспаления и в перераспределении жидкости в организме.

Кроме указанных факторов патогенности, сальмонеллы обладают также механизмами, позволяющими им выживать в условиях низкого значения рН при прохождении кислого содержимого желудка. К таким механизмам относятся **шоковые белки**, экспрессируемые с участием генов *ATR* (acid tolerance response).

В проявлении патогенных свойств принимают участие и другие гены сальмонелл. Так, продукты, кодируемые *Sprv*-генами, требуются для размножения бактерий в макрофагах и апоптоза инфицированных клеток. Описана группа генов, обеспечивающих синтез белков *Sip* (*Salmonella invasion proteins*). Продукт гена *Pho P* способствует устойчивости бактериальных клеток к антимикробным дефензинам, синтезируемым макрофагами и нейтрофилами.

Разные серовары сальмонелл обладают свойственным только им набором факторов патогенности, что обуславливает различия в клинической картине вызываемых заболеваний. В зависимости от источника инфекции, путей передачи возбудителя, особенностей патогенеза и форм проявления инфекционного процесса выделяют следующие нозологические формы сальмонеллезной этиологии:

- брюшной тиф;
- паратифы А, В и С;
- сальмонеллезы, возбудителями которых являются сальмонеллы животного происхождения;
- госпитальный (нозокомиальный) сальмонеллез.

### **Брюшной тиф и паратифы**

Брюшной тиф и паратифы А и В относятся к группе антропонозных кишечных инфекций, источником возбудителя при которых является больной человек или человек - бактерионоситель. Источником инфекции при паратифе С могут быть свиньи и крупный рогатый скот. Возбудителем брюшного тифа является *S. Typhi*, а возбудителями паратифов - *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* и *S. Paratyphi C*. В настоящее время чаще всего регистрируется брюшной тиф, реже – паратиф В, еще реже - паратиф А и крайне редко - паратиф С.

Брюшной тиф характеризуется язвенным поражением лимфатического аппарата тонкой кишки, циклическим течением, бактериемией, продолжительной лихорадкой, розеолезной сыпью на коже туловища, кишечными расстройствами, тяжелой интоксикацией организма. Изъязвление некротизированных пейеровых бляшек подвздошной кишки примерно в 1% случаев приводит к прободению кишечника и кишечному кровотечению.

**Патогенез брюшного тифа и паратифов.** В развитии брюшного тифа выделяют следующие этапы:

- внедрение возбудителя в организм;
- развитие лимфаденита;
- формирование бактериемии и интоксикации организма;
- паренхиматозная диффузия возбудителя;
- выделение возбудителя из организма и развитие иммунного ответа.

Возбудители брюшного тифа и паратифов с пищей или водой попадают в желудок. Для преодоления кислой среды желудка сальмонеллы синтезируют шоковые белки. Однако под действием желудочного сока часть бактерий погибает, а

оставшиеся клетки проникают в тонкий кишечник. В исследованиях на добровольцах установлено, что для развития заболевания достаточно 100 тыс. микробных клеток. При этом не выявлено связи между дозой введенных бактерий и тяжестью заболевания. Однако отмечена прямая зависимость между дозой возбудителя и количеством заболевших лиц, а также обратная зависимость между дозой бактерий и длительностью инкубационного периода. Например, при дозе 100 тыс. клеток заболевает 38,5% добровольцев при среднем инкубационном периоде 9,3 суток, а при дозе 100 млн. – 1 млрд. клеток заболевает 96% пациентов при среднем инкубационном периоде 4,7 суток.

Основной патологический процесс развивается в тонком кишечнике (рисунок 3.86).



Рисунок 3.86 - Локализация патологического процесса при брюшном тифе.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Сальмонеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами. Схема патогенеза брюшного тифа представлена на рисунке 3.87.

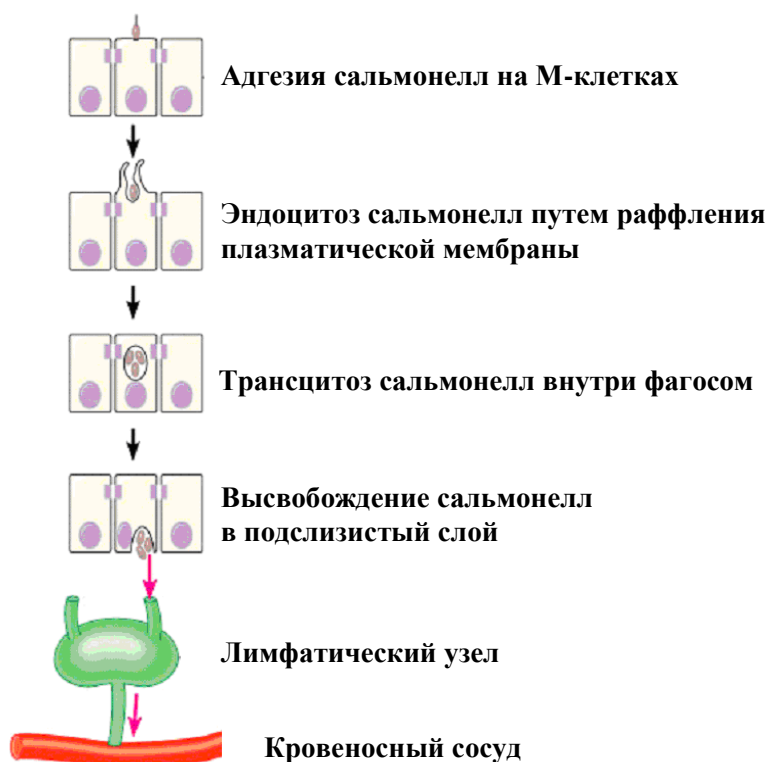


Рисунок 3.87 - Схема патогенеза брюшного тифа.

Внедрение сальмонелл в слизистую оболочку кишечника происходит несколькими путями: поглощение бактерий М-клетками, захват сальмонелл в просвете кишечника CD18<sup>+</sup>-фагоцитами, захват бактерий дендритными клетками, самостоятельное проникновение бактерий в нефагоцитирующие энтероциты. В основном проникновение сальмонелл в организм происходит через М-клетки, которые обладают выраженной эндоцитарной активностью. Адгезия сальмонелл на клетках кишечника осуществляется с помощью пилей (ворсинок, фимбрий). В результате адгезии сальмонеллы получают сигнал для синтеза белков - инвазинов. Транспорт инвазинов (эффекторных молекул) внутрь клетки кишечника осуществляется с помощью специальной системы секреции, относящейся к III типу (Т3SS). Такая транспортная система функционирует как “молекулярный шприц” (рисунок 3.88).

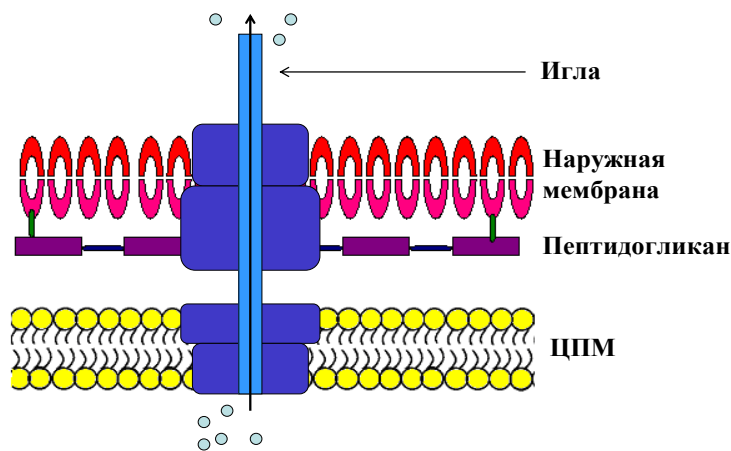


Рисунок 3.88 – Структура системы секреции Т3SS.

Белки системы секреции III типа подразделяются на 3 группы:

- белки, образующие “молекулярный шприц” (PrgH, PrgI, PrgK, InvG, InvH, InvJ);
- белки, обеспечивающие транслокацию эффекторных молекул в цитоплазму эукариотической клетки путем формирования в мембране клетки канала (SipB, SipC, SipD);
- белки-эффекторы, оказывающие на клетку деформирующее действие (SopA, SopB, SopE, SipA, Stp).

Система секреции III типа имеет уникальное строение. В цитоплазматической мембране бактериальной клетки располагается кольцевая белковая структура, к которой присоединяется белковый канал, пронизывающий пептидогликановый слой и наружную мембрану. В пептидогликановом слое и наружной мембране канал также фиксируется кольцеобразными белковыми структурами. Над поверхностью микробной клетки выступает белковый филамент (игла), формирующий с помощью специализированного протеина в мембране клетки хозяина пору (рисунок 3.89).

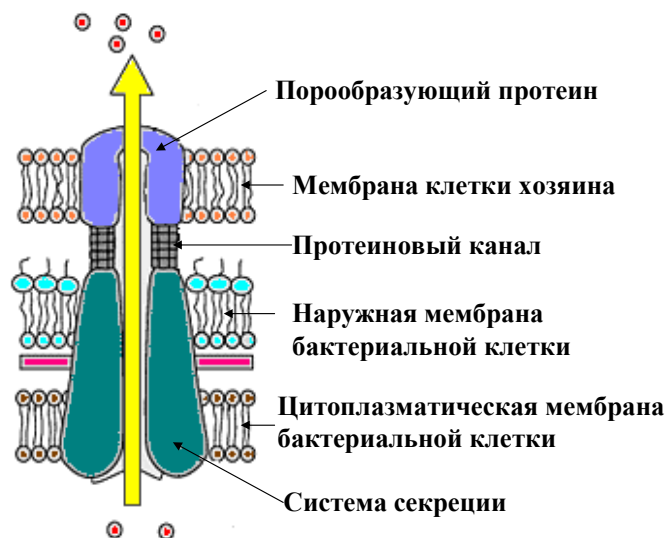


Рисунок 3.89 - Схема системы транспорта эффекторных молекул внутрь эукариотических клеток. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Электронно-микроскопическое изображение иглоподобных комплексов транспортных систем сальмонелл представлено на рисунке 3.90.

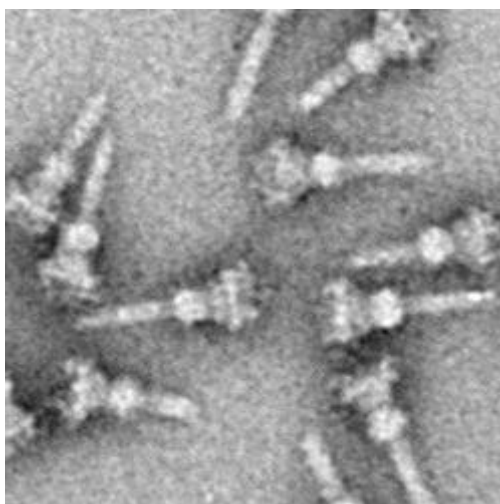


Рисунок 3.90 - Электронная микрофотография T3SS-комплексов *S. Typhimurium*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

T3SS перемещает эффекторные белки из цитоплазмы бактерий в клетку макроорганизма. Попав внутрь эукариотической клетки, эффекторные белки индуцируют деформацию мембраны клетки кишечника. Этот процесс протекает при участии находящегося под клеточной мембраной актинового цитоскелета. В результате такого воздействия в мембране клетки хозяина образуются складки (морщины, *ruffles*). Этот процесс называется раффлением мембраны – *membrane ruffling*. На поверхности клеток образуются выросты, напоминающие псевдоподии макрофагов, которые обволакивают бактерии и формируют внутриклеточные вакуоли, содержащие микробные клетки. Следовательно, сальмонеллы “заставляют” клетки эпителия захватить себя (рисунок 3.91).



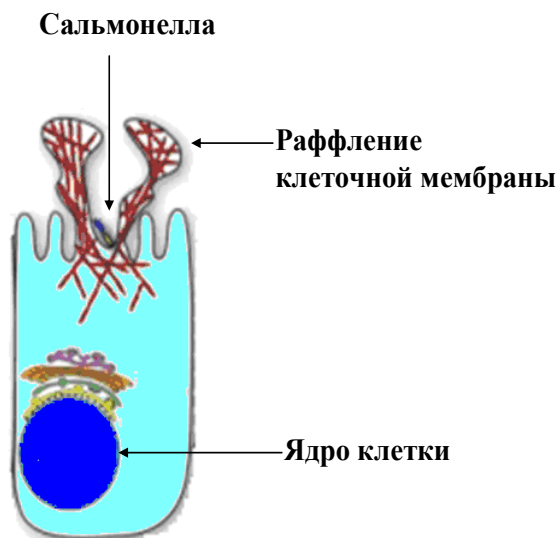


Рисунок 3.91 - Раффление мембраны. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Раффление мембраны сопровождается быстрым проникновением бактерий внутрь клетки. Проникнув внутрь клетки, возбудитель формирует внутриклеточное фагосомальное образование - вакуоль (*Salmonella-containing vacuole*, SCV) и ингибирует процесс слияния фагосомы и лизосомы. Эти функции кодируются генами, локализованными в островке патогенности SPI2. После поглощения сальмонелл клеточный цитоскелет возвращается в первоначальное состояние покоя.

Постепенно SCV мигрирует от периферии к перинуклеарной области клетки хозяина. Нахождение SCV поблизости к аппарату Гольджи способствует размножению бактерий. Заключенные в SCV сальмонеллы размножаются и трансцитозом транспортируются в подслизистый слой, где захватываются макрофагами. Внутри макрофагов сальмонеллы продолжают размножаться и попадают в прилегающие к М-клеткам пейеровы бляшки (рисунок 3.92), вызывая их воспаление (лимфаденит) или первичный очаг инфекции. Защиту сальмонелл от опсонизации и фагоцитоза обеспечивает Vi-полисахарид, который препятствует лизису бактерий.

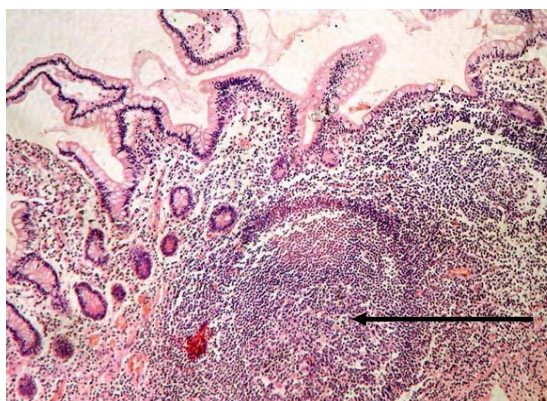


Рисунок 3.92 – Воспаление пейеровых бляшек кишечника (указано стрелкой). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Пейеровы бляшки увеличиваются (**мозговидное набухание**), в них выявляются своеобразные гранулемы, содержащие крупные клетки макрофагального происхождения (**тифозные клетки**). Из пейеровых бляшек сальмонеллы с током лимфы переносятся в мезентериальные лимфатические узлы, где размножаются и через грудной лимфатический проток поступают в кровь, обуславливая **первичную бактериемию**. Развитие первичной бактериемии происходит в конце инкубационного периода, то есть через 10-14 суток после инфицирования. В последующем бактериемия сохраняется на протяжении всего лихорадочного периода, но наиболее выражена в течение первой недели заболевания. Поэтому в первую неделю болезни возбудитель постоянно обнаруживается в крови больного. В результате бактерицидного действия крови часть сальмонелл разрушается. При этом высвобождается эндотоксин, который вызывает лихорадку и развитие тифозного состояния (затуманенного, заторможенного) или **тифозного статуса** (*status typhosus*). При тяжелом течении заболевания может развиваться инфекционно-токсический шок.

С током крови сальмонеллы разносятся по организму, оседают в печени, селезенке, костном мозге, почках (**паренхиматозная диффузия**), где они размножаются в макрофагах, формируя брюшнотифозные гранулемы. Гибель макрофагов приводит к высвобождению в кровь большого количества сальмонелл (**вторичная бактериемия**). Из печени через желчные протоки с током желчи сальмонеллы возвращаются в кишечник. В результате этого наступает **реинфекция** тонкого кишечника (вторая неделя болезни). Из кишечника часть сальмонелл выводится с калом, а другая часть бактерий вновь внедряется в пейеровы бляшки. Повторное внедрение сальмонелл в сенсibilизированные пейеровы бляшки приводит к развитию в них воспаления, их некрозу и изъязвлению. Схема патогенеза брюшного тифа в общем виде представлена на рисунке 3.93.

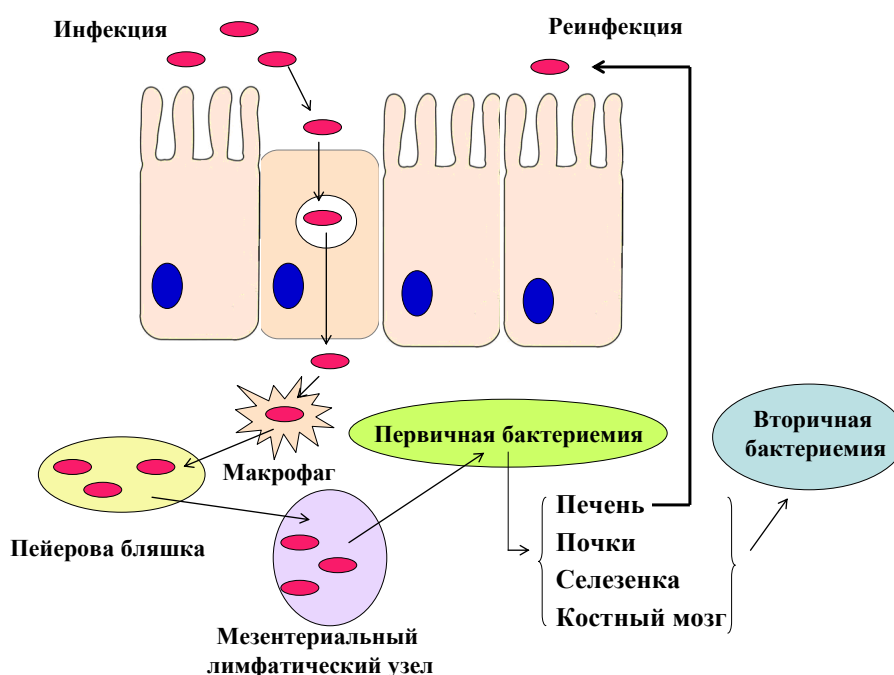


Рисунок 3.93 – Схема патогенеза брюшного тифа.

Основные патоморфологические изменения отмечаются в лимфоидной ткани подвздошной кишки. На первой неделе болезни возникает так называемое **“мозговидное набухание”**. Во второй неделе отмечается **некроз** центральной части лимфатических фолликулов. На третьей неделе происходит отторжение некротизированных масс (**период образования язв**). На четвертой неделе отторжение некротизированных масс заканчивается, формируются глубокие язвы с гладким дном и отечными краями (**период чистых язв**). На пятой-шестой неделе происходит заживление язв, при этом рубцов не образуется и деформации кишки не происходит. При поражении стенки сосуда возникает кровотечение.

**Эпидемиология брюшного тифа и паратифов.** Брюшной тиф и паратифы распространены повсеместно. Наиболее широко брюшной тиф распространен в Перу, Египте, Индонезии, Индии, Пакистане, Непале. Эпидемические вспышки отмечаются в Средней и Юго-Восточной Азии. Заболевания чаще регистрируются в летне-осеннее время (июль - сентябрь). Брюшной тиф протекает в виде эпидемий, вспышек или спорадических случаев. **Источником инфекции** при брюшном тифе и паратифах А и В является больной человек или бактерионоситель, которые выделяют возбудителя во внешнюю среду. У бактерионосителей возбудитель обитает в костном мозге, желчи, в том числе внутри камней при желчнокаменной болезни. **Механизм передачи** – фекально-оральный. **Пути передачи** - водный (основной), алиментарный и редко - контактно-бытовой. Передача возбудителя брюшного тифа может происходить при использовании инфицированной воды для питья, мытья посуды и овощей, при употреблении пищевых продуктов, инфицированных грязными руками больного или бактерионосителя, через загрязненные руки и предметы обихода (посуду, белье). Эпидемии возникают в основном при неисправности водопроводной сети, проникновении в нее канализационных стоков.

Классическим примером опасности бактерионосителей при брюшном тифе являются Тифозная Мэри и Тифозный Джон. Тифозная Мэри (Мэри Маллон, рисунок 3.94) была признана первым здоровым носителем возбудителя брюшного тифа в США. Она работала поваром в разных местах и отрицала наличие заболевания.



Рисунок 3.94 - Тифозная Мэри.

Во время работы она сумела заразить 47 пациентов, из которых 3 человека умерло. Мэри отправили в карантин, после которого она устроилась работать под другим именем поваром в больницу, где заболело еще 25 человек, а 1 пациент скончался. Только после этого Мэри была отправлена в пожизненный карантин.

После смерти Мэри возбудитель брюшного тифа был выделен из желчного пузыря. “Тифозный Джон” заразил 36 человек, из которых 2 больных умерло.

**Клиника брюшного тифа и паратифов.** Инкубационный период при брюшном тифе составляет в среднем 15 дней, при паратифах - 7 дней. Клиника брюшного тифа характеризуется острым началом и циклическим течением.

**В первую неделю** заболевания отмечаются повышение температуры тела до 39-40<sup>0</sup>С, слабость, головная боль, недомогание. В конце первой недели появляются абдоминальные боли, отмечается вздутие живота, жидкий стул.

**На второй неделе** болезни сохраняется повышенная температура, присоединяются явления интоксикации. В результате этого развивается тифоидное состояние (тифозный статус), для которого характерны вялость, апатия, оцепенение, безразличие, затуманенное сознание, прострация, бред, галлюцинации, падение артериального давления. Характерен внешний вид больного: безучастный взгляд, бледность кожных покровов и слизистых оболочек (рисунок 3.95).



Рисунок 3.95 – Внешний вид больного брюшным тифом. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В конце второй недели учащается жидкий стул, усиливаются абдоминальные боли. Диарея (“гороховый суп” с кислым запахом) в тяжелых случаях становится геморрагической. На 10-12 день болезни на коже живота, груди, спины, бедер может появиться **розеолезная сыпь** (розеолы – пятна диаметром менее 2 см). Элементов сыпи немного. Розеолы имеют четкие границы, несколько возвышаются над уровнем кожи (рисунок 3.96).



Рисунок 3.96 - Розеолы на коже при брюшном тифе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Розеола содержат большое количество бактерий. При надавливании они исчезают. Сыпь сохраняется до 3-5 дней, затем исчезает, оставляя едва заметную пигментацию.

**На третьей неделе** заболевания температура тела постепенно снижается. Начинается выздоровление. В большинстве случаев бактерии полностью элиминируются из организма. Однако в 3-5% случаев формируется бактерионосительство, при котором сальмонеллы остаются в костном мозге, желчном пузыре или в мочевыводящей системе и постоянно или периодически выделяются с калом или мочой. Бактерионосительство может продолжаться в течение нескольких лет.

Брюшной тиф может сопровождаться **рецидивами** и **осложнениями**. Наиболее опасным осложнением является прободение стенки кишечника и развитие перитонита.

**Иммунитет.** После перенесенного брюшного тифа развивается напряженный и длительный (пожизненный) иммунитет. Повторные заболевания возникают редко. Основная роль в иммунном ответе принадлежит активированным макрофагам. Антитела к О-антигену класса IgM обнаруживаются в крови уже на 4-5 день болезни, а их количество достигает максимума на 2-3 неделе заболевания. Затем появляются IgG-антитела, количество которых постепенно нарастает, а количество IgM-антител снижается. Антитела к Н-антигену появляются в период реконвалесценции и сохраняются в течение длительного времени. Антитела к Vi-антигену обнаруживаются у бактерионосителей.

**Лабораторная диагностика брюшного тифа и паратифов** осуществляется с учетом цикличности течения заболеваний. Она основана на выделении возбудителя из организма больного и обнаружении специфических антител, поэтому основными методами диагностики брюшного тифа являются бактериологический (культуральный) и серологический. **Исследуемый материал** – кровь, пунктат костного мозга, дуоденальное содержимое (желчь), экссудат из розеол, фекалии, моча. Материал от больного должен быть взят в ранние сроки заболевания, до начала применения антибиотиков и химиопрепаратов. При невозможности быстрой доставки материала в лабораторию используют транспортные среды. Для сальмонелл наиболее пригодными транспортными средами являются среды Стюарта, Эймса, глицериновая смесь.

Первичный посев материала делают на среды накопления (обогащения): желчный бульон, селенитовый бульон с последующим пересевом на плотные дифференциально-диагностические питательные среды (Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитный агар).

**В первую неделю заболевания** и в течение всего лихорадочного периода выделяют **гемокультуру**. С этой целью из локтевой вены отбирают 10 мл крови и непосредственно у постели больного производят посев в желчный бульон. В случае невозможности посева крови возле постели больного ее доставляют в лабораторию в пробирке, где сыворотку крови отделяют от сгустка и используют в серологических исследованиях, а сгусток измельчают и высевают в желчный бульон. Посевы инкубируют при 37°C.

На второй день выросшую культуру пересевают на трехсахарный агар Олькеницкого и на среды Эндо, Плоскирева, Левина, висмут-сульфитный агар.

Колонии возбудителей брюшного тифа и паратифов на средах Эндо, Левина и Плоскирева бесцветные, нежные, на висмут-сульфитном агаре - черного цвета. При отсутствии роста в течение 10 дней выдают отрицательный ответ.

Для выделения возбудителя можно использовать пунктат костного мозга (выделение **миелокультуры**). Высеваемость возбудителя брюшного тифа из костного мозга составляет 90-95%. В костном мозге сальмонеллы сохраняются даже на фоне антибактериальной терапии. Взятие костного мозга является травматичной процедурой, поэтому проводится специалистом только в условиях стационара. Место пункции обрабатывают спиртом и обезболивают новокаином. Материал отбирают с помощью шприца с иглой Бира и подвижной муфтой для регулирования глубины проникновения иглы. После прокола отсасывают 0,3-0,5 мл пунктата, который высевают в желчный бульон. Посевы инкубируют при 37°C. Метод миелокультуры рекомендуется использовать при стертых формах заболевания.

Выделенную чистую культуру идентифицируют по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам и антигенной структуре. Серологическую идентификацию выделенных культур проводят в реакции агглютинации на стекле вначале с диагностическими адсорбированными поливалентными О-сыворотками, а затем с Н-сыворотками, соответствующими антигенам 1 и 2 фазы.

**Фаготипирование выделенных культур.** При необходимости для установления источника инфекции выделенную культуру типировать с помощью Vi-бактериофагов. В настоящее время насчитывается 86 типов Vi-фагов. Все бактериофаги являются высокоспецифическими. Для фаготипирования культуру высевают сплошным газоном на поверхность агаровой среды, а затем с помощью пастеровской пипетки или петли наносят суспензии бактериофагов. Чашки инкубируют в термостате. Фаготип устанавливают по наличию лизиса культуры соответствующим фагом (рисунок 3.97).

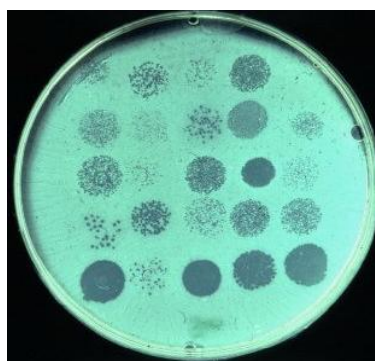


Рисунок 3.97 - Фаготипирование сальмонелл. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**На второй неделе заболевания** проводят серологическое исследование на наличие специфических антител с помощью РНГА с парными сыворотками и эритроцитарными сальмонеллезными О-, Н- и Vi-диагностикумами (рисунок 3.98).



Рисунок 3.98 - Эритроцитарные сальмонеллезные диагностикумы.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Диагностическое значение имеет 4-кратное увеличение титра антител в динамике заболевания (при выявлении больного и в начале второй недели заболевания).

Для серологической диагностики применяют также развернутую **реакцию агглютинации Видаля и ИФА**.

**На третьей неделе заболевания возбудитель выделяют из мочи (уринокультура), испражнений (копрокультура) и желчи (биликультура).**

При получении **уринокультуры** учитывают то, что выделение возбудителя с мочой происходит периодически и кратковременно. Мочу отбирают в стерильную посуду и доставляют в лабораторию в течение 2 часов. В лаборатории мочу центрифугируют, осадок высевают в среду обогащения (селенитовую, Мюллера, Кауфмана), а также на среды Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитный агар. Посевы инкубируют в термостате при 37<sup>0</sup>С. Выросшие колонии идентифицируют по культуральным, биохимическим и серологическим свойствам.

Для получения **копрокультуры** проводят не менее чем 3-кратный посев фекалий. Посев фекалий чаще всего применяют для обследования реконвалесцентов на бактерионосительство и лиц, поступающих на работу или работающих в системе общественного питания, водоснабжения и в детских учреждениях. При наличии в испражнениях слизи или гноя их обязательно используют для исследования. Пробы фекалий отбирают в стерильную посуду. Для исследования можно использовать материал, взятый непосредственно из прямой кишки с помощью ректального зонда-тампона. При невозможности быстрой доставки материала в лабораторию используют консервант (30% раствор глицерина в фосфатном буфере). В лаборатории фекалии высевают в среды обогащения (селенитовую, Мюллера, Кауфмана) и на дифференциально-диагностические питательные среды (висмут-сульфитный агар, Плоскирева, Эндо, Левина). Посевы инкубируют при 37<sup>0</sup>С в течение 18-24 часов. Подозрительные колонии исследуют по биохимическим и серологическим свойствам.

Для **бактериологического (культурального) исследования желчи** проводят дуоденальное зондирование. Желчь собирают в стерильные пробирки. В лабораторию доставляют пробирки с отдельными порциями желчи (дуоденальное содержимое – пробу А, пузырную желчь – пробу В, желчь из желчных протоков – пробу С). Каждую порцию отдельно или смесь всех порций высевают на дифференциально-диагностические питательные среды. На среды обогащения желчь не высевают, так как сама желчь является хорошей питательной средой для возбудителей брюшного тифа и паратифов. Посевы инкубируют при 37<sup>0</sup>С.

Выделенную чистую культуру идентифицируют по биохимическим и антигенным свойствам. При отрицательном результате производят повторные посевы желчи на плотные дифференциально-диагностические питательные среды через 1, 3, 5, 7 и 10 суток. Метод получения **биликультуры** рекомендуется для выявления бактерионосителей.

**Получение розеолокультуры** используют в случаях отрицательных результатов выделения гемо- и биликультуры при наличии на коже больного типичной сыпи. Кожу протирают спиртом, острым скальпелем скарифицируют розеолу до появления капелек лимфы, которые смешивают с несколькими каплями желчного бульона. Смесь высевают в селенитовый или желчный бульон. В дальнейшем культуру пересевают на плотные дифференциально-диагностические среды и идентифицируют по биохимическим и антигенным свойствам.

Для выявления бактерионосителей в качестве исследуемого материала используют испражнения, мочу, желчь (дуоденальное содержимое). Из числа серологических методов применяют РНГА с эритроцитарным Vi-антигенным диагностикумом для обнаружения антител к Vi-антигену. Реакция считается положительной в случае обнаружения антител в титре 1:40 и выше. Такие лица являются подозрительными на бактерионосителей. Они подвергаются 5-6-кратному бактериологическому обследованию. У лиц, перенесших брюшной тиф, но не являющихся бактерионосителями, РНГА отрицательная.

Динамика выявления специфических диагностических маркеров при брюшном тифе представлена на рисунке 3.99.

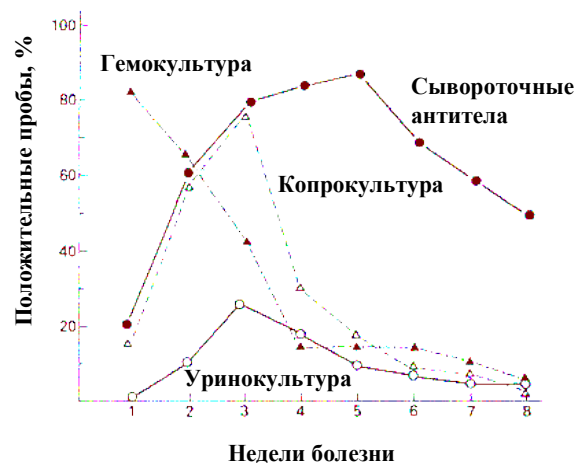


Рисунок 3.99 - Динамика выявления положительных культур и сывороточных антител у больных брюшным тифом. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В настоящее время для диагностики брюшного тифа и паратифов применяют более чувствительные и специфические методы: реакции коагутинации, латекс-агглютинации и ИФА. Для ускоренной идентификации возбудителя брюшного тифа разработана ПЦР с ДНК-зондом на основе гена Vi-антигена. Результат ПЦР получают через 3-4 часа.

**Диспансерное наблюдение за переболевшими лицами.** Выписка больного из стационара осуществляется при полном клиническом выздоровлении, нормализации лабораторных показателей, после трехкратных отрицательных



результатов посевов кала и мочи и однократного отрицательного результата посева желчи, но не ранее 21-го дня нормализации температуры тела. После выписки из стационара переболевшие подлежат диспансерному наблюдению. При этом через 3 месяца проводится бактериологическое исследование кала, мочи и желчи. При отрицательных результатах наблюдение прекращается. Реконвалесценты из числа работников пищевых и приравненных к ним предприятий находятся под наблюдением на протяжении всей трудовой деятельности.

**Профилактика брюшного тифа и паратифов. Неспецифическая профилактика** брюшного тифа и паратифов включает проведение следующих мероприятий:

- санитарно-бактериологический контроль водоснабжения;
- соблюдение санитарно-гигиенических правил приготовления пищи;
- выявление бактерионосителей среди работников пищеблоков, торговли и их санация;
- своевременное выявление, госпитализация и лечение больных;
- предотвращение заражения лиц, контактирующих с больными (членов семьи, персонала больниц и т. д.).

**Специфическая профилактика** брюшного тифа проводится с помощью вакцин. Профилактическим прививкам подлежат:

- лица, проживающие в неблагополучных территориях с высоким уровнем заболеваемости брюшным тифом или выезжающие в районы, эндемичные по брюшному тифу;
- лица, занятые обслуживанием водозаборных и канализационных сооружений;
- медицинские работники инфекционных отделений и бактериологических лабораторий, занятых диагностикой брюшного тифа;
- лица, работающие с живыми культурами возбудителя брюшного тифа.

Иммунизация проводится с помощью следующих препаратов:

- брюшнотифозная спиртовая вакцина, обогащенная Vi-антигеном;
- брюшнотифозная Vi-полисахаридная жидкая вакцина “ВИАНВАК”;
- брюшнотифозная спиртовая сухая вакцина “ТИФИВАК”;
- брюшнотифозная полисахаридная вакцина “ТИФИМ Ви”.

**Брюшнотифозная спиртовая вакцина, обогащенная Vi-антигеном,** состоит из брюшнотифозной сухой вакцины и раствора Vi-антигена. Брюшнотифозная сухая вакцина представляет собой инактивированные этиловым спиртом и лиофильно высушенные клетки брюшнотифозных бактерий. Перед применением в ампулу с брюшнотифозной вакциной добавляют раствор Vi-антигена. Однократное введение вакцины обеспечивает защиту от брюшного тифа на 2 года. Инактивированная брюшнотифозная вакцина без Vi-антигена практически не применяется, так как она обеспечивает развитие кратковременного иммунитета и часто вызывает местные реакции.

**Брюшнотифозная вакцина Vi-полисахаридная жидкая “ВИАНВАК”** представляет собой раствор капсульного полисахарида, выделенного из супернатанта культуры *S. Typhi*. Подкожное введение вакцины обеспечивает развитие через 1-2 недели невосприимчивости к инфекции на срок до 3 лет.

### Брюшнотифозная спиртовая сухая вакцина “ТИФИВАК”

представляет собой инактивированные этиловым спиртом клетки *S. Typhi*. Вакцину вводят подкожно двукратно с интервалом 25-35 суток.

**Брюшнотифозная полисахаридная вакцина “ТИФИМ Ви”** состоит из очищенного Vi-антигена, клеток возбудителя брюшного тифа и консерванта (фенола). После однократной подкожной вакцинации через 15-21 сутки развивается иммунитет, сохраняющийся в течение 3 лет.

Разработана **живая брюшнотифозная вакцина** на основе мутантного штамма Ty21a. Бактерии этого мутантного штамма имеют метаболический дефект, в результате чего погибают после нескольких циклов размножения. Вакцина обеспечивает иммунитет на несколько лет (рисунок 3.100).



Рисунок 3.100 – Живая брюшнотифозная вакцина на основе штамма Ty21a. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Всемирная организация здравоохранения для специфической профилактики брюшного тифа рекомендует использовать вакцины на основе Vi-антигена - Vi-вакцины, в частности, вакцины ТИФИМ Ви и ВИАНВАК (рисунок 3.101).



Рисунок 3.101 - Vi-вакцины для профилактики брюшного тифа. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для специфической профилактики брюшного тифа у лиц, находящихся в условиях высокого риска заражения или контактировавших с больными брюшным тифом, применяется **поливалентный брюшнотифозный сухой бактериофаг с кислотоустойчивым покрытием**. Препарат выпускается в таблетках. Благодаря кислотоустойчивому покрытию таблетки преодолевают содержимое желудка, и бактериофаг в кишечнике оказывает литическое действие на возбудителя. С этой же целью применяют сальмонеллезный жидкий бактериофаг (рисунок 3.102).



Рисунок 3.102 - Сальмонеллезный жидкий бактериофаг. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для профилактики брюшного тифа и паратифов применяются также комплексные препараты:

- дивакцина тифо-паратифозная В, содержащая клетки возбудителей тифа и паратифа В, инактивированные спиртом или высокой температурой;
- химическая вакцина ГАВте, содержащая О-антигены *S. Typhi*, *S. Paratyphi* А и В, а также столбнячный анатоксин. Вакцина применяется однократно подкожно. Ревакцинация проводится через 9-12 месяцев;
- брюшнотифозная вакцина с секстанатоксином (тетраанатоксином). Содержит О- и Vi-антигены брюшнотифозных бактерий и очищенные концентрированные анатоксины возбудителей столбняка, ботулизма, газовой гангрены, сорбированные на гидроокиси алюминия.

Для лечения брюшного тифа и паратифов используют антибиотики после проверки чувствительности к ним выделенных сальмонелл. Наиболее выраженным лечебным эффектом обладают левомецетин, препараты фторхинолонового ряда, тетрациклины, ампициллин, нитрофурановые производные, бисептол. Однако с конца XX века зарегистрированы вспышки брюшного тифа, вызванные штаммами, устойчивыми к левомецетину, ко-тримоксазолу, ампициллину. В последние годы отмечается снижение чувствительности сальмонелл к фторхинолонам и цефалоспорином третьего поколения.

### Сальмонеллез

**Сальмонеллез** - острая кишечная инфекция, вызываемая сальмонеллами, попадающими в организм с продуктами животного происхождения. Сальмонеллез характеризуется поражением тонкого кишечника и протекает либо в форме энтерита, либо в генерализованной форме.

**Этиология.** Возбудителями сальмонеллеза является большая группа сальмонелл, вызывающих заболевание как у животных, так и у человека (**бипатогенные сальмонеллы**). Наиболее часто возбудителями сальмонеллезом у человека являются серовары *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Choleraesuis*, *S. Dublin* и другие, входящие

в серогруппы В, С, D и Е. Заражающая доза для человека составляет 1-100 млн. микробных клеток.

**Эпидемиология.** Основным резервуаром возбудителей и первичным источником сальмонеллезов являются сельскохозяйственные животные и птица. Вторичным источником сальмонеллезной инфекции может быть больной человек или человек-бактерионоситель. Работники пищевых предприятий, заражаясь от сырья животного происхождения, могут инфицировать пищевые продукты. У крупного рогатого скота и свиней сальмонеллез протекает как в форме острого заболевания, так и в форме бактерионосительства. При острой форме заболевания мышцы и внутренние органы животных гематогенно инфицируются возбудителем при жизни животного. При этом животные выделяют возбудителя с мочой, испражнениями, слюной и молоком. У водоплавающей птицы и кур наблюдается трансвариальная передача возбудителя. При бактерионосительстве сальмонеллы находятся в кишечнике, а мясо инфицируется при забое животного.

**Основными факторами передачи** возбудителей служат мясо, молоко, яйца, субпродукты, особенно печень крупного рогатого скота и свиней, вода. Инфицирование мяса может быть прижизненным или в процессе уоя животных, при разделке туш, в процессе хранения, транспортировки и кулинарной обработки. В настоящее время чаще всего заболевания возникают при употреблении в пищу инфицированных яиц, кондитерских изделий, мяса птицы (кур, уток, гусей, индеек), мяса крупного рогатого скота и свиней. Известны вспышки сальмонеллеза, связанные с употреблением рыбы и рыбных продуктов, овощей, фруктов, ягод. Наибольшую опасность представляют продукты, недостаточно обработанные термически (полусырые бифштексы, яйца сырые и всмятку) и длительное время хранившиеся при комнатной температуре. Следует учитывать, что при интенсивном размножении сальмонелл в пищевых продуктах их органолептические свойства (вкус, цвет, запах) не изменяются.

**Механизм передачи** - фекально-оральный. **Пути передачи** - алиментарный и водный. Наблюдается также контактно-бытовой путь инфицирования, особенно у детей раннего возраста и ослабленных взрослых.

**Патогенез.** Сальмонеллы с пищей или водой проникают в желудок, а затем – в тонкий кишечник. В тонком кишечнике сальмонеллы проникают в М-клетки и в составе эндосом транспортируются в подслизистый слой. Проникновение сальмонелл в клетки вызывает образование в них протеинкиназы, фосфолипазы, арахидоновой кислоты, простагландинов и лейкотриенов, что вызывает повышение уровня внутриклеточного кальция. В результате этого нарушается транспорт электролитов и воды, возникает диарея.

В подслизистом слое сальмонеллы захватываются макрофагами и переносятся в пейеровы бляшки, где размножаются и формируют первичный очаг инфекции. При этом сальмонеллы выделяют энтеротоксин, который активизирует кальций-зависимую аденилатциклазу эпителиальных клеток тонкого кишечника и усиливает поступление в просвет кишечника жидкости и солей (рисунок 3.103).

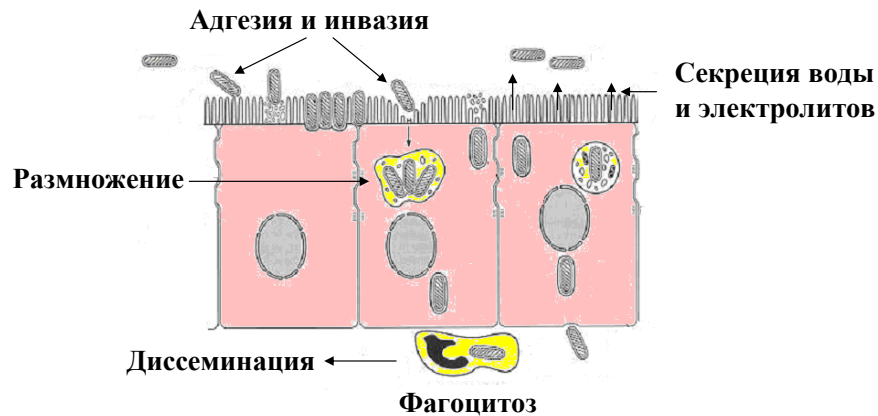


Рисунок 3.103 – Схема патогенеза сальмонеллеза. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Развивающиеся у больных диарея и рвота приводят к обезвоживанию организма. Диареогенный энтеротоксин является главным фактором патогенности при сальмонеллезах. Этот токсин поступает в цитоплазму эпителиальных клеток и в просвет кишечника во время инвазии слизистой и внутриклеточного перемещения сальмонелл в составе эндосом.

При нарушении барьерной функции лимфатического аппарата кишечника развивается бактериемия, в результате которой сальмонеллы заносятся в различные органы и ткани, формируя вторичные гнойные очаги. Особенно склонны проникать в кровоток *S. Dublin*, *S. Panama*, *S. Infantis*, *S. Virchow*, *S. Newport*.

**Клиника.** Различают следующие формы сальмонеллезов:

1. С клиническими проявлениями:
  - гастроинтестинальная форма (гастроэнтерит, энтероколит);
  - гипертоксическая форма;
  - тифоподобная форма;
  - септическая форма (септикопиемия);
  - острая лихорадочная форма.
2. Без клинических проявлений:
  - субклиническая или латентная форма;
  - бактерионосительство.

**Инкубационный период** при сальмонеллезах короткий - от 3,5 до 24 часов. Начало заболевания острое. Отмечаются явления гастроэнтерита с выраженными симптомами общей интоксикации. При **гастроинтестинальной форме** симптомы развиваются через 10-18 часов после попадания возбудителя в организм. Наблюдается рвота, диарея, обезвоживание организма, болезненность и урчание в правой подвздошной области. Частота стула достигает до 10 раз в сутки, стул в виде “болотной тины”. Заболевание протекает по типу токсикоинфекции и через 3-5 дней заканчивается выздоровлением.

**Тифоподобная форма** развивается в результате диссеминации возбудителя по организму. По клиническим симптомам эта форма заболевания напоминает брюшной тиф.

**Сальмонеллезная септицемия** наблюдается у новорожденных и лиц пожилого возраста. Основными возбудителями этой формы заболевания являются *S.*

*Choleraesuis* и *S. Typhimurium*. Для сальмонеллезной септицемии характерно образование гнойных очагов в костях и внутренних органах. Сальмонеллы, вызывающие генерализованный процесс, часто обладают устойчивостью к антибиотикам, бактериофагам, повышенной температуре и дезинфектантам.

**Иммунитет** при сальмонеллезах непродолжительный, ненапряженный, серовароспецифический. Возможны повторные заболевания, а также формирование длительного бактерионосительства.

**Диагностика** сальмонеллезом проводится бактериологическим (культуральным) и серологическим методами. Культуральному исследованию подвергают рвотные массы, промывные воды желудка, испражнения, желчь, мочу, кровь (при генерализованных формах заболевания). При диагностике используют также остатки подозрительной пищи, продукты, из которых ее готовили, воду, смывы с поверхности кухонного оборудования и рук персонала. Смывы с объектов окружающей среды берут с помощью стерильных ватно-марлевых тампонов, смоченных пептонной водой. Для выделения сальмонелл из пищевых продуктов и объектов внешней среды применяют магниевую среду (среду Раппапорта или Раппапорта-Вассилиадиса). Готовая среда Раппапорта прозрачная, темно-голубого цвета (рисунок 3.104).



Рисунок 3.104 - Рост сальмонелл на среде Раппапорта-Вассилиадиса: а – рост сальмонелл; б – контроль среды. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Посев крови для выделения гемокультуры проводят в желчный бульон или среду Раппапорта. Испражнения, мочу, промывные воды, рвотные массы, пищевые продукты и смывы параллельно высевают в среду накопления (селенитовый, магниевый или желчный бульон) и на среду Плоскирева или висмут-сульфитный агар (рисунок 3.105).

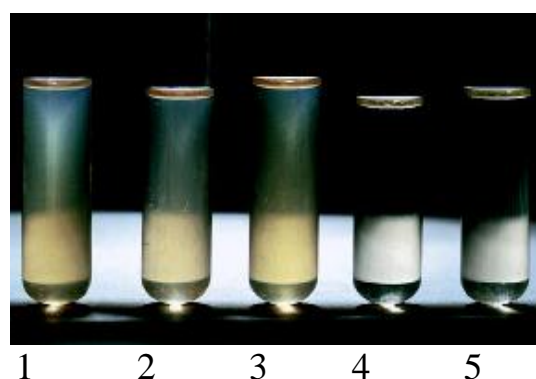


Рисунок 3.105 - Рост сальмонелл в селенитовом бульоне: 1 – *S. Enteritidis*, 2 - *S. Paratyphi B*, 3 - *S. Typhimurium*, 4 – *S. Typhi*, 5 – контроль. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На следующий день подозрительные колонии с висмут-сульфитного агара пересевают на трехсахарный агар Олькеницкого для накопления чистой культуры. На третий день выделенные культуры идентифицируют по биохимическим и серологическим свойствам.

Для серологического исследования используют **реакцию агглютинации на стекле** с адсорбированными групповыми сыворотками А, В, С, Д и Е. Именно среди этих пяти серогрупп встречаются сальмонеллы, которые чаще всего вызывают заболевание. В реакции агглютинации применяют живые суточные культуры, полученные на плотной питательной среде. При положительном результате с групповой сывороткой, реакцию агглютинации проводят с О-сыворотками, специфичными для данной серогруппы, а затем - с монорецепторными Н-сыворотками. По результатам РА с монорецепторными сыворотками делают окончательный вывод о виде и сероваре возбудителя.

Для определения титра антител в сыворотке крови больных используют **РНГА** с поливалентными эритроцитарными диагностикумами, содержащими антигены серогрупп А, В, С, Д и Е.

Для серологической диагностики используют также **реакцию иммунофлюоресценции (РИФ)** с мечеными флюорохромами антителами и **ИФА**.

Реакция иммунофлюоресценции применяется как экспресс-метод обнаружения сальмонелл в исследуемом материале. Для этого готовят мазки или мазки-отпечатки, фиксируют их химическим методом и окрашивают сальмонеллезными флюоресцирующими сыворотками. Микроскопию мазков проводят с помощью люминесцентного микроскопа.

Для предварительного выявления сальмонелл в пищевых продуктах применяют экспресс-тест Singlepath® Salmonella – иммунохроматографический тест на основе меченных золотом антител. При наличии в пробе антигена (сальмонелл) образуется четкая красная линия (рисунок 3.106).

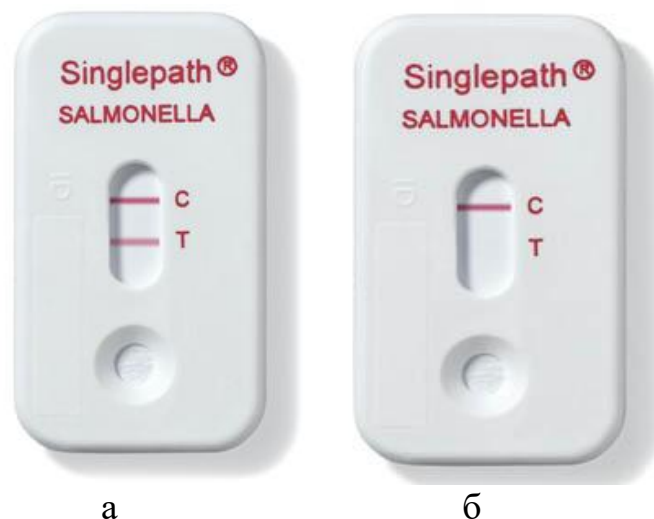


Рисунок 3.106 – Положительный (а) и отрицательный (б) результаты экспресс-теста Singlepath® Salmonella. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Профилактика.** Средства специфической профилактики сальмонеллёзов, вызванных бактериями животного происхождения, отсутствуют. Неспецифическая профилактика сальмонеллёзов включает следующие мероприятия:

- ветеринарно-санитарные мероприятия - предупреждение сальмонеллёзов среди животных и птиц (специфическая профилактика сальмонеллёзов у животных и птиц с помощью живых или инактивированных вакцин);
- санитарно-гигиенические мероприятия - защита пищевых продуктов от инфицирования при их заготовке, хранении и транспортировке;
- противоэпидемические мероприятия - выявление бактерионосителей и больных лиц, их санация и лечение.

**Лечение** сальмонеллеза в первую очередь направлено на нормализацию водно-солевого обмена. При генерализованных формах инфекции применяют антибиотики (левомецетин, ампициллин и др.).

### **Внутрибольничный (нозокомиальный) сальмонеллез**

**Этиология.** Возбудителями внутрибольничного (нозокомиального) сальмонеллеза являются госпитальные штаммы сальмонелл, для которых характерны множественная устойчивость к антибиотикам, устойчивость к типовым бактериофагам, измененные биохимические свойства. Чаще всего возбудителями нозокомиального сальмонеллеза являются штаммы *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Virchow*, *S. Infantis*, *S. Haife* и некоторые другие.

**Эпидемиология.** Источником инфекции и основным резервуаром возбудителей являются больные люди и бактерионосители, находящиеся в стационаре. Чаще всего заболевают дети в возрасте до 1 года, особенно новорожденные, а также взрослые - пациенты хирургических и реанимационных отделений, лица пожилого и старческого возраста, больные с тяжелой патологией, сопровождающейся иммунодефицитами.

Передача возбудителя при внутрибольничном сальмонеллезе осуществляется воздушно-пылевым путем (при вдыхании воздуха, содержащего пылевые частицы с адсорбированными на них сальмонеллами), контактно-бытовым путем (через предметы обихода, посуду, грязные руки персонала), алиментарным путем. Заражающая доза при внутрибольничном сальмонеллезе составляет от 1000 до 10000 клеток.

**Клиническое течение.** Внутрибольничный сальмонеллез характеризуется длительным инкубационным периодом (от 8 до 43 суток). Заболевание может проявляться в виде бессимптомного носительства, кишечных расстройств, генерализованных форм и септических осложнений.

**Диагностика.** Внутрибольничный сальмонеллез диагностируется путем выделения чистой культуры возбудителя и изучения ее свойств. Для установления источника инфекции определяют обсемененность помещений путем отбора проб воздуха аспирационным методом. В качестве дифференциально-диагностических сред используют агар Эндо или висмут-сульфитный агар. Объем аспирируемого воздуха составляет не менее 1000 дм<sup>3</sup>. Посевы инкубируют при температуре 37<sup>0</sup>С в течение 48 часов.



**Иммунитет** после заболевания не формируется.

**Профилактика** осуществляется поливалентным бактериофагом.

**Для лечения** нозокомиального сальмонеллеза применяют антибиотики.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение сальмонелл.
2. Морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства сальмонелл.
3. Факторы патогенности сальмонелл и патогенез сальмонеллезов.
4. Клиническая картина брюшного тифа, паратифов и других сальмонеллезов.
5. Диагностика брюшного тифа и сальмонеллезов.
6. Профилактика и принципы лечения брюшного тифа и сальмонеллезов.

### Тренировочные тесты

1. Чистую культуру возбудителя брюшного тифа впервые получил (один правильный ответ):

- 1.1 К. Эберт
- 1.2 Г. Гаффки
- 1.3 Д. Сальмон
- 1.4 Т. Смит
- 1.5 А. Гартнер

2. Возбудители брюшного тифа, паратифов А и В относятся к роду (один правильный ответ):

- 2.1 *Yersinia*
- 2.2 *Escherichia*
- 2.3 *Citrobacter*
- 2.4 *Salmonella*
- 2.5 *Shigella*

3. Возбудитель паратифа А выделил (один правильный ответ):

- 3.1 Д. Сальмон
- 3.2 А. Брион и Х. Кайзер
- 3.3 Т. Смит
- 3.4 А. Гартнер
- 3.5 Х. Шоттмюллер

4. Возбудитель паратифа В выделен (один правильный ответ):

- 4.1 Л. Хиршфельдом
- 4.2 Х. Шоттмюллером
- 4.3 Т. Смитом
- 4.4 А. Брионом
- 4.5 Х. Кайзером

5. Возбудитель паратифа С выделен (один правильный ответ):

- 5.1 Л. Хиршфельдом
- 5.2 Х. Шоттмюллером
- 5.3 Т. Смитом
- 5.4 А. Брионом
- 5.5 Х. Кайзером

6. Возбудитель брюшного тифа относится к роду (один правильный ответ):

- 6.1 *Yersinia*
- 6.2 *Escherichia*
- 6.3 *Citrobacter*
- 6.4 *Salmonella*
- 6.5 *Shigella*

7. Родовое название возбудителей брюшного тифа и паратифов (один правильный ответ):

- 7.1 *Escherichia*
- 7.2 *Salmonella*
- 7.3 *Shigella*
- 7.4 *Yersinia*
- 7.5 *Proteus*

8. Вид, объединяющий все серовары сальмонелл (один правильный ответ):

- 8.1 *S. enterica*
- 8.2 *S. enteritidis*
- 8.3 *S. typhi*
- 8.4 *S. typhimurium*
- 8.5 *S. choleraesuis*

9. Назовите возбудителя брюшного тифа (один правильный ответ):

- 9.1 *Salmonella enterica* серовар *Typhimurium*
- 9.2 *Shigella flexneri*
- 9.3 *Escherichia coli*
- 9.4 *Salmonella enterica* серовар *Typhi*
- 9.5 *Staphylococcus aureus*

10. Характерно для *Salmonella typhi* (один правильный ответ):

- 10.1 грамотрицательная палочка
- 10.2 строгий анаэроб
- 10.3 аэрогенный механизм передачи инфекции
- 10.4 грамположительная палочка
- 10.5 вызывает заболевание домашних животных

11. Основа классификации сальмонелл по Кауфману-Уайту (один правильный ответ):

- 11.1 чувствительности к бактериофагам

- 11.2 биохимические свойства
- 11.3 морфологические признаки
- 11.4 антигенное строение
- 11.5 чувствительность к антибиотикам

12. Классификация Кауфмана-Уайта подразумевает (один правильный ответ):

- 12.1 деление сальмонелл на серогруппы по строению Н-антигена
- 12.2 деление шигелл на серогруппы по строению О-антигена
- 12.3 деление сальмонелл на серогруппы по строению О-антигена и на серовары по строению Н-антигена
- 12.4 деление сальмонелл на серогруппы по строению К-антигена и на серовары по строению Н-антигена
- 12.5 деление шигелл на серогруппы по строению К-антигена

13. Сальмонеллы образуют колонии чёрного цвета на (один правильный ответ):

- 13.1 среде Плоскирева
- 13.2 среде Эндо
- 13.3 висмут-сульфитном агаре
- 13.4 среде Левина
- 13.5 желточно-солевом агаре

14. Vi-антиген обнаруживается у (один правильный ответ):

- 14.1 *Escherichia coli*
- 14.2 *Vibrio cholerae*
- 14.3 *Salmonella typhi*
- 14.4 *Shigella sonnei*
- 14.5 *Shigella flexneri*

15. Возбудителей брюшного тифа и паратифов дифференцируют по (один правильный ответ):

- 15.1 морфологическим свойствам
- 15.2 культуральным и биохимическим свойствам
- 15.3 биохимическим и антигенным свойствам
- 15.4 вирулентности
- 15.5 устойчивости во внешней среде

16. Vi-антиген (несколько правильных ответов):

- 16.1 разновидность О-антигена
- 16.2 разновидность Н-антигена
- 16.3 разновидность К-антигена
- 16.4 характерен для рода *Salmonella*
- 16.5 характерен для *S. typhi*

17. Источник инфекции при брюшном тифе (несколько правильных ответов):

- 17.1 пищевые продукты
- 17.2 вода

17.3 больные люди

17.4 бактерионосители

17.5 грызуны

18. Пути передачи возбудителя брюшного тифа (несколько правильных ответов):

18.1 алиментарный

18.2 контактный

18.3 трансплацентарный

18.4 воздушно-капельный

18.5 воздушно-пылевой

19. Пути передачи возбудителей паратифов А и В (несколько правильных ответов):

19.1 трансплацентарный

19.2 воздушно-капельный

19.3 алиментарный

19.4 контактный

19.5 воздушно-пылевой

20. Входные ворота инфекции при брюшном тифе (один правильный ответ):

20.1 глоточное кольцо

20.2 слизистая желудка

20.3 слизистая тонкого кишечника

20.4 слизистая мочевого пузыря

20.5 желчный пузырь

21. Лихорадка и спутанное сознание при брюшном тифе обусловлено действием (один правильный ответ):

21.1 жгутиков

21.2 цитотоксина

21.3 ферментов агрессии

21.4 эндотоксина

21.5 Vi-антигена

22. Во время инкубационного периода *S. typhi* размножаются (один правильный ответ):

22.1 в эпителии ротовой полости

22.2 в гепатоцитах

22.3 в просвете тонкого кишечника

22.4 в просвете толстого кишечника

22.5 в макрофагах в пейеровых бляшках и солитарных фолликулах

23. Главные методы микробиологической диагностики брюшного тифа, паратифов А и В (один правильный ответ):

23.1 микроскопический, бактериологический

23.2 культуральный, серологический

23.3 серологический, аллергический

23.4 аллергический

## 23.5 молекулярно-генетический

24. Серологическую диагностику брюшного тифа проводят (один правильный ответ):

24.1 с 1-го дня заболевания

24.2 с 3-го дня заболевания

24.3 с конца 1 недели заболевания

24.4 с конца 2 недели заболевания

24.5 с конца 3 недели заболевания

25. При брюшном тифе в разные сроки заболевания возбудитель выделяют из (несколько правильных ответов):

25.1 крови

25.2 ликвора

25.3 мокроты

25.4 фекалий

25.5 желчи

26. В первую неделю заболевания брюшным тифом исследуют (один правильный ответ):

26.1 мочу

26.2 кровь

26.3 желчь

26.4 испражнения

26.5 костный мозг

27. В первую неделю заболевания возбудитель брюшного тифа чаще всего обнаруживают в (один правильный ответ):

27.1 моче

27.2 крови

27.3 кале

27.4 желчи

27.5 костном мозге

28. При бактериологической диагностике брюшного тифа на 2-3 неделе заболевания исследуют (несколько правильных ответов):

28.1 мочу

28.2 мокроту

28.3 ликвор

28.4 кровь

28.5 испражнения

29. Исследуемый материал в третью неделю заболевания брюшным тифом (несколько правильных ответов):

29.1 кровь

29.2 испражнения

- 29.3 желчь
- 29.4 моча
- 29.5 желудочный сок

30. Реакция Видаля используется при диагностике (один правильный ответ):

- 30.1 брюшного тифа
- 30.2 дизентерии
- 30.3 холеры
- 30.4 ангины
- 30.5 менингита

31. Реакция Видаля представляет собой (один правильный ответ):

- 31.1 реакцию агглютинации на стекле
- 31.2 кожную аллергическую реакцию
- 31.3 реакцию агглютинации в пробирках
- 31.4 реакцию преципитации
- 31.5 реакцию непрямой гемагглютинации

32. Наиболее ранний и достоверный метод диагностики брюшного тифа (один правильный ответ):

- 32.1 выделение копрокультуры
- 32.2 серодиагностика
- 32.3 выделение гемокультуры
- 32.4 выделение уринокультуры
- 32.5 выделение миелокультуры

33. К осложнениям брюшного тифа относится (один правильный ответ):

- 33.1 артрит
- 33.2 миокардит
- 33.3 перитонит
- 33.4 гломерулонефрит
- 33.5 гепатит

34. У бактерионосителей возбудитель брюшного тифа выделяют из (один правильный ответ):

- 34.1 крови
- 34.2 ликвора
- 34.3 желчи
- 34.4 мокроты
- 34.5 слюны

35. У бактерионосителей после переболевания брюшным тифом определяют антитела к (один правильный ответ):

- 35.1 Vi-антигену
- 35.2 O-антигену
- 35.3 H-антигену
- 35.4 эндотоксину

35.5 липополисахариду

36. Для специфической профилактики брюшного тифа используют (один правильный ответ):

36.1 живую вакцину

36.2 убитую вакцину

36.3 анатоксин

36.4 генно-инженерную вакцину

36.5 антибиотики

37. Возбудители сальмонеллезов (несколько правильных ответов):

37.1 *S. sonnei*

37.2 *S. enteritidis*

37.3 *S. flexneri*

37.4 *S. choleraesuis*

37.5 *S. typhimurium*

38. При сальмонеллезах животного происхождения возбудители размножаются и накапливаются в (один правильный ответ):

38.1 желудке человека

38.2 толстом кишечнике человека

38.3 желчном пузыре человека

38.4 готовом блюде

38.5 инфицированной воде

39. Профилактика сальмонеллезов проводится с помощью (один правильный ответ):

39.1 живой вакцины

39.2 анатоксина

39.3 поливалентного бактериофага

39.4 иммуноглобулина

39.5 вакцины с Vi-антигеном

40. Сальмонеллез чаще всего протекает в виде (один правильный ответ):

40.1 септицемии

40.2 гастроэнтерита

40.3 менингита

40.4 назофарингита

40.5 перитонита

41. Для идентификации видов сальмонелл используют (один правильный ответ):

41.1 реакцию преципитации

41.2 ферментацию лактозы

41.3 ферментацию маннита

41.4 реакцию агглютинации с антисыворотками к O- и H-антигенам

41.5 реакцию связывания комплемента

42. Бактериемия наблюдается при (несколько правильных ответов):

42.1 холере

42.2 дизентерии

42.3 брюшном тифе

42.4 сальмонеллёзе

42.5 эшерихиозе

Правильные ответы: 1.2; 2.4; 3.2; 4.2; 5.1; 6.4; 7.2; 8.1; 9.4; 10.1; 11.4; 12.3; 13.3; 14.3; 15.3; 16.3, 16.5; 17.3, 17.4; 18.1, 18.2; 19.3, 19.4; 20.3; 21.4; 22.5; 23.2; 24.3; 25.1, 25.4, 25.5; 26.2; 27.2; 28.1, 28.5; 29.2, 29.3, 29.4; 30.1; 31.3; 32.3; 33.3; 34.3; 35.1; 36.2; 37.2, 37.4, 37.5; 38.4; 39.3; 40.2; 41.4; 42.3, 42.4.

### 3.2. Иерсинии

Иерсинии относятся к типу *Proteobacteria*, классу *Gamma*proteobacteria, порядку *Enterobacteriales*, семейству *Yersiniaceae*, роду *Yersinia*. Название рода происходит от фамилии А. Йерсена, который совместно с Ш. Китазато открыл возбудителя чумы. Род *Yersinia* включает 18 видов (*Y. aldovae*, *Y. aleksiciae*, *Y. bercovieri*, *Y. entomophaga*, *Y. enterocolitica*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. massiliensis*, *Y. mollaretii*, *Y. nurmii*, *Y. pekkanenii*, *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. rohdei*, *Y. ruckeri*, *Y. similis*, *Y. wautersii*). Медицинское значение имеют 3 вида: *Y. pestis* (возбудитель чумы), *Y. pseudotuberculosis* (возбудитель псевдотуберкулеза) и *Y. enterocolitica* (возбудитель кишечного иерсиниоза). *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* относятся к энтеропатогенным иерсиниям. Подразделение иерсиний на виды производится на основе морфологических и биохимических свойств. На основании свойств и генетических



особенностей виды, входящие в род *Yersinia*, сгруппированы в 14 кластеров. Кластер 1 включает возбудителей чумы и псевдотуберкулеза. Возбудитель кишечного иерсиниоза относится к кластерам 6 (филогруппа 1) и 7 (филогруппы 2-6). По патогенности виды, входящие в состав рода *Yersinia*, можно распределить на группы (рисунок 3.107).

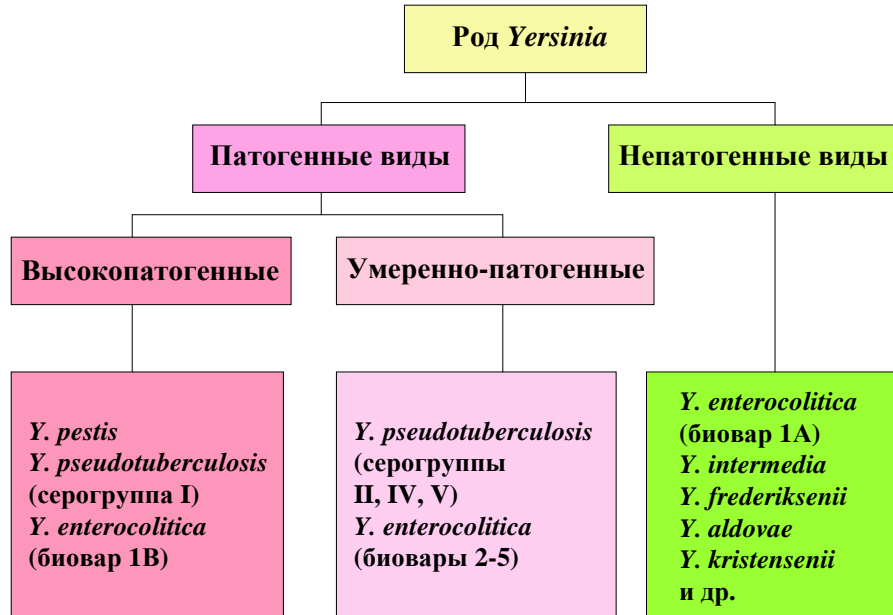


Рисунок 3.107 – Распределение иерсиний на группы по патогенности.

Для патогенных иерсиний характерна способность к аутоагглютинации, кальций-зависимому росту (бактериостаз при отсутствии ионов кальция в среде) и температурозависимая морфология колоний. Непатогенные виды иерсиний в отдельных случаях могут вызывать оппортунистические инфекции у человека.

В геноме патогенных иерсиний присутствуют плазмиды. У разных видов иерсиний набор этих плазмид различный (таблица 3.5).

Таблица 3.5 – Плазмидный состав иерсиний

Плазмиды, детерминируемые признаки и молекулярная масса	<i>Y. pestis</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Y. enterocolitica</i>
pYT (pFra, pMT1), синтез F1-антигена и “мышинного” токсина (примерно 100 kb)	+	-	-
pYV (pCad, pCD1, pVW, pLcr), синтез белка адгезии YadA и белков наружной мембраны Yop (примерно 70 kb)	+	+	+
pYP (pPst, pPla, pPCP1), синтез пестицина, фибринолизина, плазмокоагулазы, иммунитет к пестицину (примерно 9 kb)	+	-	-
pVM, синтез белков с	-	+	-

антифагоцитарным действием (примерно 123 kb)			
--	--	--	--

Одной из особенностей иерсиний является психрофильность – способность бактерий размножаться при температуре 4-8<sup>o</sup>C.

В процессе эволюции у иерсиний выработались 2 механизма экспрессии генов. Один механизм реагирует на изменение температуры окружающей среды, а другой – на изменение концентрации ионов кальция в среде. Например, заражение энтеропатогенными иерсиниями происходит из сапрофитической фазы после размножения бактерий в обсемененных пищевых продуктах при низкой температуре.

### Возбудитель чумы

**Чума** (лат. *pestis* - зараза, англ. *plague* - чума, моровая язва, мор, наказание, проклятье, напасть, бедствие, бич) - острая зоонозная особо опасная конвенционная (карантинная) природно-очаговая болезнь, характеризующаяся тяжелым течением. У человека заболевание проявляется сильной интоксикацией, образованием бубонов и высокой летальностью. Чума относится к числу инфекций, вызывающих не только эпидемии, но и пандемии. В истории человечества документально подтверждены **три пандемии чумы**.

**Первая пандемия** чумы описывается как “Юстинианова чума” (531-589 гг.). Свое название эта пандемия получила по имени правившего тогда византийского императора Юстиниана I (рисунок 3.108), который во время пандемии переболел бубонной формой чумы.

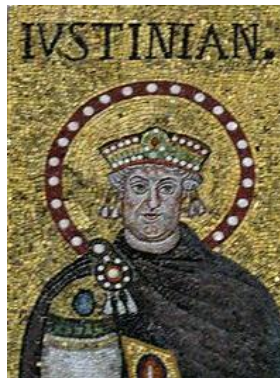


Рисунок 3.108 - Император Юстиниан I (483-565 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Эта пандемия началась в Египте и распространялась вдоль берегов Африки в западном направлении в Европу, а через Палестину и Сирию в восточном направлении в Азию. Во время этой пандемии от чумы погибло почти 100 млн. человек.

**Вторая пандемия**, известная под названием “Черная или великая смерть”, была занесена из Монголии (рисунок 3.109).



Рисунок 3.109 – Монгольские степи, откуда пошла по свету “Черная смерть”.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В течение 1346-1353 гг. от чумы погибло около 60 млн. человек, в том числе более 25 млн. человек в Европе. Со времен второй пандемии стали применять карантин (итал. “*quaranta*” – сорок, “время, из сорока дней состоящее”, “дом в котором приезжающие из заразных мест должны иметь пребывание свое”). Именно с этого времени стали использовать защитный костюм с оригинальной “носатой” маской (*Plague Doctor Mask*). Считалось, что маска с клювом отпугивала болезнь. Но она носила и функциональную нагрузку, так как кончик носа заполняли лекарственными травами, что защищало врача от “болезнетворного запаха”, а окружающих – от чесночного запаха, исходившего от врача, постоянно жевавшего чеснок. На рисунке 3.110 представлен костюм чумного доктора.



а



б

Рисунок 3.110 – Костюм чумного доктора (а) и “носатая” маска (б). Займствовано из Интернет-ресурсов.

Для людей, приезжающих из других мест, строили специальные дома, в которых они проживали в течение сорока дней, не покидая их ни при каких обстоятельствах. Морскому транспорту, прибывающему из опасных мест, не разрешалось приближаться к берегу и предписывалось сорок дней стоять на рейде.

**Третья пандемия** возникла в 1855 г. в китайской провинции Юньнань и в течение нескольких десятилетий распространилась на все континенты (рисунок 3.111).



Рисунок 3.111 – Китайская провинция Юньнань. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Третья пандемия продолжалась до 1938 г. Только за первые 20 лет третьей пандемии от чумы погибло 10 млн. человек. Во время этой пандемии болезнь возникала в основном в портовых городах, источником инфекции были судовые и портовые крысы, а люди заболели чаще всего бубонной формой чумы.

Многие ученые занимались изучением причин возникновения чумы, разрабатывали средства и методы ее профилактики и лечения. Например, русский врач Д.С. Самойлович для доказательства опасности вещей больного надевал себе на голое тело обработанное ядовитыми порошками белье человека, умершего от чумы, и носил это белье сутками. Он не заболел чумой, поэтому предположил, что “живое язвенное начало” (возбудитель чумы) погибало при обработке белья ядовитыми порошками.

В 1894 г. на борьбу с начавшейся третьей пандемией чумы в Китай были направлены известные ученые: французское правительство направило А. Йерсена, а японское правительство – С. Китасато (рисунок 3.112).



А

Б

Рисунок 3.112 - А - Александр Эмиль Жан Йерсен (Alexandre Emile Jean Yersen, 1863-1943 гг.); Б – Сибасабуро Китасато (1853-1931 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

С. Китасато выделил возбудителя из тканей умершего от чумы человека, а А. Йерсен - как из органов погибших от чумы людей, так и из органов павших крыс. А. Йерсен также впервые установил, что при пересевах на питательных средах возбудитель утрачивает патогенные свойства, а ослабленная культура в малых дозах способна защищать животных от чумы. В честь А. Йерсена возбудитель получил название *Yersinia pestis*.

В 1896 г. чума дошла до индийского города Бомбей. По просьбе властей в Бомбей из Парижа прибыл сотрудник Пастеровского института В.А. Хавкин (рисунок 3.113), разработавший к тому времени вакцину против чумы – так называемую лимфу Хавкина.



Рисунок 3.113 - Владимир Аронович Хавкин (1860-1930 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

За короткое время В.А. Хавкин наладил производство вакцины. Для приготовления вакцины чумной микроб выращивали в мясном бульоне, а полученную культуру инактивировали прогреванием в течение часа при температуре 65<sup>0</sup>С. Введение лимфы Хавкина грызунам защищало их от чумы. Для производства вакцины в Бомбее была создана противочумная лаборатория. Приготовленная вакцина широко использовалась для вакцинации населения против чумы.

С целью предупреждения завоза чумы в Россию в 1897 г. была создана особая правительственная комиссия – КОМОЧУМ, а в Императорском институте экспериментальной медицины (г. Санкт-Петербург) была создана чумная лаборатория. Так как работа с чумным микробом требовала строгой изоляции, лабораторию разместили в Кронштадском форте “Император Александр I” (рисунок 3.114).

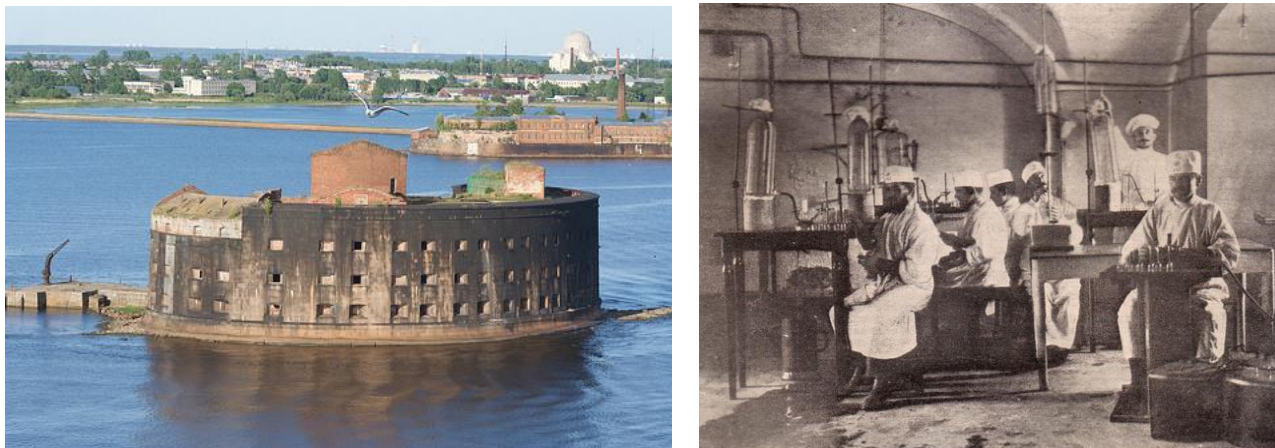


Рисунок 3.114 - Форт “Император Александр I” и находящаяся в нем лаборатория по производству противочумных препаратов. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В этой лаборатории было организовано производство чумной вакцины по методу Хавкина и противочумной сыворотки. В 1918 г. лабораторию из Кронштадского форта перевели в г. Саратов, где был открыт бактериологический институт с противочумным уклоном - в настоящее время Российский научно-исследовательский противочумный институт “Микроб”.

Перед началом третьей пандемии чумы в Китае наблюдали массовую миграцию и гибель крыс. Вслед за эпизоотией стали наблюдаться заболевания чумой людей. Возникло предположение, что существует прямая связь между болезнью грызунов и заболеванием людей. В 1898 г. французский ученый П.-Л. Симон выделил возбудителя чумы из трупов крыс и экспериментально установил возможность передачи чумных бактерий блохами между крысами (рисунок 3.115).



Рисунок 3.115 - Поль-Луи Симон (Paul-Louis Simond, 1858-1947 гг.) и его эксперимент по изучению факта передачи возбудителя чумы блохами между крысами. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1899 г. российский эпидемиолог и микробиолог Д.К. Заболотный (рисунок 3.116) предположил, что в природе возбудитель чумы сохраняется в организме различных грызунов.

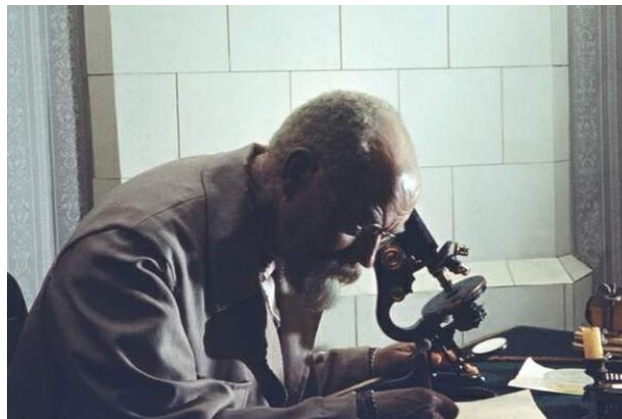


Рисунок 3.116 - Даниил Кириллович Заболотный (1866-1929 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Его предположение подтвердилось в 1911 г. во время эпидемии легочной чумы в Маньчжурии, куда прибыла русская экспедиция во главе с Д.К. Заболотным. Во время экспедиции возбудитель чумы был выделен из органов сурка - тарбагана. В последующем возбудитель был выделен из органов суслика, и установлена возможность передачи чумного микроба человеку от грызунов.

Для защиты от чумы французские ученые Л. Оттен, Ж. Жирар и Ж.-М. Робик разработали живые противочумные вакцины на основе аттенуированных штаммов, полученных путем длительных пересевов бактерий на питательных средах. В результате проведенных исследований Л. Оттен создал противочумную вакцину на основе штамма TJW (рисунок 3.117).



Рисунок 3.117 - Приготовление живой чумной вакцины в лаборатории Л. Оттена на о. Ява. Справа - Л. Оттен с помощниками. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Ж. Жирар и Ж.-М. Робик (рисунок 3.118) проводили исследования с вакциной, полученной на основе штамма EV.



А

Б

Рисунок 3.118 – А - Жорж Жирар (Georges Girard, 1888-1985 гг.); Б - Жан-Мари Робик (Jean-Marie Robic). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для получения вакцины Ж. Жирар использовал штамм, выделенный в 1926 г. из организма человека, погибшего от бубонной формы чумы. Путем ежемесячных пересевов в течение 5 лет на агаре при температуре 18-20<sup>0</sup>С был получен штамм EV (инициалы погибшего человека), утративший патогенные свойства, но обладающий иммуногенностью. В 1933 г. вакциной EV было привито 13 тысяч человек. По своей эффективности вакцина EV превосходила не только убитую вакцину, но и вакцину Л. Оттена. В 1936 г. штамм EV был передан Ж. Жираром в СССР. До настоящего времени этот штамм используется для приготовления живой противочумной вакцины.

В 1934 г. в бывшем Советском Союзе М.П. Покровская в Ставропольском научно-исследовательском противочумном институте получила вакцинный штамм чумного микроба путем обработки культуры бактериофагами. Полученную вакцину М.П. Покровская с сотрудниками испытали на себе, а затем использовали при ликвидации вспышки чумы в Монголии.

В настоящее время ежегодно число заболевших чумой людей составляет около 2,5 тысяч человек. По данным ВОЗ, с 1989 г. по 2004 г. в 24 странах Азии, Африки и Америки было зафиксировано около 40 тысяч случаев заболеваний людей чумой, причем смертность составила около 7% от числа заболевших. Последняя эпидемия легочной чумы в России возникла в 1921 г. в Приморском крае. С 1979 г. на территории России случаи заболевания людей чумой не зафиксированы. В то же время в 2001-2003 гг. в Республике Казахстан зарегистрировано 7 случаев заболевания людей чумой (1 летальный случай), в Монголии – 23 случая заболевания (3 летальных случая), в Китае в 2001 – 2002 гг. чумой заболело 103 человека (9 летальных исходов). В настоящее время эпидемическая ситуация по чуме в сопредельных с Российской Федерацией территориях остается напряженной.

**Таксономическое положение.** Возбудитель чумы относится к типу *Proteobacteria*, классу *Gammaproteobacteria*, порядку *Enterobacteriales*, семейству *Yersiniaceae*, роду *Yersinia*, виду *Yersinia pestis*. Чумная палочка несколько раз меняла свое название: вначале она называлась *Bacterium pestis*, затем - *Bacillus pestis*, *Pasteurella pestis*, а с 1967 г. она стала называться *Yersinia pestis* в честь А. Йерсена. По способности ферментировать глицерин и мелибиозу выделяют три биовара возбудителя:



- *antigua* (античный биовар) – ферментирует глицерин, не ферментирует мелибиозу, распространен в Центральной Азии и Центральной Африке;
- *medievalis* (средневековый биовар) – ферментирует глицерин и мелибиозу, распространен в Средней Азии и Иране;
- *orientalis* (восточный биовар) – не ферментирует глицерин и мелибиозу, распространен повсеместно.

Биовар *antigua* считают возбудителем Юстиниановой чумы, биовар *medievalis* связывают с “Черной смертью” (второй пандемией чумы), а биовар *orientalis* - с третьей пандемией чумы и большинством современных вспышек заболевания. Характеристики биоваров не являются стабильными. Штаммы, выделенные из разных очагов чумы, отличаются по ряду признаков от описанных биоваров.

Отечественная (русская) классификация выделяет следующие подвиды возбудителя чумы:

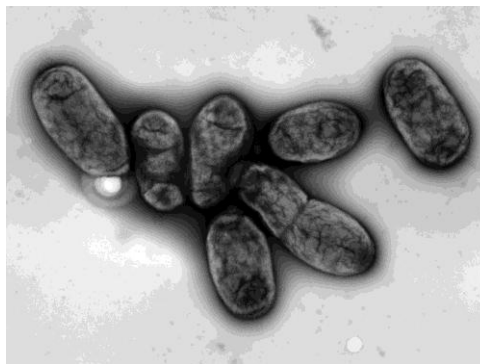
- *pestis* – основной подвид;
- *altaica* – алтайский подвид;
- *caucasica* – кавказский подвид;
- *hissarica* – гиссарский подвид;
- *udegeica* – удэгейский подвид.

Эта классификация является национальной и не включена в Международную номенклатуру бактерий.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** *Y. pestis* представляет собой неподвижную грамтрицательную палочку овоидной (бочкообразной) формы, размером 0,3-0,6 x 1-2 мкм (рисунок 3.119).



а



б

Рисунок 3.119 - *Y. pestis*, окраска по Граму (а) и электронная фотография возбудителя (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Чумная палочка спор не образует. Характерным признаком чумного микроба является биполярная окраска. Биполярность особенно четко выражена в мазках, приготовленных из органов человека или грызунов и окрашенных метиленовым синим по Лёффлеру (рисунок 3.120).

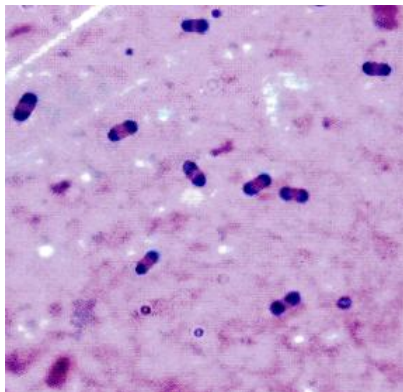


Рисунок 3.120 - Окраска чумного микроба метиленовым синим по Лёффлеру. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Возбудитель чумы имеет нежную капсулу (рисунок 3.121).



Рисунок 3.121 - Капсула чумного микроба. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** Чумной микроб является факультативным анаэробом. Растет на простых питательных средах (МПА, МПБ, агар Хоттингера, агар Мартена) при pH 6,9-7,2. Оптимальная температура роста 27-28°C, но может расти в диапазоне температур от 2 до 40°C. Например, в организме блохи возбудитель размножается при температуре внешней среды, а в организме млекопитающих – при температуре 37°C. Капсула образуется при выращивании микроба при температуре 37°C.

Для ускорения роста в питательные среды добавляют стимуляторы роста: сульфит натрия, кровь. При росте на плотных питательных средах через 8-12 часов появляются сероватые слизистые мелкие колонии с неровными краями в виде “битого стекла”. Через 18-24 часа инкубирования формируются плоские колонии с фестончатыми краями (“кружевные платочки”). Через 40-48 часов выращивания образуются крупные колонии с зернистым центром и неровными краями – “ромашки” (рисунок 3.122).

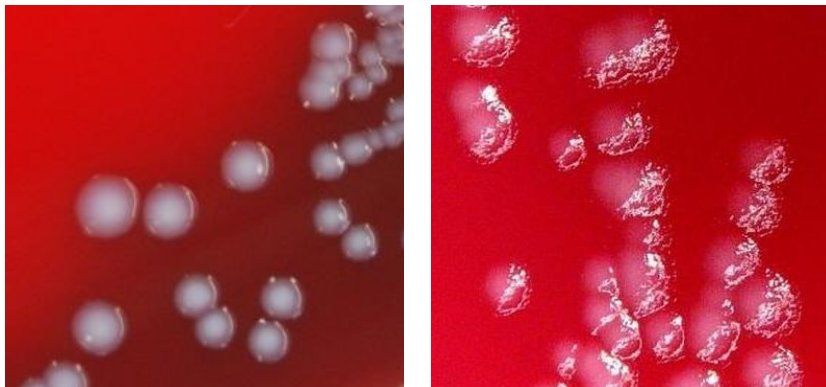


Рисунок 3.122 - Характер роста чумного микроба на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Характерным признаком чумного микроба является вязкая консистенция колоний на плотной питательной среде (рисунок 3.123).



Рисунок 3.123 - Вязкий характер роста культуры чумного микроба. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В жидких средах возбудитель чумы растет в виде поверхностной пленки, от которой вниз спускаются нити, напоминающие сталактиты; на дне образуется хлопьевидный осадок. Среда остается прозрачной (рисунок 3.124).

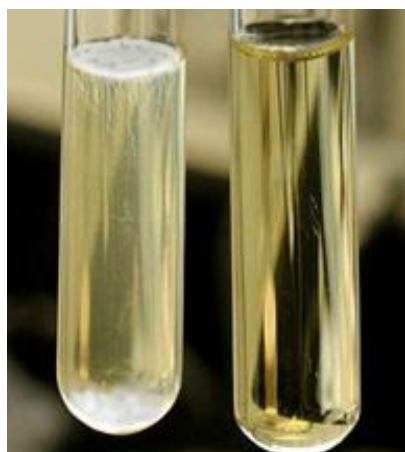


Рисунок 3.124 – Характер роста чумного микроба в жидкой питательной среде.  
 Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Биохимическая активность.** Чумной микроб синтезирует плазмокоагулазу, фибринолизин, гемолизин, лецитиназу, гиалуронидазу, РНКазу. Протеолитические свойства выражены слабо: возбудитель чумы не разжижает желатин, не свертывает молоко, индол не образует. Не ферментирует рамнозу и сахарозу, ферментирует декстрин, глюкозу, маннозу, маннит, мальтозу, арабинозу, салицин, ксилозу, эскулин с образованием кислоты без газа.

По способности ферментировать глицерин чумной микроб подразделяется на хемовары: разлагающие глицерин штаммы (**глицеринопозитивные**) и не разлагающие глицерин штаммы (**глицеринонегативные**).

**Антигенная структура.** У чумного микроба выделяют следующие антигены:

- **F1-антиген** - поверхностный капсульный антиген, препятствующий фагоцитозу, обладающий протективными свойствами, кодируется плазмидой токсигенности **pYT**;

- **LCR** – Vi-антиген, состоит из белка (V-фракции) и липопротеина (W-фракции). Запускает экспрессию Yop-белков при повышенной температуре среды (37°C); **V-антиген** - белок клеточной стенки, обладающий антифагоцитарными свойствами и способствующий внутриклеточному размножению бактерий; **W-антиген** - липопротеин клеточной стенки, оказывающий антифагоцитарное действие;

- **O-антиген** - эндотоксин микроба, оказывающий пирогенное действие;

- **активатор плазминогена** – протеаза, активирующая лизис фибриновых сгустков;

- **мышинный токсин** – белковоподобное внутриклеточное вещество, обладающее токсическими свойствами, фактор колонизации кишечника блохи, кодируется плазмидой токсигенности **pYT**;

- **пестицины** – бактериоцины, обладающие иммуногенными свойствами;

- **Yop-белки:** YopN ингибирует респираторный взрыв в фагоцитах; YopT разрушает актин; YopP вызывает апоптоз клеток. Yop-белки кодируются также плазмидой **pYV**.

Чумной микроб имеет антигены, общие с антигенами эритроцитов O-группы крови человека.

**Резистентность.** Чумной микроб обладает **психрофильностью**, то есть способностью размножаться при низких температурах. При температуре минус 22°C бактерии сохраняют жизнеспособность до 4 месяцев, в замороженных трупах грызунов и в организме блох - до 1 года. В мокроте возбудитель сохраняется до 10 суток, на одежде и белье - несколько недель. В трупах людей возбудитель сохраняется длительное время. При нагревании до 50°C микроб погибает в течение 30 минут, при 70°C – в течение 10 минут, при кипячении – в течение нескольких минут. Прямой солнечный свет убивает возбудителя за 2-3 часа. Возбудитель чумы чувствительный к дезсредствам (сулеме, лизолу, фенолу) и ультрафиолетовому облучению.

**Основные факторы патогенности чумного микроба.**

**Капсульный антиген Caf1 или F1** (capsular antigen fraction 1) является основным компонентом гликопротеиновой капсулы, которая образуется при температуре 37°C. Капсула экранирует липополисахарид (ЛПС) клеточной стенки. Капсульный антиген Caf1 (F1) кодируется геном *caf1*, локализованным в плазмиде pYT (pFra).

**Антиген рН6 или PsaA** (pH six antigen) представляет собой антиген, формирующий пили адгезии при температуре 37°C и pH < 6. Антиген рН6 кодируется генами *psaABE*, локализованными в бактериальной хромосоме.

**Активатор плазминогена Pla** (plasminogen activator) обладает протеолитическими свойствами, фибринолитической (при температуре 37°C) и плазмокоагуляционной (при 28°C) активностями. Активатор плазминогена кодируется геном *pla*, локализованным в плазмиде pYP (pPst).

**Белки наружной мембраны** (Yop - Yersinia outer membrane proteins) кодируются плазмидой pYV (pCad). Комплекс признаков, кодируемых этой плазмидой, рассматривают как вирулон Yop (инъектосому) – единую систему, позволяющую внеклеточно расположенным бактериям обезвреживать клетки защитной системы организма путем инъекции внутрь этих клеток бактериальных эффекторных протеинов. Эта система состоит из белков Yop и аппарата секреции III типа. Секреция белков Yop происходит непосредственно при контакте с эукариотическими клетками.

**“Мышиный токсин”** (Ymt, Tox, FII, Yersinia murine toxin, fraction II) представляет собой белковоподобное вещество, вызывающее шок и гибель лабораторных животных. “Мышиный токсин” обладает способностью блокировать адренергические рецепторы и ингибировать дыхательную активность митохондрий, понижая активность НАДФ-редуктазы. Мышиный токсин кодируется геном *ymt*, локализованным в плазмиде pYT (pFra).

**V-антиген** (LcrV - low-calcium response V antigen) и **W-антиген** - эффекторы, образующиеся при температуре 37°C в условиях отсутствия в питательной среде ионов кальция. V-антиген является белком, способствующим внутриклеточному размножению и сохранению бактерий в фагоцитах. W-антиген является внеклеточным липопротеином. Он обеспечивает способность бактерий сохраняться в фагоцитах.

**Бактериоцин-пестицин** (Pst) и устойчивость к нему обеспечивают стабильное наследование плазмиды pYP (pPst). Они кодируются генами *pst* и *pim*, локализованными в этой плазмиде. В составе этой же плазмиды локализуется ген *mob*, обеспечивающий мобилизацию плазмиды к конъюгационному переносу.

**Протеаза** определяет способность чумного микроба лизировать фибриновые сгустки, препятствующие распространению возбудителя.

**Плазмокоагулаза** участвует в образовании вокруг микробной клетки фибринового сгустка (псевдокапсулы).

**Нейраминидаза** разрушает нейраминную кислоту соединительной ткани и способствует распространению возбудителя по тканям.

**Антигенная мимикрия** проявляется в сходстве белков чумного микроба с клетками печени и селезенки человека.

Факторы патогенности чумного микроба детерминируются как хромосомными, так и плазмидными генами (pYT, pYP, pYV). Плазмида

патогенности **pYP** определяет синтез пестицина, фибринолизина, плазмокоагулазы, иммунитет к пестицину. Плазида токсигенности **pYT** детерминирует синтез F1-антигена, капсулы (Fra/Caf1), “мышинного токсина” (Tox/Mur). Плазида вирулентности **pYV** обуславливает зависимость роста микроба от температуры, кальция (Cad), а также синтез V- и W-антигенов, белков внешней мембраны (Yop) и компонентов системы секреции III типа. Процессы, протекающие в клетках иерсиний на средах без кальция при температуре 37°C, обусловлены **LCR-белками** (Low calcium response).

В организме млекопитающих иерсинии размножаются и сохраняются в макрофагах. Эта способность обеспечивается системой секреции III типа (T3SS), которая способствует проникновению внутрь эукариотических клеток эффекторных белков, разрушающих актиновые филаменты фагоцитов и вызывающих апоптоз.

Многие гены, ответственные за патогенные свойства чумного микроба, локализованы в хромосомном локусе, обозначаемом как “островок патогенности” - **HPI** (high-pathogenicity island). Экспрессия локализованных в этом островке генов проявляется в Pgm<sup>+</sup> фенотипе. Факторы патогенности чумного микроба представлены на рисунке 3.125.

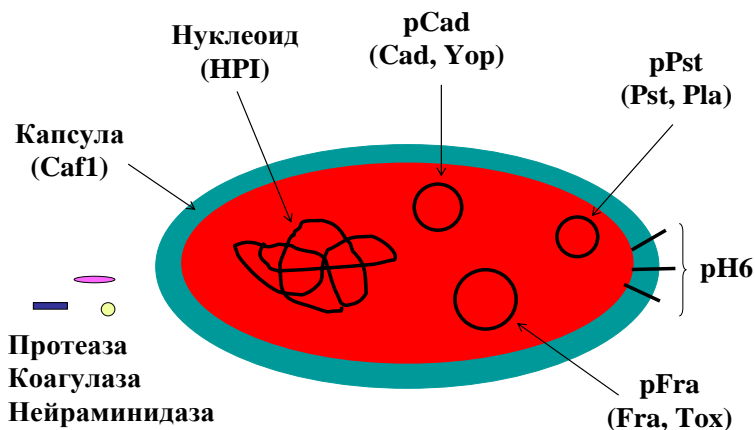


Рисунок 3.125 – Факторы патогенности *Y. pestis*.

**Эпизоотология.** Чума с давних пор поддерживалась среди песчанок, сурков и сусликов в степях и пустынях Центральной Азии. В этих частях света возникали и первые эпидемии чумы среди людей. **Резервуарами (носителями)** возбудителя чумы в природе являются дикие, синантропные и домашние животные (около 300 видов), особенно **грызуны** – крысы, сурки, суслики, полевки, песчанки. Основное значение имеют серые и черные крысы (рисунок 3.126).



а



б

Рисунок 3.126 - Серая (а) и черная (б) крысы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В степных регионах ведущая роль принадлежит сусликам и суркам (рисунок 3.127).



Рисунок 3.127 – Суслик (а), сурок (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Дикие грызуны обуславливают существование **природных очагов** чумы. По основному носителю очаги чумы подразделяются на сусликовые, сурочьи, песчаночьи, полевочьи и пищуховые. На территории России и приграничных территориях в настоящее время выделяют следующие природные очаги чумы:

- очаги сусликового типа (Прикаспий, Приэльбрусье, Зауралье, Междуречье Волги и Урала);
- очаги сусликового и сурочного типа (Забайкалье, Горный Алтай, Тува, Алтай);
- Волго-Уральский песчаночный очаг;
- Высокогорные Закавказский и Гиссарский очаги (полевки).

Наиболее активные природные очаги чумы расположены на территориях Астраханской области, Кабардино-Балкарской и Карачаево-Черкесской республик, республик Алтай, Дагестан, Калмыкия, Тува.

В местах проживания людей **источниками** возбудителя чумы служат синантропные животные - домовые крысы и мыши.

**Переносчиками** возбудителя во всех очагах служат **блохи**. Трансмиссивная передача возбудителя чумы обеспечивается не менее чем 120 видами блох. Основным переносчиком является крысиная блоха *Xenopsylla cheopsis* (рисунок 3.128).



Рисунок 3.128 - Крысиная блоха. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

У блохи перед желудком пищевод образует утолщение – преджелудок (зоб). Чумные бактерии, попавшие в организм блохи при укусе зараженного животного, интенсивно размножаются в преджелудке и выделяют плазмокоагулазу, которая приводит к образованию фибринового сгустка. В результате этого в преджелудке образуется пробка (**чумной блок**), препятствующая продвижению крови в желудок. Блоха с чумным блоком переходит с одного хозяина на другого для кровососания. Постоянная циркуляция возбудителя по цепи грызун → блоха → грызун обеспечивает природную очаговость чумы. Существование *Y. pestis* в природе отличается цикличностью: возбудитель проникает в организм хозяина, размножается, обеспечивает бактериемию и передается блохами новому хозяину.

**Эпидемиология.** Человек заражается **трансмиссивно** (через укусы инфицированных блох), **контактным путем** (при контакте с инфицированными животными, разделке туш, снятии шкурок) и **алиментарным путем** (при употреблении в пищу плохо проваренного инфицированного мяса). От людей, больных легочной формой чумы, происходит **аэрогенное заражение (воздушно-пылевой и воздушно-капельный пути)**. Инфицирующая доза ( $ID_{50}$ ) для возбудителя чумы составляет 1500 клеток.

Основным механизмом заражения человека чумой является трансмиссивный, когда возбудитель при кровососании от крысы попадает в организм блохи, размножается в ее преджелудке и при очередном кровососании попадает в кровоток человека. У грызунов чума протекает в хронической латентной форме. Схема передачи возбудителя от грызуна человеку представлена на рисунке 3.129.

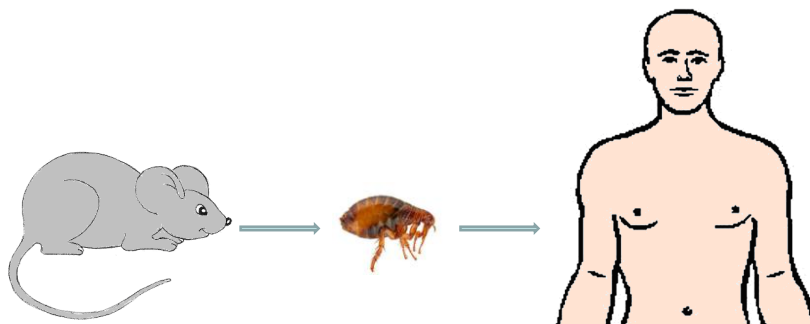


Рисунок 3.129 – Схема передачи возбудителя чумы от грызуна человеку.

При трансмиссивной передаче возбудителя у человека развивается бубонная форма чумы, которая может перейти в септическую и вторичную легочную форму. Человек, больной легочной формой чумы, становится источником аэрогенной инфекции для других людей (рисунок 3.130).



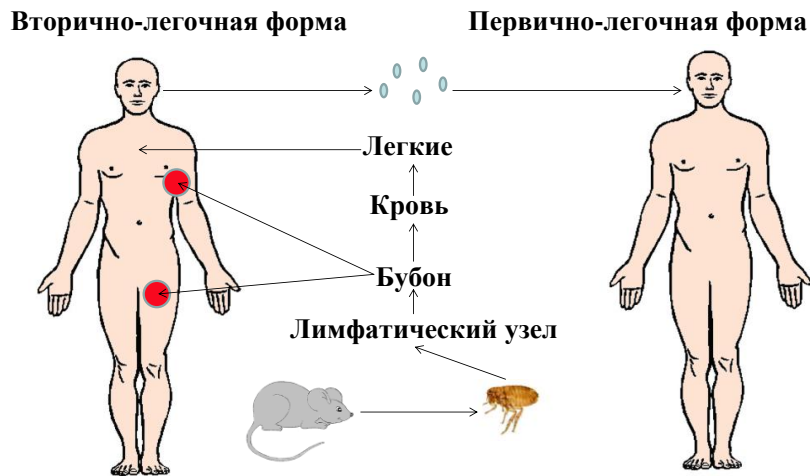


Рисунок 3.130 - Схема передачи возбудителя чумы человеку.

На месте укуса блохи у человека может возникать **пуликозное раздражение** – поражение кожи, характеризующееся образованием в месте укуса папулы или пустулы, окруженной эритемой (рисунок 3.131).

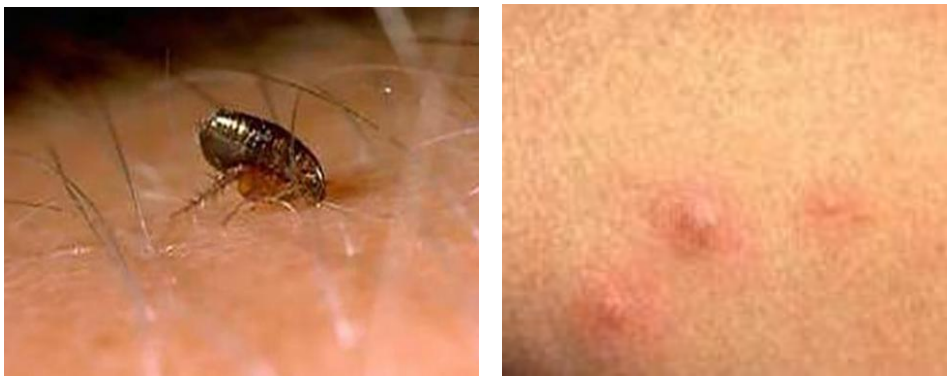


Рисунок 3.131 – Укус блохи и пуликозное раздражение. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Однако изменения в месте проникновения возбудителя возникают редко. В основном возбудитель от места внедрения с током лимфы по лимфатическим путям проникает в регионарные лимфатические узлы, где происходит его интенсивное размножение в макрофагах. В макрофагах отмечается незавершенный фагоцитоз. В лимфатических узлах развивается серозно-геморрагическое воспаление, в результате чего возникает резкое увеличение лимфоузлов (**первичный бубон**). Из первичных бубонов чумной микроб лимфогенно или гематогенно распространяется по организму, образуя **вторичные бубоны** в лимфоузлах, отдаленных от входных ворот инфекции. В случае дальнейшей генерализации процесса может развиваться **септическая форма** с поражением практически всех внутренних органов. Бурное размножение возбудителя в организме приводит к развитию **септикопиемии**. В этом случае может развиваться **вторично-легочная форма**. При аэрогенном инфицировании развивается **первично-легочная форма** заболевания, при которой больной человек становится источником инфекции для других людей. При этом у

вновь инфицированных людей развивается сразу крайне тяжелая первично-легочная форма чумы.

**Патогенез** чумы включает следующие стадии:

1. Проникновение возбудителя в организм в месте укуса блохи.

2. Фагоцитоз возбудителя и лимфогенный перенос фагоцитированного возбудителя (незавершенный фагоцитоз) от места проникновения до регионарных лимфатических узлов (множественный лимфаденит), размножение возбудителя в регионарных лимфатических узлах, развитие серозно-геморрагического воспаления, формирование бубона (многократно увеличенного лимфатического узла, достигающего размеров куриного яйца). Так возникает **первичная бубонная форма**.

3. Распространение возбудителя из пораженных лимфатических узлов в кровотоки (**бактериемия**), гематогенное распространение возбудителя по организму с поражением внутренних органов (генерализованная септицемия). Формирование **вторичных бубонов, септико-пиемических очагов** во внутренних органах.

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 аэрогенном заражении возникает **первично-легочная форма**, а при контактном и алиментарном путях заражения развиваются соответственно **кожная** и **кишечная** формы заболевания.

**Клиническая картина заболевания. Инкубационный период** при чуме составляет от нескольких часов до 2-6 дней, у привитых людей - до 10 дней. Различают несколько клинических форм чумы:

1. Локальные формы – кожная, кожно-бубонная, бубонная.

2. Генерализованные формы - первично-септическая, вторично-септическая, первично-легочная, вторично-легочная, кишечная.

Заболевание начинается остро: температура тела повышается до 39°C и выше, возникает озноб, резкая головная боль, разбитость, мышечные боли, помрачение сознания. Больной возбужден, наблюдается бессонница, шатающаяся походка. Отмечается налет на языке (“натертый мелом язык”), отек языка, в результате чего речь больного становится невнятной. Отмечаются множественные кровоизлияния в кожных покровах и темные круги под глазами - черная смерть (рисунок 3.132).



Рисунок 3.132 - Большой бубонной формой чумы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При бубонной форме на 1-2 день болезни появляется **чумной бубон** – многократно увеличенный воспаленный лимфатический узел, выступающий над поверхностью кожи. Чаще всего поражаются бедренные и паховые лимфатические узлы, реже – подмышечные и шейные (рисунок 3.133).



Рисунок 3.133 - Чумные бубоны. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Кожная форма** чумы характеризуется развитием в месте внедрения возбудителя гиперемии, переходящей в болезненную папулу, а затем в везикулу и пустулу (рисунок 3.134).



Рисунок 3.134 - Кожная форма чумы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Кожная форма наблюдается редко, так как она обычно переходит в **кожно-бубонную форму**. При этом регионарный лимфатический узел увеличивается, воспаляется и становится болезненным. При пальпации болезненность лимфатического узла усиливается.

**Первично-легочная форма** чумы развивается при аэрогенном инфицировании. При этой форме у больного отмечается пенная мокрота, содержащая прожилки крови и большое количество чумных бактерий. Смерть при легочной форме чумы наступает на 2-4 сутки.

**Кишечная форма** чумы встречается редко, развивается в результате алиментарного заражения. Симптомами кишечной формы являются высокая температура, выраженная интоксикация, профузная диарея, обильная примесь крови

и слизи в фекалиях, сильные абдоминальные боли. Длительность кишечной формы чумы составляет 1-2 суток.

**Первично-септическая форма** развивается при проникновении возбудителя в кровь, минуя лимфоузлы. При массивном размножении возбудителя в организме больного вырабатывается большое количество медиаторов воспаления. Это приводит к развитию диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома), при котором поражаются внутренние органы, и развивается инфекционно-токсический шок, приводящий к гибели больного. Эта форма заболевания проявляется кровоизлияниями под кожу (рисунок 3.135), в слизистые оболочки, кровотечением из почек, желудка и кишечника.



Рисунок 3.135 - Симптомы первично-септической формы чумы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Наиболее распространенными являются бубонная и легочная формы чумы. Смертность при бубонной форме чумы составляет 27-95%, при легочной форме – почти 100%. При своевременном лечении летальность не превышает 5-10%.

**Микробиологическая диагностика.** При диагностике чумы используются бактериоскопический, бактериологический (культуральный), биологический и серологический методы исследования, которые проводятся в специализированных лабораториях, имеющих разрешение на работу с возбудителями особо опасных инфекций. **Материалом для исследования** служат пунктаты бубонов, мокрота, отделяемое язв, кровь, моча, кал, рвотные массы, трупный материал.

**Схема микробиологического исследования при чуме:**

**Первый день:**

- выявление в материале чумных микробов путем микроскопии мазков, приготовленных из исследуемого материала и окрашенных по Граму, метиленовым синим и специфической люминесцирующей сывороткой;
- обнаружение в материале фракции I чумного микроба с помощью РПГА с иммуноглобулиновым диагностикумом или реакции нейтрализации антител (РНАт) с антигенным диагностикумом;
- выделение чистой культуры чумного микроба путем посева материала на плотные и в жидкие питательные среды;
- биопроба на морских свинках и белых мышах.

**Второй день:**

- изучение характера роста культуры на питательных средах, приготовление, окраска и микроскопия препаратов;
- пересев подозрительных колоний для выделения чистой культуры.

#### **Третий день:**

- идентификация чистой культуры по характеру роста на питательных средах, специфическому свечению при люминесцентной микроскопии, по наличию фракции I в РПГА;
- изучение ферментативной активности – расщепление глицерина, рамнозы, сахарозы, глюкозы и других углеводов;
- определение чувствительности культуры к чумному бактериофагу (Л-413, Покровской);
- определение чувствительности выделенной культуры к антибиотикам методом дисков.

#### **Четвертый день:**

- учет результатов и выдача заключения.

При **бактериоскопическом исследовании** приготовленный препарат фиксируют в смеси Никифорова и окрашивают по Граму или метиленовым синим по Лёффлеру (рисунок 3.136).

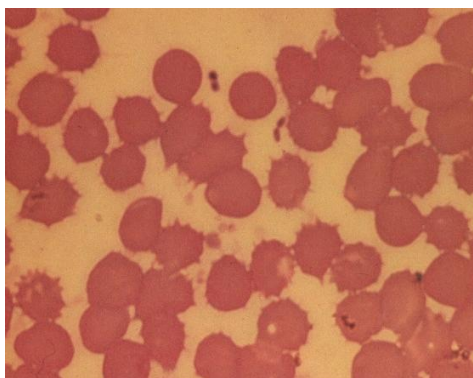


Рисунок 3.136 - Чумные бактерии в крови. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При **культуральном исследовании** проводят выделение чистой культуры и ее идентификацию. С этой целью исследуемый материал высевают на питательные среды (МПА, МПБ, агар Мартена). Культивирование проводят при температуре 28<sup>o</sup>C в течение 12-20 часов.

Эффективным способом выделения чистой культуры чумного микроба из материала, контаминированного посторонней микрофлорой, является **биопроба** на морских свинках и белых мышах.

В качестве **экспресс-диагностики** используют **фагодиагностику, ПЦР, РИФ**. Например, реакция иммунофлюоресценции позволяет поставить предварительный диагноз уже через 2 часа (рисунок 3.137).

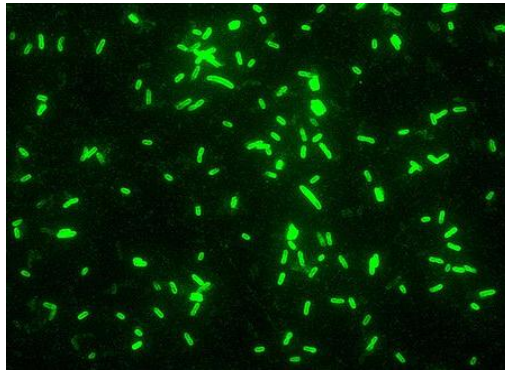


Рисунок 3.137 - Прямая РИФ с чумными бактериями. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Серологическое исследование** проводится постановкой РНГА, ИФА.

В качестве **аллергического метода** диагностики проводят кожную пробу с пестином. Аллергическая проба относится к методам ретроспективной диагностики.

В диагностике чумы используют также **чумной бактериофаг**.

**Лечение.** Больные чумой подлежат обязательной госпитализации в специализированные лечебные учреждения. Для лечения используют антибиотики: стрептомицин, тетрациклин, рифампицин, фторхинолоновые препараты.

**Специфическая профилактика** чумы осуществляется с помощью живой аттенуированной вакцины на основе штамма EV для накожного (скарификационного), подкожного и ингаляционного применения (рисунок 3.138).



Рисунок 3.138 - Вакцина чумная живая для накожного, подкожного и ингаляционного применения. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На основе штамма EV разработана также таблетированная живая вакцина для перорального применения. Вакцины применяются по эпидемическим показаниям (в эпидемических очагах, лицам, занимающимся отловом грызунов, работникам специализированных лабораторий).

**Иммунитет.** Постинфекционный иммунитет прочный, пожизненный. Повторные заболевания наблюдаются очень редко. После вакцинации развивается иммунитет продолжительностью до 6-12 месяцев, поэтому требуется ревакцинация.

Важное значение имеет **неспецифическая профилактика** чумы, которая включает следующие мероприятия:

- предупреждение заболевания людей и возникновения эпизоотий в природных очагах чумы;
- предупреждение завоза чумы на территорию страны из других регионов, выполнение специальных “Международных санитарных правил”;
- предупреждение заражения лиц, работающих в лабораториях с материалом, инфицированным возбудителем чумы.

Вся работа с материалом, инфицированным чумными бактериями, а также с больными чумой проводится в специализированных лабораториях и инфекционных отделениях (рисунок 3.139).



Рисунок 3.139 – Специализированная лаборатория для работы с возбудителями опасных инфекций. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При выявлении больных с бубонной формой чумы в очаге вводятся ограничительные мероприятия. В случае появления больного с легочной формой чумы проводятся карантинные мероприятия. Лицам, имевшим контакт с больными чумой, в целях экстренной профилактики назначают антибиотики (стрептомицин, тетрациклин).

### **Возбудитель псевдотуберкулеза**

Псевдотуберкулез (дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка) - острое инфекционное сапрозоонозное заболевание, характеризующееся поражением тонкого кишечника, лихорадкой, интоксикацией и скарлатиноподобной сыпью.

**История открытия возбудителя.** Возбудитель псевдотуберкулеза описан в 1883 году французскими учеными Л. Малласе (рисунок 3.140) и В. Виньялем.

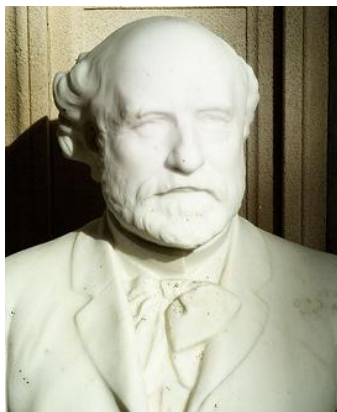
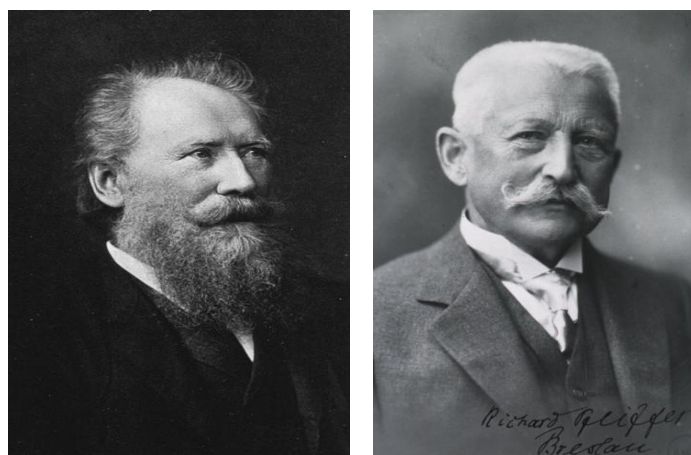


Рисунок 3.140 – Луи Шарль Малассе (Louis-Charles Malassez, 1842-1909 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Возбудитель был выделен в чистой культуре и подробно изучен немецкими учеными К. Эбертом и Р. Пфейффером (рисунок 3.141) в 1866 г.



А

Б

Рисунок 3.141 – А – Карл Йозеф Эберт (Karl Joseph Eberth, 1835-1926 гг.);  
Б – Рихард Фридрих Иоганн Пфейффер (Richard Friedrich Johannes Pfeiffer, 1858-1945 гг.). Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1895 г. К. Эберт обнаружил во внутренних органах морских свинок, погибших после заражения возбудителем псевдотуберкулеза, узелковые образования, внешне напоминающие туберкулезные бугорки. В связи с этим заболевание получило название псевдотуберкулез.

В 1953 г. В. Массхофи и В. Кнапп описали первые случаи псевдотуберкулеза у людей в виде абсцедирующих мезаденитов.

В 1954 г. на Дальнем Востоке возникла эпидемия ранее неизвестного заболевания, получившего название “дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка”. В 1965 г. В.А. Знаменский и А.К. Вишняков из фекалий больных дальневосточной скарлатиноподобной лихорадкой выделили возбудителя псевдотуберкулеза. В опыте самозаражения В.А. Знаменский доказал этиологическую роль этого микроорганизма в возникновении дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки.



**Таксономическое положение.** Возбудитель псевдотуберкулеза *Yersinia pseudotuberculosis* относится к типу *Proteobacteria*, классу *Gamma*proteobacteria, порядку *Enterobacteriales*, семейству *Yersiniaceae*, роду *Yersinia*.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Возбудитель псевдотуберкулеза имеет вид палочки размером  $0,8 \div 2 \times 0,4 \div 0,6$  мкм, спор не образует. По Граму возбудитель псевдотуберкулеза окрашивается в розовый цвет (грамотрицательный). При окраске анилиновыми красителями отмечается выраженная биполярность (рисунок 3.142).

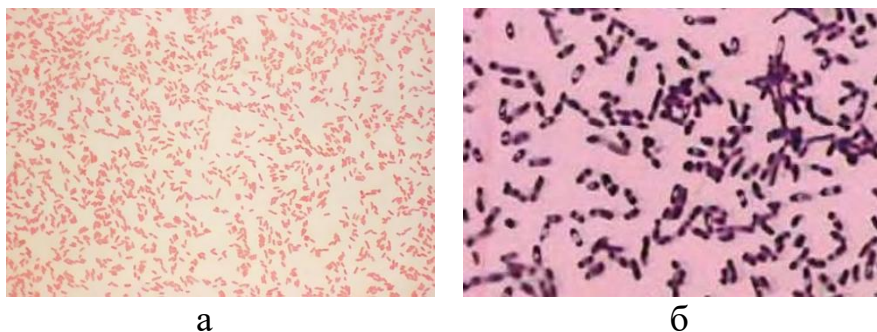


Рисунок 3.142 – *Y. pseudotuberculosis*, окраска по Граму (а) и метиленовым синим (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При температуре  $18-20^{\circ}\text{C}$  *Y. pseudotuberculosis* образует перитрихально расположенные жгутики (рисунок 3.143), при температуре выше  $37^{\circ}\text{C}$  жгутики не образуются. При последующем выращивании при температуре  $22-28^{\circ}\text{C}$  подвижность восстанавливается.



Рисунок 3.143 – Жгутики *Y. pseudotuberculosis*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На поверхности клеток вирулентных штаммов *Y. pseudotuberculosis* располагаются многочисленные фибриллы, которые обуславливают адгезию бактерий к клеткам хозяина и способность микробных клеток при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  к аутоагглютинации (рисунок 3.144).



Рисунок 3.144 – Аутоагглютинационный тест *Y. pseudotuberculosis*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** Возбудитель псевдотуберкулеза является факультативным анаэробом. Растет как на простых, так и на обедненных питательных средах (пептонная вода, фосфатно-буферный раствор), то есть является **олиготрофом**. Жизненный цикл *Y. pseudotuberculosis* зависит от условий окружающей среды. Метаболическая активность бактерий более выражена при температуре 30<sup>0</sup>С. Оптимальная температура культивирования – 22-28<sup>0</sup>С, однако возбудитель может размножаться при температуре 4-10<sup>0</sup>С. Псевдотуберкулезный микроб является **психрофилом**, активно размножается при низких температурах (от 0 до 4<sup>0</sup>С). При температуре ниже 37<sup>0</sup>С возбудитель образует колонии S-формы, при температуре 37<sup>0</sup>С - колонии R-формы (рисунок 3.145).



Рисунок 3.145 – Характер роста *Y. pseudotuberculosis* на питательных средах. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В жидких средах (питательный бульон, пептонная вода) возбудитель псевдотуберкулеза образует пленку.

*Y. pseudotuberculosis* ферментирует до кислоты без газа глюкозу, галактозу, арабинозу, левулезу, маннозу, ксилозу, рамнозу, мальтозу, трегалозу, маннит и салицин, редуцирует нитраты, образует каталазу, обладает уреазной активностью. Основными дифференциально-диагностическими признаками, характерными для *Y. pseudotuberculosis*, являются следующие:

- продукция уреазы;
- ферментация рамнозы;

- отсутствие ферментации сахарозы;
- отсутствие продукции индола;
- отрицательная реакция Фогеса-Проскауэра.

**Антигенная структура.** Возбудитель псевдотуберкулеза обладает **О-антигеном**, на основании строения которого выделяют 21 серотип (O:1a, O:1b, O:1c, O:2a, O:2b, O:2c, O:3, O:4a, O:4b, O:5a, O:5b, O:6, O:7, O:8, O:9, O:10, O:11, O:12, O:13, O:14, O:15). На территории России преимущественно циркулируют серотипы O:1b, реже O:1a, O:3, O:4a, O:4b, O:5. По структуре жгутикового **Н-антигена** выделяют 5 групп (a-e). При разрушении бактериальных клеток выделяется **эндотоксин**.

**Резистентность.** Возбудитель псевдотуберкулеза устойчив во внешней среде: в воде при комнатной температуре выживает до 1,5 месяцев, при 4<sup>0</sup>С - до полугода; на овощах (капуста, морковь, лук) и фруктах сохраняет жизнеспособность в течение нескольких месяцев. Возбудитель псевдотуберкулеза способен размножаться на овощах при температуре 4<sup>0</sup>С (температура холодильника). В почве сохраняется до 4 месяцев, в воде открытых водоемов – до 1 месяца. Псевдотуберкулезные бактерии чувствительны к УФ-свету, дезинфектантам, нагреванию. При температуре 50-60<sup>0</sup>С бактерии выживают до 20-30 минут, при кипячении погибают в течение минуты.

**Эпидемиология.** Естественным **резервуаром** и источником инфекции при псевдотуберкулезе являются дикие грызуны (полевки, мыши, песчанки, суслики), выделяющие микроб с испражнениями и формирующие **природные очаги**. В антропоургических очагах резервуаром и источником инфекции наряду с дикими грызунами являются синантропные грызуны (крысы, домовые мыши). У грызунов псевдотуберкулез протекает как хроническое заболевание с длительным бактериовыделением. Выделение возбудителя с фекалиями приводит к обсеменению воды, почвы и пищевых продуктов (особенно овощей в хранилищах). В почве, воде и на овощах происходит интенсивное размножение микроба, в том числе при низких температурах. Овощи инфицируются *Y. pseudotuberculosis* как непосредственно из почвы и воды, так и в результате их загрязнения в хранилищах испражнениями грызунов. Поэтому идеальные условия для размножения возбудителя псевдотуберкулеза создаются в овощехранилищах, где преобладают низкие температуры и высокая влажность. При низкой температуре псевдотуберкулезный микроб приобретает высокую вирулентность.

Заражение человека происходит при реализации **фекально-орального механизма** передачи инфекции **водным и алиментарным путями**. Основными **факторами передачи** являются вода и овощи (овощные блюда из капусты, моркови). Накоплению возбудителя в этих продуктах способствует их хранение в холодильнике. **Входные ворота** – желудочно-кишечный тракт. Схема инфицирования человека возбудителем псевдотуберкулеза представлена на рисунке 3.146.

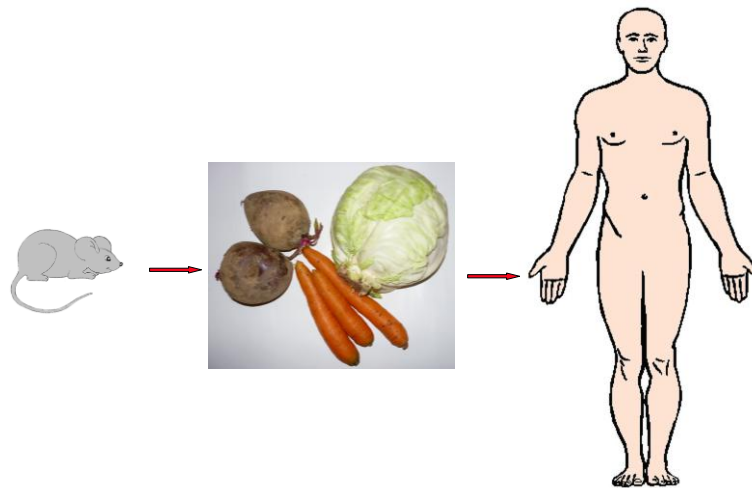


Рисунок 3.146 – Схема инфицирования человека возбудителем псевдотуберкулеза.

Заражение человека от человека не происходит. Естественная восприимчивость людей к возбудителю высокая. Псевдотуберкулез распространен повсеместно. При псевдотуберкулезе чаще всего регистрируются групповые случаи заболевания (в детских учреждениях, школах, организованных коллективах). Сезонный подъем заболеваемости наблюдается в весенние месяцы (накопление возбудителя на овощах в хранилищах при пониженной температуре).

**Факторы патогенности.** Развитие заболевания обусловлено адгезией микроба на эпителиальных клетках, колонизацией поверхности кишечного эпителия, инвазией в эндотелиальные клетки и энтеротоксигенностью.

В адгезии *Y. pseudotuberculosis* на эпителиальных клетках участвует **белок Ail** (attachment and invasion locus), синтез которого детерминируется хромосомным геном *ail*. Экспрессия этого гена начинается при 37°C, то есть в организме млекопитающих. Белок Ail связывается с рецептором на поверхности клетки хозяина и способствует синтезу других факторов патогенности микроба, в том числе белка YadA (*Yersinia adhesin A*).

**Белок YadA** (Yop1, YopA) *Y. pseudotuberculosis* кодируется плазмидой pYV (*yadA*-локус). Этот белок формирует на поверхности микробных клеток фибриллярные структуры. Он синтезируется независимо от наличия или отсутствия в среде Ca<sup>2+</sup>. При температуре 37°C он вызывает аутоагглютинацию иерсиний, способен связываться с широким кругом внеклеточных и поверхностных клеточных структур (коллаген, фибронектин, ламинины).

**Антиген рН6** *Y. pseudotuberculosis* опосредует гемагглютинацию и адгезию к клеткам млекопитающих. Он кодируется хромосомными генами и экспрессируется при температуре 37°C.

Способность к инвазии определяется белком инвазином. **Инвазин** локализуется в наружной мембране бактерии. Инвазин связывается с рецептором на поверхности клетки хозяина и способствует проникновению возбудителя внутрь клетки. Синтез инвазина детерминируется геном *inv*. Этот ген экспрессируется при 20°C, но не при 37°C, поэтому он участвует в пусковой стадии колонизации.

**Система секреции III типа (Т3SS)** позволяет йерсиниям впрыскивать эффекторные белки непосредственно в клетки-мишени.

Диссеминация псевдотуберкулезного микроба в организме связана с функционированием системы поглощения ионов железа (**иерсиниабактина**). Гены, детерминирующие функции этой системы, локализованы в островке патогенности. Эта система включает секретируемый сидерофор, который хелатирует железо, связанное с белками организма хозяина, и транспортирует его в бактериальную клетку.

Возбудитель псевдотуберкулеза продуцирует **термостабильный (ST) токсин**.

Одним из факторов патогенности псевдотуберкулезного микроба является **суперантиген (YPM)**, который вызывает поликлональную активацию Т-лимфоцитов и гиперпродукцию провоспалительных цитокинов. Клинически его действие проявляется системным поражением органов и тканей и развитием синдрома токсического шока.

У *Y. pseudotuberculosis* обнаружена **SIgA-протеаза**, расщепляющая секреторный иммуноглобулин класса А. В результате действия этого фермента подавляется местная противoinфекционная защита слизистых оболочек.

Гены, детерминирующие синтез факторов патогенности возбудителя псевдотуберкулеза, локализованы как в составе хромосомных “островков патогенности” (HPI – *high-pathogenicity island*), так и в составе плазмид. Основными плазмидами *Y. pseudotuberculosis* являются pYV и pVM. Плазмида вирулентности pYV присутствует у возбудителей псевдотуберкулеза, чумы и кишечного иерсиниоза. Эта плазмида кодирует синтез белков наружной мембраны (Yop), белка – адгезина (YadA) и белков системы секреции III типа (Ysc).

Эффекторные белки наружной мембраны (7 белков) называются Yops (*Yersinia outer membrane proteins*). Из них 5 белков обладают антифагоцитарной функцией: YopH, YopE, YopT, YopO/YpkA (*Yersinia protein kinase A*), YopJ/YopP (YopP для *Y. enterocolitica*). Эти белки ингибируют способность фагоцитов к поглощению микробных клеток.

Основные факторы патогенности псевдотуберкулезного микроба представлены на рисунке 3.147.

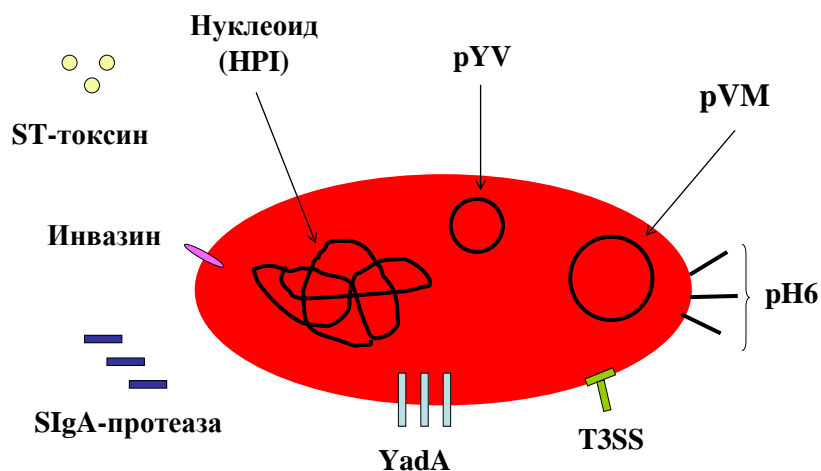


Рисунок 3.147 – Основные факторы патогенности *Y. pseudotuberculosis*.

**Патогенез заболевания.** Возбудитель псевдотуберкулеза попадает в организм человека с инфицированными продуктами или водой. Развитию заболевания способствует накопление возбудителя в пищевом продукте в процессе хранения при низкой температуре (в условиях холодильника). Основным местом локализации патологического процесса является дистальный участок подвздошной кишки, слепая кишка и начальный отрезок толстой кишки. В кишечнике возбудитель инвазирует М-клетки и трансцитозом проникает в более глубокие слои, где фагоцитируется макрофагами. Фагоцитоз при псевдотуберкулезе незавершенный, поэтому микроб попадает вначале в пейеровы бляшки, а затем в мезентериальные лимфатические узлы, вызывая мезентериальный лимфаденит (локализованная форма заболевания). При этом часть микробных клеток погибает, в результате чего выделяется эндотоксин, который вызывает развитие интоксикационного синдрома.

В случае прорыва лимфатического барьера наступает **бактериемия**, в результате которой микроб разносится по организму, вызывая образование гранулем и микроабсцессов в печени, селезенке, легких, суставах (генерализованная форма заболевания). Схема патогенеза псевдотуберкулеза представлена на рисунке 3.148.

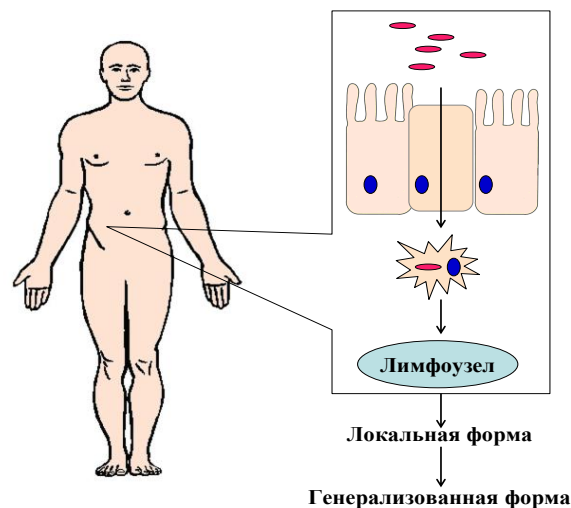


Рисунок 3.148 – Схема патогенеза псевдотуберкулеза.

**Клиническая картина заболевания.** Инкубационный период заболевания составляет 3-10 дней. Начало острое или подострое, сопровождается лихорадкой. Больные жалуются на слабость, недомогание, головную боль, мышечные и суставные боли, бессонницу, снижение или потерю аппетита.

В результате развития мезентериального лимфаденита появляются боли в эпигастральной области, симптомы раздражения брюшины, которые имитируют приступ острого аппендицита. На 1-6-й день появляется точечная сыпь, напоминающая скарлатинозную, цвет ее от бледно-розового до ярко-красного. Наряду со скарлатиноподобными элементами нередко наблюдаются более крупные розеолезные или мелкопятнистые высыпания вокруг крупных суставов. Сыпь локализуется симметрично на боковых поверхностях туловища, на коже верхних и нижних конечностей. Часто появляются симптомы “капюшона” (гиперемия лица и

шеи), “перчаток” и “носков”, то есть ограниченная гиперемия кистей и стоп (рисунок 3.149).



Рисунок 3.149 – Симптомы псевдотуберкулеза: симптом перчаток (а), симптом носков (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Сыпь держится в течение 1-7 дней и исчезает бесследно.

При пальпации живота отмечаются болезненность и урчание в илеоцекальной области. Иногда могут прощупываться увеличенные и болезненные мезентериальные лимфатические узлы. Практически у всех больных определяется гепатоспленомегалия.

**В соответствии с патогенезом** развития заболевания выделяют локализованную и генерализованную формы. К **локализованным формам** относят кишечинальную (гастроэнтерит, энтероколит), мезентериальный лимфаденит (мезаденит), терминальный илеит, гепатит. **Генерализованная форма** может протекать как острое лихорадочное заболевание (скарлатиноподобная форма) или с формированием вторичных очагов - септицемия.

**В соответствии с клиническими симптомами** заболевания выделяют абдоминальную, скарлатиноподобную (экзантемную), артралгическую, желтушную, катаральную, смешанную формы. Стертые и субклинические формы, как правило, регистрируются в эпидемических очагах инфекции при обследовании контактных лиц.

При **абдоминальной форме** преобладают симптомы поражения желудочно-кишечного тракта с выраженными болями преимущественно в правой половине живота и диареей.

**Скарлатиноподобная форма** характеризуется лихорадкой, сыпью, выраженной интоксикацией.

При **артралгической форме** преобладают симптомы поражения опорно-двигательного аппарата: развитие артралгии или полиартрита на фоне интоксикации и высокой лихорадки.

**Желтушная форма** проявляется желтухой, гипербилирубинемией, повышенным уровнем в крови трансаминаз, билирубинурией и ахолией.

При **катаральной форме** поражаются преимущественно слизистые оболочки верхних дыхательных путей, что проявляется ринитом, фарингитом, трахеитом, бронхитом.

При всех формах псевдотуберкулеза продолжительность заболевания обычно не превышает 1,5 месяца. Прогноз при псевдотуберкулезе благоприятный. Исключение составляет лишь септическая форма, при которой возможен летальный исход.

**Иммунитет.** После перенесенного заболевания развивается непродолжительный иммунитет.

**Диагностика псевдотуберкулеза.** Материалом для исследования служит кровь, фекалии и рвотные массы. При диагностике псевдотуберкулеза используют следующие методы:

- бактериологические (выделение культуры *Y. pseudotuberculosis*);
- серологические (нарастание титра антител в парных сыворотках);
- иммунологические (выявление антител классов А, М, G);
- молекулярно-генетические (выявление ДНК бактерий).

Исследуемый материал подвергают “холодовому обогащению” с периодическими посевами на дифференциально-диагностические среды. С этой целью исследуемый материал вносят в фосфатный буфер или пептонно-калиевую среду и выдерживают при температуре 4<sup>0</sup>С, периодически проводя посев на плотные среды (Эндо, Серова). Наиболее эффективными являются дифференциально-диагностическая среда для выделения иерсиний с бромтимоловым синим (СБТС) и Иерсиния-агар. На Иерсиния-агаре *Y. pseudotuberculosis* образует матовые, шероховатые, зеленовато-синие колонии с фестончатыми краями и темным выпуклым центром.

В последующем характерные по внешнему виду колонии пересевают на среды с углеводами (например, на среду Олькеницкого) для выделения чистых культур. При отборе культур ориентируются на наличие уреазной активности. Идентификацию выделенных культур проводят по морфологическим, биохимическим, антигенным свойствам. В настоящее время для идентификации выделенных культур используют полуавтоматические и автоматические системы (Vitec, Mini API и др.).

Для выявления антигенов используют “Диагностикумы коагулинирующие псевдотуберкулезные и иерсиниозные” для реакции коагутинации (РКоА) и “Диагностикум латексный для выявления *Yersinia pseudotuberculosis* Псевлат” для реакции агглютинации латекса (РАЛ), а также “Тест-систему иммуноферментную для выявления антигенов иерсиний псевдотуберкулеза 1 серотипа”.

Для обнаружения специфических антител используют реакцию агглютинации (РА) и реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА). Исследуют парные сыворотки крови больных, взятые в начале заболевания и на 3 неделе болезни.

Для постановки РА используют стандартные иерсиниозные антигены распространенных серотипов (взвесь убитых формалином иерсиний в растворе хлорида натрия).

Для постановки РНГА применяют диагностикум эритроцитарный псевдотуберкулезный антигенный (рисунок 3.150).





Рисунок 3.150 – Диагностикум эритроцитарный псевдотуберкулезный антигенный.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Эритроцитарный антигенный диагностикум представляет собой полисахаридный антиген, выделенный из псевдотуберкулезных бактерий 1 серотипа и фиксированный на поверхности бараньих эритроцитов, обработанных формалином. Препарат предназначен для выявления специфических антител к *Y. pseudotuberculosis* в сыворотке крови людей, больных или переболевших псевдотуберкулезом.

Для экспресс-диагностики применяют иммуноферментный анализ (ИФА), реакцию иммунофлюоресценции (РИФ – рисунок 3.151), полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

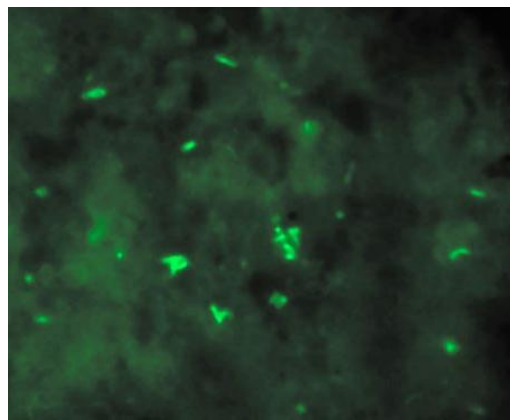


Рисунок 3.151 – Реакция иммунофлюоресценции с возбудителем псевдотуберкулеза.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Для постановки ИФА используют тест-системы “Иерсиниоз-ИФА-IgA”, “Иерсиниоз-ИФА-IgM”, “Иерсиниоз-ИФА-IgG”, предназначенные для выявления соответственно антител классов А, М и G к возбудителю псевдотуберкулеза.

**Лечение.** Для лечения псевдотуберкулеза используют антибиотики (левомецетин, тетрациклины, гентамицин, стрептомицин, рифампицин). При тяжелых формах и рецидивах назначают цефалоспорины. При развитии дисбактериоза рекомендуется применять бифидумбактерин, лактобактерин, бификол, колибактерин.

**Профилактика.** Средства специфической профилактики псевдотуберкулеза не разработаны. Неспецифическая профилактика включает постоянный санитарный контроль за водоснабжением, режимом обработки и хранения пищевых продуктов, борьбу с грызунами в овощехранилищах (дератизационные мероприятия), проведение дезинфекционных мероприятий в овощехранилищах, соблюдение санитарно-гигиенического состояния мест хранения овощей.

### Кишечный иерсиниоз

Кишечный иерсиниоз - острое инфекционное заболевание, характеризующееся поражением тонкого и толстого кишечника, развитием мезентериального лимфаденита и выраженной токсико-аллергической симптоматикой.

Первые сведения о возбудителе кишечного иерсиниоза были получены в США, где в период с 1923 по 1957 гг. от больных людей выделялись штаммы бактерий, идентифицированные как атипичные варианты псевдотуберкулезного микроба. Основоположниками изучения возбудителей иерсиниоза являются Дж. Шлейфстейн и М. Калеман, описавшие их в 1939 г. под названием “неидентифицированные микроорганизмы”. В дальнейшем название бактерий неоднократно менялось, пока не утвердилось современное наименование – *Yersinia enterocolitica*.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Возбудитель кишечного иерсиниоза представляет собой грамотрицательные палочки размером 1,8-2,7 x 0,7-0,9 мкм, спор и капсул не образует. Бактерии подвижны (перитрихи), однако подвижность наблюдается только в культурах, выращенных при 18-20<sup>o</sup>C, при температуре 37<sup>o</sup>C подвижность утрачивается. *Y. enterocolitica* растет как на обычных, так и на обедненных питательных средах. На плотных питательных средах *Y. enterocolitica* образует мелкие блестящие выпуклые колонии S-формы с голубоватым оттенком (рисунок 3.152).

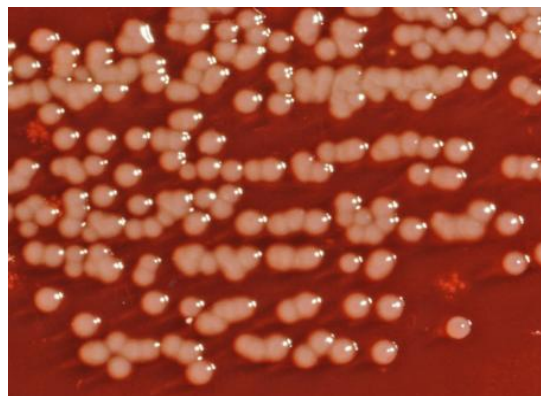


Рисунок 3.152 – Внешний вид колоний *Y. enterocolitica*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Оптимальной температурой выращивания является 28-30<sup>o</sup>C, оптимум pH 6,9-7,2. Биохимическая активность у возбудителя кишечного иерсиниоза выше, чем у псевдотуберкулезной бактерии. *Y. enterocolitica* образует индол, ферментирует

сахарозу, не ферментирует рамнозу. По спектру биохимической активности выделяют 5 биохимических вариантов *Y. enterocolitica* (биоваров или хемоваров). Первый биовар включает разновидности 1А и 1В. К биовару 1А относятся авирулентные штаммы, выделенные из внешней среды. Биовары 1В и 2-5 являются патогенными. Заболевание у человека чаще вызывают биовары 2, 3, 4.

Основными биохимическими признаками, необходимыми для идентификации *Y. enterocolitica*, являются следующие:

- расщепление мочевины,
- ферментация сахарозы,
- отсутствие ферментации рамнозы,
- продукция орнитиндекарбоксилазы.

**Антигенная структура.** Возбудитель кишечного иерсиниоза содержит О- и Н-антигены. По строению О-антигенов выделяют 31 серотип возбудителя. Наибольшее значение в патологии человека имеют серотипы О3 и О9, реже - О5 и О8.

**Факторы патогенности *Y. enterocolitica*.** Возбудитель кишечного иерсиниоза имеет факторы патогенности, детерминируемые как хромосомными, так и плазмидными генами. Хромосомными генами определяется синтез уреазы, белка наружной мембраны инвазина, белка наружной мембраны Ail, энтеротоксина Yst, иерсиниабактина (сидерофора) биовара 1В, супероксиддисмутаза SodA биовара 1В. В составе плазмиды rYV располагаются гены, детерминирующие синтез протеиназ муцина, адгезина YadA, белков наружной мембраны YOPs, белка Ysc.

**Уреаза** нейтрализует кислоту желудка и способствует преодолению барьера слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта.

**Белок наружной мембраны инвазин** имеет молекулярную массу 103 кДа. Он способствует адгезии микробных клеток к энтероцитам, проникновению в клетки хозяина, персистенции возбудителя в лимфоидной ткани.

**Белок наружной мембраны Ail** имеет молекулярную массу 17 кДа и участвует в адгезии возбудителя к энтероцитам, проникновении бактерий в клетки хозяина, персистенции в лимфоидной ткани и обеспечивает антикомплементарную активность.

**Энтеротоксин Yst** стимулирует гуанилатциклазу энтероцитов, в результате чего в клетках накапливается цГМФ и развиваются симптомы диареи.

**Иерсиниабактин (сидерофор)** биовара 1В *Y. enterocolitica* обеспечивает перенос ионов железа в микробную клетку.

**Супероксиддисмутаза SodA** биовара 1В *Y. enterocolitica* обеспечивает антифагоцитарную активность возбудителя.

**Протеиназы муцина** обеспечивают преодоление муцинового покрова энтероцитов.

**Адгезин YadA** участвует в адгезии микробных клеток на энтероцитах и колонизации слизистой кишечника.

**Белки наружной мембраны YOPs** обеспечивают антифагоцитарную активность, цитотоксичность, диссеминацию в тканях хозяина.

**Белок Ysc** представляет собой систему белковых молекул, участвующих в построении системы секреции для белков YOPs.

При разрушении бактериальных клеток выделяется эндотоксин. Для большинства штаммов *Y. enterocolitica* различных сероваров характерны адгезия (**адгезины**), колонизация на поверхности кишечного эпителия (**инвазины**) и энтеротоксичность с продукцией большого количества термостабильного **энтеротоксина** (Yst). *Y. enterocolitica* обладает также способностью к инвазии и внутриклеточному размножению, однако инвазивные свойства выражены у нее в меньшей степени, чем у псевдотуберкулезного микроба.

**Резистентность.** Подобно возбудителю псевдотуберкулеза, *Y. enterocolitica* относится к психрофилам, то есть при температуре холодильника (4-8°C) этот микроб способен длительно сохраняться и размножаться на овощах и других пищевых продуктах. При кипячении возбудитель погибает через несколько минут, чувствительный к действию обычных дезинфектантов.

*Y. enterocolitica* обладает чувствительностью к аминогликозидам, фторхинолонам, хлорамфениколу, цефалоспорином III поколения; имеет устойчивость к бензилпенициллину и оксациллину, цефалоспорином I поколения, тетрациклинам, макролидам.

**Эпидемиология.** Возбудитель кишечного иерсиниоза широко распространен в природе: в почве, воде, в организме многих видов животных, насекомых, моллюсков, ракообразных, птиц. **Источником** возбудителя в природе являются мелкие грызуны, которые обсеменяют различные объекты внешней среды, пищевые продукты и воду. Основным источником инфекции для человека являются домашние животные (крупный рогатый скот, свиньи, собаки, кошки), птицы, реже - синантропные грызуны. В отличие от *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* может передаваться от человека к человеку. **Резервуаром** иерсиний является почва и инфицированные растения. В связи с этим иерсиниоз относят к сапронозам. **Механизм передачи** инфекции – фекально-оральный. Основные пути распространения инфекции – пищевой и водный. **Факторами передачи** при кишечном иерсиниозе чаще всего являются инфицированные продукты животного происхождения (молоко, мясо), употребляемые в сыром или недостаточно термически обработанном виде, реже - овощи и фрукты.

Заболевание встречается во всех возрастных группах, но чаще болеют дети первых лет жизни. Сезонный подъем заболеваемости отмечается в осенне-зимний период года (октябрь – декабрь). Кишечный иерсиниоз чаще протекает в виде спорадических заболеваний.

**Патогенез иерсиниоза.** Возбудитель заболевания проникает в организм через рот. В желудке иерсинии частично погибают под действием кислой среды. Оставшиеся в живых бактерии достигают подвздошной кишки, внедряются в ее слизистую оболочку через М-клетки и проникают в лимфоидные образования, из которых микроб попадает в мезентериальные лимфатические узлы, обуславливая развитие мезаденита. В месте входных ворот развивается различной выраженности воспалительный процесс (терминальный илеит). В патологический процесс могут вовлекаться червеобразный отросток и слепая кишка. Таким путем развивается **локализованная форма** инфекции.

В случае прорыва лимфатического барьера кишечника возникает бактериемия, обуславливающая развитие **генерализованных форм** заболевания. Отмечаются токсико-аллергические поражения печени и селезенки, возможно

развитие полилимфаденита, полиартрита, остита, миозита, нефрита, уретрита, менингита и др. В основе развития этой патологии лежат иммунопатологические процессы, так как иерсинии имеют сродство к соединительной ткани. В результате этого в ответ на внедрение возбудителя вырабатываются антитела, которые фиксируются клетками соединительной ткани. Такие состояния называются **аутоагрессией**.

**Иммунитет** при кишечном иерсиниозе ненапряженный, возможны рецидивы и развитие обострений.

**Клиническая картина.** Продолжительность инкубационного периода колеблется от 1 до 7 дней. Кишечный иерсиниоз характеризуется полиморфизмом клинических проявлений. Наиболее часто отмечаются поражения желудочно-кишечного тракта в сочетании с синдромом интоксикации - гастроэнтеритом, энтероколитом, гастроэнтероколитом.

Заболевание начинается остро: возникает озноб, температура тела повышается до 38-39°C. Больных беспокоят головная боль, слабость, миалгии и артралгии. Одновременно с интоксикационным синдромом возникают тошнота, рвота, абдоминальные боли, которые носят схваткообразный или постоянный характер. Боли локализуются в эпигастрии, вокруг пупка, в правой подвздошной области, иногда в правом подреберье. Стул жидкий, вязкий, с резким неприятным запахом. При вовлечении в процесс толстой кишки у некоторых больных в стуле обнаруживается примесь слизи, реже - крови. Частота стула - от 2-3 до 15 раз в сутки. Продолжительность заболевания составляет до 15 суток. Встречаются также тяжелые формы болезни с резко выраженной интоксикацией и обезвоживанием организма.

Болезнь может протекать хронически до 1,5-2 лет.

**Диагностика.** Материалом для бактериологического исследования служат испражнения, кровь, резецированные во время операции лимфатические узлы и аппендикс. Исследуемый материал помещают в фосфатный буфер и подвергают холодному обогащению.

Серологическая диагностика осуществляется с помощью реакций агглютинации и непрямой гемагглютинации. Исследуют парные сыворотки, взятые в начале заболевания и на 3 неделе болезни. Диагностическим для реакции агглютинации считается титр 1:80 и выше, а для реакции непрямой гемагглютинации - 1:160 и выше.

В экспресс-диагностике иерсиниоза используют методы выявления антигенов возбудителя: реакция непрямой гемагглютинации с антительными диагностикумами, реакция коагглютинации, иммуноферментный анализ.

**Лечение.** В качестве этиотропных средств применяют антибиотики и сульфаниламиды. Из антибиотиков наиболее эффективны левомецетин, аминогликозиды, стрептомицин, при тяжелых формах - цефалоспорины III и IV поколений.

**Профилактика.** Специфическая профилактика не разработана. В целях неспецифической профилактики осуществляется комплекс мероприятий, аналогичных тем, которые проводятся при псевдотуберкулезе и сальмонеллезе.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Расскажите о пандемиях чумы.
2. Кто впервые выделил и описал возбудителя чумы?
3. Какой вклад внесли отечественные ученые в изучение чумы?
4. Таксономия и классификация чумного микроба.
5. Морфологические, тинкториальные и культуральные свойства возбудителя чумы.
6. Биохимические признаки чумного микроба.
7. Антигенная структура чумного микроба.
8. Резистентность возбудителя чумы.
9. Факторы патогенности и патогенез чумы.
10. Клинические формы и симптомы чумы.
11. Принципы лечения чумы.
12. Профилактика чумы.
13. Морфологические, тинкториальные и культуральные свойства возбудителя псевдотуберкулеза.
14. Биохимические признаки и антигенная структура возбудителя псевдотуберкулеза.
15. Резистентность возбудителя псевдотуберкулеза.
16. Факторы патогенности и патогенез псевдотуберкулеза.
17. Клиника, профилактика и лечение псевдотуберкулеза.
18. Морфологические, тинкториальные и культуральные свойства возбудителя кишечного иерсиниоза.
19. Биохимические признаки и антигенная структура возбудителя кишечного иерсиниоза.
20. Резистентность возбудителя кишечного иерсиниоза.
21. Факторы патогенности и патогенез кишечного иерсиниоза.
22. Клиника, лечение и профилактика кишечного иерсиниоза.

### **Тренировочные тесты**

1. Возбудитель чумы выделен (один правильный ответ):
  - 1.1 Р. Кохом
  - 1.2 Л. Пастером
  - 1.3 А. Иерсеном
  - 1.4 Д. Ивановским
  - 1.5 И.И. Мечниковым
  
2. Инактивированная вакцина против чумы разработана (один правильный ответ):
  - 2.1 Р. Кохом
  - 2.2 Л. Пастером
  - 2.3 В.А. Хавкиным
  - 2.4 А. Иерсеном
  - 2.5 Ш. Китагато
  
3. Живая противочумная вакцина EV разработана (один правильный ответ):
  - 3.1 Р. Кохом
  - 3.2 Л. Пастером

3.3 В.А. Хавкиным

3.4 А. Иерсеном

3.5 Ж. Жираром

4. Возбудитель чумы относится к семейству (один правильный ответ):

4.1 *Pasteurelleceae*

4.2 *Pseudomonadaceae*

4.3 *Yersiniaceae*

4.4 *Bacillaceae*

4.5 *Vibrionaceae*

5. Возбудитель чумы выращивают на средах (несколько правильных ответов):

5.1 кровяных

5.2 висмут-сульфитном агаре

5.3 Китта-Тароцци

5.4 Сабуро

5.5 МПА

6. Температурный оптимум для возбудителя чумы составляет (один правильный ответ):

6.1 37°C

6.2 42°C

6.3 28°C

6.4 20°C

6.5 18°C

7. На плотных питательных средах колонии возбудителя чумы сравнивают (один правильный ответ):

7.1 с львиной гривой

7.2 с кружевным платочком

7.3 с маргариткой

7.4 с каплей росы

7.5 с яичницей глазуньей

8. Возбудитель чумы представляет собой (один правильный ответ):

8.1 прямую грамположительную палочку

8.2 изогнутую грамотрицательную палочку

8.3 грамотрицательный диплококк

8.4 овоидную биполярно окрашенную грамотрицательную палочку

8.5 стрептококк

9. Возбудитель чумы представляет собой (один правильный ответ):

9.1 спорообразующую палочку

9.2 перитрих

9.3 грамотрицательную палочку

9.4 стрептококк

## 9.5 извитую бактерию

10. Факторами патогенности возбудителя чумы являются (несколько правильных ответов):

- 10.1 капсула
- 10.2 V- и W-, F<sub>1</sub> – антигены
- 10.3 мышинный токсин
- 10.4 плазмокоагулаза, фибринолизин
- 10.5 экзотоксин

11. Пестицин – это (один правильный ответ):

- 11.1 токсин
- 11.2 аллерген
- 11.3 фермент
- 11.4 бактериоцин
- 11.5 белок клеточной стенки

12. Пестин – это (один правильный ответ):

- 12.1 фермент
- 12.2 аллерген
- 12.3 токсин
- 12.4 бактериоцин
- 12.5 белок клеточной стенки

13. Путь заражения человека чумой (несколько правильных ответов):

- 13.1 контактный
- 13.2 воздушно-капельный
- 13.3 трансмиссивный
- 13.4 алиментарный
- 13.5 трансплацентарный

14. Источник возбудителя чумы (несколько правильных ответов):

- 14.1 суслики
- 14.2 полевки
- 14.3 крупный рогатый скот
- 14.4 крысы
- 14.5 свиньи

15. Переносчики возбудителя чумы (один правильный ответ):

- 15.1 иксодовые клещи
- 15.2 гамазовые клещи
- 15.3 комары
- 15.4 блохи
- 15.5 вши

16. Чумной бубон – это (один правильный ответ):



- 16.1 воспаленный увеличенный лимфатический узел
- 16.2 поражение тканей суслика
- 16.3 очаг размножения возбудителя в организме блохи
- 16.4 место укуса блохи
- 16.5 очаг в легких

17. Аллергическую диагностику чумы проводят с помощью (один правильный ответ):

- 17.1 пестицина
- 17.2 пестина
- 17.3 V-антигена
- 17.4 W- антигена
- 17.5 капсульного антигена

18. Специфическую профилактику чумы проводят (один правильный ответ):

- 18.1 всему населению
- 18.2 контингенту риска
- 18.3 индивидуально по экстренным показаниям
- 18.4 всем в природных очагах чумы
- 18.5 не проводят вообще

19. Для специфической профилактики чумы используют (один правильный ответ):

- 19.1 живую аттенуированную вакцину (штамм EV)
- 19.2 убитую вакцину
- 19.3 анатоксин
- 19.4 генно-инженерную вакцину
- 19.5 антибиотики

20. Для лечения чумы используют (один правильный ответ):

- 20.1 гипериммунную сыворотку
- 20.2 антибиотики
- 20.3 бактериофаг
- 20.4 пробиотики
- 20.5 лечебную вакцину

21. Для возбудителя псевдотуберкулеза характерно (один правильный ответ):

- 21.1 грамотрицательная палочка
- 21.2 грамположительная палочка
- 21.3 грамположительный кокк
- 21.4 грамотрицательный кокк
- 21.5 извитая форма клетки

22. Источником инфекции при псевдотуберкулезе являются (несколько правильных ответов):

- 22.1 больные люди
- 22.2 бактерионосители

- 22.3 дикие грызуны
- 22.4 синантропные грызуны
- 22.5 крупный рогатый скот

23. Источником инфекции при кишечном иерсиниозе являются (несколько правильных ответов):

- 23.1 больные люди
- 23.2 мелкие грызуны
- 23.3 домашние животные
- 23.4 блохи
- 23.5 вши

Правильные ответы: 1.3; 2.3; 3.5; 4.3; 5.1, 5.5; 6.3; 7.2; 8.4; 9.3; 10.1, 10.2, 10.3, 10.4; 11.4; 12.2; 13.1, 13.2, 13.3, 13.4; 14.1, 14.2, 14.4; 15.4; 16.1; 17.2; 18.2; 19.1; 20.2; 21.1; 22.3, 22.4; 23.1, 23.2, 23.3.

### 3.3. Вибрионы

Вибрионы составляют род *Vibrio*, относящийся к семейству *Vibrionaceae*, порядку *Vibrionales*, классу *Gamma*proteobacteria, типу *Proteobacteria*. В состав этого рода входит большое количество видов. Среди них особое значение имеет *V. cholerae* - возбудитель холеры, опасного инфекционного заболевания, способного не только к эпидемическому, но и пандемическому распространению.

**Холера** – опасное антропонозное инфекционное заболевание, протекающее по типу гастроэнтерита с интоксикацией и нарушением водно-электролитного обмена, приводящим к резкому обезвоживанию организма. Холера относится к карантинным инфекциям.

**Историческая справка.** Холера известна с древних времен. Она описана в трудах Гиппократ (греч. *cholera* – истечение жидкостей тела, от *chole* – желчь, *rheo* – течь, истекать). По имеющимся данным, первое научное описание эпидемии холеры было сделано в 1563 г. португальским врачом Garcia del Huerto в Индии.

Исторической родиной холеры считается Индия, где эпидемии этой болезни отмечались еще за 500 лет до нашей эры. Длительному сохранению и размножению возбудителя холеры способствуют климатические условия Индии (благоприятная для возбудителя среднегодовая температура воздуха 25-29<sup>o</sup>C, обилие осадков, заболоченность местности, большое количество органических веществ в воде в результате непрерывного загрязнения рек сточными водами и испражнениями), высокая плотность населения, уровень жизни и своеобразные религиозно-культурные обряды (рисунок 3.153).



Рисунок 3.153 – Омовение в водах Ганга. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В истории распространения и изучения холеры выделяют 4 периода.

**Первый период** охватывает промежуток времени от древнейших времен до 1817 г. В это время холера в виде эпидемий регистрировалась лишь в Юго-Восточной Азии (в основном в Индии) и не выходила за ее пределы.

**Второй период** охватывает 1817-1926 гг. В это время холера распространилась по всем континентам в виде 6 пандемий, унесших миллионы человеческих жизней. Поэтому холера изображалась в образе смерти, выкашивающей население (рисунок 3.154).



Рисунок 3.154 – Обложка журнала начала XX века, изображающая холеру в образе смерти, выкашивающей больных людей. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1823 г. холера проникла в Россию, а в 1830-1831 гг. – в Европу. Проникновение холеры в Европу происходило через Ближний Восток, Египет и порты Средиземноморья. В течение второго периода были изучены этиология и основные эпидемиологические особенности этого заболевания.

В частности, английский врач Д. Сноу при изучении вспышки холеры в Лондоне в 1854 г. предположил и обосновал водный путь передачи возбудителя болезни при употреблении загрязненной воды из р. Темзы и колонок (рисунки 3.155 и 3.156).



а



б

Рисунок 3.155 – а - Джон Сноу (John Snow, 1813 – 1858 гг.); б - “колонка смерти” – иллюстрация к гипотезе Д. Сноу о водном пути передачи возбудителя холеры. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



Рисунок 3.156 – Холера в образе смерти плывет по грязной Темзе среди нечистот.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1854-1855 гг. итальянский анатом Ф. Пачини (рисунок 3.157) описал изменения слизистой оболочки тонкого кишечника при холере. Он обнаружил в слизистой оболочке и в испражнениях больных людей большое количество изогнутых палочковидных телец, изобразил их на своих рисунках и назвал их истинными возбудителями холеры - *Filippo Pacini bacillum*. Смерть при холере он считал результатом сильнейшего обезвоживания организма.



Рисунок 3.157 – Филиппо Пачини (Filippo Pacini, 1812 – 1883 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Для выяснения причин холеры в 1883 г. в Египет были направлены французская экспедиция под руководством Э. Ру и немецкая экспедиция под руководством Р. Коха (рисунки 3.158 и 3.159).

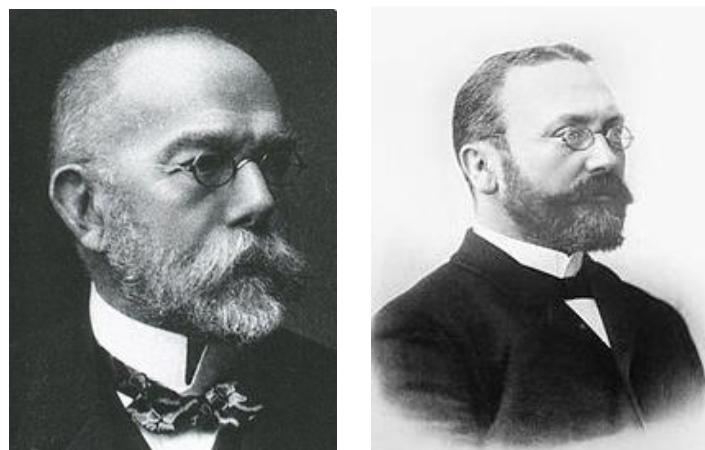


а

б

в

Рисунок 3.158 – Члены французской экспедиции, изучавшей этиологию холеры в Египте в 1883-1884 гг.: а - Эмиль Ру (Pierre Paul Emile Roux, 1853-1933 гг.), б - Эдмонд Нокар (E.-I.-E. Nocard, 1850-1903 гг.), в - Луи Тюйе (Louis Thuillier, 1856-1883 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.



а

б

Рисунок 3.159 – Немецкие ученые, изучавшие этиологию холеры в 1883-1884 гг.: а - Роберт Кох (Heinrich Hermann Robert Koch, 1843-1910 гг.), б - Георг Гаффки (Georg Theodor August Gaffky, 1850-1918 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Во время работы экспедиции Л. Тюйе заразился и погиб. Р. Кох возложил на его могилу венок с надписью “Этот скромный венок из лавров, но им венчают героев”.

В последующем немецкие ученые для продолжения своей работы перебазировались в Индии, где в 1883 г. Р. Кох из испражнений больных и трупов погибших людей выделил чистую культуру возбудителя (*Vibrio cholerae asiaticae*, *Vibrio comma*, “запятая Коха”, лат. *comma* - запятая) и подробно описал его свойства. Выделению возбудителя способствовало то, что незадолго до этого Р. Кох разработал метод культивирования бактерий на поверхности пластинок желатина на стекле (прообраз плотных питательных сред).

Изучение выделенного возбудителя показало, что холерный вибрион не обладает гемолитической активностью, поэтому встречающиеся гемолитические вибрионы относили к группе непатогенных бактерий. Однако в 1906 г. на карантинной станции Эль-Тор (рисунок 3.160) на западном побережье Синайского

полуострова из кишечника паломника, погибшего от холероподобного заболевания, супругами Ф. и Е. Готшлих (F. и E. Gotschlich) был выделен вибрион (вибрион *El-Tor*), сходный по своим свойствам с классическим холерным вибрионом и агглютинирующийся холерной О-сывороткой. Однако в отличие от классического холерного вибриона выделенный вибрион *El-Tor* обладал гемолитической активностью и резистентностью к полимиксину В.

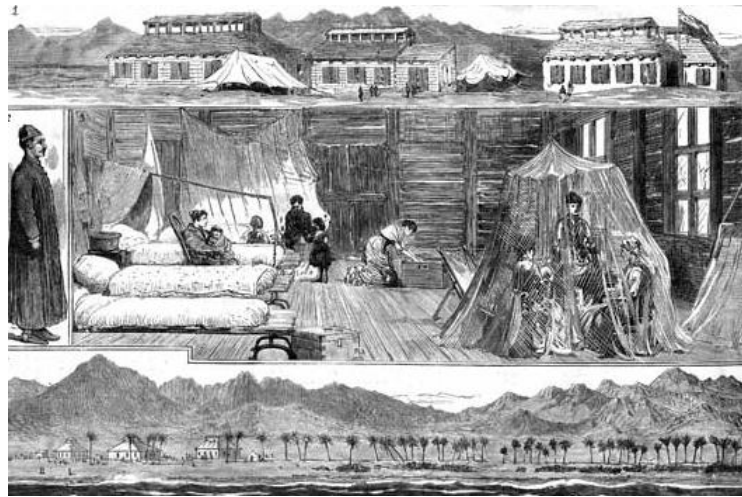


Рисунок 3.160 – Карантинная станция Эль-Тор (El-Tor). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В то время эпидемии холеры не было, поэтому роль вибриона Эль-Тор в заболевании людей длительное время оставалась неясной.

**Третий период** распространения и изучения холеры продолжался в течение 1926-1961 гг. В это время холера регистрировалась в основном в районах Юго-Восточной Азии (Пакистан, Индия, Бангладеш). Однако в 1937 г. на о. Сулавеси (Индонезия) была зарегистрирована крупная и тяжелая вспышка кишечного заболевания с симптомами холеры. Возбудителем заболевания был вибрион Эль-Тор. Летальность во время вспышки превышала 60%. В последующем это заболевание распространилось на другие страны, а в 1961 г. вибрион Эль-Тор, распространился по многим континентам, вызвав седьмую пандемию холеры. В связи с этим в 1962 г. вибрион Эль-Тор был отнесен к холерным вибрионам и получил название *Vibrio cholerae biovar El-Tor*.

**Четвертый период** начался в 1961 г. Этот период характеризуется тем, что заболевания были обусловлены не только вибрионами Эль-Тор, но и штаммами нового серовара O139. Серовар холерного вибриона O139 (вариант *bengal*) был обнаружен в 1990 г. в индийском штате Западная Бенгалия во время вспышки диарейного холероподобного заболевания. В 1992-1993 гг. этот вариант возбудителя вызвал крупную эпидемию холеры в Бангладеш, Индии, Китае, Малайзии и других странах. Вариант O139 отличается от *V. cholerae* группы O1 тем, что он имеет антиген O139 и не агглютинируется другими О-сыворотками. По остальным свойствам этот вариант не отличается от классического холерного вибриона.

В историческом плане выделяют 7 пандемий холеры, характеристика которых представлена в таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Пандемии холеры

Номер пандемии	Годы распространения	Особенности пандемии
1	1817-1829	Выход холеры за границы исторического очага и распространение на Аравийский полуостров, Цейлон, в Китай, Иран, Турцию, на Кавказ, в Россию (города Каспийского бассейна – Астрахань, Баку)
2	1830-1837	Началась в Индии, затем распространилась в Китай, Афганистан, Россию, Европу, Северную Америку, Северную Африку, Австралию
3	1844-1864	Началась в Индии, Китае, Афганистане, распространилась в Россию, Европу, Северную Америку
4	1865-1875	Началась в Индии, распространилась в Китай, Японию, Россию, Европу, Африку, Америку
5	1883-1896	Распространение в Азии, России, Европе, Америке, Африке
6	1900-1926	Вялое течение заболевания. Холера практически не распространилась на западное полушарие
7	С 1961	С Индонезии распространилась практически по сему миру. Преобладают субклинические формы инфекции

В России седьмая пандемия холеры началась в 1970 г. Заболевания были отмечены в Астраханской области, Заволжье, Одессе.

Значительный вклад в изучение холеры в разные годы внесли отечественные ученые В.А. Хавкин, З.В. Ермольева, Н.Ф. Гамалея, Д.К. Заболотный.

В 1892 г. В.А. Хавкин (рисунок 3.161) создал первую вакцину против холеры, испытал ее на себе и в 1893 г. наладил производство этой вакцины в Индии. За 2 года он иммунизировал более 42000 человек, в результате чего заболеваемость холерой и смертность от нее в Индии существенно снизились.



Рисунок 3.161 - Хавкин Владимир Аронович (1860-1930 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

З.В. Ермольева (рисунок 3.162) занималась изучением устойчивости возбудителя холеры к дезсредствам, вопросами профилактики холеры, исследованием роли холероподобных вибрионов в патологии человека. Для установления патогенности вибрионов она проводила опыты по самозаражению.





Рисунок 3.162 – Зинаида Виссарионовна Ермольева (1898-1974 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Н.Ф. Гамалея (рисунок 3.163) известен работами по эпидемиологии и профилактике холеры, патогенности выделенных им холероподобных вибрионов.



Рисунок 3.163 – Николай Федорович Гамалея (1859-1949 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Д.К. Заболотный (рисунок 3.164) внес значительный вклад в изучение эпидемиологии холеры.



Рисунок 3.164 - Даниил Кириллович Заболотный (1866-1929 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

С 1961 по 1996 г. холерой в 146 странах переболело 3943239 человек. Стойкие очаги холеры сформировались в Юго-Восточной Азии и африканских странах. Так, в 2003 г. крупные вспышки холеры были отмечены в Либерии (33604 больных), Конго (22768 больных), Мозамбике (13758 больных), Сомали (4877 больных). В 2010 г. крупная вспышка холеры отмечена на Гаити. По данным ВОЗ, в последние годы в мире ежегодно регистрируется от 3 до 5 млн. случаев заболевания холерой, в том числе 100-130 тысяч летальных случаев. Высокая заболеваемость и смертность отмечаются в основном в развивающихся странах. Возникновение холеры в России связано с реальной возможностью ее завоза из других стран, неблагоприятных по этой инфекции. Так, в период 2005-2010 гг. в России было зарегистрировано 8 случаев завоза холеры из Индии и Таджикистана.

**Классификация возбудителя.** Вид *V. cholerae* относится к роду *Vibrio*, семейству *Vibrionaceae*, порядку *Vibrionales*, классу *Gamma*proteobacteria, типу *Proteobacteria*. Род *Vibrio* насчитывает большое количество видов, из которых наибольшее значение для человека имеют *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* и некоторые другие. Эти виды вибрионов вызывают у человека различные по клиническим признакам заболевания (холеру, гастроэнтериты, отиты, раневую инфекцию, менингит). В таблице 3.7 представлены виды рода *Vibrio*, имеющие медицинское значение.

Таблица 3.7 - Виды рода *Vibrio*, имеющие медицинское значение

Вид	Источник инфекции	Клинические проявления
<i>V. cholerae</i>	Больной человек и бактерионоситель	Холера
<i>V. parahaemolyticus</i>	Морская вода, морские продукты	Гастроэнтерит, раневая инфекция, бактериемия
<i>V. vulnificus</i>	Морская вода, морские продукты	Бактериемия, целлюлиты, кардиоваскулиты, уретриты
<i>V. alginolyticus</i>	Морская вода	Раневая инфекция, отиты
<i>V. hollisae</i>	Морская вода, морские продукты	Гастроэнтерит, раневые инфекции, бактериемия
<i>V. fluvialis</i>	Морская вода	Гастроэнтерит, раневые инфекции, бактериемия
<i>V. damsela</i>	Морская вода	Раневые инфекции
<i>V. furnissii</i>	Неизвестен	Гастроэнтерит
<i>V. metschnikovii</i>	Пресная и солоноватая вода, морские продукты	Бактериемия, раневые инфекции
<i>V. circinnatiensis</i>	Неизвестен	Бактериемия, менингит, энцефалит
<i>V. mimicus</i>	Морская вода, морские продукты	Гастроэнтерит, диарея

Вид *V. cholerae* включает 206 серогрупп, которые различаются по структуре соматического О-антигена. Их разделяют на агглютинирующиеся типовой холерной О1-сывороткой (*V. cholerae* О1) и на неагглютинирующиеся типовой холерной О1-сывороткой (*V. cholerae* non О1). Вибрионы, неагглютинирующиеся О1-сывороткой, называются неагглютинирующимися (НАГ) вибрионами.

“Классическая” холера вызывается холерным вибрионом серогруппы О1 (*V. cholerae* О1). К этой серогруппе относятся 2 биовара: классический (*V. cholerae*

биовар *cholerae* или *V. cholerae* биовар *asiaticae*) и Эль-Тор (*V. cholerae* биовар *eltor*). Биовары *V. cholerae cholerae* и *V. cholerae eltor* включают по 3 биотипа: Инаба (Inaba), Огава (Ogawa) и Гикосима (Hikojima). Кроме представителей серогруппы O1 холеру вызывает вибрион серогруппы O139 (*V. cholerae bengal*).

Вибрионы, относящиеся к другим серологическим группам (O2-O138, O140-O206), могут вызывать у людей спорадические или групповые случаи диарейных заболеваний, не склонных к эпидемическому распространению.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** *V. cholerae* представляет собой изогнутые короткие подвижные палочки. Размеры клеток холерного вибриона составляют 1,5-4,0x0,2-0,6 мкм. Для холерных вибрионов характерен полиморфизм – в клиническом материале обнаруживаются типичные изогнутые формы, а в препаратах с питательных сред преобладают прямые палочковидные формы (рисунок 3.165).

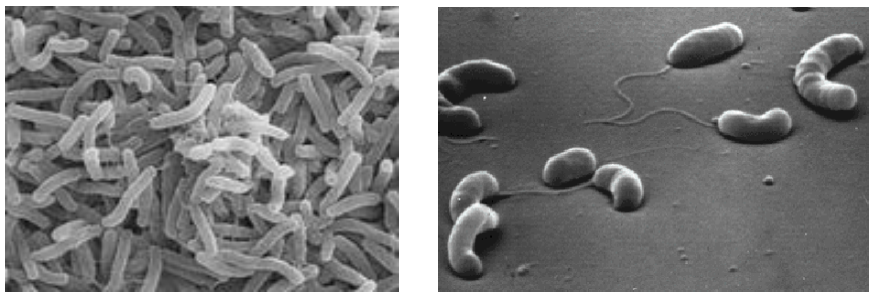


Рисунок 3.165 – Холерный вибрион, сканирующая электронная микроскопия.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Холерный вибрион является монотрихом, так как имеет один длинный жгутик, расположенный на конце клетки. Жгутик в 2-3 раза длиннее тела клетки (рисунок 3.166).

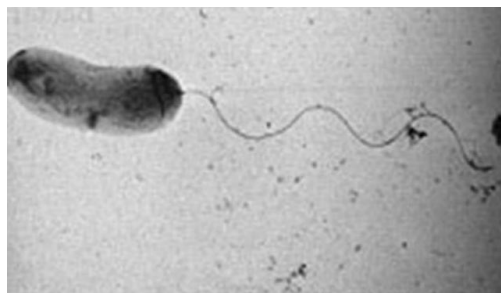


Рисунок 3.166 – Жгутик холерного вибриона, электронная микрофотография.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Жгутик снабжён чехликом и продольным выростом, напоминающим ундулирующую мембрану. Жгутики хорошо выявляются при окраске препаратов по методу Лейфсона (рисунок 3.167).

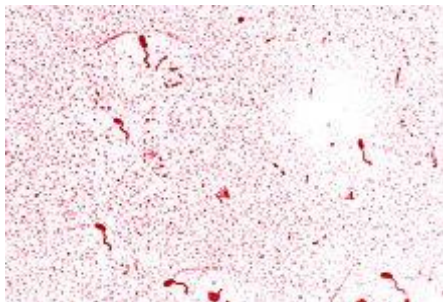


Рисунок 3.167 – Жгутики *V. cholerae*. Окраска по методу Лейфсона. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Подвижность холерных вибрионов является одним из диагностических признаков возбудителя.

Пили (фимбрии) представляют собой тонкие гибкие нитевидные образования на поверхности бактериальной клетки (рисунок 3.168).



Рисунок 3.168 – Пили на поверхности клеток холерного вибриона, компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Пили являются рецепторами для фага СТХф. Пили участвуют в колонизации микроворсинок тонкого кишечника и образовании биопленок на поверхности тела гидробионтов.

Клетки холерного вибриона хорошо окрашиваются основными анилиновыми красителями, грамотрицательные (рисунок 3.169).

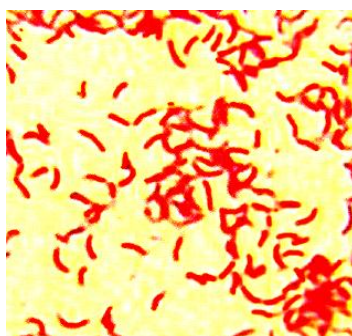


Рисунок 3.169 – Холерный вибрион, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Широко используется окраска препаратов холерных вибрионов разведенным карболовым фуксином Циля. При этом вибрионы приобретают интенсивный розовый цвет (рисунок 3.170).

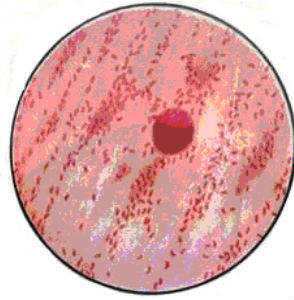


Рисунок 3.170 – Холерный вибрион, окраска карболовым фуксином Циля. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Холерный вибрион не образует спор. Клетки *V. cholerae* серогруппы O1 не образуют капсулы, а клетки *V. cholerae* серогруппы O139 имеют полисахаридную капсулу.

**Культуральные свойства.** Холерные вибрионы являются факультативными анаэробами, но предпочитают аэробные условия выращивания. Оптимальная температура культивирования составляет 37°C. Холерные вибрионы относятся к группе щелочелюбивых микроорганизмов. Они хорошо растут на простых питательных средах с высоким значением рН (7,6-8,2). Это свойство используется при подборе питательных сред для выращивания холерного микроба. Элективными питательными средами для культивирования холерного вибриона являются щелочной МПА, ТСBS-агар (питательный агар с тиосульфатом натрия, цитратом, бромтимоловым синим и сахарозой), среда СЭДХ (сухая элективно-дифференциальная среда для выделения холерного вибриона) или СЭДХ-М (модернизированная среда СЭДХ), среда Монсура (таурохолат-теллуритовый агар с желатином).

Чаще всего используют щелочной МПА, на котором холерный вибрион образует круглые гладкие стекловидно-прозрачные с голубоватым оттенком и слабой опалесценцией колонии S-формы вязкой консистенции (рисунок 3.171). Размер колоний на щелочном агаре через 10-12 часов культивирования не превышает 1 мм в диаметре, а через 18-24 часа достигает 2-3 мм.



Рисунок 3.171 – Рост холерного вибриона на щелочном МПА. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На TCBS-агаре возбудитель холеры образует плоские полупрозрачные желтые колонии размером 2-3 мм в диаметре на сине-зеленом фоне среды (рисунок 3.172).

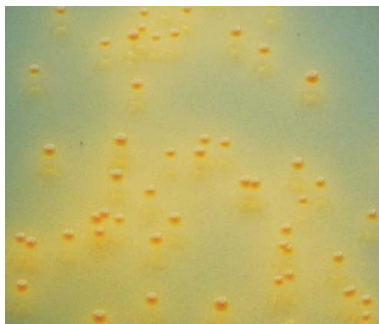


Рисунок 3.172 – Рост холерного вибриона на TCBS-агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На среде Монсура (желтого цвета) через 12-18 часов культивирования формируются колонии серого или черного цвета (за счет восстановления теллурита) диаметром 2,0-2,5 мм (рисунок 3.173).

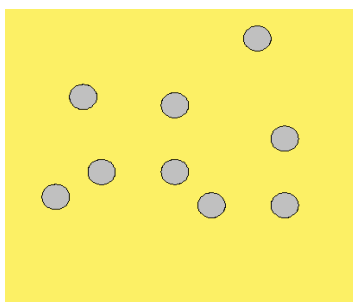


Рисунок 3.173 – Схематическое изображение характера роста холерного вибриона на среде Монсура.

В щелочной пептонной воде (рН 8,6-9,0), содержащей 0,5-1,0% натрия хлорида, холерный вибрион уже через 6-8 часов вызывает легкое помутнение и образование нежной голубоватой плёнки на поверхности среды, края пленки приподняты вдоль стенок пробирки (рисунок 3.174), при встряхивании пленка легко разрушается и оседает на дно пробирки.



а б

Рисунок 3.174 - Характер роста холерного вибриона в щелочной пептонной воде: а – контроль, б – опыт. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Пептонная вода с добавлением 0,5-1% натрия хлорида является оптимальной средой накопления при выделении возбудителя холеры из исследуемого материала.

**Биохимические свойства.** Возбудители холеры обладают сахаролитической и протеолитической активностью. Холерные вибрионы разлагают с образованием кислоты без газа глюкозу, сахарозу, маннозу, маннит, лактозу (медленно), крахмал. Ферментация глюкозы может протекать как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Эта способность выявляется на среде Хью-Лейфсона. Среда содержит питательный агар, глюкозу и индикатор. Посев производится вглубь столбика агара в две пробирки. В одну из пробирок вносят вазелиновое масло для создания анаэробных условий. При росте холерного вибриона цвет среды за счет разложения глюкозы до кислоты изменяется в обеих пробирках.

Холерный вибрион не ферментирует арабинозу, лактозу и инозит. По способности ферментировать маннозу, сахарозу и арабинозу Б. Хейберг распределил все вибрионы (холерные и холероподобные) на несколько групп (таблица 3.7).

Таблица 3.7 – Классификация вибрионов по Б. Хейбергу

Группа	Ферментация		
	маннозы	сахарозы	арабинозы
I	+	+	-
II	-	+	-
III	+	+	+
IV	-	+	+
V	+	-	-
VI	-	-	-
VII	+	-	+
VIII	-	-	+

Холерные вибрионы относятся к первой группе Б. Хейберга (ферментируют маннозу и сахарозу и не разлагают арабинозу).

Протеолитическая активность холерного вибриона выявляется при посеве культуры уколом в столбик желатина. Холерные вибрионы обладают плазмокоагулирующим (свёртывают плазму крови) и фибринолитическим (разжижают свёрнутую плазму) действием, свёртывают молоко, разлагают белки до аммиака и индола, сероводорода не образуют, восстанавливают нитраты в нитриты.

Биовар Эль-Тор обладает гемолитической активностью в отношении эритроцитов барана. Лизис эритроцитов барана определяется в пробе Грейга. Гемолизин действует как порообразующий токсин. Однако в настоящее время выделяются штаммы *V. cholerae eltor*, утратившие гемолитические свойства. Такие штаммы отличаются от классических холерных вибрионов только способностью агглютинировать эритроциты и устойчивостью к полимиксину В. Вибрионы серогруппы O139 также не обладают гемолитической активностью и устойчивы к полимиксину В, но в отличие от *V. cholerae eltor* имеют капсулу. Биохимические признаки позволяют дифференцировать возбудителей холеры (таблица 3.8).

Таблица 3.8 - Дифференциальные признаки возбудителей холеры

Признак	<i>V. cholerae</i> биовар классический	<i>V. cholerae</i> биовар <i>eltor</i>	<i>V. cholerae</i> серовар O139 (Бенгал)
Реакция Фогеса-Проскауэра (образование ацетилметилкарбинола)	чаще -	чаще +	чаще +
Рост на среде с полимиксином В (50 ед./мл)	-	+	+
Гемолиз эритроцитов барана	-	+	-
Агглютинация куриных эритроцитов	-	чаще +	чаще +
Образование капсулы	-	-	+
Чувствительность к классическому бактериофагу	+	-	-
Чувствительность к бактериофагу Эль-Тор	-	+	-

**Реакция Фогеса-Проскауэра** основана на том, что при культивировании бактерий семейства *Vibrionaceae* на среде Кларка накапливается ацетоин (продукт анаэробного превращения глюкозы), который обнаруживается по розовой окраске среды после добавления раствора едкого калия.

**Способность к росту на среде с полимиксином (50 ед./мл)** определяют путем посева культуры на агар с антибиотиком в чашке Петри с последующим инкубированием посевов при температуре 37°C в течение 18 часов. Холерные вибрионы классического биовара (*V. cholerae* биовар *cholerae*) не растут на полимиксиновом агаре, а для других холерных вибрионов этот признак является положительным (отмечается рост культуры) или переменным.

**Гемолиз эритроцитов барана (пробу Грейга)** выявляют путем добавления к бульонной культуре вибрионов взвеси эритроцитов с последующим инкубированием в течение 2 часов в термостате при температуре 37°C, а затем – в холодильнике в течение суток. Положительный результат проявляется частичным или полным лизисом эритроцитов (лаковая кровь). В контроле (взвесь эритроцитов в бульоне) гемолиз отсутствует, отмечается осадок эритроцитов на дне пробирки, надосадочная жидкость прозрачная.

**Агглютинацию куриных эритроцитов** определяют на предметном стекле (слайд-агглютинация), смешивая суспензию агаровой культуры с куриными эритроцитами. При положительной реакции отмечается склеивание эритроцитов. В контролях (взвесь эритроцитов в растворе хлорида натрия и суспензия исследуемой культуры в растворе хлорида натрия) агглютинация отсутствует.

**Чувствительность к бактериофагам** выявляют следующим образом. На поверхность щелочного агара в чашке Петри наносят смесь 0,5-0,7%-ного агара и бульонной культуры возбудителя. После застывания агара с помощью петли или пастеровской пипетки на поверхность наносят капли диагностических бактериофагов. Инкубируют в термостате при температуре 37°C в течение 18-20 часов. Положительный результат проявляется в виде одного стерильного пятна или группы мелких негативных колоний в месте нанесения капли бактериофага.

Восстановление нитратов и образование индола учитывает **нитрозо-индоловая реакция (холера-рот-реакция)**. Для постановки этого теста в



пептонную воду добавляют 0,1% калия или натрия нитрата и высевают исследуемую культуру. К выросшей культуре добавляют 1-2 капли концентрированной серной кислоты. Положительная реакция проявляется в изменении первоначального желтого цвета среды на ярко-красный, что свидетельствует об образовании нитрозоиндола. Механизм реакции заключается в том, что холерный вибрион восстанавливает нитрат в нитрит, а добавленная серная кислота вытесняет из нитрита азотистую кислоту, которая соединяется с индолом с образованием нитрозоиндола, придающего среде красный цвет.

**Протеолитические свойства** определяются путем посева культуры уколом в столбик желатина. Положительный результат проявляется разжижением желатина после культивирования при температуре 37°C.

**Антигенная структура.** У вибрионов выделяют термостабильные О-антигены и термолабильные Н-антигены. По структуре **О-антигена** выделяют 206 серологических групп вибрионов (O1 – O206). Возбудителями холеры являются вибрионы, относящиеся к серогруппам O1 и O139. В составе O1-антигена холерных вибрионов выделяют компоненты А, В и С. По сочетанию этих компонентов различают три серотипа *V. cholerae* - серотип Огава (компоненты А и В), серотип Инаба (компоненты А и С) и серотип Гикосима (компоненты А, В и С). Возбудители классической холеры и холеры Эль-Тор объединяют в O1-серогруппу. Серогруппу O139 представляют *V. cholerae bengal*.

**Н-антиген** представляет собой термолабильный белок флагеллин. Этот антиген является общим для всего рода *Vibrio*.

В стадии диссоциации холерный вибрион имеет OR-антиген. Сыворотка против OR-антигена используется наряду с О-сывороткой и типоспецифическими сыворотками Инаба и Огава для идентификации *V. cholerae*.

**Фагочувствительность.** Холерный бактериофаг впервые описал в 1918 г. Ф. д'Эрелль. В настоящее время известно несколько холерных бактериофагов. С. Мукерджи разделил холерные бактериофаги на 4 группы. Для фаготипирования *V. cholerae* он предложил набор бактериофагов. В последующем этот набор был дополнен другими фагами. Используемый в настоящее время набор из семи бактериофагов позволяет выделять среди *V. cholerae* 16 фаготипов.

Однако для дифференциации холерных вибрионов используют монофаги. Холерный диагностический фаг С избирательно лизирует холерные вибрионы классического типа, фаг Эль-Тор 2 - вибрионы Эль-Тор. Существуют фаги, лизирующие вибрионы обоих типов. Холерные бактериофаги используются в диагностических целях и практически не имеют терапевтического значения.

**Резистентность холерного вибриона.** Холерный вибрион во внешней среде чувствителен к высушиванию и действию прямых солнечных лучей, но хорошо сохраняется и размножается при температуре выше 10-12°C в открытых водоемах и сточных водах, богатых органическими веществами. В частности, в водоемах возбудитель сохраняется в течение 2-3 недель.

Холерные вибрионы хорошо сохраняются при низкой температуре: во льду - до 1 месяца; в морской воде - до 47 суток, в речной воде - от 3-5 дней до нескольких недель, в почве - от 8 дней до 3 месяцев. В свежих испражнениях больного возбудитель холеры сохраняется до 3 суток, на белье, загрязненном испражнениями больных, сохраняется до 2 суток, а на влажном материале - неделю.

На вареных продуктах (рис, лапша, мясо, каши и др.) холерные вибрионы выживают в течение 2-5 дней, на сырых овощах - 2-4 дней, на фруктах - 1-2 дней, в молоке и молочных продуктах - 5 дней. При хранении продуктов в холодильнике срок выживания возбудителя увеличивается на 1-3 дня. Холерные вибрионы при 50<sup>0</sup>С погибают через 30 минут, при 80<sup>0</sup>С - через 5 минут, при 100<sup>0</sup>С – через несколько секунд.

Холерные вибрионы очень чувствительны к действию дезинфектантов, особенно с кислым значением рН. В растворе сулемы (1:100000) они погибают через 5 минут. Под влиянием хлорамина и других дезинфектантов погибают через 5-15 минут. Возбудитель высокочувствителен к хлору: доза активного хлора 0,3-0,4 мг/л за 30 минут вызывает надежное обеззараживание предметов.

**Эпидемиология.** Холера является типичной антропонозной инфекцией. **Природный резервуар** - загрязненная вода; **источник инфекции** – больной человек с первых дней заболевания и бактерионоситель. Опасность представляют как больные с типичной формой холеры, так и больные со стертыми, субклиническими и атипичными формами заболевания, а также реконвалесценты после типичной или субклинической формы холеры (вибрионовыделители – реконвалесценты). При холере имеет место так называемый феномен “айсберга”, когда на 1 больного приходится до 100 носителей. Продолжительность вибриононосительства у реконвалесцентов редко превышает 2-4 недели, но иногда длится до 3 лет. Известно транзитное здоровое носительство, когда заболевание не развивается, но в фекалиях в течение длительного времени обнаруживается возбудитель (характерно для инфекции, обусловленной биоваром Эль-Тор). В литературе описан случай носительства холерного вибриона в течение 13 лет (“холерная” Долорес). **Основные механизмы передачи** - фекально-оральный и контактный. **Факторы передачи** – вода, пищевые продукты, объекты окружающей среды. В воде открытых водоемов холерный вибрион часто находится в ассоциациях с зоопланктоном (в частности, с веслоногими рачками) и водными растениями. **Пути заражения холерой** – водный (через воду, используемую для питья, купания и хозяйственно-бытовых нужд), алиментарный (пищевой) и контактно-бытовой. Определённую роль могут играть мухи, способные переносить возбудителя с испражнений больного человека на пищевые продукты. Пути и факторы заражения человека холерным вибрионом представлены на рисунке 3.175.

Все крупные эпидемии и пандемии холеры были связаны с водой. Больной холерой человек выделяет во внешнюю среду в 1 мл испражнений от 10 млн. до 1 млрд. вибрионов, а бактерионоситель – до 100 тыс. микробных клеток. Переболевшие лица выделяют холерный вибрион в течение 7-10 дней после клинического выздоровления. Примерно у 4-5% переболевших формируется хроническое носительство, при котором холерный вибрион сохраняется в желчном пузыре. Заражающая доза составляет около 1 млн. микробных клеток. Заражение человека от человека не происходит.

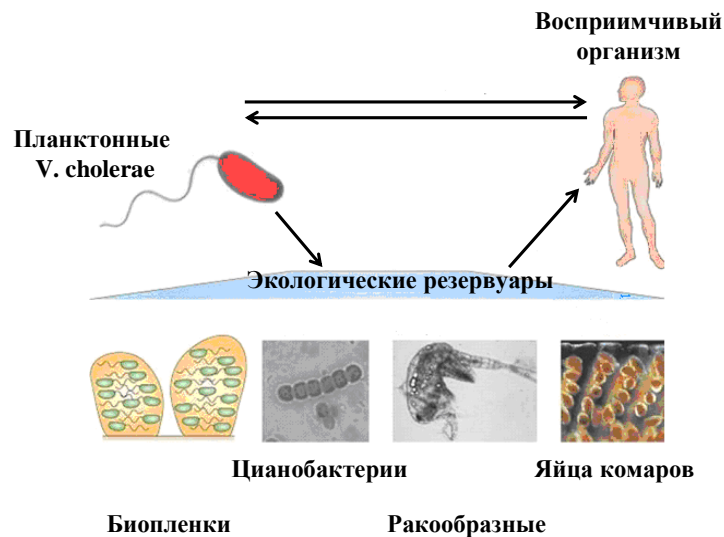


Рисунок 3.175 – Пути и факторы заражения человека холерой.

**Факторы патогенности.** К факторам патогенности холерного вибриона относятся:

- **подвижность** и хемотаксис (способность бактерий двигаться по направлению к аттрактантам, то есть к питательным веществам);
- **факторы адгезии и колонизации:** токсин-корегулируемые пили (toxin coregulated pilus, TCP); гемагглютинины; белки внешней мембраны;
- **токсины:** экзотоксин – холероген (СТ – cholera toxin) и эндотоксин;
- **ферменты агрессии:** фибринолизин, гиалуронидаза, нейраминидаза, муциназа, протеаза и др.

Благодаря **подвижности** за счет жгутиков и **хемотаксису** холерный вибрион преодолевает слой слизи на поверхности энтероцитов кишечника и вступает во взаимодействие с эпителиальными клетками. У мутантов холерных вибрионов, утративших подвижность или способность к хемотаксису, вирулентность резко снижается.

Основными компонентами микробной клетки, обеспечивающими адгезию (прикрепление) возбудителя холеры к энтероцитам, являются токсин-корегулируемые пили, гемагглютинины и белки внешней мембраны.

**Токсин-корегулируемые пили (TCP)** или фимбрии представляют собой тонкие гибкие нитевидные образования на поверхности бактериальной клетки. Они состоят из белковых повторяющихся субъединиц с молекулярной массой 20,5 кД. С помощью TCP холерные вибрионы прикрепляются к энтероцитам. После адгезии вибрионы утрачивают подвижность и интенсивно размножаются, колонизируя микроворсинки тонкого кишечника. TCP кодируются кластером генов, входящих в состав островка патогенности VP1. Непосредственно за синтез TCP отвечают гены *tcpA-F*, причем за биосинтез основной субъединицы пилей отвечает ген *tcpA*.

Вместе с TCP в колонизации энтероцитов принимают участие **белки внешней мембраны** холерного вибриона. Основная роль при этом принадлежит белку OmpU, который защищает микробную клетку от бактерицидного действия содержимого кишечника. Кроме того, белки TCP и OmpU являются важными

протективными антигенами возбудителя холеры. Антитела к ним прекращают инфекционный процесс, предотвращая адгезию и колонизацию энтероцитов.

Вслед за адгезией и колонизацией происходит синтез **холерного экзотоксина холерогена** – СТ (cholera toxin) и его секреция в окружающую среду. Холероген является главным фактором патогенности возбудителя холеры. Он секретируется в окружающую среду системой секреции II типа. СТ состоит из компонентов А и В. Компонент А имеет молекулярную массу 27,2 кД и состоит из 2 пептидов – А1 и А2, связанных дисульфидными мостиками. Пептид А2 служит для связи фрагментов А и В. Компонент В имеет молекулярную массу 58 кД и состоит из пяти кольцевидно соединенных субъединиц. Компонент В выполняет функцию связывания вибриона с энтероцитами, а компонент А – каталитическую (токсическую) функцию (рисунок 3.176).

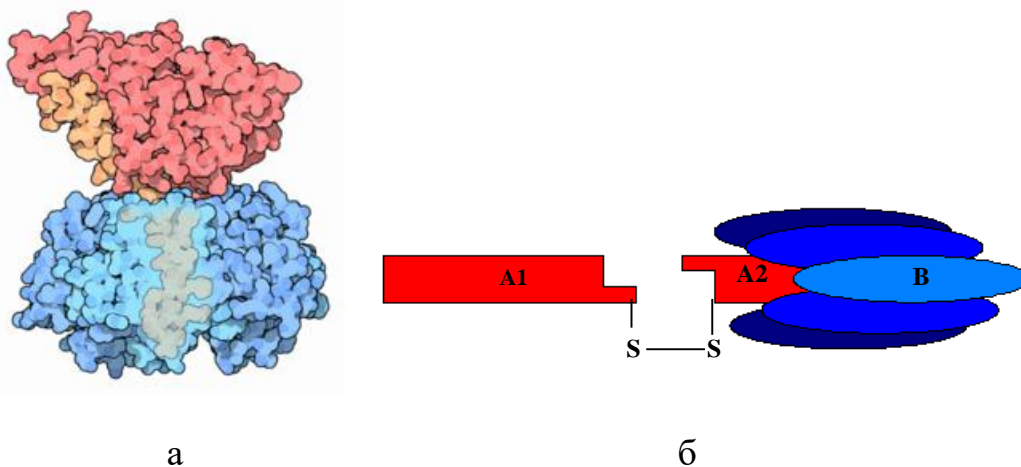


Рисунок 3.176- Кристаллическая структура (а) и схематическое строение (б) двухкомпонентного токсина *V. cholerae*. Компонент А обозначен красным цветом, компонент В – синим. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Компонент В через 1-3 минуты после выделения токсина из микробной клетки распознает на поверхности энтероцита специфический рецептор (ганглиозид Gm1), связывается с ним и формирует внутримембранный канал для прохождения компонента А внутрь клетки. Внутри клетки белок А1 взаимодействует с протеином G, располагающимся на внутренней стороне мембраны энтероцита. Образующаяся АДФ-рибоза связывается с регуляторной субъединицей аденилатциклазы, в результате чего внутри клетки происходит повышение концентрации циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Эти изменения происходят в течение 30 минут после контакта токсина с клеточным рецептором. Механизм действия холерного экзотоксина на эпителиальные клетки представлен на рисунке 3.177.

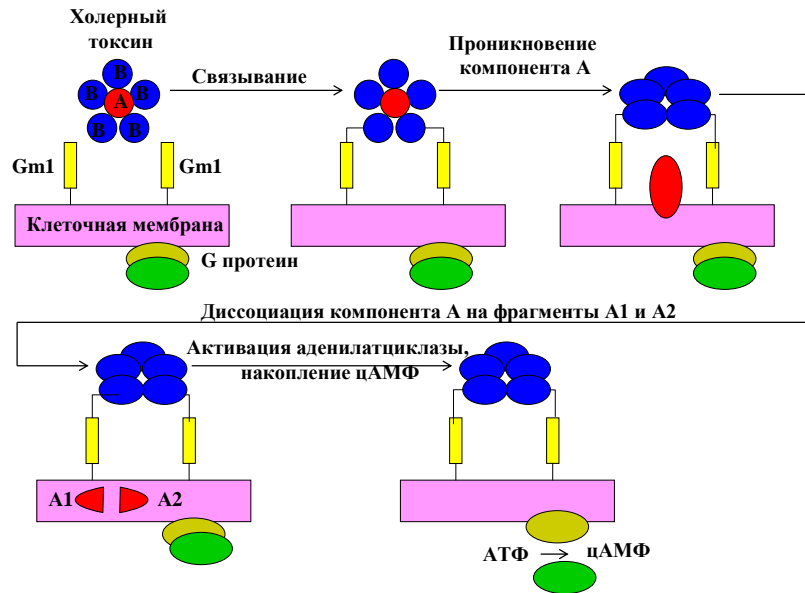


Рисунок 3.177 – Механизм действия холерного токсина на энтероциты.

Гиперпродукция цАМФ приводит к выходу из энтероцитов в просвет кишечника жидкости с низким содержанием белка и высокой концентрацией катионов и анионов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ). Все это приводит к развитию диареи, обезвоживанию и обессоливанию организма. Кроме того, в результате нарушения водно-солевого баланса в просвете кишечника создается идеальная щелочная среда для размножения возбудителя.

**Эндотоксин** *V. cholerae* представляет собой термостабильный липополисахарид (ЛПС). Он отвечает за общую интоксикацию организма и рвоту. Антитела, образующиеся против эндотоксина, обладают выраженным вибриоцидным действием (растворяют вибрионы в присутствии комплемента) и являются важным компонентом постинфекционного и поствакцинального иммунитета.

**Ферменты агрессии** разрушают вещества, содержащиеся в слизи, и облегчают продвижение вибрионов к эпителиальным клеткам. В частности, муциназа разрушает муцин, облегчает проникновение вибрионов к поверхности эпителия и открывает доступ к рецептору – ганглиозиду Gm1. Нейраминидаза (сиалидаза), отщепляя от гликопротеинов эпителия сиаловую кислоту, способствует адгезии вибрионов на поверхности энтероцитов. Кроме того, она увеличивает количество рецепторов для холерогена путем модификации три- и дисиалоганглиозидов в моносиалоганглиозид Gm1, который служит рецептором для экзотоксина-холерогена. Ген *nan*, определяющий синтез нейраминидазы (NanH), входит в состав островка патогенности VP1-2.

Основные факторы патогенности холерного вибриона детерминируются генами, расположенными на **мобильных генетических элементах** (МГЭ). К числу МГЭ относятся умеренный профаг СТХф, два острова патогенности (VP1-1 и VP1-2), два острова пандемичности (VSP-1 и VSP-2), интегронный остров. Биосинтез холерного токсина определяется генами *ctxAB*, входящими в состав профага СТХф. Бактериофаг *phi* вызывает лизогенную конверсию холерного вибриона. При этом холерные вибрионы классического биовара продуцируют холерный токсин 1-го

типа, а вибрионы биовара *eltor* – холерный токсин 2-го типа. У нетоксигенных штаммов элемент СТХ отсутствует. МГЭ присутствуют на двух хромосомах *V. cholerae*: большой и малой (рисунок 3.178).

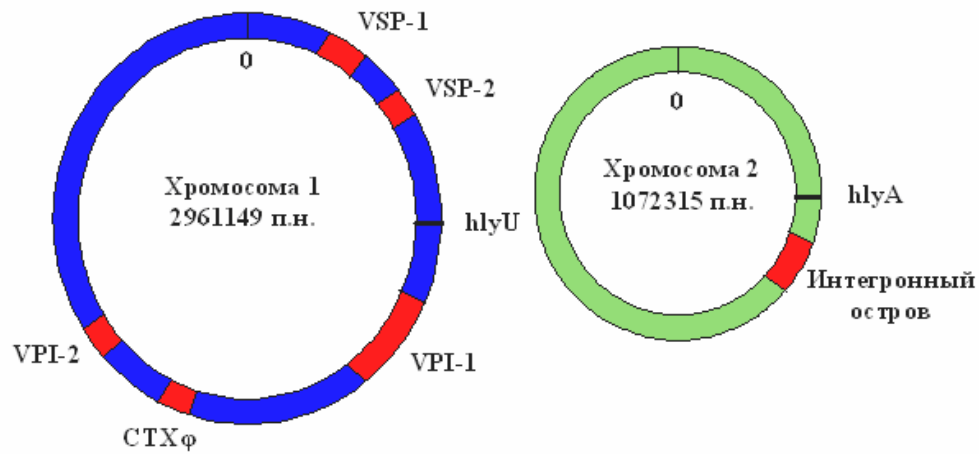


Рисунок 3.178 – Локализация на хромосомах *V. cholerae* генов, связанных с патогенностью возбудителя.

Основные гены патогенности холерного вибриона располагаются в составе МГЭ на большой хромосоме: два острова патогенности (VPI-1 и VPI-2), два острова пандемичности (VSP-1 и VSP-2), элемент СТХφ. В состав этих МГЭ входят гены *ctxAB*, кодирующие синтез холерного токсина (СТ); гены *tcpA-F*, кодирующие продукцию токсин-корегулируемых пилей (TCP); ген *zot*, кодирующий токсин Zot (zonula occludens toxin), который действует на плотные межклеточные контакты (zonula occludens); ген *ace*, кодирующий добавочный холерный энтеротоксин Ace (accessory cholera enterotoxin); гены, необходимые для биосинтеза клеточной стенки и О-антигена. В частности, гены *ctxA*, *ctxB*, *zot* и *ace* входят в состав элемента СТХφ, представляющего собой геном умеренного бактериофага СТХφ (бактериофага *φu*). В составе генома фага находится также последовательность RS2, кодирующая репликацию фага и его интеграцию в хромосому.

Биосинтез O1-антигена определяется кластером генов *wbe*, а биосинтез O139-антигена – кластером генов, обозначаемых *wbf*.

Образование холерного экзотоксина, токсин-корегулируемых пилей, гемагглютининов и других факторов патогенности регулируют белки, кодируемые генами *toxS*, *toxT* и *toxR*. В зависимости от внешних условий эти белки изменяют экспрессию генов, кодирующих факторы патогенности.

На малой хромосоме локализуются структурные гены *hlyA*, отвечающие за синтез термолабильного гемолизина, а также интегронный остров, содержащий гены антибиотикоустойчивости и участвующий в приобретении новых генов. Ген *hlyA* присутствует в хромосоме всех штаммов холерного вибриона, но в гене *hlyA* холерного вибриона классического биовара имеется делеция, в результате которой гемолитическая активность у этого биовара отсутствует.

Потеря или приобретение новых МГЭ приводит к формированию новых патогенных клонов холерного вибриона. В последнее время выделяются штаммы *V. cholerae eltor*, содержащие классический профаг СТХφ и продуцирующие холерный токсин 1-го типа. Такие штаммы отличаются повышенной вирулентностью. В то же

время, утрата профага СТХф приводит к снижению вирулентности, но повышает выживаемость вибрионов во внешней среде.

**Патогенез холеры.** Входными воротами инфекции при холере является пищеварительный тракт. Попав в организм человека, значительная часть вибрионов погибает в желудке под действием соляной кислоты. Оставшаяся часть возбудителя достигает тонкой кишки, щелочная среда которой является благоприятной для размножения холерного вибриона.

Холера является неинвазивной инфекцией, так как вибрионы локализуются на поверхности слизистой оболочки и в просвете тонкого кишечника, не проникая внутрь энтероцитов. Но энтероциты тонкой кишки являются мишенью для холерного экзотоксина. Для достижения клеток-мишеней холерному вибриону необходимо преодолеть слой слизи на поверхности энтероцитов. Преодолению этого барьера способствует подвижность возбудителя, его способность к хемотаксису, образование гемагглютинаина-протеазы и муциназы. Гемагглютинин-протеаза вызывает агглютинацию эритроцитов, расщепляет фибронектин и субъединицу А холерного токсина, отщепляет вибрионы от поверхности энтероцитов, способствуя распространению бактерий по кишечнику и выделению с калом.

Преодолев слой слизи на поверхности тонкой кишки, холерные вибрионы прикрепляются к слизистой оболочке посредством токсин-корегулируемых пилей. После адгезии возбудитель утрачивает подвижность и усиленно размножается, образуя своеобразные колонии в виде бляшек на поверхности энтероцитов и обуславливая колонизацию кишечного эпителия (рисунок 3.179).

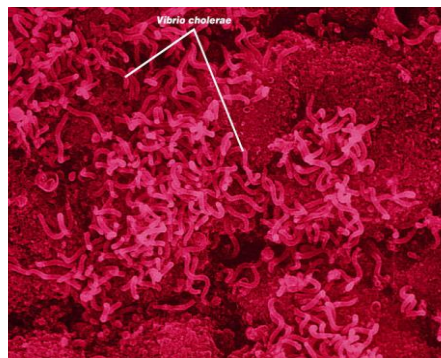


Рисунок 3.179 – Колонизация холерным вибрионом слизистой тонкого кишечника. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Размножаясь на слизистой оболочке тонкого кишечника, холерный вибрион продуцирует экзотоксин, который с помощью компонента В связывается с рецепторами Gm1, расположенными на наружной мембране энтероцитов. Нейраминидаза, отщепляя от рецептора Gm1 сиаловую кислоту, способствует прочному связыванию компонента В экзотоксина с поверхностью энтероцита. Затем компонент А путем эндоцитоза проникает в цитоплазму клетки и под действием внутриклеточных ферментов высвобождает активный фрагмент А1. Этот фрагмент взаимодействует с белком G, локализованным на внутренней поверхности клеточной мембраны, и устраняет его тормозящее влияние на аденилатциклазу. В результате последовательных реакций в клетке образуется цАМФ. Накопление большого

количества цАМФ нарушает в энтероцитах функцию трансмембранного электролитного насоса: открываются каналы для выхода в просвет кишки ионов хлора, натрия, калия, гидрокарбонат-ионов и воды (рисунок 3.180).

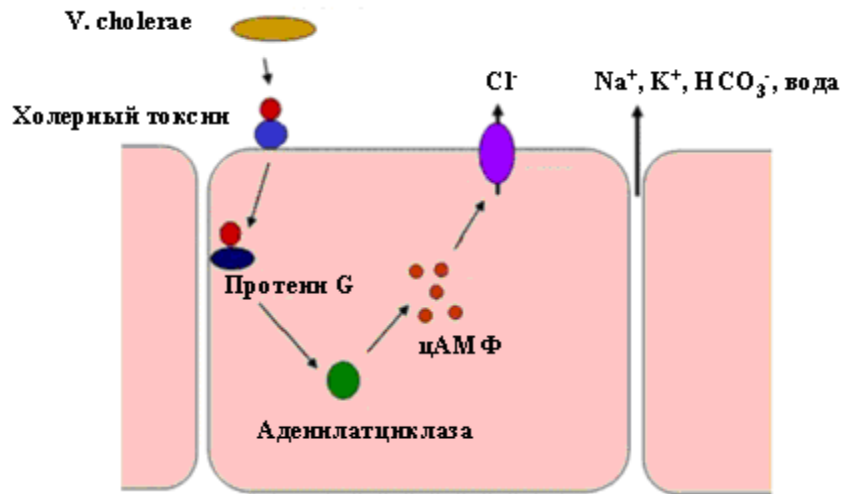


Рисунок 3.180 – Патогенез холеры.

Нарушение водно-солевого баланса приводит к рвоте и диарее, при которой организм теряет до 2 л воды в час. С 1 л испражнений организм теряет 5 г хлорида натрия, 4 г гидрокарбоната натрия, 1 г хлорида калия. Объем испражнений может достигать 20-30 л в сутки. В результате этого происходит обезвоживание организма. Стул приобретает характерную консистенцию “рисового отвара” из-за присутствия в солевом растворе эпителиальных клеток кишечника. Потеря воды и электролитов приводит к развитию тяжелого обезвоживания, шока в результате гиповолемии, гипокалиемии и метаболического ацидоза, судорог, холерного алгида, пареза кишечника.

Эндотоксин холерного вибриона воздействует на арахидоновую кислоту, входящую в состав фосфолипидов клеточных мембран. В результате этого происходит синтез простагландинов, которые вызывают сокращение гладкой мускулатуры тонкого кишечника и обуславливают тенезмы.

**Клиническая картина холеры.** Течение холеры может быть типичным или атипичным. Типичное течение заболевания в зависимости от степени обезвоживания организма может протекать в легкой форме (дегидратация составляет до 3% от массы тела), среднетяжелой форме (дегидратация составляет 4-6% от массы тела), тяжелой форме (дегидратация составляет 7-9% от массы тела) и крайне тяжелой форме (дегидратация составляет свыше 9% от массы тела). В 80-90% случаев холера протекает в легкой или среднетяжелой форме. Атипичное течение холеры может протекать в стертой форме, в форме геморрагической или сухой (без диареи) холеры. Менее чем в 20% случаев развивается типичная холера с признаками умеренного или тяжелого обезвоживания.

**Инкубационный период** при холере варьирует от нескольких часов до 6 суток, чаще всего - 1-2 дня.

**В первый период заболевания (легкая степень, холерный энтерит)** на фоне нормальной температуры отмечается редкий жидкий стул и рвота.



Самочувствие больного удовлетворительное. Больные жалуются на сухость во рту, жажду, мышечную слабость. Заболевание продолжается 1-2 дня.

**Во второй период заболевания (среднетяжелая степень, острый гастроэнтерит)** наблюдается частая рвота, урчание в животе, частый стул (15-20 раз в сутки), который постепенно теряет каловый характер и принимает вид “рисового отвара” - мутная жидкость с плавающими в ней клетками эпителия и слизью (рисунок 3.181).

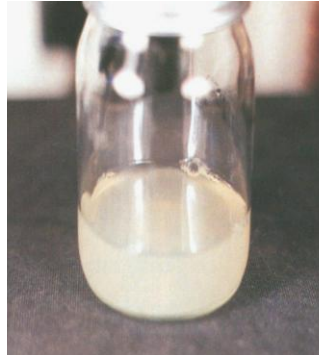


Рисунок 3.181 – Внешний вид испражнений при холере. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Характерной чертой является сладковатый “рыбный” (не фекальный) запах испражнений (запах сырого тертого картофеля). Появляются судороги отдельных групп мышц. Голос становится сиплым. Тургор кожи уменьшается. Больные жалуются на сухость во рту, жажду, слабость.

**В третий период заболевания (тяжелая степень, холерный алгид)** у больных отмечается частый обильный водянистый стул, рвота, судороги мышц, падение артериального давления, одышка, цианоз кожных покровов. В результате обезвоживания черты лица заостряются, глаза западают, голос становится сиплым, иногда наблюдается афония. Характерный признак обезвоживания – “типпократово лицо” (*facies hippocratica*): запавшие глаза, заострённые черты лица с резко выступающими скулами (рисунки 3.182 и 3.183).



Рисунок 3.182 – Внешний вид больного холерой. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

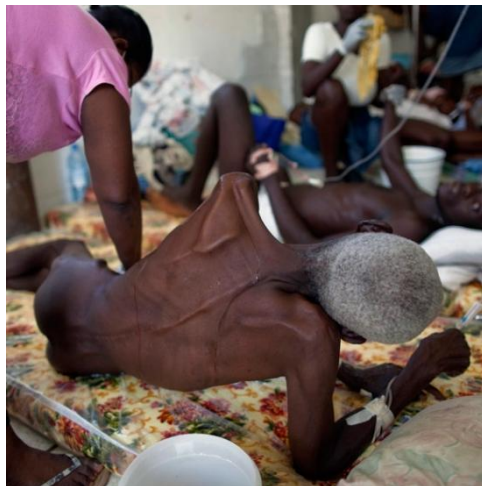


Рисунок 3.183 – Обезвоживание организма при холере. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Тургор кожи сильно снижен, в результате чего кожная складка не расправляется – симптом “руки прачки” (рисунок 3.184).



Рисунок 3.184 – Симптом “руки прачки” при холере. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Температура тела падает ниже нормы. У больных резко снижается объём мочи с развитием острой почечной недостаточности. В результате обезвоживания происходит сгущение крови, развивается цианоз, кислородное голодание, артериальная гипотензия, гипотермия, сердечная недостаточность, анурия, судороги мышц конечностей, живота, лица, нарушение сознания. Это состояние называется **холерным алгидом** (лат. *algidus* – холодный).

Летальность от холеры во время седьмой пандемии варьировала от 1,5% в развитых странах до 50% в развивающихся странах. Выздоровление сопровождается развитием непродолжительного иммунитета.

**Микробиологическая диагностика.** Диагностические исследования при холере проводятся в специализированных лабораториях, имеющих разрешение на проведение работ с возбудителем холеры. Основным методом диагностики холеры является бактериологический (культуральный).

**Материалом для исследований** служат испражнения, рвотные массы, жёлчь, секционный материал (фрагменты тонкой кишки и жёлчного пузыря), загрязненное испражнениями постельное и нательное бельё, вода, ил, сточные воды, гидробионты, смывы с объектов окружающей среды, пищевые продукты. Для выявления бактерионосительства исследуют испражнения. Испражнения отбирают резиновыми катетерами, стеклянными трубочками с оплавленными краями или ректальными тампонами. Из объектов внешней среды чаще всего исследуют воду открытых водоемов и сточные воды.

При отборе и транспортировке материала необходимо соблюдать следующие правила:

- материал следует доставлять в лабораторию не позднее 2 часов после забора, так как возбудитель быстро погибает, особенно в испражнениях. При невозможности быстрой доставки материала в лабораторию пробы помещают в транспортные среды (1% пептонная вода с рН 8,2-8,6);

- ёмкости для материала нельзя обеззараживать химическими веществами, так как возбудитель чувствителен даже к следовым количествам дезинфектантов;

- после доставки в лабораторию исследуемый материал в возможно короткие сроки высевает на питательные среды.

Основными критериями лабораторной диагностики холеры являются:

- обнаружение в мазках из испражнений тонких изогнутых грамтрицательных палочек, располагающихся в виде “стайки рыб”;

- активная подвижность вибрионов при исследовании раздавленной капли;

- мгновенная иммобилизация (обездвиживание) вибрионов при добавлении О-холерной сыворотки;

- образование голубоватой нежной пленки на пептонной воде через 5-6 часов и характерных колоний на щелочном МПА через 12 часов после посева исследуемого материала;

- агглютинация вибрионов при использовании противохолерных сывороток;

- лизис вибрионов типовыми холерными бактериофагами.

Исследования материала проводят по схеме:

**I этап.** Из испражнений и рвотных масс готовят мазки, высушивают на воздухе, фиксируют в смеси Никифорова и окрашивают водным раствором фуксина или по Граму. Подвижность бактерий определяют методом раздавленной капли. Исследуемый материал высевает в первую среду накопления - пептонную воду (ПВ), на щелочной МПА и на элективную среду (СЭДХ или ТСBS). Посевы инкубируют при температуре 37<sup>0</sup>С. По результатам проведенных исследований выдают первое заключение о наличии в исследуемом материале вибрионов.

**II этап.** Через 6-8 часов инкубирования посевов в термостате производят пересев с первой среды накопления во вторую среду накопления (пептонную воду). Высеваемость холерного вибриона в этом случае повышается на 10%. С первой среды накопления производят также пересев на плотные питательные среды (щелочной МПА, среду ТСBS). Из пленки на поверхности ПВ готовят мазки и препараты раздавленной капли. Пленку на ПВ исследуют в реакции агглютинации с О-холерной сывороткой. Выдают второе заключение о природе выделенного вибриона. Подозрительные колонии с плотных питательных сред пересевают на среды Ресселя или Клиггера для выделения чистых культур.

**III этап.** Через 12-16 часов от начала исследования производят пересев со второй среды накопления на щелочной МПА, повторно изучают морфологию, подвижность и агглютинабельность культуры, выросшей на второй среде накопления и на плотных питательных средах. При положительных результатах исследования агглютинабельности колоний выдают третье заключение о результатах исследования.

**IV этап.** Через 18-24 часа с начала проведения работ подозрительные колонии с плотных питательных сред исследуют в реакции агглютинации с холерными сыворотками (О1, О139, Инаба, Огава) и пересевают на среды с двумя углеводами (лактозо-сахарозная, глюкозо-лактозная и др.) и щелочной агар для выделения чистой культуры и ее идентификации.

**V этап.** Через 24-36 часов от начала исследования отбирают подозрительные колонии и проводят идентификацию культур по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам, подвижности, агглютинации с помощью диагностических агглютинирующих сывороток О, ОР, Инаба и Огава, фаголизабельности с холерными диагностическими фагами.

**VI этап.** Через 36-48 часов от начала исследования учитывают результаты идентификации выделенных культур и выдают окончательный ответ о возбудителе.

При подозрении на холеру часто проводят ускоренную диагностику по З.В. Ермольевой. Для этого исследуемый материал (испражнения) высевает в пептонную воду, пептонную воду с О-сывороткой и пептонную воду с крахмалом. При положительном результате в пептонной воде наблюдается характерный рост культуры в виде нежной голубоватой пленки на поверхности среды, в среде с О-сывороткой отмечается агглютинация вибрионов, а среда с крахмалом не изменяет своего цвета при добавления йода в результате разложения крахмала.

В настоящее время для экспрессной диагностики применяют метод флюоресцирующих антител (МФА), полимеразную цепную реакцию (ПЦР), реакцию иммобилизации вибрионов (РИВ), реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА).

**МФА** позволяет идентифицировать выделенную культуру, а также выявить возбудителя холеры серогруппы О1 при его содержании в исследуемом материале не менее чем  $10^5$  микробных клеток в 1 мл. МФА используют для исследования нативного материала от больных (испражнения и рвотные массы), материала после подращивания на питательной среде, для выявления холерных вибрионов в воде и смывах.

**ПЦР** основана на определении генов холерного токсина (*ctxAB*) и токсин-корегулируемых пилей (*tcpA*). Этот метод используют для исследования испражнений, рвотных масс, воды, смывов, стоков, чистых культур вибрионов.

**РИВ** основана на утрате подвижности холерных вибрионов под влиянием специфических сывороток. Эта реакция позволяет обнаружить возбудителя в течение нескольких минут при концентрации в исследуемом материале не менее  $10^5$  микробных клеток в 1 мл. Для постановки РИВ на предметное стекло наносят 2 капли исследуемого материала. Первая капля служит контролем, ее накрывают покровным стеклом. Вторая капля является опытной. К ней добавляют каплю холерной О1 или О139 сыворотки, перемешивают и также накрывают покровным стеклом. Раздавленные капли просматривают под микроскопом. При наличии в

исследуемом материале холерных вибрионов в первой капле наблюдается характерная подвижность, а во второй капле отмечается иммобилизация микробных клеток. РИВ позволяет дать ответ через 15-20 минут.

**Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)** проводится с использованием антительного эритроцитарного холерного диагностикума. РНГА позволяет дать ответ о наличии специфического антигена уже через 2-3 часа.

Принадлежность холерных вибрионов к O1 или O139 серогруппе определяют в реакции слайд-агглютинации (реакции агглютинации на стекле) или в развернутой реакции агглютинации с холерными агглютинирующими сыворотками O1, Инаба, Огава, и O139. В последние годы в идентификации холерных вибрионов используют новые серологические методы: реакцию коаггутинации (РКОА) и реакцию агглютинации объемную (РАО).

**Реакция коаггутинации (РКОА)** проводится на стекле с помощью диагностикумов, коаггутинирующих O1 и O139 холерные вибрионы. Эти диагностикумы представляют собой препараты, содержащие белок А стафилококков, сенсibilизированный кроличьими O1 и O139 холерными сыворотками. Холерные антитела, сорбированные на стафилококковом белке, при соединении с холерными антигенами вызывают реакцию коаггутинации.

**Реакция агглютинации объемная (РАО)** используется для выявления липазной активности холерных вибрионов с целью дифференциации гемолитических (атоксигенных) и негемолитических (токсигенных) штаммов *V. cholerae eltor*, выделенных из окружающей среды. РАО проводится в планшетах с использованием антилипазного иммуноглобулинового диагностикума. Диагностикум выпускается в комплекте с нормальной кроличьей сывороткой.

**Определение антител в крови больных** (серологическая диагностика холеры) носит вспомогательный характер. Серологическое обследование позволяет подтвердить диагноз в случае атипичного течения заболевания, а также является важным методом ретроспективной диагностики холеры. Для серологической диагностики используют методы, позволяющие выявлять в сыворотке крови больных, вибрионосителей, реконвалесцентов, вакцинированных лиц специфические антитела (агглютинины, антитоксины и вибриоцидные антитела). Специфические агглютинины к холерным вибрионам серогруппы O1 выявляют путем постановки объемной реакции агглютинации (РА), реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) с антигенным поливалентным O1 холерным диагностикумом, реакции нейтрализации антигена (РНАг) с иммуноглобулиновым холерным диагностикумом. Антитоксины к холерным вибрионам серогрупп O1 и O139 выявляют в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) с использованием энтеротоксического холерного диагностикума. Вибриоцидные антитела обнаруживают с помощью реакции вибриоцидных антител (РВА).

**Иммунитет.** Постинфекционный иммунитет при холере непродолжительный. Иммунитет носит антитоксический и антимикробный характер, обусловлен антителами, клетками иммунной памяти и фагоцитами. При этом антитоксические антитела сохраняются в организме дольше, чем антимикробные антитела.

У больных холерой специфические антитела выявляются на 5-7 день от начала заболевания. Основная роль в иммунитете против холеры принадлежит

антителам, продуцируемым местно (на слизистой оболочке кишечника). Антимикробные иммуноглобулины А слизистых оболочек блокируют лиганды на поверхности микробных клеток и препятствуют прилипанию вибрионов к энтероцитам. В результате этого снижается способность холерных вибрионов к адгезии и колонизации, что приводит к быстрому выведению возбудителя из организма при перистальтике кишечника.

Антитоксические антитела взаимодействуют с В-субъединицей экзотоксина, в результате чего блокируют связывание холерогена с рецептором Gm1 на поверхности энтероцитов.

**Лечение холеры.** При подозрении на холеру больных госпитализируют в специализированное отделение. Лечение больных холерой должно начинаться с восстановления нормального водно-солевого обмена (симптоматическое лечение). С этой целью рекомендуется использовать солевые растворы, содержащие хлорид натрия, бикарбонат натрия, глюкозу. Жидкости вводят как перорально, так и парентерально, внутривенно. Количество вводимого солевого раствора определяют с помощью специальных формул с учетом относительной плотности плазмы и концентрации калия в ней. Потери жидкости определяют, собирая рвотные массы и испражнения в специальную мерную посуду. Для этого больного помещают на так называемую “холерную” кровать Филиппса, имеющую отверстие на уровне ягодиц больного, а транспортировку больного осуществляют на специальных носилках (рисунок 3.185).

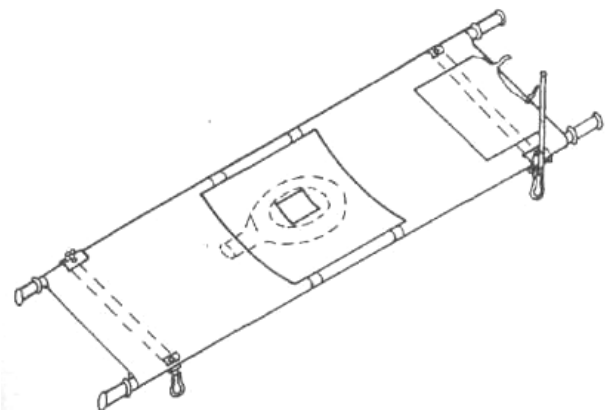


Рисунок 3.185 – “Холерная” кровать и носилки для транспортировки больного холерой. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Наряду с симптоматическими средствами используют антибиотики, что позволяет снизить летальность при холере до 1% и менее. Из числа антибиотиков применяют препараты тетрациклинового ряда (тетрацилин, доксицилин), фторхинолоны (ципрофлоксацин, ломефлоксацин, офлоксацин), эритромицин, левомицетин (хлорамфеникол).

**Профилактика холеры.** Профилактика холеры складывается из неспецифических и специфических мероприятий. К мерам **неспецифической профилактики** холеры относятся санитарно-гигиенические мероприятия, предупреждающие занос заболевания; санитарно-просветительная работа среди населения; раннее выявление больных и бактерионосителей; карантинные

мероприятия. Особое внимание уделяется снабжению населения качественной питьевой водой, хлорированию воды, соблюдению санитарно-гигиенического режима на пищевых предприятиях, в детских учреждениях, общественных местах. Осуществляется строгий бактериологический контроль воды в открытых водоемах.

**Экстренная профилактика** холеры проводится путем массового профилактического назначения тетрациклина в районах эпидемической опасности. С этой же целью используют и другие антибиотики, эффективные против *V. cholerae*.

**Специфическая профилактика** холеры включает вакцинацию населения по эпидемическим показаниям (вакцинация населения в эпидемических районах или вакцинация людей, выезжающих в неблагополучные по холере регионы). Эффективность применения вакцин не превышает 60-70%, невосприимчивость после вакцинации сохраняется в течение 3-8 месяцев.

В настоящее время имеются следующие противохолерные вакцины:

- **вакцина WC/BS** состоит из инактивированных клеток *V. cholerae* серогруппы O1 с добавлением очищенной В-субъединицы холерного анатоксина. Вакцина обеспечивает защиту в течение шести месяцев после подкожного введения двух доз с недельным интервалом;

- **модифицированная вакцина WC** (убитая корпускулярная холерная вакцина) состоит только из инактивированных холерных вибрионов и не содержит В-субъединицы холерного анатоксина. Применяется две дозы с недельным интервалом. Убитые корпускулярные вакцины готовятся на основе вирулентных штаммов холерного вибриона классического биотипа или биотипа Эль-Тор сероваров Инаба и Огава, выращенных при температуре 37<sup>0</sup>С в течение 18-20 часов и инактивированных нагреванием (54<sup>0</sup>С в течение 1 часа) или формалином. Препараты выпускают в жидком или лиофилизированном виде;

- **вакцина CVD 103-HgR** состоит из ослабленных живых генетически модифицированных штаммов *V. cholerae* серогруппы O1. Штамм CVD 103-HgR получен путем делеции гена субъединицы А холерного токсина и включения в ген гемолизина маркера устойчивости к ртути. Однократная вакцинация обеспечивает защиту в течение 3-6 месяцев.

При создании живых противохолерных вакцин особое внимание уделяют не только иммуногенности и ареактогенности, но и безопасности препаратов. Под безопасностью подразумевают невозможность повторного приобретения вакцинными штаммами факторов вирулентности спонтанно или в результате горизонтального переноса генов от диких штаммов с помощью бактериофага СТХφ *in vivo*.

Препараты для перорального использования предпочтительнее, так как обеспечивают развитие местного иммунитета в слизистой оболочке тонкого кишечника.

В нашей стране разработана холерная вакцина на основе **холерогена-анатоксина**. Препарат представляет собой смесь обезвреженных формалином экзотоксина и О-антигена холерного вибриона серовара Инаба. Холероген-анатоксин получают путем культивирования холерных вибрионов в жидкой питательной среде. В последующем экзотоксин отделяют от бактериальных клеток центрифугированием, очищают сульфатом аммония и обезвреживают формалином.

Вакцину выпускают как в жидком, так и в сухом виде. Жидкий препарат анатоксина представляет собой раствор желтовато-коричневого цвета с небольшой опалесценцией. Сухой препарат холерогена-анатоксина представляет собой пористую массу серовато-желтого цвета. Холероген-анатоксин предназначен для создания искусственного активного иммунитета против холеры по эпидемическим показаниям. Применяется однократно.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. История изучения холеры и открытия возбудителя заболевания.
2. Таксономическое положение возбудителя холеры.
3. Морфологические и тинкториальные свойства холерного вибриона.
4. Биохимическая активность возбудителя холеры.
5. Культуральные свойства холерного вибриона.
6. Антигенная структура холерного вибриона.
7. Факторы патогенности возбудителя холеры.
8. Эпидемиология холеры.
9. Патогенез холеры.
10. Клиническая картина холеры.
11. Микробиологическая диагностика холеры.
12. Принципы лечения холеры.
13. Профилактика холеры.

### Тренировочные тесты

1. Впервые возбудителя холеры обнаружил и описал (один правильный ответ):
  - 1.1 И.И. Мечников
  - 1.2 Н.Ф. Гамалея
  - 1.3 Ф. Пачини
  - 1.4 З.В. Ермольева
  - 1.5 Л. Пастер
2. Чистую культуру возбудителя холеры впервые получил (один правильный ответ):
  - 2.1 Л. Пастер
  - 2.2 Р. Кох
  - 2.3 Ф. Пачини
  - 2.4 Д. Сноу
  - 2.5 Д.К. Заболотный
3. Холерный вибрион был выделен в чистой культуре (один правильный ответ):
  - 3.1 Э. Дженнером
  - 3.2 Р. Кохом
  - 3.3 Л. Пастером
  - 3.4 Л.А. Зильбером
  - 3.5 З.В. Ермольевой



4. Для холерного вибриона характерны следующие свойства (несколько правильных ответов):
- 4.1 прямая или изогнутая палочка
  - 4.2 положительная окраска по Граму
  - 4.3 отрицательная окраска по Граму
  - 4.4 способность образовывать споры
  - 4.5 подвижность
5. Холеру способны вызывать следующие бактерии (несколько правильных ответов):
- 5.1 *V. cholerae* биовар *cholerae*
  - 5.2 *E. Coli*
  - 5.3 *V. cholerae* биовар *eltor*
  - 5.4 *V. cholerae* серогруппы O139
  - 5.5 *S. enteritidis*
6. НАГ-вибрионами называют (один правильный ответ):
- 6.1 S-формы колоний вибрионов
  - 6.2 R-формы колоний вибрионов
  - 6.3 холероподобные вибрионы, не агглютинирующиеся O1-сывороткой
  - 6.4 вибрионы, агглютинирующиеся O1-сывороткой
  - 6.5 вибрионы, не агглютинирующиеся сывороткой Огава
7. Для *Vibrio cholerae* характерны признаки (несколько правильных ответов):
- 7.1 овоидная форма
  - 7.2 форма изогнутой палочки
  - 7.3 перитрихальное расположение жгутиков
  - 7.4 монотрих
  - 7.5 образование спор
8. *Vibrio cholerae* имеет следующие антигены (несколько правильных ответов):
- 8.1 Vi-антиген
  - 8.2 соматический O-антиген
  - 8.3 капсульный K-антиген
  - 8.4 жгутиковый H-антиген
  - 8.5 перекрестно-реагирующие антигены
9. Возбудитель холеры относится к (один правильный ответ):
- 9.1 бациллам
  - 9.2 вибрионам
  - 9.3 коккам
  - 9.4 спирохетам
  - 9.5 клостридиям
10. Что обозначает название *Vibrio cholerae eltor* (один правильный ответ)?
- 10.1 название рода

- 10.2 название вида
- 10.3 название серовара
- 10.4 название биовара
- 10.5 название семейства

11. Назовите серовары *V. cholerae* O1 (несколько правильных ответов):

- 11.1 Бенгал
- 11.2 Огава
- 11.3 Инаба
- 11.4 Гикосима
- 11.5 Эльтор

12. Холерный вибрион является (один правильный ответ):

- 12.1 облигатным анаэробом
- 12.2 факультативным анаэробом
- 12.3 облигатным аэробом
- 12.4 микроаэрофилом
- 12.5 капнофилом

13. По разложению каких субстратов вибрионы подразделяются на группы Хейберга (несколько правильных ответов)?

- 13.1 глюкоза
- 13.2 манноза
- 13.3 арабиноза
- 13.4 сахароза
- 13.5 лактоза

14. К какой группе Хейберга относятся холерные вибрионы (один правильный ответ)?

- 14.1 первая
- 14.2 вторая
- 14.3 третья
- 14.4 пятая
- 14.5 шестая

15. Факторами патогенности холерного вибриона являются (несколько правильных ответов):

- 15.1 капсула
- 15.2 экзотоксин
- 15.3 пили адгезии
- 15.4 уреазы
- 15.5 эндотоксин

16. Место локализации возбудителя холеры в организме (один правильный ответ):

- 16.1 желудок
- 16.2 поверхность эпителия тонкого кишечника

- 16.3 пейеровы бляшки
- 16.4 селезенка
- 16.5 поверхность эпителия толстого кишечника

17. Назовите источник инфекции при холере (несколько правильных ответов):

- 17.1 птицы
- 17.2 домашние животные
- 17.3 больные люди
- 17.4 вибрионосители
- 17.5 дикие животные

18. Назовите пути передачи холеры (несколько правильных ответов):

- 18.1 воздушно-капельный
- 18.2 воздушно-пылевой
- 18.3 пищевой
- 18.4 водный
- 18.5 контактно-бытовой

19. Холерой болеют (один правильный ответ):

- 19.1 домашние животные
- 19.2 дикие животные
- 19.3 люди
- 19.4 земноводные
- 19.5 птицы

20. Основной путь передачи холерного вибриона (один правильный ответ):

- 20.1 воздушно-капельный
- 20.2 алиментарный
- 20.3 трансвариальный
- 20.4 трансплацентарный
- 20.5 трансмиссивный

21. Входными воротами при холере является (один правильный ответ):

- 21.1 носоглотка
- 21.2 желудок
- 21.3 тонкий кишечник
- 21.4 толстый кишечник
- 21.5 печень

22. Для бактериологического исследования на холеру от больного забирают (один правильный ответ):

- 22.1 кусочки органов
- 22.2 кровь
- 22.3 испражнения
- 22.4 ликвор
- 22.5 мочу

23. При исследовании на бактерионосительство холерного вибриона материал из прямой кишки забирают (один правильный ответ):
- 23.1 пинцетом
  - 23.2 бактериологической петлей
  - 23.3 ректальной петлей
  - 23.4 пипеткой
  - 23.5 шпателем Дригальского
24. Холерный вибрион длительно сохраняется (один правильный ответ):
- 24.1 в почве
  - 24.2 в водоемах
  - 24.3 в организме грызунов
  - 24.4 в желудке
  - 24.5 в соляной кислоте
25. Основным методом диагностики холеры является (один правильный ответ):
- 25.1 бактериоскопический
  - 25.2 бактериологический
  - 25.3 серологический
  - 25.4 биологический
  - 25.5 молекулярно-биологический
26. Какой материал используется при бактериологической диагностике холеры (несколько правильных ответов)?
- 26.1 испражнения
  - 26.2 рвотные массы
  - 26.3 промывные воды желудка
  - 26.4 мочу
  - 26.5 ликвор
27. Для выращивания холерного вибриона используют (несколько правильных ответов):
- 27.1 среду Эндо
  - 27.2 среду Левина
  - 27.3 щелочной МПА
  - 27.4 среду TCBS
  - 27.5 висмут-сульфитный агар
28. Элективная среда для выделения холерного вибриона (один правильный ответ):
- 28.1 висмут-сульфитный агар
  - 28.2 среда Левина
  - 28.3 кровяной агар
  - 28.4 щелочной агар
  - 28.5 среда Эндо

29. Характер роста холерного вибриона в 1% пептонной воде (один правильный ответ):
- 29.1 диффузное помутнение среды
  - 29.2 помутнение среды и нежная пленка на поверхности
  - 29.3 осадок в виде “комочка ваты”
  - 29.4 грубая пленка на поверхности среды
  - 29.5 крошковатый осадок, среда прозрачная
30. Колонии холерного вибриона на щелочном агаре (один правильный ответ):
- 30.1 имеют вид цветной капусты
  - 30.2 стекловидно-прозрачные с голубоватым оттенком
  - 30.3 окрашены в черный цвет
  - 30.4 окрашены в красный цвет
  - 30.5 R-формы серо-белого цвета
31. Оптимальное значение рН для роста холерного вибриона (один правильный ответ):
- 31.1 6,0-7,0
  - 31.2 7,0-7,2
  - 31.3 8,2-8,6
  - 31.4 9,0-10,0
  - 31.5 10,0-12,0
32. Через какое время обнаруживается рост холерного вибриона в жидкой среде (один правильный ответ)?
- 32.1 30-60 минут
  - 32.2 6-8 часов
  - 32.3 12-16 часов
  - 32.4 18-24 часа
  - 32.5 24-36 часов
33. Для изучения сахаролитической активности холерного вибриона используют среды (несколько правильных ответов):
- 33.1 Олькеницкого
  - 33.2 лактозосахарозная
  - 33.3 глюкозолактозная
  - 33.4 Эндо
  - 33.5 Левина
34. Методом экспресс-диагностики холеры является (один правильный ответ):
- 34.1 посев на щелочной агар
  - 34.2 РИФ с выделенной культурой
  - 34.3 РИФ с испражнениями больного
  - 34.4 биологическая проба
  - 34.5 РА с сывороткой больного

35. Для холеры характерно (несколько правильных ответов):

- 35.1 бактериемия
- 35.2 резкое обезвоживание
- 35.3 геморрагическая сыпь
- 35.4 развитие ацидоза
- 35.5 отеки тканей

36. Испражнения при холере представляют собой (один правильный ответ):

- 36.1 обычный кал
- 36.2 “рисовый” отвар
- 36.3 кал со слизью
- 36.4 кал с кровью
- 36.5 прозрачную жидкость

37. Основой патогенетического лечения холеры является применение (один правильный ответ):

- 37.1 холерного бактериофага
- 37.2 плазмы доноров
- 37.3 солевых растворов
- 37.4 интерферона
- 37.5 пробиотиков

38. Для дезинфекции при холере используют (несколько правильных ответов):

- 38.1 кислоты
- 38.2 щелочи
- 38.3 хлорамин
- 38.4 перекись водорода
- 38.5 фенол

39. Средства специфической профилактики холеры (несколько правильных ответов):

- 39.1 О-холерная сыворотка
- 39.2 инактивированная вакцина
- 39.3 холероген-анатоксин
- 39.4 холерный диагностикум
- 39.5 пробиотики

Правильные ответы: 1.3; 2.2; 3.2; 4.1, 4.3, 4.5; 5.1, 5.3, 5.4; 6.3; 7.2, 7.4; 8.2, 8.4; 9.2; 10.4; 11.2, 11.3, 11.4; 12.2; 13.2, 13.3, 13.4; 14.1; 15.2, 15.3, 15.5; 16.2; 17.3, 17.4; 18.3, 18.4, 18.5; 19.3; 20.2; 21.3; 22.3; 23.3; 24.2; 25.2; 26.1, 26.2; 27.3, 27.4; 28.4; 29.2; 30.2; 31.3; 32.2; 33.2, 33.3; 34.3; 35.2, 35.4; 36.2; 37.3; 38.1, 38.3, 38.4; 39.2, 39.3.

## 4. Грамотрицательные аэробные палочки

### 4.1. Бордетеллы

Бордетеллы представляют собой мелкие грамотрицательные палочки. Они относятся к типу *Proteobacteria*, классу *Betaproteobacteria*, порядку *Burkholderiales*, семейству *Alcaligenaceae*, роду *Bordetella*. Бордетеллы обитают в респираторном тракте человека и некоторых видов животных. Среди бордетелл выделяют виды: *B. ansorpii*, *B. avium*, *B. bronchisertica*, *B. hinzii*, *B. holmesii*, *B. parapertussis*, *B. pertussis*, *B. petrii*, *B. trematum*. Для человека патогенными являются виды *B. pertussis* (палочка Борде-Жангу, возбудитель коклюша) и *B. parapertussis* (возбудитель паракоклюша). Иногда у человека развивается респираторное заболевание по типу ОРВИ, вызванное *B. bronchisertica* – возбудителем коклюшеподобного заболевания у животных (собак, кошек, кроликов). *B. avium* является возбудителем заболевания (ринотрахеита) преимущественно у птиц (особенно у индюшек). В последние годы появляются сообщения об обнаружении у людей (чаще с иммунодефицитами) *B. hinzii*, *B. holmesii*, *B. trematum*. У человека *B. trematum* часто выделяется при раневых инфекциях.

**Коклюш** (лат. *pertussis* – коклюш, конвульсивный кашель, франц. *coqueluche* – петушиный крик) - острое инфекционное заболевание дыхательных путей, сопровождающееся воспалением гортани, трахеи и бронхов и развитием приступов сильного кашля. Коклюш относится к группе антропонозных инфекций (болеет только человек). Китайцы называли это заболевание “стодневным кашлем”, подчеркивая затяжное течение заболевания. Название болезни “коклюш” появилось в 1724 г.

В 1578 г. французский врач Г. де Байю (рисунок 4.1) впервые описал клинические симптомы коклюша во время эпидемии этого заболевания в Париже.



Рисунок 4.1 – Гийом де Байю (Guillaume de Baillou, 1538-1616 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1784-1789 гг. российский врач Н.М. Максимович-Амбодик (рисунок 4.2) опубликовал труд “Искусство повивания”, в котором впервые в отечественной литературе описал коклюш.



Рисунок 4.2 – Нестор Максимович Максимович-Амбодик (1744-1812 гг.).  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Подробное описание клинической картины коклюша представил в своей монографии “Педиятрика” русский врач - основоположник педиатрии в России С.Ф. Хотовицкий (рисунок 4.3).



Рисунок 4.3 – Степан Фомич Хотовицкий (1796-1885 гг.). Заимствовано из  
Интернет-ресурсов.

Возбудитель коклюша был обнаружен в 1900 году в мазках, приготовленных из мокроты больных, а выделен в чистой культуре из мокроты больного ребенка в 1906 году бельгийскими бактериологами Ж. Борде и О. Жангу (рисунок 4.4).



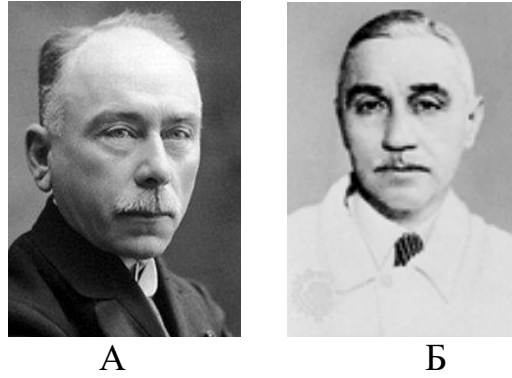


Рисунок 4.4 – А - Жюль Борде (Jules Jean-Baptiste Vincent Bordet, 1870-1961 гг.), Б - Октав Жангу (Octave Gengou, 1875-1957 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В честь первооткрывателей возбудитель коклюша получил название палочка Борде-Жангу.

Возбудитель паракоклюша (*Bordetella parapertussis*) был выделен и изучен в 1937 г. Г. Эльдерингом и П. Кендриком.

**Таксономическое положение.** Возбудители коклюша (*Bordetella pertussis*, палочка Борде-Жангу) и паракоклюша (*Bordetella parapertussis*) относятся к типу *Proteobacteria*, классу *Betaproteobacteria*, порядку *Burkholderiales*, семейству *Alcaligenaceae*, роду *Bordetella*.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Бордетеллы представляют собой короткие грамотрицательные палочки овоидной формы (коккобациллы) размером 0,2-0,5х0,5-2,0 мкм. Клетки располагаются отдельно или группами. При использовании толудинового синего они окрашиваются биполярно за счет имеющихся в клетках зерен волютина. Клетки возбудителей коклюша и паракоклюша неподвижны. Клетки других видов бордетелл (*B. bronchiseptica*, *B. avium*, *B. hinzii*, *B. trematum*) обладают подвижностью. Бордетеллы не образуют спор. У возбудителя коклюша имеются пили (рисунок 4.5).

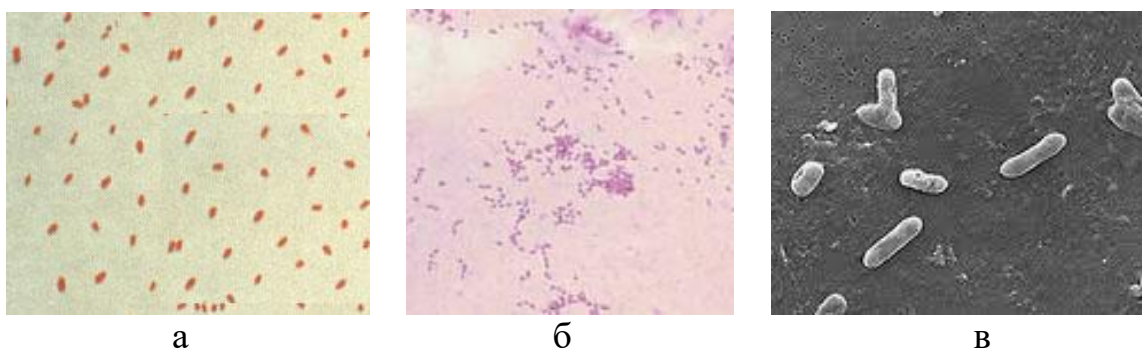


Рисунок 4.5 – Бордетеллы: а – схематическое изображение, б – окраска по Граму, в – сканирующая электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Клетки *B. pertussis*, образующие колонии S-формы, обладают нежной микрокапсулой (рисунок 4.6).



Рисунок 4.6 – Капсула *B. pertussis*, просвечивающая электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** Бордетеллы являются облигатными аэробами. Оптимальная температура для их выращивания 35-36<sup>0</sup>С. Возбудитель коклюша весьма требователен к питательным средам. Классическими средами для культивирования возбудителя коклюша являются казеиново-угольный агар (КУА, бордетеллагар), картофельно-глицериновый кровяной агар с пенициллином или цефалоспорином (среда Борде - Жангу), угольно-кровоной агар (среда Реган-Лоу – Regan-Low), молочно-кровоной агар. Кровь и активированный уголь являются сорбентами метаболитов (ненасыщенных жирных кислот, сульфидов, перекисей), накапливающихся в процессе роста бордетелл. Антибиотики препятствуют размножению посторонней микрофлоры. *B. bronchiseptica* и *B. parapertussis* хорошо растут на простом агаре.

На КУА (среда черного цвета) *B. pertussis* на 3-4 день образует гладкие выпуклые колонии диаметром около 1 мм, блестящие, серовато-кремового цвета и вязкой консистенции, напоминающие капельки ртути или жемчужины (рисунок 4.7).

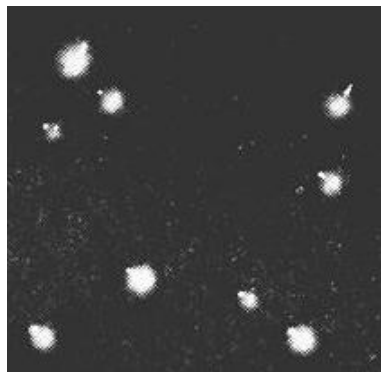


Рисунок 4.7 – Рост *B. pertussis* на казеиново-угольном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В отличие от возбудителя коклюша колонии паракоклюшных бактерий на КУА образуются на 2-3 день, а колонии *B. bronchiseptica* выявляются уже на 1-2 день культивирования.

На среде Борде-Жангу (среда вишнево-красного цвета) и среде Реган-Лоу (среда коричнево-красного цвета) на 3-4 день коклюшные палочки формируют мелкие (диаметром около 1 мм), гладкие, блестящие колонии в виде капелек ртути или жемчужин (рисунок 4.8).

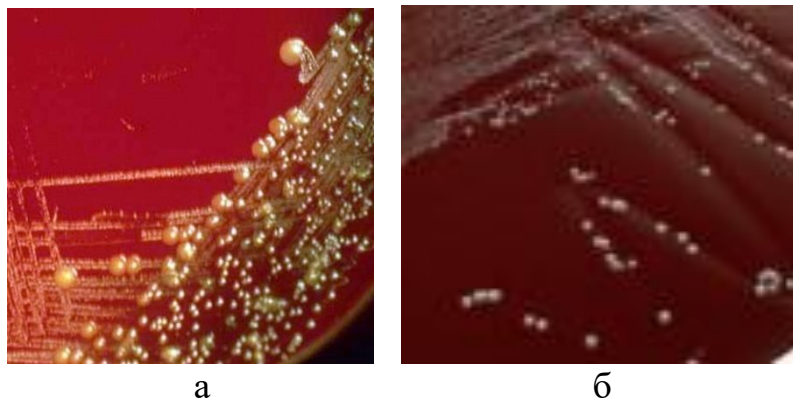


Рисунок 4.8 - Рост *B. pertussis* на среде Борде-Жангу (а) и на среде Реган-Лоу (б).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

На кровяном агаре вокруг колоний возбудителей коклюша и паракоклюша образуется зона полного бета-гемолиза. При этом край колоний выглядит нечетким (рисунок 4.9).



Рисунок 4.9 - Рост *B. pertussis* на кровяном агаре. Займствовано из Интернет-ресурсов.

Возбудитель паракоклюша к питательным средам менее требовательный, чем возбудитель коклюша. Образующиеся колонии имеют серый цвет с приподнятым центром. Колонии паракоклюшных бактерий на КУА образуются на 2-3 день. Таким образом, колонии возбудителя паракоклюша по внешнему виду похожи на коклюшные колонии, но имеют более крупные размеры и появляются раньше. У паракоклюшных бактерий за счет образования пигмента в результате синтеза тирозиназы среда с тирозином окрашивается в коричневый цвет.

При выращивании на плотных питательных средах основной формой колоний возбудителя коклюша является S-форма или так называемая I фаза по Лесли и Гарднеру (вирулентные культуры). Через промежуточные II и III фазы коклюшный микроб при дальнейших пересевах формирует шероховатые колонии R-формы (фаза IV), что сопровождается изменением культуральных, биохимических и антигенных свойств, а также утратой вирулентности. От больных коклюшем в раннем периоде заболевания выделяют возбудитель в фазе I. Такие варианты продуцируют факторы патогенности, необходимые для колонизации респираторного тракта. При температуре 25°C вирулентные штаммы становятся

авирулентными (R-форма колоний). В авирулентном состоянии коклюшная палочка способна персистировать в носовых ходах.

При выращивании бордетелл в жидкой среде вначале образуется пленка на поверхности, а через 10-14 часов – густой слизистый осадок.

**Биохимическая активность *B. pertussis*** выражена слабо. Возбудитель коклюша не ферментирует сахара, не редуцирует нитраты, не обладает протеолитической активностью. Бордетеллы продуцируют каталазу, гиалуронидазу, коагулазу, лецитиназу. Дифференциальные признаки разных видов бордетелл представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Дифференциальные признаки разных видов бордетелл

Тест	Вид микроба		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. bronchiseptica</i>
Время появления колоний, ч	48-72	24-48	18-24
Размер колоний, мм	1-2	2-4	2-4
Подвижность	-	-	+
Образование коричневого пигмента на среде с тирозином	-	+	-
Расщепление мочевины	-	+	±
Утилизация цитратов	-	+	+
Агглютинация видовыми специфическими неадсорбированными коклюшными и паракоклюшными сыворотками	+	+	+
Агглютинация монорецепторными сыворотками к агглютиногенам:			
- фактору 1	+	-	-
- фактору 14	-	+	-
- фактору 12	-	-	+

**Антигенная структура.** У бордетелл выделяют соматический термостабильный О-антиген и поверхностные термолабильные капсульные К-антигены или агглютиногены (так называемые факторы 1-16). Фактор 7 является общим для всех бордетелл (общеродовой агглютиноген), фактор 1 характерен для *B. pertussis*, фактор 14 – для *B. parapertussis*, фактор 12 – для *B. bronchiseptica* (видовые агглютиногены). Видовые агглютиногены используются для получения монорецепторных (факторных) сывороток, позволяющих дифференцировать представителей рода *Bordetella*. Кроме видоспецифических агглютиногенов бордетеллы содержат внутривидовые факторы (таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Агглютиногены бордетелл

Виды бордетелл	Агглютиногены		
	общеродовой	видовые	внутривидовые
<i>B. pertussis</i>	7	1	1, 2, 3, 4, 5, 6, 13, 15, 16
<i>B. parapertussis</i>		14	8, 9, 10
<i>B. bronchiseptica</i>		12	8, 9, 10, 11

По содержанию основных агглютиногенов 1, 2 и 3 выделяют четыре серотипа возбудителя коклюша (1.2.3, 1.0.3, 1.2.0, 1.0.0). Эти серотипы различаются по вирулентности.

Антигенными свойствами обладают также коклюшный токсин, филаментозный гемагглютинин, поверхностный белок пертактин. Коклюшный анатоксин, филаментозный гемагглютинин, пертактин, фимбриальные агглютиногены коклюшного микроба обладают иммуногенными свойствами, поэтому используются при конструировании вакцинных препаратов.

**Изменчивость.** Для возбудителя коклюша характерна фазовая изменчивость свойств, описанная Лесли и Гарднером (P. Leslie, A. Gardner, 1931 г.). Выделяют 4 фазы развития возбудителя. Клетки I фазы выделяются из колоний S-формы. Они обладают высокой вирулентностью. Последующий переход клеток через II и III фазы приводит к значительному снижению вирулентности и формированию IV фазы. Клетки IV фазы являются авирулентными и обнаруживаются в колониях R-формы.

**Резистентность.** Возбудитель коклюша – облигатный паразит, поэтому вне организма он быстро погибает (в течение нескольких часов). В сухой мокроте он сохраняется в течение нескольких часов, в капельках аэрозоля – в течение 20-23 часов. *B. pertussis* обладает высокой чувствительностью к действию ультрафиолетовых лучей, дезинфицирующих веществ и повышенной температуры. Под влиянием прямых солнечных лучей возбудитель погибает в течение 1 часа, при воздействии рассеянного солнечного света – в течение 2 часов. При 50-55<sup>0</sup>С коклюшный микроб погибает через 10-30 минут, при кипячении – мгновенно. Возбудитель коклюша обладает чувствительностью к полимиксину, стрептомицину, тетрациклину, биомицину, но устойчив к пенициллину и сульфаниламидам.

**Факторы патогенности** возбудителя коклюша можно условно разделить на следующие группы:

#### 1. Факторы адгезии:

- фимбриальные агглютиногены (нитевидные выросты на поверхности бактерий, к которым в организме вырабатываются специфические антитела - агглютинины);

- филаментозный гемагглютинин (поверхностный белок палочковидной формы);

- белок наружной мембраны пертактин;

- белок наружной мембраны BrkA (*Bordetella* resistance to killing A);

- белок наружной мембраны BrkB (*Bordetella* resistance to killing B).

#### 2. Токсины бордетелл:

- коклюшный экзотоксин (пертуссис-токсин, лимфоцитоз-стимулирующий фактор, гистамин-сенсibiliзирующий фактор, фактор активации островковой функции поджелудочной железы);

- внеклеточная аденилатциклаза (аденилатциклазный токсин-гемолизин);

- трахеальный цитотоксин (трахеальный колонизирующий фактор);

- термолабильный дермонекротический токсин (дермонекротоксин);

- термостабильный эндотоксин (липополисахарид - ЛПС).

Локализация факторов патогенности в клетке коклюшного микроба представлена на рисунке 4.10.

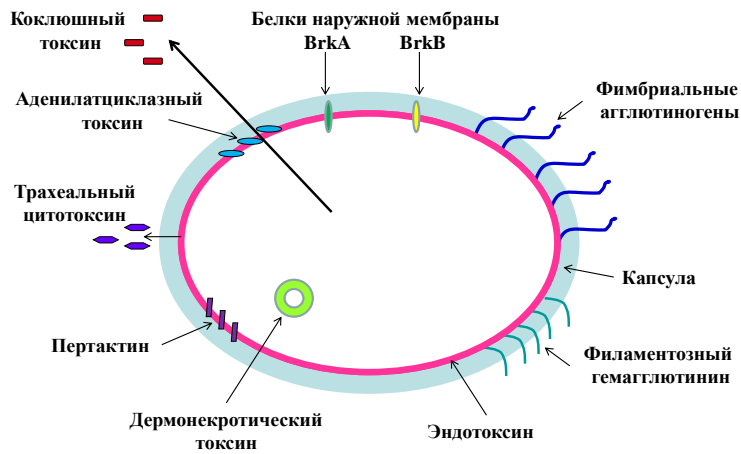


Рисунок 4.10 – Факторы патогенности *B. pertussis*.

**Фимбриальные агглютиногены** являются поверхностными белками. У бордетелл обнаружено 16 агглютиногенов. У *B. pertussis* присутствуют 1-7, 13, 15 и 16 агглютиногены. Агглютиногены связаны с белками фимбрий (Fim2, Fim3 и FimX). С помощью фимбриальных агглютиногенов коклюшные бактерии связываются с рецепторами на поверхности эпителиальных клеток дыхательных путей на начальных этапах развития инфекции.

**Филаментозный гемагглютинин** обеспечивает прикрепление бактерий к клеткам реснитчатого эпителия верхних дыхательных путей. Адгезия возбудителя осуществляется путем взаимодействия трипептида (аргинин – глицин – аспарагиновая кислота) филаментозного гемагглютинина с белками-рецепторами из семейства интегринов, находящимися на поверхности эпителиальной клетки. Филаментозный гемагглютинин является белком молекулярной массы 220 кД и представляет собой нитевидные образования.

**Коклюшный экзотоксин** имеет молекулярную массу 120 кД. Он является типичным А-В-токсином и состоит из двух субъединиц: фрагмента А (активный центр, состоящий из одного пептида S1) и фрагмента В (связывающий центр, состоящий из 4 пептидов: одна молекула пептида S2, одна молекула пептида S3, две молекулы пептида S4 и одна молекула пептида S5). Компоненты токсина транспортируются в периплазматическое пространство и после сборки выделяются из клетки с помощью системы секреции IV типа. Субъединица В связывается с рецепторами на поверхности эпителиальной клетки и обеспечивает доставку субъединицы А в клетку-мишень (рисунок 4.11).

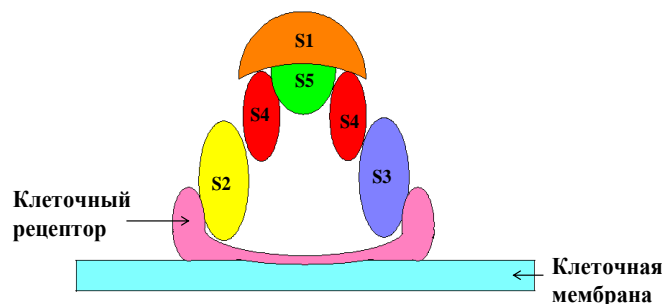


Рисунок 4.11 – Структура коклюшного токсина.

Проникшая в клетку субъединица А вызывает распад АТФ, повышение концентрации цАМФ, нарушение процессов обмена глюкозы и функции кальциевых помп с последующей гибелью клетки. Коклюшный токсин индуцирует лимфоцитоз, повышает чувствительность к гистамину, активирует островковые клетки поджелудочной железы, то есть вызывает системные проявления заболевания. Кроме того, коклюшный токсин обладает высокой иммуногенностью. Коклюшный токсин можно перевести в анатоксин, утративший токсичность, но сохранивший иммуногенность. Обезвреженный токсин (анатоксин) входит в состав бесклеточных (ацеллюлярных) вакцин против коклюша.

**Аденилатциклазный токсин** представляет собой бифункциональный токсин, состоящий из аденилатциклазного участка (N-конца), ответственного за инвазию в клетку, и гемолизина, расположенного на C-конце. Аденилатциклазный гемолизин действует также на начальных этапах развития коклюшной инфекции. Он выделяется из клетки с помощью системы секреции I типа.

**Пертактин** возбудителя коклюша имеет молекулярную массу 69 кД, входит в состав наружной мембраны клеток (поверхностный белок), участвует в прикреплении микробов к клеткам реснитчатого эпителия и альвеолярным макрофагам, обладает иммуногенными свойствами.

**Белок наружной мембраны BrkA** участвует в адгезии возбудителя. Он отвечает за устойчивость коклюшного микроба к элиминации, связанной с активацией комплемента по классическому пути.

**Белок наружной мембраны BrkB** локализуется в цитоплазматической мембране и обеспечивает устойчивость коклюшных бактерий к бактерицидному действию сыворотки крови.

**Липополисахарид бордетелл** в отличие от ЛПС энтеробактерий содержит 2 липида: А и Х. Липид А обладает низкой пирогенностью. Основная биологическая активность обусловлена липидом Х.

**Трахеальный цитотоксин** является дисахаридтетрапептидным фрагментом пептидогликана клеточной стенки. Он поражает эпителиальные клетки трахеи и вызывает цилиостаз (паралич ресничек). При этом нарушается подвижность мукоцилиарного слоя и отток слизи.

**Дермонекротический токсин** представляет собой типичный А-В-токсин, состоящий из связывающего рецептора и энзиматического домена. Дермонекротический токсин обладает сосудосуживающей активностью, поэтому вызывает ишемию и некроз тканей. Этот токсин инициирует развитие воспалительной реакции в катаральной фазе болезни.

Экспрессия факторов патогенности бордетелл регулируется хромосомным *bvg*-локусом.

**Эпидемиология.** Коклюш является высоко контагиозной инфекцией. В естественных условиях к коклюшу восприимчив только человек (антропонозное заболевание). **Источником инфекции** являются люди, больные типичными и стертыми формами инфекции. Наиболее заразителен больной в катаральном периоде, но выделение возбудителя происходит на протяжении всей болезни, включая период угасания заболевания.

**Механизм заражения** – аэрогенный. **Путь передачи** – воздушно-капельный. Радиус распространения возбудителя составляет не более 2 м. Аэрозоль, который

создается большим коклюшем при кашле, является крупнодисперсным и быстро оседает на предметы окружающей среды. **Воротами инфекции** служит слизистая оболочка респираторного тракта. Заражения коклюшем через различные предметы обихода не наблюдается, так как возбудитель нестойк во внешней среде. Большинство заболеваний регистрируется у детей в возрасте до пяти лет. Восприимчивость детей к коклюшу очень высокая: заболевает до 90% контактировавших лиц. В условиях массовой вакцинации коклюш нередко встречается у взрослых, поскольку поствакцинальный иммунитет через 3 года после иммунизации постепенно снижается. Наиболее тяжело коклюш протекает у детей первого года жизни, среди них регистрируется высокая летальность.

Возбудитель коклюша вызывает эпидемии, а возбудитель паракоклюша – спорадические случаи заболевания. При коклюше отмечается осенне-зимняя сезонность: заболевания регистрируются с сентября по апрель, максимальная заболеваемость отмечается в декабре.

**Бактерионосительство** наблюдается у 1-2% детей в возрасте старше 10 лет, привитых против коклюша или переболевших этой инфекцией. У детей младшего возраста случаи бактерионосительства встречаются редко. Длительность носительства не превышает 2 недель.

В допрививочный период (до 1959 г.) заболеваемость коклюшем на территории Российской Федерации регистрировалась на уровне 360-390 случаев на 100 тыс. населения. После начала массовой иммунизации детей в 1959 г. заболеваемость коклюшем резко снизилась. Например, за период с 1969 по 1979 г. заболеваемость коклюшем уже составила 2 случая на 100 тыс. населения. По данным ВОЗ, в мире ежегодно заболевает коклюшем около 50 млн. человек, умирает около 300 тысяч детей, преимущественно в возрасте до 1 года. В 2010 г. в США на территории штата Калифорния была зафиксирована эпидемия коклюша, охватившая более 9000 жителей, из них 9 человек скончалось. В 2012 г. в США зарегистрировано почти 18000 больных коклюшем.

**Патогенез.** Входными воротами для возбудителя коклюша являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей (гортани, трахеи, бронхов). Бордетеллы не проникают внутрь клетки (неинвазивные микробы) и не поступают в кровь (при коклюше отсутствует бактериемия). Они обладают тропизмом к клеткам реснитчатого эпителия. В патогенезе коклюша выделяют следующие стадии.

**Первая стадия** – адгезия возбудителя на клетках реснитчатого эпителия слизистой оболочки верхних дыхательных путей с последующей колонизацией эпителия. Возбудитель, попав в дыхательные пути, с помощью филаментозного гемагглютинина, пертактина, фимбриального агглютиногена прикрепляется к ресничкам мерцательного эпителия. В стабилизации адгезии принимает участие коклюшный экзотоксин (рисунок 4.12).



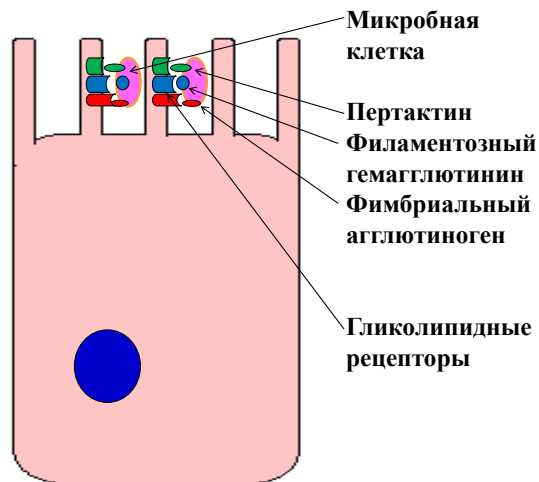


Рисунок 4.12 – Адгезия коклюшного микроба на эпителиальной клетке.

На поверхности ресничек эпителиальных клеток происходит размножение возбудителя (колонизация слизистой), в результате чего нарушаются функции клеток эпителия (рисунок 4.13).



Рисунок 4.13 – Размножение коклюшных палочек на клетках мерцательного эпителия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

*B. pertussis* взаимодействует не только с клетками реснитчатого эпителия, но и с альвеолярными макрофагами путем связывания филаментозного гемагглютинина с рецептором CR3 и галактозосодержащим гликаном. Кроме макрофагов рецептор CR3 (CD18/CD11b) экспрессируется на нейтрофилах, моноцитах, НК-клетках, дендритных клетках. Поэтому контакт филаментозного гемагглютинина с рецептором CR3 защищает микробную клетку от распознавания и фагоцитоза.

**Вторая стадия** – местное повреждение тканей токсинами микроба. После адгезии происходит размножение возбудителя на поверхности клеток эпителия (колонизация слизистой оболочки) и выделение трахеального цитотоксина, коклюшного токсина, аденилатциклического токсина и дермонекротического токсина. Трахеальный цитотоксин вызывает паралич ресничек (цилиостаз) мерцательного эпителия, в результате чего нарушается отток слизи с поверхности мерцательного эпителия (рисунок 4.14).

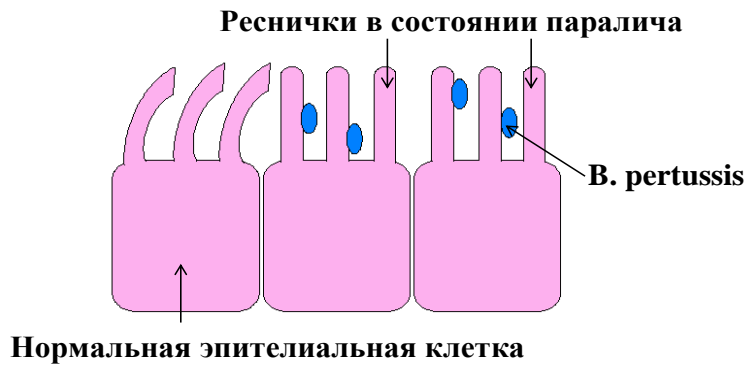


Рисунок 4.14 - Стаз ресничек мерцательного эпителия.

Аденилатциклазный токсин обуславливает развитие воспалительных явлений и возникновение очагов некроза.

**Третья стадия** – стадия системных проявлений инфекции. Некротические поражения эпителия, затрудненный отток слизи и действие коклюшного токсина вызывают постоянное раздражение рецепторов афферентных волокон блуждающего нерва. Возбуждение передается в кашлевой центр продолговатого мозга, в результате этого развивается основной симптомокомплекс коклюша – приступы судорожного кашля. Одновременно под действием токсинов происходит спазм кровеносных сосудов и бронхов, повышение артериального давления, судорожные сокращения мышц лица и туловища. Основная роль в развитии этих нарушений принадлежит коклюшному токсину. Проникновение коклюшного экзотоксина в кровяное русло вызывает также развитие лимфоцитоза и гипогликемии, а поглощение аденилатциклазы лейкоцитами препятствует фагоцитозу. Патологический процесс наиболее выражен в бронхах и бронхиолах, в меньшей степени – в трахее, гортани и носоглотке.

**Клиника.** В развитии коклюша выделяют следующие периоды заболевания:

1. **Инкубационный период** продолжается от 5 до 21 дня (в среднем 7-10 дней).

2. **Продромальный (катаральный, предсудорожный) период** проявляется незначительным кашлем, насморком, слезотечением, недомоганием, субфебрильной температурой. Кашель не поддается медикаментозному лечению, постепенно усиливается и к концу второй недели приобретает приступообразный характер. В катаральный период возбудитель обильно выделяется из организма, поэтому больной в продромальном периоде отличается высокой контагиозностью. При подозрении на коклюшную этиологию кашля такого больного необходимо направлять на бактериологическое обследование. Продолжительность катарального периода составляет 10-13 дней.

3. **Период спазматического кашля (конвульсивный, судорожный, пароксизмальный период)** характеризуется развитием приступов (пароксизмов) кашля. Кашлевые толчки происходят на протяжении одного выдоха и между кашлевыми толчками отсутствуют вдохи. После серии кашлевых толчков возникает свистящий звук при вдохе - **реприз** (фр. *reprise* – возобновление, повторение) или глубокий вскрикивающий вдох в результате преодоления воздухом спазмированных бронхов и голосовой щели. В течение одного приступа кашлевые толчки и репризы

чередуются. Приступы кашля могут развиваться под влиянием физической нагрузки, эмоционального напряжения, неспецифических раздражителей (звук, свет, инъекции и т.д.). При приступах кашля характерна поза больного – согнутая спина, высунутый язык, отмечаются втянутые межреберные мышцы (рисунок 4.15).



Рисунок 4.15 – Поза и внешний вид больного коклюшем. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Приступы кашля сопровождаются набуханием шейных вен, цианозом лица. Число приступов может достигать 20-50 в сутки. Приступы заканчиваются отделением вязкой мокроты (рисунок 4.16). После приступа кашля нередко возникает рвота.



Рисунок 4.16 – Приступ кашля у больного коклюшем и отделение мокроты. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В результате повышения внутригрудного давления отмечаются петехии в верхней части туловища и субконъюнктивальные кровоизлияния (рисунок 4.17).



Рисунок 4.17 – Субконъюнктивальные кровоизлияния при коклюше. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Температура тела в течение всего конвульсивного периода обычно остается нормальной в связи с тем, что коклюшный микроб размножается на мерцательном эпителии респираторного тракта и в кровеносную систему ограничено поступление пирогенного эндотоксина (ЛПС). Продолжительность судорожного периода составляет 2-4 недели.

**4. Период угасания (разрешения, обратного развития)** характеризуется постепенным уменьшением числа приступов и их исчезновением. Состояние больного постепенно нормализуется. Продолжительность периода угасания – 2-3 недели.

В среднем коклюш продолжается 6-8 недель. У взрослых преобладают легкие и стертые формы болезни.

**Паракоклюш** чаще возникает у детей 3-6 лет. Инкубационный период при паракоклюше составляет 1-2 недели. Клинически паракоклюш проявляется как легкая форма коклюша. Заболевание сопровождается ринитом, гиперемией зева, субфебрильной температурой, кашлем.

**Иммунитет.** При внутриутробном развитии плод получает от матери антитела класса IgG к некоторым антигенам *B. pertussis*. Однако материнские антитела практически у всех детей исчезают к 6-месячному возрасту.

После перенесенного заболевания формируется напряженный и стойкий длительный иммунитет, обусловленный гуморальными и клеточными механизмами. Ведущая роль в защите от коклюша принадлежит гуморальному антитоксическому иммунитету, обусловленному антителами классов IgM, IgA, IgG. Антитела класса IgM появляются в начале заболевания. Антитела класса IgA свидетельствуют об остром течении заболевания. Антитела класса IgG в основном к коклюшному токсину и филаментозному гемагглютиниру образуются на поздних стадиях заболевания и сохраняются в течение длительного времени. Однако через 20 лет после перенесенного заболевания взрослые вновь становятся восприимчивыми к возбудителю коклюша.

Активный иммунитет, создаваемый вакциной, сохраняется на высоком уровне в течение первых 2 лет. Через 3-5 лет после вакцинации может возникнуть заболевание в виде легкой или стертой формы. Коклюш в этих случаях может быть диагностирован серологическими методами. Через 12 лет после прививки активный иммунитет значительно снижается.

**Диагностика.** При диагностике коклюша используют бактериологический (культуральный) метод, РИФ, ПЦР, серологические реакции.

Основным в диагностике коклюша является **бактериологический метод**. Исследуемым материалом служит слизь из верхних дыхательных путей. Материал для исследования отбирают методом “кашлевых пластинок” или с помощью тампона с задней стенки глотки. Слизь со слизистой оболочки можно также отбирать с помощью шприца и тонкого пластикового катетера. Метод “кашлевых пластинок” заключается в том, что во время кашля ко рту больного на расстоянии не более 10 см подносят открытую чашку Петри с питательной средой (рисунок 4.18). Чашку держат в течение 6-8 кашлевых толчков, затем закрывают крышкой и помещают в термостат.



Рисунок 4.18 – Отбор пробы методом “кашлевых пластинок”.

Взятие материала с задней стенки глотки проводится через нос (с помощью носоглоточного или назофарингеального тампона) или через рот (с помощью клювовидного или заднеглоточного тампона, изогнутого под углом). В последние годы используют тампоны, пропитанные альгинатом кальция, или тампоны, изготовленные из синтетической полимерной ткани дакрон. Такие тампоны инертны по отношению к возбудителю коклюша. Для отбора проб используют стерильные сухие или увлажненные тампоны. Наибольшая результативность достигается при отборе материала через нос.

При взятии материала сухим тампоном посев на свежую питательную среду производится непосредственно у постели больного, а при взятии материала увлажненным тампоном посев производится в лаборатории. Увлажненные тампоны доставляются в лабораторию не позднее 3 часов с момента взятия материала в специальных термоконтейнерах. Для доставки материала в лабораторию используют транспортную среду Эймса (Amies) - модифицированную среду Стюарта (рисунок 4.19).



Рисунок 4.19 - Транспортная среда Эймса. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Диагностика коклюша проводится в соответствии с Методическими рекомендациями “МР 3.1.2.0072-13. Инфекции дыхательных путей. Диагностика коклюша и паракоклюша”.

Лабораторная диагностика проводится в двух направлениях:

- обнаружение возбудителя или его антигенов в исследуемом материале;

- выявление антигенов возбудителя или антител к нему с помощью серологических методов.

Выделение возбудителя возможно только в ранние сроки – в первые 2 недели заболевания. Для выращивания культуры используют среду Борде-Жангу, молочно-кровяной агар, КУА, бордетелагар (аналог КУА), угольно-кровяной агар (среда Regan-Lowe). Для подавления роста сопутствующей микрофлоры в среду добавляют пенициллин. Чашки с посевами инкубируют в термостате при 37<sup>o</sup>C в течение 2-3 суток. При наличии характерных колоний из них готовят мазки, которые окрашивают по Граму и микроскопируют. Кроме этого проводят реакцию агглютинации. Для постановки реакции агглютинации выпускаются сыворотки диагностические коклюшные к агглютиногенам 1, 2, 3 и паракоклюшные к агглютиногену 14 (рисунок 4.20). Реакцию агглютинации проводят на стекле, в пробирках или планшетах.



Рисунок 4.20 – Сыворотки диагностические коклюшные и паракоклюшные.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Бактериологическое (культуральное) исследование проводят с диагностической целью или по эпидпоказаниям. Диагностическому бактериологическому обследованию подлежат:

- дети с клиническими симптомами коклюша;
- взрослые с подозрением на коклюш или коклюшеподобное заболевание, работающие в родильных домах, детских больницах, санаториях, детских дошкольных учреждениях, школах;
- дети, кашляющие более 5-7 дней (при наличии характерных приступов кашля);
- взрослые, работающие в детских учреждениях и кашляющие в течение 5-7 дней (в случае характерных приступов кашля).

Обследованию по эпидпоказаниям подлежат:

- дети, общавшиеся с больным коклюшем или паракоклюшем;
- взрослые, работающие в детских учреждениях и общавшиеся с больным коклюшем или паракоклюшем.

В связи с медленным ростом возбудителя коклюша посевы инкубируют в течение 5-7 суток. Предварительный ответ может быть получен на 3-5 сутки, окончательный – на 5-7 сутки.

В качестве ускоренного метода применяют **реакцию иммунофлюоресценции (РИФ)** с материалом из зева больного и коммерческой флюоресцентной сывороткой. Для этого приготовленные из исследуемого

материала мазки обрабатывают флюоресцирующими сыворотками или люминесцирующими коклюшными иммуноглобулинами, приготовленными из гипериммунных сывороток. Исследование проводят с помощью люминесцентного микроскопа. РИФ позволяет получить ответ через 4-6 часов после взятия материала (рисунок 4.21).



Рисунок 4.21 – РИФ при коклюше. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Серологические методы** (реакция агглютинации, реакция непрямой гемагглютинации, реакция связывания комплемента) основываются на определении уровня специфических антител к определенным антигенам возбудителя коклюша. Серологические методы используют как вспомогательные при выявлении атипичных форм болезни, а также для ретроспективной диагностики, поскольку антитела к возбудителю появляются не ранее третьей недели заболевания. Поэтому серологические методы позволяют подтвердить диагноз коклюша у больных, кашляющих более 2-3 недель.

Для серологической диагностики коклюша разработан метод **ИФА**, позволяющий определять IgG- и IgA-антитела к коклюшному токсину и филаментозному гемагглютнину. Для определения IgG-антител к возбудителю коклюша методом ИФА выпускаются соответствующие наборы (рисунок 4.22).



Рисунок 4.22 – Набор для определения IgG-антител к возбудителю коклюша методом ИФА. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При этом у неиммунизированных лиц наблюдается сероконверсия (повышение титра антител в 2-4 раза), а у вакцинированных лиц сероконверсия не выявляется, так как к моменту исследования возникает вторичный иммунный ответ. Серологические исследования необходимо проводить в динамике со 2-3 недели болезни с интервалом 1-2 недели.

Наиболее распространенным методом серологической диагностики коклюша является **реакция агглютинации**. Для установления серологического диагноза

коклюша и паракоклюша в реакции агглютинации используют диагностикумы, представляющие собой гомогенную взвесь обезвреженных формалином коклюшных (20 млрд. в 1 мл) или паракоклюшных (35 млрд. в 1 мл) микробов. Диагностикумы (рисунок 4.23) позволяют выявлять антитела в сыворотке крови больных людей, переболевших или вакцинированных лиц.



Рисунок 4.23 – Коклюшный и паракоклюшный диагностикумы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При постановке реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) применяют эритроцитарные диагностикумы, представляющие собой эритроциты животных, сенсibilизированные комплексом антигенов коклюшного микроба.

Перспективным методом диагностики является полимеразная цепная реакция (ПЦР). Для ее проведения разработаны тест-системы для идентификации различных участков генома *B. pertussis* (гена коклюшного токсина, гена аденилатциклазного гемолизина). Этот метод позволяет в короткие сроки (в течение 6 часов) получить ответ даже на фоне приема антибиотиков, при диагностике атипичных и стертых форм заболевания.

**Лечение.** При лечении коклюша основное внимание уделяется тщательному уходу за больными, устранению провоцирующих кашель факторов, ингаляции увлажненного кислорода, отсасыванию слизи из дыхательных путей, использованию бронхорасширяющих, откашливающих средств, антигистаминных препаратов.

Антибиотики (эритромицин, азитромицин, кларитромицин, тетрациклин, левомицетин, гентамицин) оказываются эффективными только в катаральный период. Раннее использование антибиотиков не только предотвращает дальнейшее развитие патологического процесса, но и способствует уменьшению частоты и тяжести вторичных бактериальных инфекций. В конвульсивный период антибиотики не оказывают значительного влияния на течение заболевания.

**Лечение паракоклюша** проводится с помощью симптоматических средств. В связи с легким течением заболевания антибиотики не используют.

**Профилактика.** Первая вакцина против коклюша появилась в 1941 г. в США. Обязательная вакцинация в России против коклюша проводится с 1959 г. Профилактические мероприятия при коклюше регламентированы Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.2.1320-03 “Профилактика коклюшной инфекции”. С целью специфической профилактики коклюша используют комплексные препараты, содержащие убитые коклюшные бактерии



(корпускулярный коклюшный компонент) или отдельные антигены возбудителя коклюша (бесклеточный коклюшный компонент).

**АКДС-вакцина** (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина, международная аббревиатура - DTP) содержит убитые бактерии коклюшного микроба (20 млрд. микробных тел в 1 мл), дифтерийный и столбнячный анатоксины. Вакцинация проводится в 3 месяца, затем в 4,5 и 6 месяцев, ревакцинация – в 18 месяцев (рисунок 4.24). В настоящее время подчеркивается необходимость пятой вакцинирующей дозы в связи с развитием недостаточного по длительности иммунитета при существующей схеме вакцинации.



Рисунок 4.24 – Вакцина АКДС. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Убитые бактерии возбудителя коклюша входят в состав комбинированной вакцины **Бубо®-Кок**. Вакцина предназначена для иммунопрофилактики коклюша, дифтерии, столбняка и гепатита В. Эта вакцина содержит убитые формалином коклюшные бактерии 1 фазы, очищенные дифтерийный и столбнячный анатоксины, рекомбинантный дрожжевой поверхностный антиген (НВs-антиген) вируса гепатита В. Компоненты вакцины сорбированы на геле гидроксида алюминия (рисунок 4.25).

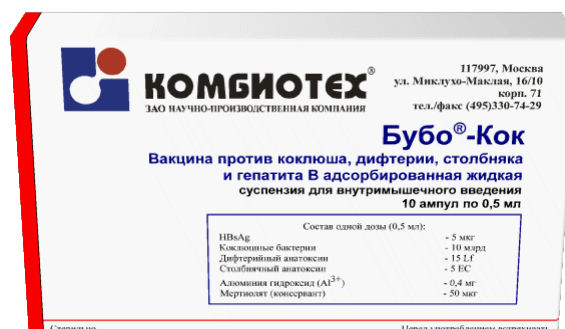


Рисунок 4.25 – Комбинированная вакцина Бубо®-Кок. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Бесклеточные вакцины АКадС содержат ацеллюлярный коклюшный компонент - коклюшный анатоксин и ряд протективных антигенов. Первая ацеллюлярная коклюшная вакцина была лицензирована в Японии 1981 г. В РФ официально разрешено применение следующих АКадС-вакцин, имеющих в своем составе коклюшный анатоксин, филаментозный гемагглютинин и пертактин: Инфанрикс, Инфанрикс-Гекса, Тетраксим и Пентаксим.

Среди препаратов, содержащих отдельные антигены коклюшного микроба (так называемые ацеллюлярные вакцины) наибольшее распространение получили вакцины Пентаксим, Бустрикс, Даптацел, Инфанрикс, Тетракок.

**Вакцина Пентаксим** (Франция) содержит коклюшный анатоксин и филаментозный коклюшный гемагглютинин, дифтерийный и столбнячный анатоксины, инактивированные вирусы полиомиелита 1-го, 2-го и 3-го типов, полисахарид *Haemophilus influenzae*. Вакцинация проводится в 3 месяца, затем в 4,5 и 6 месяцев, ревакцинация – в 18 месяцев (рисунок 4.26).



Рисунок 4.26 – Вакцина Пентаксим. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Вакцины Бустрикс, Даптацел, Инфанрикс** содержат детоксицированный (обезвреженный) коклюшный токсин (анатоксин), филаментозный гемагглютинин и пертактин 1 фазы коклюшного микроба, дифтерийный и столбнячный анатоксины (рисунок 4.27).



Рисунок 4.27 – Ацеллюлярные вакцины, содержащие коклюшные антигены. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Существующая система вакцинопрофилактики даже при высоком охвате обеспечивает недостаточный по длительности иммунитет, который снижается уже к школьному возрасту. Поэтому большое внимание отводится неспецифической профилактике коклюша.

Больного коклюшем изолируют на 25-30 дней с момента заболевания. Карантин сроком на 14 дней устанавливают для детей до 7 лет, бывших в контакте с больным и ранее не болевших коклюшем. В очаге заболевания проводят текущую дезинфекцию.

Неиммунизированным детям при контакте с больным вводят противококлюшный человеческий иммуноглобулин.

Всем лицам, контактировавшим с больным, независимо от возраста и наличия в анамнезе вакцинации, проводят антибиотикопрофилактику эритромицином.

С целью раннего выявления больных при наличии характерного кашля, продолжающегося в течение 5-7 дней и более, проводят двукратное бактериологическое обследование детей и работников родильных домов, детских больниц, санаториев, детских дошкольных учреждений, школ.

Коклюш и паракоклюш – два самостоятельных заболевания. Перекрестного иммунитета против коклюша и паракоклюша не возникает. Дети, переболевшие коклюшем, могут заболеть паракоклюшем и наоборот.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Морфологические и тинкториальные свойства возбудителя коклюша.
2. Культуральные и биохимические признаки возбудителя коклюша.
3. Антигенные свойства бордетелл.
4. Факторы патогенности возбудителя коклюша.
5. Патогенез и клиническая картина коклюша.
6. Диагностика коклюша.
7. Принципы лечения коклюша.
8. Профилактика коклюша, виды вакцин.

### Тренировочные тесты

1. Возбудитель коклюша открыли (один правильный ответ):

- 1.1 Л. Пастер
- 1.2 Р. Кох
- 1.3 Ж. Борде, О. Жангу
- 1.4 И.И. Мечников
- 1.5 Д. Уотсон, Ф. Крик

2. Возбудитель коклюша относится к роду (один правильный ответ):

- 2.1 *Salmonella*
- 2.2 *Bordetella*
- 2.3 *Escherichia*
- 2.4 *Shigella*
- 2.5 *Streptococcus*

3. Возбудителем коклюша является (один правильный ответ):

- 3.1 *B. anthracis*
- 3.2 *B. parapertussis*
- 3.3 *B. pertussis*
- 3.4 *Y. pestis*
- 3.5 *S. epidermidis*

4. Возбудитель коклюша представляет собой (один правильный ответ):
- 4.1 извитую бактерию
  - 4.2 грамотрицательную неподвижную палочку
  - 4.3 грамотрицательную подвижную палочку
  - 4.4 грамположительную подвижную палочку
  - 4.5 грамположительную неподвижную палочку
5. Для выращивания коклюшного микроба используют (несколько правильных ответов):
- 5.1 среду Эндо
  - 5.2 висмут-сульфитный агар
  - 5.3 казеиново-угольный агар
  - 5.4 среду Левина
  - 5.5 среду Борде-Жангу
6. К факторам патогенности возбудителя коклюша относятся (несколько правильных ответов):
- 6.1 пестицин
  - 6.2 филаментозный гемагглютинин
  - 6.3 трахеальный цитотоксин
  - 6.4 эксфолиативный токсин
  - 6.5 холероген
7. Источником коклюшной инфекции является (один правильный ответ):
- 7.1 больное животное
  - 7.2 почва
  - 7.3 больной человек
  - 7.4 грызуны
  - 7.5 продукты питания
8. Путь передачи возбудителя коклюша (один правильный ответ):
- 8.1 инъекционный
  - 8.2 пищевой
  - 8.3 воздушно-капельный
  - 8.4 трансмиссивный
  - 8.5 половой
9. Входными воротами для возбудителя коклюша являются (один правильный ответ):
- 9.1 кожа
  - 9.2 слизистые оболочки верхних дыхательных путей
  - 9.3 слизистая оболочка тонкого кишечника
  - 9.4 слизистая оболочка половых путей
  - 9.5 конъюнктивы
10. Симптомами коклюша являются (один правильный ответ):

- 10.1 диарея
  - 10.2 неукротимая рвота
  - 10.3 приступы судорожного кашля
  - 10.4 резкая головная боль
  - 10.5 ундулирующая лихорадка
11. Приступы спазматического кашля характерны для (один правильный ответ):
- 11.1 дифтерии
  - 11.2 скарлатины
  - 11.3 пневмококковой пневмонии
  - 11.4 коклюша
  - 11.5 менингококкового назофарингита
12. Основной метод лабораторной диагностики коклюша (один правильный ответ):
- 12.1 бактериоскопический
  - 12.2 аллергический
  - 12.3 бактериологический
  - 12.4 биологический
  - 12.5 гистологический
13. Исследуемый материал при диагностике коклюша (один правильный ответ):
- 13.1 фекалии
  - 13.2 моча
  - 13.3 слизь с задней стенки глотки
  - 13.4 ликвор
  - 13.5 желчь
14. Отбор материала для диагностики коклюша проводят методом (несколько правильных ответов):
- 14.1 соскоба
  - 14.2 пункцией
  - 14.3 “кашлевых пластинок”
  - 14.4 с помощью тампона
  - 14.5 зондирования
15. Для посева материала от больного коклюшем применяют (несколько правильных ответов):
- 15.1 среду Эндо
  - 15.2 казеиново-угольный агар
  - 15.3 среду Борде-Жангу
  - 15.4 желточно-солевой агар
  - 15.5 щелочной агар
16. Для специфической профилактики коклюша используют (один правильный ответ):
- 16.1 антибиотики

16.2 бактериофаги

16.3 АКДС-вакцину

16.4 нормальный гамма-глобулин

16.5 антитоксин

Правильные ответы: 1.3; 2.2; 3.3; 4.2; 5.3, 5.5; 6.2, 6.3; 7.3; 8.3; 9.2; 10.3; 11.4; 12.3; 13.3; 14.3, 14.4; 15.2, 15.3; 16.3.

## 4.2. Бруцеллы

**Историческая справка.** Бруцеллез (мальтийская лихорадка, лихорадка Кипра, лихорадка Гибралтара, волнообразная лихорадка, средиземноморская ремитирующая лихорадка, ундулирующая лихорадка) – это острое инфекционно-аллергическое зоонозное заболевание, вызываемое бактериями рода *Brucella*. Возбудитель бруцеллеза относится ко II группе патогенности. Болезнь передается от больных животных человеку. У человека бруцеллез проявляется поражением опорно-двигательной, нервной и половой систем, сопровождается, как правило, хронизацией инфекционного процесса и инвалидностью больного. Например, на 2006 г. в России числилось 2173 больных, имеющих инвалидность по бруцеллезу. У животных бруцеллез чаще всего протекает в латентной форме и проявляется абортами.

В литературе бруцеллез у животных описывался под названием “повального выкидыша животных”, “эпизоотического аборта коров”, “инфекционного аборта крупного рогатого скота”. Бруцеллез у людей под названием “мальтийская лихорадка” был выявлен и описан в 1861 г. военным врачом Д. Марстоном на острове Мальта среди солдат английского гарнизона, заболевших после употребления сырого козьего молока. В 1886 г. английский военный врач Д. Брюс (рисунок 4.28) при изучении гистологических препаратов и мазков из селезенки солдата, умершего от “мальтийской лихорадки”, обнаружил возбудителя болезни.



Рисунок 4.28 – Дэвид Брюс (David Bruce, 1855-1931 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1887 г. он выделил чистую культуру возбудителя и назвал его *Micrococcus melitensis* (мальтийский микрококк). Было установлено, что этот микроб поражает преимущественно коз и овец, а заражение человека происходит при употреблении сырого молока от больных животных. Это заболевание было широко распространено среди мелкого рогатого скота и людей во многих районах Средиземноморского бассейна.

Датские ветеринарные врачи Б. Банг (рисунок 4.29) и В. Стрибольт в 1897 г. при изучении причин аборт у крупного рогатого скота в Северной Европе из околоплодной жидкости коровы выделили бактерию, которую назвали *Bacterium abortus bovis* (палочка или бацилла Банга). Было установлено, что этот возбудитель

может вызывать у людей заболевание, основным проявлением которого является поражение суставов. Это заболевание у животных назвали болезнью Банга.



Рисунок 4.29 – Бернхард Банг (Bernhard Lauritz Frederik Bang, 1848-1932 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1909 г. Ф. Гутира в Венгрии, а в 1914 г. Дж. Траум в Америке обнаружили возбудителя массовых абортс у свиней – *Bacterium abortus suis*. В дальнейшем было установлено, что бактерии свиного аборта могут вызывать заболевания среди работников боен, занимающихся переработкой свинины.

Таким образом, за три десятилетия были описаны возбудители трех инфекционных болезней, при которых наблюдались одинаковые симптомы заболевания животных (абортс) и одинаковые механизмы заражения людей (через продукты животного происхождения – молоко, мясо и при уходе за животными).

В 1916-1920 гг. американские ученые А. Ивенс, К.Ф. Майер и М.Л. Фезье провели сравнительное изучение выделенных бактерий. Тщательные исследования показали, что мальтийский микрококк, бактерии аборта коров и бактерии аборта свиней близки по своему строению, биохимическим и антигенным свойствам. Поэтому эти три микроба были объединены в одну группу и названы в честь Д. Брюса бруцеллами (родовое название).

В 1897 г. британский бактериолог и иммунолог А.Э. Райт предложил использовать для диагностики бруцеллеза реакцию агглютинации, названную его именем (рисунок 4.30).

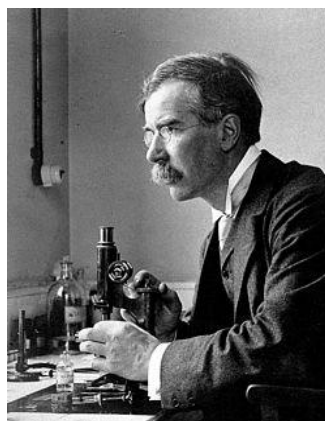


Рисунок 4.30 – Алмрот Райт (Almroth Edward Wright, 1861-1947 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.



Эта реакция основана на способности сыворотки крови больных бруцеллезом людей или животных агглютинировать (склеивать) убитые нагреванием бруцеллы из гомогенной суспензии.

В 1920 г. французский бактериолог Э. Бюрне (рисунок 4.31) предложил для диагностики бруцеллеза использовать внутрикожную аллергическую пробу с бруцеллином.



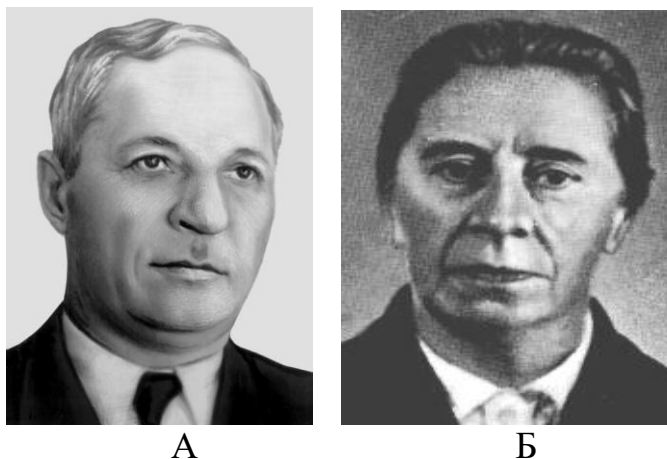
Рисунок 4.31 – Этьен Бюрне (Etienne Burnet, 1873-1960 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В России первый случай мальтийской лихорадки со смертельным исходом был выявлен и описан в 1911 г. Е.И. Марциновским (рисунок 4.32).



Рисунок 4.32 – Евгений Иванович Марциновский (1874-1934 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Большой вклад в изучение биологических свойств возбудителя, разработку методов диагностики и специфической профилактики бруцеллеза внесли П.Ф. Здродовский, П.А. Вершилова (рисунок 4.33) и другие ученые. Для иммунизации людей П.А. Вершилова разработала живую вакцину против бруцеллеза из штамма *B. abortus*.



А

Б

Рисунок 4.33 – А - Павел Феликсович Здродовский (1890-1976 гг.), Б - Пелагея Альбертовна Вершилова (1904-1992 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В нашей стране бруцеллез преимущественно распространен в республиках Дагестан, Кабардино-Балкарская, Калмыкия, Северная Осетия, в Краснодарском и Ставропольском краях, Республике Тыва, в Поволжье и на Южном Урале. Заболеваемость людей бруцеллезом составляет 0,3-0,4 на 100 тысяч населения. Ежегодно впервые диагностированный бруцеллез в РФ выявляется примерно у 300-700 человек (рисунок 4.34). Только за 1997-2006 гг. диагноз бруцеллеза установлен у 4671 человека, в том числе у 329 человек в возрасте до 14 лет.

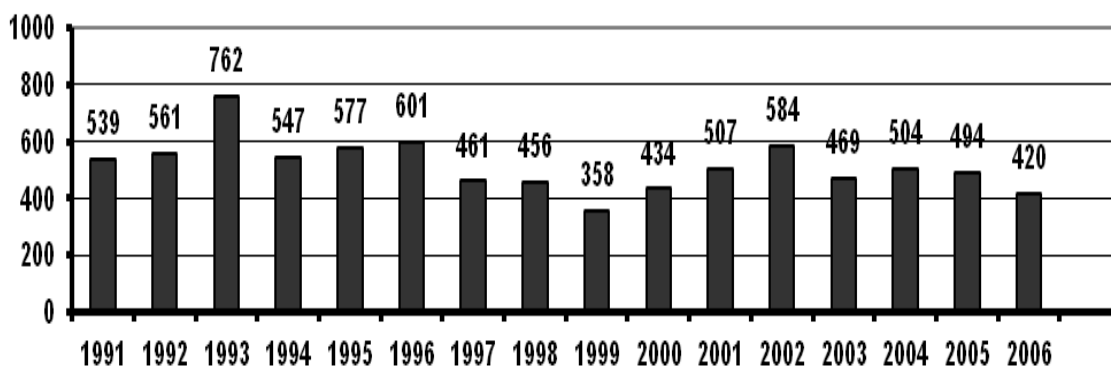


Рисунок 4.34 – Заболеваемость людей впервые выявленным бруцеллезом в Российской Федерации. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Заболевания людей бруцеллезом встречаются преимущественно на территориях с развитым животноводством. Периодически регистрируются групповые заболевания людей с числом заболевших 10 человек и более. За 2002-2006 гг. только 30 территорий субъектов Российской Федерации были свободны от бруцеллеза среди животных и людей. Больной бруцеллезом человек является “индикатором” эпизоотического неблагополучия территории по бруцеллезу.

**Таксономическое положение.** Род *Brucella* входит в семейство *Brucellaceae* порядка *Rhizobiales* класса *Alphaproteobacteria* типа *Proteobacteria*. В настоящее время различают 10 видов бруцелл:

- *B. melitensis* - козье-овечий вид, возбудитель бруцеллеза мелкого рогатого скота (овец, коз), патогенен для человека, имеет 3 биовара (биотипа);

- *B. abortus* - коровий вид, возбудитель бруцеллеза крупного рогатого скота (болезни Банга), патогенен для человека, включает 7 биоваров (биотипов);
- *B. suis* - свиной вид, возбудитель бруцеллеза свиней, имеет 5 биоваров (биотипов); носителем 2-го биовара являются также зайцы, 4-го биовара - олени, а 5-го биовара - мышевидные грызуны;
- *B. canis* - собачий вид, возбудитель бруцеллеза собак;
- *B. neotomae* - возбудитель бруцеллеза кустарниковых (лесных) крыс;
- *B. ovis* - возбудитель инфекционного эпидидимита баранов и аборта овец;
- *B. ceti* выделен от китообразных;
- *B. pinnipedialis* выделен от ластоногих;
- *B. microti* изолирован от серой полевки;
- *B. inopinata* – источник не установлен.

Возбудитель бруцеллеза северных оленей (*Brucella rangiferi*) в настоящее время классифицируется как биовар IV *B. suis*.

Заболевания людей преимущественно вызывают *B. melitensis*, *B. abortus* и *B. suis* биовары 1-4, реже - *B. canis*. Виды бруцелл и вызываемые ими заболевания представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Заболевания, вызываемые бруцеллами

Виды	Болезнь
<i>Brucella melitensis</i> (биовары 1-3)	Бруцеллез коз, овец, человека
<i>Brucella abortus</i> (биовары 1-6, 9)	Бруцеллез крупного рогатого скота, человека
<i>Brucella suis</i> (биовары 1-5)	Бруцеллез свиней, человека
<i>Brucella canis</i>	Бруцеллез собак
<i>Brucella ovis</i>	Бруцеллез овец (эпидидимит у баранов)
<i>Brucella neotomae</i>	Бруцеллез крыс, морских свинок, мышей

На территории России циркулируют *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* и *B. ovis*, а с 1994 г. регистрируются случаи выделения *B. canis* от собак и людей.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Бруцеллы являются мелкими кокковидными (0,3-0,6 мкм) или палочковидными (0,6-2,5 мкм) грамотрицательными бактериями (рисунок 4.35).

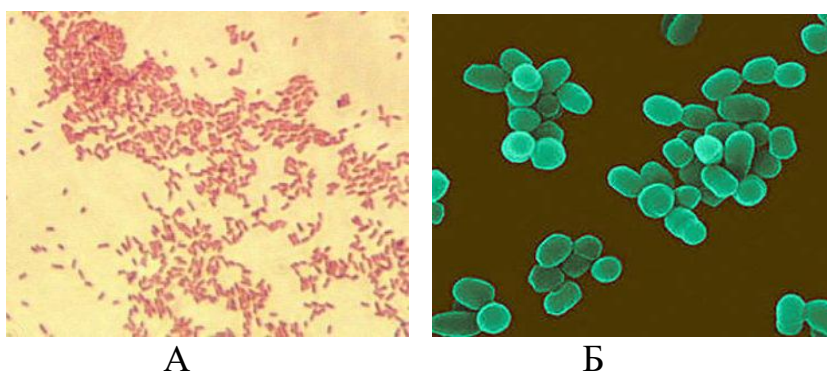


Рисунок 4.35 – А - Мазок из чистой культуры *B. melitensis*, окраска по Граму. Б - Сканирующая электронная микроскопия, компьютерная визуализация.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Бруцеллы неподвижные. Спор не образуют. Палочки располагаются одиночно, парами или небольшими группами. Концы палочек закруглены (рисунок 4.36).

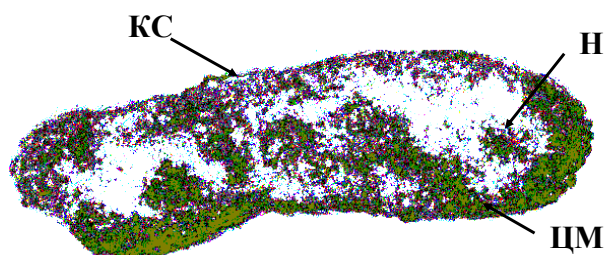


Рисунок 4.36 – Электронная микрофотография *B. melitensis*. КС – клеточная стенка; ЦМ – цитоплазматическая мембрана, Н - нуклеоид. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Вирулентные штаммы бруцелл имеют нежную микрокапсулу. Бруцеллы хорошо окрашиваются анилиновыми красителями. Е.В. Козловский в 1936 г. предложил окрашивать бруцеллы растворами сафранина и малахитового зеленого. При использовании этого метода бруцеллы окрашиваются сафранином в красный цвет, а другие бактерии окрашиваются малахитовым (бриллиантовым) зеленым в зеленый цвет.

Вирулентные штаммы бруцелл на плотной питательной среде образуют колонии S-формы, авирулентные штаммы формируют колонии R-формы. Однако *B. canis* существует только в R-форме, но способна вызывать заболевания у людей. В соответствии с этим выделяют S- и R-формы бруцелл. Диссоциация из S-формы в R-форму сопровождается изменением свойств бруцелл, в том числе структуры клеточной стенки. R-форма бруцелл утрачивает способность синтезировать O-боковые участки в составе липополисахарида (рисунок 4.37).

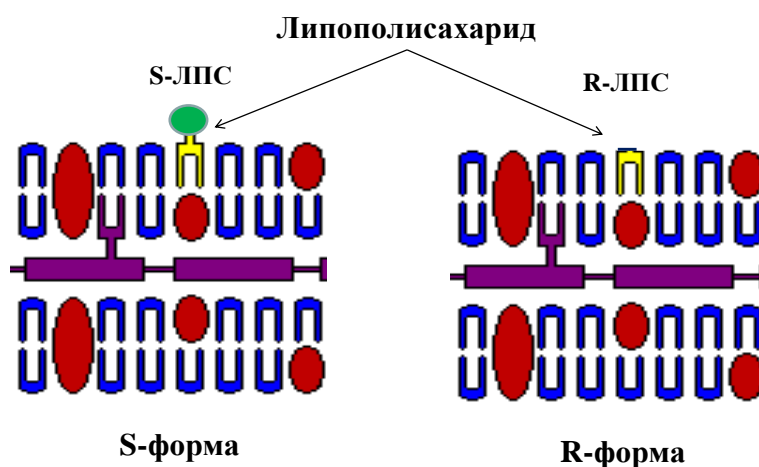


Рисунок 4.37 – Схема строения клеточной стенки бруцелл при S-R-диссоциации.

S-R-диссоциация закреплена в геноме бруцелл (так называемая двухкомпонентная система регуляции BvrR/BvrS – *Brucella virulence related R/S*) и происходит при различных неблагоприятных факторах окружающей среды.

Геном *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. ovis*, *B. neotomae* и *B. suis* биовара 1 представлен двумя кольцевыми молекулами ДНК размером 2100 и 1500 т.п.н. (рисунок 4.38).

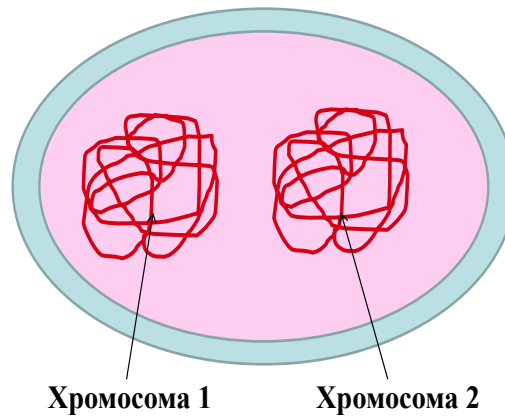


Рисунок 4.38 – Хромосомы бруцелл.

Оба репликона определяют метаболические и репликативные функции, следовательно, являются хромосомами, а не плазмидами. *B. suis* биоваров 2 и 4 имеет две хромосомы размером 1850 и 1350 т.п.н., а *B. suis* биовара 3 - одну хромосому размером 3100 т.п.н. Плазмид у бруцелл не обнаружено.

**Культуральные свойства.** Бруцеллы являются строгими аэробами, но при первоначальном выделении лучше растут в атмосфере 5-15% углекислого газа при 36-38°C и рН 6,6-7,4. Для их культивирования используют среды с добавлением крови, сыворотки крови, глюкозы, глицерина: КА (кровяной агар), МППБ (мясо-пептонный печеночный бульон), ППГБ (печеночно-глюкозно-глицериновый бульон), ППГА (печеночно-глюкозно-глицериновый агар), печеночный агар Хеддльсона. Эти среды содержат 1% глюкозы и 2-3% глицерина. Факторами роста являются тиамин, ниацин, биотин. Бруцеллы хорошо растут на агаре из картофельного настоя с сывороткой крови, на сывороточно-декстрозном агаре, триптозно-соевом агаре, триптозном агаре, агаре Альбими, агаре Д. В настоящее время широко используется коммерческая среда для выделения бруцелл – эритрит-агар или бруцеллагар. Для выделения бруцелл из материалов, загрязненных другими микроорганизмами, к питательным средам добавляют антибиотики (полимиксин, бацитрацин и др.), угнетающие другие микроорганизмы и не препятствующие росту бруцелл. При первичном выделении бруцелл из инфицированного материала колонии формируются через 1-3 недели после посева. Лабораторные штаммы, адаптированные к питательным средам, образуют колонии через 24-48 часов (рисунок 4.39).



Рисунок 4.39 – Рост бруцелл на плотных питательных средах. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На плотных питательных средах вирулентные штаммы бруцелл образуют блестящие округлые гладкие мелкие (2-3 мм) колонии S-формы с голубоватым (перламутровым) оттенком, напоминающие капельки росы (рисунок 4.40).

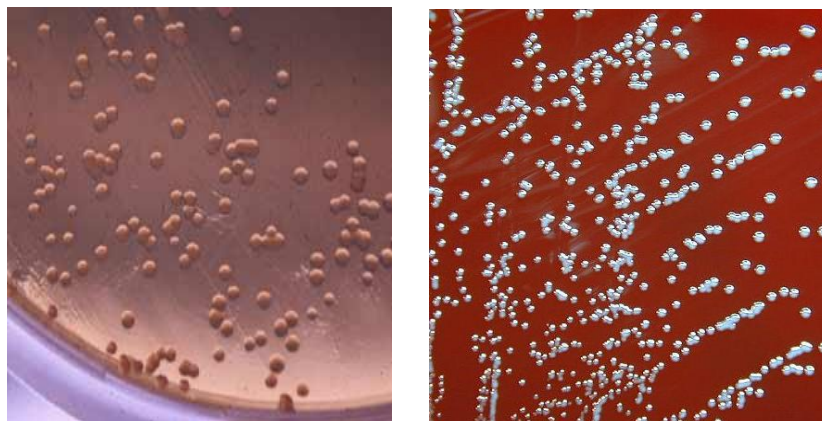


Рисунок 4.40 – Внешний вид колоний бруцелл на плотных питательных средах. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В жидких питательных средах вирулентные штаммы бруцелл вызывают равномерное помутнение и образование на дне пробирки серовато-белого слизеподобного осадка. Авирулентные штаммы на плотной среде образуют шероховатые колонии R-формы, а в бульоне - помутнение и крошковатый осадок.

Для дифференциации S- и R-форм колоний бруцелл Уайт и Вильсон предложили специальный метод окраски: исследуемую культуру высевают на агар Альбими и после 96-часового выращивания при температуре 37°C на поверхность агара с выросшей культурой наливают водный раствор кристалвиолета (1:2000) на 15 секунд. Затем краску сливают в дезинфицирующий раствор, а колонии просматривают с помощью лупы. Колонии S-формы светлые, а колонии R-формы фиолетовые.

**Биохимические свойства.** Бруцеллы слабо утилизируют углеводы (ферментируют глюкозу и арабинозу с образованием кислоты). Лишь некоторые штаммы бруцелл ферментируют декстрозу, галактозу, ксилозу, левулезу, арабинозу. Редуцируют нитраты в нитриты. Не вырабатывают индола. *B. abortus* и *B. suis* выделяют сероводород, а *B. melitensis* образует его в незначительном количестве. Бруцеллы синтезируют амилазу, каталазу, пероксидазу, липазу, фосфатазу.

Бруцеллы не разжижают желатин, не свертывают молоко, не обладают гемолитической активностью. Дифференциация бруцелл проводится путем определения потребности в углекислом газе, способности образовывать сероводород, расти на средах с красителями (тионином, фуксином), чувствительности к бактериофагу и ферментативной активности (таблица 4.4).

Таблица 4.4 - Отличительные признаки различных видов бруцелл и их биоваров

Вид бруцелл	Био-вар	Потребность в CO <sub>2</sub>	Образование H <sub>2</sub> S	Рост на средах с красителями		Агглютинация с моноспецифическими сыворотками			Лизис под действием фага	Метаболические тесты			
				тионином	основным фуксином	A	M	R		глутаминовая кислота	аргинин	рибоза	лизин
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-
	2	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
	3	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>B. abortus</i>	1	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
	2	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-
	3	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-
	4	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-
	5	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-
	6	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-
	9	+-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
<i>B. suis</i>	1	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
	2	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
	3	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
	4	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-
	5	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-
<i>B. neotomae</i>	1	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>B. ovis</i>	1	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>B. canis</i>	1	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+

Примечание: “+” - наличие признака; “-” - отсутствие признака.

**Антигенная структура.** Основными антигенами бруцелл являются 2 соматических видоспецифических О-антигена – А и М. Наличие этих антигенов установили в 1932 г. Wilson и Miles. Эти антигены входят в состав всех видов бруцелл, но у разных видов бруцелл их соотношение разное. М-антиген доминирует у *B. melitensis*; А-антиген преобладает у *B. abortus* и *B. suis*. А- и М-антигены являются сложными глюкоидо-липидо-полипептидными комплексами и различаются связями, соединяющими сахара в молекуле ЛПС. Они индуцируют синтез антител, выявляемых в РП, РА, РСК и других серологических реакциях. Для дифференциации этих антигенов получают соответствующие моноспецифические антисыворотки, которые позволяют отнести исследуемые культуры бруцелл либо к виду *B. melitensis*, либо к другим видам бруцелл. Эти антигены мозаично расположены на поверхности клеток.

У бруцелл выявлен также поверхностный термостабильный L-антиген, сходный с Vi-антигеном сальмонелл.

**Резистентность.** Бруцеллы относительно устойчивы в окружающей среде. Сохраняются во влажной почве и воде до 4,5 месяцев, в молоке - до 273 дней, в масле – до 142 дней, в сыре - до 1 года, в брынзе - до 72 дней, в кефире - до 11 дней, в замороженном мясе – до 60 дней. Чувствительны к действию высокой температуры: при 55°C погибают в течение 1 часа, при 70°C - через 10 минут, при

80-95<sup>o</sup>C – через 5 минут, при кипячении - через несколько секунд. В связи с этим пастеризацию молока проводят при 85-90<sup>o</sup>C в течение 20 секунд или при 70<sup>o</sup>C в течение 30 минут. Бруцеллы выдерживают прямые солнечные лучи в течение 4,5 часов, рассеянный солнечный свет в течение 7-8 дней. В шерсти бруцеллы сохраняются до 3-4 месяцев.

Культуры бруцелл на питательных средах в плотно закрытых пробирках сохраняют жизнеспособность в течение нескольких недель, в лиофильно высушенном виде - годами.

Эффективными дезинфектантами, убивающими бруцеллы в течение нескольких минут, являются 2% раствор фенола, 0,5% раствор лизола, 1-2% раствор формалина, 0,5-1% хлорамин, 3% гидроксид натрия, 5% хлорная известь. Для дезинфекции помещений применяют осветленный раствор хлорной извести, содержащий 2% активного хлора, 2% раствор гидроксида натрия, 20% взвесь свежегашеной извести, 2% раствор формальдегида.

Бруцеллы обладают высокой чувствительностью к антибиотикам тетрациклинового ряда (особенно доксициклину), рифампицину, хлорамфениколу, фторхинолоновым препаратам (пемфлосацину, офлоксацину, цiproфлоксацину и др.), аминогликозидам (гентамицину, сизомицину и др.), азитромицину.

**Эпидемиология.** Бруцеллез - **зоонозная инфекция**. К бруцеллезу восприимчивы различные виды животных (овцы, козы, крупный рогатый скот, буйволы, свиньи, лошади, олени, собаки, кошки, верблюды, мулы, лоси, косули, сайгаки, зайцы, лисицы, песцы, норки, грызуны), домашние и дикие птицы. Наиболее восприимчивы овцы, козы, крупный рогатый скот и свиньи. Из лабораторных животных к бруцеллезу чувствительны белые мыши и морские свинки. У многих животных через 1-2 года после заражения наступает “самовыздоровление” – процесс, при котором в организме животных не обнаруживается возбудитель. Однако в организме человека и животных бруцеллы способны образовывать длительно персистирующие L-формы, утратившие клеточную стенку, что затрудняет их выявление при диагностике заболевания.

**Источником бруцеллезной инфекции** для человека являются больные животные (овцы, козы, коровы, свиньи, реже - собаки), выделяющие бруцеллы с плодом при аборте и родах, с последом и плодовыми водами, с истечениями из родовых путей, мочой, калом, молоком (рисунок 4.41). Наибольшую опасность представляют продукты питания, получаемые от больных животных (молоко, мясо).

Больные животные своими выделениями загрязняют подстилку, кормушки, остатки корма, шерстный покров, пастбища. Каждый вид бруцелл поражает в основном животных определенного вида, но может заражать животных и других видов (мигрировать):

- *B. melitensis* поражает в основном коз и овец, но может дополнительно поражать свиней и лошадей;

- *B. abortus* поражает в первую очередь крупный рогатый скот (болезнь Банга), а дополнительно - лошадей и свиней;

- *B. suis* поражает свиней, а дополнительно - крупный и мелкий рогатый скот и лошадей.



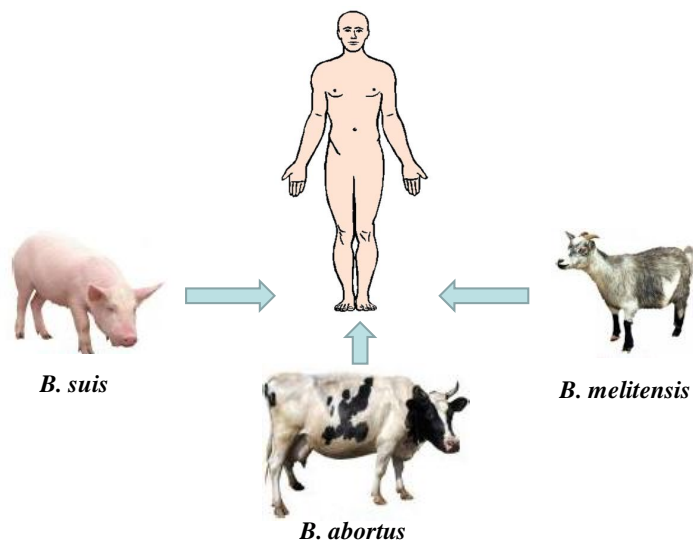


Рисунок 4.41 - Основные источники бруцеллезной инфекции для человека.

Бруцеллы проникают **в организм животного** через слизистые оболочки пищеварительного тракта, половых и дыхательных путей, конъюнктиву, а также через кожные покровы в случае нарушения их целостности. У животных бруцеллез протекает в виде общего заболевания. Для крупного и мелкого рогатого скота наиболее характерными проявлениями болезни являются аборт. У свиней аборты отмечаются реже, у них болезнь протекает как хронический сепсис с поражением суставов и других органов. От больных животных бруцеллы выделяются с молоком, мочой, испражнениями, гноем и особенно обильно – в период выкидыша с плодом, последом и истечениями из родовых путей. Количество бруцелл в 1 мл молока может достигать 200000 микробных клеток. Обильное размножение бруцелл в оболочках плода связывают с наличием в них эритрозола, который служит важным фактором роста бруцелл.

**Человек** является вторичным хозяином для бруцелл. Заболевание людей возникает на фоне эпизоотий и часто носит профессиональный характер. Возможны случаи лабораторного заражения бруцеллезом. Основными возбудителями бруцеллеза у человека являются *B. melitensis* (бруцеллез овечье-козьего происхождения) и *B. abortus* (бруцеллез коровьего вида). Для человека наиболее опасна *B. melitensis* (причина заболевания людей более чем в 95-97% случаев). *B. abortus*, как правило, вызывает латентную форму болезни, проявляющуюся клинически только в 1-3% случаев. Еще реже заболевание вызывает *B. suis* (менее 1%). В связи с этим бруцеллез, вызванный *B. melitensis*, называют эпидемическим, а бруцеллез, обусловленный *B. abortus* и *B. suis*, называют спорадическим.

Передача возбудителя бруцеллеза и **заражение людей** происходит алиментарным, контактно-бытовым, воздушно-капельным путями, возможны сочетанные **пути передачи**. Чаще всего человек заражается бруцеллезом алиментарным путем (при употреблении сырого молока, мяса, масла, сыров) и при уходе за больными животными (овцы, козы, свиньи, крупный рогатый скот). Больные люди не являются источником инфекции для человека. Возбудитель внедряется в организм человека через кожу, имеющую микротравмы, слизистую оболочку дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, конъюнктиву. В

основном заражается персонал, работающий с больными животными (ветеринары, зоотехники, работники молочно-товарных ферм, мясокомбинатов и др.). В сельской местности отмечается сезонность заболеваний бруцеллезом (март – май, то есть период отела).

Аэрогенный путь заражения человека бруцеллезом возможен при стрижке шерсти, сборе пуха, обработке шкур, при уходе за больными животными. Аэрогенный путь заражения возможен также при работе с чистыми культурами возбудителей бруцеллеза в лабораториях.

К группам профессионального риска относятся работники животноводческих хозяйств, мясокомбинатов и молокозаводов, предприятий по переработке продуктов и сырья животного происхождения, убойных пунктов, пунктов стрижки овец, зооветработники, персонал лабораторий, работающий с вирулентными культурами.

**Факторы патогенности бруцелл.** Бруцеллы являются **факультативными внутриклеточными паразитами**. Они размножаются преимущественно внутри клеток ретикулоэндотелиальной системы зараженного организма. Патогенное действие бруцелл связано с наличием следующих факторов (рисунок 4.42):

- ферменты агрессии: гиалуронидаза, нейраминидаза, каталаза;
- белки наружной мембраны;
- низкомолекулярные протеины (эффекторы);
- микрокапсула;
- эндотоксин (ЛПС).

Эти факторы патогенности обеспечивают проникновение возбудителя внутрь клеток, подавляют киллерные способности фагоцитов и позволяют бруцеллам длительное время персистировать внутри этих клеток.

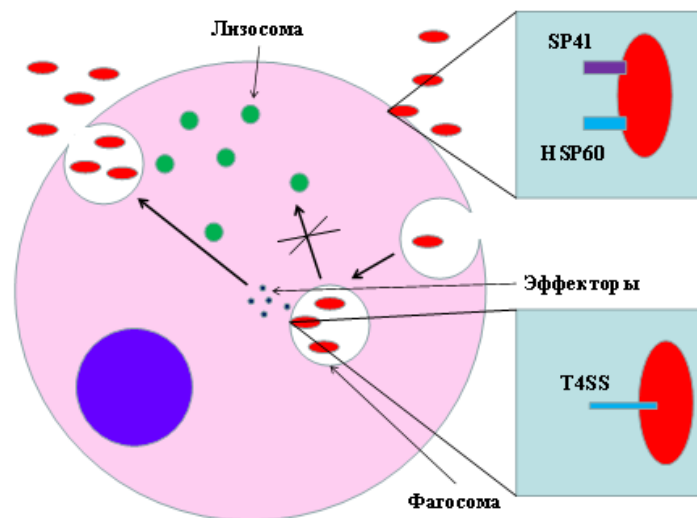


Рисунок 6.44 – Действие факторов патогенности бруцелл.

Ферменты **гиалуронидаза** и **нейраминидаза** разрушают компоненты соединительной ткани, позволяют бруцеллам проникать через межклеточное пространство и распространяться по тканям.

**Каталаза** разрушает перекись водорода и защищает бруцеллы от бактерицидных свойств кислорода.

**Белки наружной мембраны (SP41 - surface protein и HSP60 – heat shock protein)** обеспечивают адгезию микроба к фагоцитам и инвазию внутрь клеток. В процессах фиксации на клетках хозяина принимают участие белки **OMP-25** и **OMP-22**. Экспрессию всех этих белков на наружной мембране бруцелл контролирует двухкомпонентная регуляторная система **VvrR/VvrS**, определяющая R-S-диссоциацию возбудителя.

**Низкомолекулярные протеиновые эффекторы** препятствуют слиянию фагосомы с лизосомой. Доставка эффекторов через мембрану фагосомы осуществляется с помощью системы секреции **T4SS** (Type IV secretion system). В результате этого бруцеллы внутри фагоцитов сохраняют жизнеспособность и размножаются.

**Микрокапсула** препятствует фагоцитозу микробной клетки.

**Эндотоксин (ЛПС)** вызывает аллергические реакции и воспалительные процессы в сенсibilизированном организме.

**Патогенез.** Входными воротами при бруцеллезе служат микротравмы кожи и слизистые оболочки желудочно-кишечного, респираторного трактов и конъюнктивы. Факторами передачи являются продукты животного происхождения, а также объекты внешней среды, загрязненные выделениями животных, больных бруцеллезом. В месте входных ворот инфекции патологические изменения отсутствуют. Из входных ворот бруцеллы переносятся по лимфатическим путям в региональные лимфатические узлы, где фагоцитируются. В макрофагах бруцеллы не перевариваются, остаются жизнеспособными и в течение первых 5-10 суток усиленно размножаются. Регионарные лимфатические узлы и лимфоидная ткань кишечника превращаются в своеобразные “депо” бруцелл. При интенсивном размножении бруцелл в лимфатических узлах возникают множественные воспалительные очаги. Из лимфатических узлов возбудитель периодически проникает в кровь и распространяется по всему организму, избирательно поражая ткани ретикулоэндотелиальной системы – печень, селезенку, костный мозг. В этих органах бруцеллы внутри клеток сохраняются длительное время, а при обострении процесса вновь попадают в кровь, вызывая рецидив (рисунок 4.43).

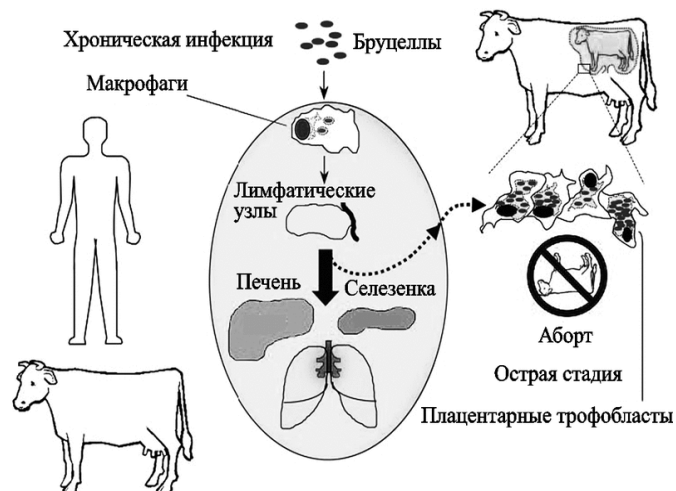


Рисунок 4.43 – Основные клетки и ткани, поражаемые при бруцеллезе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Бактериemia сохраняется в течение длительного времени (1-3 года). При проникновении в кровь часть бруцелл погибает, высвобождая эндотоксин. В результате этого происходит интоксикация и сенсибилизация организма, формирование гиперчувствительности замедленного типа. В дальнейшем бруцеллы вновь фагоцитируются, а через некоторое время опять высвобождаются из макрофагов и гематогенно распространяются по организму. Процесс поглощения бруцелл и их высвобождения из фагоцитов многократно повторяется. Поэтому течение болезни принимает характер **хронического сепсиса** с периодическими рецидивами и аллергизацией организма. При таком течении болезни возбудитель гематогенно заносится в лимфатические узлы, печень, селезенку, костный мозг и другие органы, где формируются **бруцеллезные гранулемы** (гранулемы Новицкого) - узелки, состоящие из эпителиоидных и гигантских клеток с зоной некроза в центре и фиброзом по периферии (рисунок 4.44).

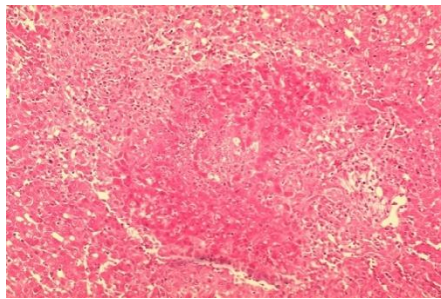


Рисунок 4.44 – Бруцеллезная гранулема. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

У больных лиц бруцеллы могут выделяться с мочой, испражнениями, мокротой, молоком, редко – у женщин с вагинальным секретом. Иногда гранулемы трансформируются в абсцессы. Ведущим фактором в патогенезе бруцеллеза является развитие аллергической реакции, которая выявляется в период генерализованной инфекции и сохраняется длительное время.

Провоцирующими факторами для возникновения рецидивов могут быть переохлаждение, перегревание, физические, психические травмы, нарушения обменных процессов.

Таким образом, особенностями патогенеза бруцеллеза являются:

- размножение и длительное персистирование бруцелл в макрофагах (кровь, селезенка, костный мозг, лимфатические узлы);
- длительная бактериemia (до года и более);
- развитие гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ);
- возможность развития бессимптомной инфекции.

**Клинические проявления.** Продолжительность инкубационного периода при бруцеллезе составляет от 1 до 6 недель. Начало заболевания постепенное. Больные предъявляют жалобы на перемежающиеся боли в суставах, преимущественно нижних конечностей, длительную субфебрильную температуру тела волнообразного типа с резкими подъемами и спадами, озноб, чувство холода, усиленную потливость, особенно по ночам, резкую слабость и упадок сил. Температура тела обычно повышается во второй половине дня; падение температуры в ночное время

сопровождается обильным потоотделением (ундулирующая лихорадка). Лихорадка продолжается в течение месяцев (рисунок 4.45).

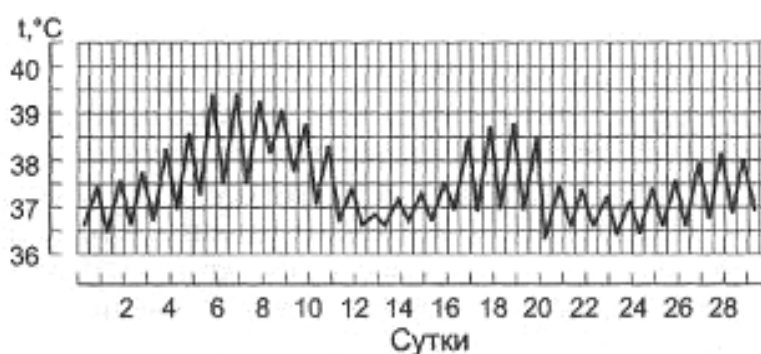


Рисунок 4.45 – Температурная кривая при бруцеллезе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Клинические проявления бруцеллеза многообразны и зависят от того, какие органы и ткани вовлечены в инфекционный процесс. Чаще всего доминируют нарушения функций опорно-двигательного аппарата, нервной и половой систем. Со стороны опорно-двигательной системы отмечаются полиартриты и полиневриты (рисунок 4.46).



Рисунок 4.46 – Поражение суставов при бруцеллезе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Поражение половой системы проявляется орхитами, эпидидимитами (рисунок 4.47).



Рисунок 4.47 – Орхит при бруцеллезе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При аэрогенном заражении часто развиваются вялотекущие пневмонии. Практически все формы сопровождаются генерализованной лимфаденопатией, увеличением печени и селезёнки.

По течению выделяют острую форму длительностью до 1,5 месяцев, подострую форму длительностью 1,5-3 месяца и хроническую форму продолжительностью более 3 месяцев.

После острой фазы может развиваться хроническая стадия, характеризующаяся слабостью, острыми и ноющими болями, субфебрильной температурой, раздражительностью, невротическим состоянием. На этом фоне отмечаются аборт. Летальность при бруцеллезе до применения антибиотиков составляла 8-15%, в настоящее время - 0,1%. Прогноз для жизни обычно благоприятный, но длительное течение болезни и осложнения приводят к утрате трудоспособности и стойкой **инвалидности**. Бруцеллез нередко дает рецидивы, продолжаясь месяцами и годами. Легкие, бессимптомные формы бруцеллеза трудно поддаются распознаванию, их диагностируют только лабораторным путем.

**Диагностика** бруцеллеза проводится в соответствии с МУ 3.1.7.1189-03 “Профилактика и лабораторная диагностика бруцеллеза людей” и МУК 4.2.3010-12 “Порядок организации и проведения лабораторной диагностики бруцеллеза для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней”. При диагностике бруцеллеза учитывают данные анамнеза (контакт с животными, употребление в пищу термически не обработанных продуктов животноводства, место работы больного и специальность), клиническую картину и данные лабораторного исследования.

Лабораторная диагностика бруцеллеза включает бактериоскопические (световая и люминесцентная микроскопия), бактериологические (выделение чистой культуры, ее идентификация), серологические (реакции агглютинации Хеддльсона, Райта, Кумбса, ИФА, РНГА), аллергологические (внутрикожная проба Бюрне, реакция лизиса лейкоцитов в пробирке) методы. Бактериологический и биологический методы проводятся в специализированных лабораториях **особо опасных инфекций**. Для выявления ДНК бруцелл используют молекулярно-генетический метод (ПЦР).

#### **Материал для исследований:**

- **от людей:** кровь, моча, костный мозг, спинномозговая жидкость, суставная жидкость (при артритах), околоплодные воды, секционный материал;
- **от животных:** абортированные плоды, плодные оболочки, лимфатические узлы;
- **пищевые продукты:** молоко, сливки, сыры, творог, мясо;
- **объекты внешней среды:** почва, вода.

**При бактериологическом исследовании** патологический материал высевают в 2 флакона с жидкой питательной средой (соевый бульон, бульон Мартена, эритрит-бульон, бульон ВВЛ, МПБ с 1% глюкозы и глицерина). В одном из флаконов создают повышенную концентрацию (10%) углекислого газа (например, флакон помещают в эксикатор со свечой для стимуляции роста *B. abortus*). Флаконы инкубируют в термостате при 37<sup>0</sup>С в течение 30 дней, после чего производят высевы на плотные среды (триптозный, 5%-ный кровяной, печеночный агар и др.). Для подавления посторонней микрофлоры в среды добавляют генцианвиолет,

кристаллвиолет или антибиотики – полимиксин, амфотерицин, бацитрацин. В атмосфере углекислого газа рост бруцелл наблюдается уже через 4-5 суток. Положительные результаты посевов крови больных людей на питательные среды наблюдается только в 50-70% случаев. Колонии на плотной питательной среде имеют круглую форму, размеры 1-5 мм в диаметре, серовато-белые, блестящие, прозрачные с янтарным оттенком.

Для дифференциации видов бруцелл используют показатели:

- способность некоторых биоваров вырабатывать сероводород (*B. abortus*);
- продукция уреазы;
- чувствительность к бактериостатическому действию фуксина и тионина.

**Биологический метод.** При сильном загрязнении материала или при исследовании материала с небольшой концентрацией бруцелл чистую культуру выделяют путем заражения морских свинок, сыворотка крови которых в разведении 1:5 не реагирует в РА с бруцеллезным антигеном. После заражения на 15, 25 и 40 сутки кровь морских свинок исследуют в пробирочной РА. Результат считается положительным, если сыворотка реагирует в титре 1:10 и выше. Для выделения чистой культуры морских свинок убивают в разные сроки после заражения и производят посевы из лимфоузлов, селезенки, печени и костного мозга.

Для микроскопического исследования мазки окрашивают по Граму, Стампу (модификация метода Циля-Нельсена), Козловскому или Шуляку-Шину.

Выделенную чистую культуру подвергают родовой и видовой идентификации. **Родовая идентификация** включает изучение морфологии колоний, микроскопию препаратов, окрашенных по Граму или Козловскому, люминесцентную микроскопию и реакцию агглютинации на стекле со специфической бруцеллезной сывороткой.

**Видовая дифференциация** бруцелл дополнительно включает изучение зависимости роста бактерий от углекислоты, продукции сероводорода, устойчивости к фуксину и тионину, агглютинацию монорецепторными сыворотками, лизис специфическими бактериофагами (рисунок 4.48).



Рисунок 4.48 – Бактериофаги бруцеллезные диагностические жидкие. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для выявления антигенов бруцелл применяют РПГА с эритроцитарным диагностикумом с антителами к родовому антигену, а также реакцию агрегат-агглютинации, РП и ИФА.

В диагностических целях широко используют **серологические реакции**: реакцию агглютинации Райта, реакцию Кумбса (на неполные антитела при диагностике хронического бруцеллеза), реакцию иммунофлюоресценции (РИФ), реакцию связывания комплемента (РСК), иммуноферментный анализ (ИФА), реакцию нейтрализации антител (РНАт), а также молекулярно-биологический метод – полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Для быстрого обнаружения антител разработаны реакция агглютинации Хеддельсона на стекле, реакция латекс-агглютинации, тест с бенгальским розовым, 2-меркаптоэтанол-агглютининовый тест.

**Серологические реакции, направленные на выявление антигенов бруцелл:**

- реакция иммунофлюоресценции (прямой иммунофлюоресцентный метод);
- иммуноферментный анализ (ИФА);
- реакция нейтрализации антител (РНАт).

**Серологические реакции, направленные на выявление бруцеллезных антител:**

- пластинчатая реакция агглютинации (реакция Хеддельсона);
- объемная или развернутая реакция агглютинации (реакция Райта);
- РПГА;
- антиглобулиновая проба (реакция Кумбса) для выявления неполных антител;
- ИФА (для выявления IgM при остром бруцеллезе и IgG – при подостром и хроническом бруцеллезе);
- реакция иммунофлюоресценции (непрямой иммунофлюоресцентный метод).

**К экспресс-методам** диагностики бруцеллеза относятся РИФ, РПГА и РНАт.

**РИФ** в диагностике бруцеллеза проводится как в прямом, так и в непрямом варианте. **Прямой иммунофлюоресцентный метод** используется как при исследовании патологического материала от больных людей и животных, так и при исследовании материала из объектов внешней среды. Он позволяет выявлять как живые, так и нежизнеспособные бактерии по свечению специфического антигена после обработки пробы флюоресцирующими бруцеллезными антителами. Для постановки этой реакции готовят мазки из исследуемого материала, фиксируют их, обрабатывают флюоресцирующими антителами (бруцеллезной люминесцирующей сывороткой) и микроскопируют в люминесцентной микроскопе. При наличии в исследуемом материале бруцелл на темном или оранжево-красном фоне в мазке обнаруживаются клетки с ярким зеленым свечением по периферии. Центральная часть клетки не светится.

**Непрямой иммунофлюоресцентный метод (нРИФ)** проводится с целью установления титра антител в исследуемой сыворотке крови. Для этого исследуемую сыворотку в разных разведениях наносят на предварительно приготовленные мазки из агаровой культуры бруцелл. Несвязавшиеся антитела отмывают, а препараты докрашивают антивидовой люминесцирующей сывороткой. Под люминесцентным микроскопом устанавливают титр антител. Диагностическим считается титр не менее 1:4.

**Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА)** используется для выявления бруцеллезных антител в сыворотке крови человека. Для постановки РПГА



применяют бруцеллезный эритроцитарный антигенный диагностикум (рисунок 4.49).



Рисунок 4.49 – Диагностикум эритроцитарный бруцеллезный антигенный жидкий. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Диагностикум эритроцитарный антигенный представляет собой взвесь эритроцитов барана, сенсibilизированных антигеном бруцеллезного микроба. Препарат выпускается в комплекте со взвесью убитой культуры бруцеллезного микроба, эритроцитами барана и диагностической бруцеллезной агглютинирующей сывороткой. Эритроцитарный бруцеллезный диагностикум позволяет выявлять антитела в сыворотках крови животных и людей (больных, переболевших и вакцинированных против бруцеллеза). Диагностикум используют также для идентификации возбудителя бруцеллеза в бактериальных культурах и для обнаружения бруцеллезного антигена в биологических материалах и объектах внешней среды. Результаты исследования сывороток на бруцеллез в РПГА у людей оцениваются следующим образом: титр 1:50 – реакция сомнительная, титр 1:100 и выше – реакция положительная.

**Реакция нейтрализации антител (РНАт)** является модификацией реакции пассивной гемагглютинации и основана на нейтрализации антител специфическим антигеном, находящимся в исследуемом материале. В результате этого специфическая сыворотка лишается способности агглютинировать эритроциты, сенсibilизированные бруцеллезным антигеном. РНАт применяют для обнаружения бруцеллезного антигена в патологическом материале, пищевых продуктах и на объектах внешней среды. При постановке реакции исследуемый материал прогревают в кипящей водяной бане и смешивают с эритроцитарным антигенным бруцеллезным диагностикумом, который применяется в РПГА. При наличии бруцеллезного антигена в исследуемом материале эритроциты выпадают в осадок в виде “пуговки” или маленького колечка – реакция нейтрализации положительная. При отсутствии в материале бруцеллезного антигена антитела склеивают эритроциты – реакция нейтрализации отрицательная. За титр РНАт принимают последнее разведение исследуемого материала, которое вызывает полное подавление гемагглютинации. Результат РНАт считается положительным, если подавление гемагглютинации отмечается не менее чем в первых 2-3 лунках.

Реакция агглютинации на стекле (**пластинчатая реакция Хеддельсона**) является качественной и используется при проведении эпидемиологического

обследования населения в очагах бруцеллеза. При постановке этой реакции на стекло наносят разные дозы испытуемой сыворотки. Затем к сыворотке добавляют антиген, смесь тщательно перемешивают. При положительной реакции с первых же минут наблюдается просветление жидкости и образование хлопьев агглютината. Реакция считается отрицательной в случае отсутствия агглютинации во всех дозах сыворотки.

Наиболее информативной при диагностике бруцеллеза у людей является **реакция Райта**. При острой форме бруцеллеза антитела выявляются на 2-й неделе заболевания, а в дальнейшем их титр нарастает. Наибольшую ценность реакция Райта представляет при острой и подострой форме бруцеллеза. Реакция Райта проводится в пробирках, в которых смешивают разные разведения исследуемой сыворотки с бруцеллезным диагностикумом. Смесь тщательно перемешивают и помещают на 18-20 часов в термостат при температуре 37<sup>0</sup>С. Учет результатов проводят по степени осаждения агглютината и просветления жидкости. Диагностическим считается титр 1:100 и выше.

Для постановки реакций агглютинации Хеддельсона или Райта используют единый бруцеллезный диагностикум – диагностикум бруцеллезный жидкий для реакции агглютинации (рисунок 4.50).



Рисунок 4.50 – Диагностикум бруцеллезный жидкий для реакции агглютинации. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Иммуноферментный анализ (ИФА)** используется в двух вариантах:

- для диагностики разных форм заболевания, а также при эпидемиологическом обследовании населения путем выявления бруцеллезных антител и определения их титра в сыворотке крови;
- для выявления бруцеллезного антигена в объектах внешней среды, пищевых продуктах, а также для идентификации выделенных культур.

При диагностике бруцеллеза и эпидемиологическом обследовании населения применяют диагностическую иммуноферментную тест-систему, предназначенную для определения противобруцеллезных антител. При этом специфические антитела сыворотки крови взаимодействуют с бруцеллезным антигеном (ЛПС), адсорбированным на твердофазном носителе (полистироловом планшете). Образовавшийся комплекс “антиген+антитело” выявляют с помощью конъюгата (антитела против иммуноглобулинов человека, меченные пероксидазой) и субстрата (ортофенилендиамин с перекисью водорода). Результаты реакции оценивают

визуально по появлению желто-оранжевого окрашивания в опытных лунках или с помощью спектрофотометра. Диагностическим титром считается разведение сыворотки более чем 1:400.

Для выявления возбудителя в объектах внешней среды или в пищевых продуктах, а также при идентификации выделенных культур бруцелл применяют иммуноферментную тест-систему для определения бруцеллезного антигена (рисунок 4.51).



Рисунок 4.51 – Тест-система диагностическая для выявления возбудителя бруцеллеза в иммуноферментном анализе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В этом случае выявление бруцеллезного антигена происходит за счет специфического взаимодействия бруцеллезных антител, сорбированных на носителе (планшете), с антигеном, содержащимся в исследуемом материале. Образовавшийся комплекс “антитело+антиген” выявляют с помощью конъюгата (бруцеллезные антитела, меченные пероксидазой) и субстрата (ортофенилендиамин с перекисью водорода). Результаты реакции оценивают визуально по изменению окраски субстрата или с помощью спектрофотометра. Появление желто-оранжевого окрашивания в опытных лунках свидетельствует о наличии в пробе бруцеллезного антигена.

**Антиглобулиновая проба (реакция Кумбса)** используется для диагностики хронических и латентных форм бруцеллеза, когда реакция агглютинации бывает отрицательной или положительной в низких титрах. Эта реакция позволяет выявлять неполные антитела с помощью антиглобулиновой сыворотки.

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР)** используется для выявления ДНК бруцелл в различных материалах: в сыворотке крови, спинномозговой и синовиальной жидкостях. Эта реакция обнаруживает ДНК всех видов бруцелл, в том числе и вакцинных штаммов. Для проведения ПЦР выпускаются специальные тест-системы, в которые включены все необходимые ингредиенты. В основе метода лежит многократное копирование (амплификация) *in vitro* специфического фрагмента ДНК бруцелл. ПЦР позволяет выявлять наличие в исследуемом материале 100-1000 бактериальных клеток.

При отрицательных результатах бактериологических и серологических исследований проводят **внутрикожную аллергическую пробу (пробу Бюрне)**. Эта проба позволяет выявлять гиперчувствительность организма. Сущность пробы заключается в способности организма, зараженного или вакцинированного против бруцеллеза, отвечать местной реакцией (отек, краснота, болезненность) на

внутрикожное введение специфического аллергена. Эта реакция появляется у больных через 3-4 недели от начала заболевания и может сохраняться годами после исчезновения клинических симптомов. Аллергеном для постановки пробы Бюрне служит **бруцеллин**, представляющий собой 0,1%-ный раствор полисахаридно-белкового комплекса, полученного из вакцинного штамма *B. abortus* 19-ВА. Применяется для выявления аллергической перестройки у инфицированных, больных, переболевших и лиц, вакцинированных против бруцеллеза. Вводится в дозе 0,1 мл внутрикожно в сгибательную поверхность предплечья. Реакция оценивается через 24 и 48 часов по размеру отека:

- диаметр отека 1-3 см – реакция слабо положительная;
- отек размером 3-6 см – умеренно выраженная реакция;
- отек более 6 см – сильно выраженная реакция.

Внутрикожное введение аллергена у больного бруцеллезом вызывает развитие местной реакции (отек, гиперемия, болезненность). Отрицательная проба Бюрне позволяет исключить бруцеллез. Положительная реакция Бюрне отмечается у больных и вакцинированных лиц (рисунок 4.52).



Рисунок 4.52 – Внутрикожная аллергическая проба Бюрне при бруцеллезе.  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Таким образом, причинами положительной аллергической пробы Бюрне являются:

- болезнь;
- перенесенное в прошлом заболевание;
- вакцинация против бруцеллеза;
- скрытое инфицирование бруцеллами.

Гиперчувствительность замедленного типа можно выявить *in vitro* с помощью **реакции лизиса лейкоцитов (РЛЛ)**. Эта реакция основана на учете разрушения лейкоцитов сенсibilизированного организма под влиянием специфического антигена. В качестве антигена используется взвесь убитых нагреванием бруцелл. Исследуемую кровь смешивают с антигеном и инкубируют определенное время в термостате. До инкубации и после инкубации подсчитывают количество лейкоцитов в смеси и рассчитывают показатель специфического лизиса лейкоцитов (ПСЛ).

Для выявления возбудителя бруцеллеза в молоке широко применяется кольцевая **проба Банга**. Сущность ее состоит в том, что при наличии в молоке специфических антител происходит их связывание с окрашенным бруцеллезным антигеном и образование окрашенного кольца. При постановке этой пробы в молоко

вносят взвесь убитых бруцелл, окрашенных гематоксилином. Смесь выдерживают при 37-38<sup>0</sup>С в течение 1 часа и учитывают результаты. При наличии в молоке специфических антител происходит преципитация бактерий и образование темно-синего кольца. При отсутствии антител молоко гомогенно окрашивается в синий цвет (рисунок 4.53).



Рисунок 4.53 – Положительная кольцевая проба Банга на бруцеллез (синее кольцо на поверхности). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Кольцевая проба Банга используется для проверки благополучия стада по бруцеллезу крупного рогатого скота и при исследовании молока на наличие бруцелл. Необходимо учитывать, что молоко вакцинированных коров дает положительную реакцию.

**Лечение.** Для лечения бруцеллеза применяют антибиотики – тетрациклины (тетрациклин, доксициклин), аминогликозиды (стрептомицин, гентамицин), левомицетин, макролиды (эритромицин), рифампицин, фторхинолоны (ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин). Эти антибиотики обладают высокой антимикробной активностью (рисунок 4.54).



Рисунок 4.54 – Активность тетрациклина и рифампицина в отношении бруцелл. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Лечение проводится путем одновременного использования 2-3 антибиотиков, в том числе препаратов, проникающих внутриклеточно (бисептол, нетилмицин). Хороший эффект достигается при использовании фторхинолонов одновременно с доксициклином или нетилмицином. Этиотропная терапия осуществляется курсами (2-3 курса) по 10-12 дней с перерывами в 7-10 дней между курсами с периодической сменой антибиотиков.

Наряду с антибиотиками применяют противовоспалительные, десенсибилизирующие и симптоматические средства, стимуляторы иммунитета. При хронической форме бруцеллеза для стимулирования клеточных иммунных реакций используют взвесь убитых бруцелл (лечебную вакцину) или химическую бруцеллезную вакцину (рисунок 4.55).

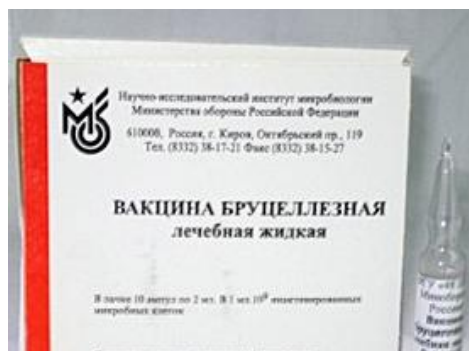


Рисунок 4.55 – Вакцина бруцеллезная инактивированная лечебная жидкая. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Бруцеллезная лечебная вакцина содержит убитые нагреванием бруцеллы коровьего и овечьего видов. Препарат предназначен для лечения больных с подострым и хроническим бруцеллезом в состоянии де- и субкомпенсации. Лечебную вакцину чаще всего вводят подкожно или внутривенно первоначально в дозе 10-50 млн. микробных клеток, постепенно увеличивая дозу до 1-5 млрд. микробных клеток.

Для предупреждения рецидивов рекомендуют применять противобруцеллезный гамма-глобулин.

**Иммунитет** при бруцеллезе непродолжительный, сохраняется в течение 6-9 месяцев. Возможны повторные случаи заболевания.

**Профилактика** бруцеллеза у людей проводится в соответствии с МУ 3.1.7.1189-03 “Профилактика и лабораторная диагностика бруцеллеза людей” и включает комплекс мероприятий, проводимых совместно медицинскими и ветеринарными специалистами:

- защита людей от инфицирования;
- специфическая вакцинопрофилактика бруцеллеза у людей и животных;
- профилактические осмотры лиц, занятых в работах, связанных с риском инфицирования;
- санитарно-просветительная работа.

Защита людей от инфицирования возбудителем бруцеллеза осуществляется путем обеспечения необходимого санитарно-гигиенического состояния хозяйств и перерабатывающих предприятий, соблюдения режимов дезинфекции, правил переработки и использования продовольственного сырья из хозяйств, неблагополучных по бруцеллезу. Большое значение имеет соблюдение работниками, связанными с риском инфицирования, гигиенических мероприятий, правил использования средств индивидуальной защиты.

В качестве специфического метода профилактики в населенных пунктах, неблагополучных по бруцеллезу козье-овечьего вида, производят иммунизацию

живой вакциной лиц, связанных с риском инфицирования. В эндемичных очагах козье-овечьего бруцеллёза применяют живую сухую вакцину из штамма *B. abortus* 19-ВА, выделенного Буком (Buck) в 1925 г. из молока коровы. В процессе десятилетнего пассирования на картофельном агаре культура штамма 19-ВА спонтанно снизила вирулентность (рисунок 4.56).



Рисунок 4.56 – Бруцеллезная живая вакцина. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Вакцинация проводится однократно накожно или внутривожно. При отрицательной кожной пробе и отсутствии антител проводят ревакцинацию через 12 месяцев. Вакцина обладает реактогенностью. Профилактические прививки имеют короткий период действия – около 2 лет. Вакцинации подвергаются также сотрудники бактериологических лабораторий, работающие с живыми культурами бруцелл и с зараженными животными. В районах, свободных от бруцеллеза козье-овечьего вида, иммунизацию персонала хозяйств, неблагополучных по бруцеллезу, вызванному *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, не проводят.

Лица, имеющие по характеру работы риск заражения бруцеллезом, подвергаются обязательным диспансерным профилактическим осмотрам при поступлении на работу и в последующем не реже 1 раза в год. К этой категории относятся работники животноводческих хозяйств, неблагополучных по бруцеллезу, работники предприятий по переработке сырья и продуктов животноводства, поступающих из неблагополучных районов, медицинский, ветеринарный, зоотехнический персонал, работающий с культурами бруцелл, инфицированным материалом, зараженными животными.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Расскажите об истории открытия возбудителей бруцеллеза.
2. Расскажите о таксономическом положении бруцелл.
3. Назовите виды бруцелл и охарактеризуйте их патогенность.
4. Охарактеризуйте морфологические и тинкториальные свойства бруцелл.
5. Дайте характеристику культуральных свойств бруцелл.
6. Расскажите о биохимических особенностях бруцелл.
7. Какие антигены присущи бруцеллам?

8. Расскажите о резистентности бруцелл.
9. Каким путем происходит заражение человека бруцеллезом?
10. Что способствует заражению человека бруцеллезом?
11. Расскажите о факторах патогенности бруцелл.
12. Охарактеризуйте фазы патогенеза бруцеллеза.
13. Как клинически проявляется бруцеллез?
14. Назовите принципы и методы лабораторной диагностики бруцеллеза.
15. Какие методы используются для диагностики бруцеллеза?
16. В чем заключается бактериологическая диагностика бруцеллеза?
17. Охарактеризуйте биологический метод диагностики бруцеллеза.
18. Какие серологические реакции и с какой целью используются при диагностике бруцеллеза?
19. В чем заключается аллергическая проба, применяемая при диагностике бруцеллеза?
20. Охарактеризуйте развитие иммунитета и аллергии при бруцеллезе.
21. Расскажите о принципах лечения бруцеллеза.
22. Лечение хронического бруцеллеза.
23. Расскажите о профилактике бруцеллеза.

### Тренировочные тесты

1. Впервые обнаружил и выделил чистую культуру возбудителя бруцеллеза (один правильный ответ):
  - 1.1 Л. Пастер
  - 1.2 Р. Кох
  - 1.3 Д. Брюс
  - 1.4 Э. Бюрне
  - 1.5 Б. Банг
2. Впервые обнаружили возбудителя бруцеллеза коров (один правильный ответ):
  - 2.1 Д. Брюс
  - 2.2 Б. Банг и В. Стрибольт
  - 2.3 Ф. Гутира и Д. Траум
  - 2.4 Э. Бюрне
  - 2.5 Л. Пастер
3. Впервые обнаружили возбудителя бруцеллеза свиней (один правильный ответ):
  - 3.1 Д. Брюс
  - 3.2 Б. Банг и В. Стрибольт
  - 3.3 Ф. Гутира и Д. Траум
  - 3.4 Э. Бюрне
  - 3.5 Л. Пастер
4. Для диагностики бруцеллеза реакцию агглютинации предложил (один правильный ответ):
  - 4.1 Д. Брюс



- 4.2 А. Райт
- 4.3 Б. Банг
- 4.4 Д. Траум
- 4.5 Ф. Гутира

5. Для диагностики бруцеллеза внутрикожную аллергическую пробу предложил (один правильный ответ):

- 5.1 Д. Брюс
- 5.2 Э. Бюрне
- 5.3 Б. Банг
- 5.4 Д. Траум
- 5.5 Ф. Гутира

6. Возбудители бруцеллеза (несколько правильных ответов):

- 6.1 *B. melitensis*
- 6.2 *B. abortus*
- 6.3 *B. suis*
- 6.4 *B. ovis*
- 6.5 *B. anthracis*

7. Наиболее вирулентной для человека является (один правильный ответ):

- 7.1 *Brucella canis*
- 7.2 *Brucella suis*
- 7.3 *Brucella melitensis*
- 7.4 *Brucella neotomae*
- 7.5 *Brucella abortus*

8. Для бруцелл характерно (один правильный ответ):

- 8.1 грамотрицательные подвижные палочки
- 8.2 грамотрицательные неподвижные палочки
- 8.3 грамположительные неподвижные палочки
- 8.4 грамположительные спорообразующие палочки
- 8.5 извитые бактерии

9. Типичная морфология бруцелл (один правильный ответ):

- 9.1 длинные палочки
- 9.2 извитая форма
- 9.3 коккобактерии
- 9.4 “теннисная ракетка”
- 9.5 спирохеты

10. Морфологически бруцеллы представляют собой (один правильный ответ):

- 10.1 кокки
- 10.2 коккобактерии
- 10.3 извитые формы
- 10.4 стрептококки

## 10.5 микрококки

11. Бруцеллы способны расти на (один правильный ответ):

- 11.1 сывороточном агаре с глюкозой
- 11.2 кровяном агаре
- 11.3 печеночном агаре
- 11.4 мясо-пептонном агаре
- 11.5 среде Китта-Тароцци

12. Бруцеллы на питательном агаре образуют колонии (один правильный ответ):

- 12.1 бесцветные с перламутровым блеском
- 12.2 бесцветные, мелкие, прозрачные
- 12.3 пигментированные, S-формы, крупные
- 12.4 крупные ярко-желтого цвета
- 12.5 крупные ярко-красного цвета

13. Фактор патогенности бруцелл (один правильный ответ):

- 13.1 анатоксин
- 13.2 тейхоевая кислота
- 13.3 эндотоксин
- 13.4 экзотоксин
- 13.5 муциназа

14. Бруцеллы являются (один правильный ответ):

- 14.1 облигатными анаэробами
- 14.2 строгими аэробами
- 14.3 факультативными анаэробами
- 14.4 микроаэрофилами
- 14.5 спорообразующими анаэробами

15. Для бруцелл характерно (несколько правильных ответов):

- 15.1 строгие анаэробы
- 15.2 строгие аэробы
- 15.3 температурный оптимум 37<sup>0</sup>С
- 15.4 оптимум рН 6,6-7,4
- 15.5 отдельные виды отзывчивы на повышенное содержание СО<sub>2</sub>

16. Для культивирования бруцелл используют (один правильный ответ):

- 16.1 среду Эндо
- 16.2 эритрит-агар
- 16.3 среду Китта-Тароцци
- 16.4 среду Плоскирева
- 16.5 среду Левина

17. Для патогенеза бруцеллеза характерно (несколько правильных ответов):

- 17.1 захват микробных клеток макрофагами

- 17.2 лимфогенное распространение
- 17.3 гематогенное распространение
- 17.4 аллергическая перестройка организма
- 17.5 хронизация процесса

18. Источником инфекции при бруцеллезе являются (один правильный ответ):

- 18.1 больные люди
- 18.2 бактерионосители
- 18.3 почва
- 18.4 больные животные
- 18.5 птицы

19. Заражение человека бруцеллезом происходит путем (несколько правильных ответов):

- 19.1 трансмиссивным
- 19.2 алиментарным
- 19.3 контактно-бытовым
- 19.4 водным
- 19.5 воздушно-капельным

20. Для бруцеллеза не характерны следующие пути передачи возбудителя (несколько правильных ответов):

- 20.1 алиментарный
- 20.2 контактно-бытовой
- 20.3 половой
- 20.4 воздушно-капельный
- 20.5 трансмиссивный

21. Пути заражения при бруцеллезе (один правильный ответ):

- 21.1 алиментарный, контактный
- 21.2 половой, алиментарный
- 21.3 воздушно-капельный, контактный
- 21.4 трансплацентарный, половой
- 21.5 трансмиссивный, алиментарный

22. Заражение при бруцеллезе невозможно от (один правильный ответ):

- 22.1 северных оленей
- 22.2 больных людей
- 22.3 свиней
- 22.4 крупного рогатого скота
- 22.5 овец, коз

23. Факторы передачи при бруцеллезе (несколько правильных ответов):

- 23.1 мясо
- 23.2 сырое молоко
- 23.3 выделения больных животных

23.4 кипяченое молоко

23.5 брынза, масло

24. Источником инфекции при бруцеллезе являются (один правильный ответ):

24.1 бактерионосители

24.2 сыры, брынза

24.3 больные животные

24.4 больные люди

24.5 сырое молоко

25. Источником инфекции при бруцеллезе не могут быть (один правильный ответ):

25.1 крупный рогатый скот

25.2 мелкий рогатый скот

25.3 люди

25.4 свиньи

25.5 олени

26. К группе профессионального риска при бруцеллезе относятся (несколько правильных ответов):

26.1 работники животноводческих предприятий

26.2 работники мясокомбинатов

26.3 работники детских дошкольных учреждений

26.4 работники баклабораторий

26.5 охотники

27. Факторами патогенности бруцелл являются (несколько правильных ответов):

27.1 экзотоксин

27.2 гиалуронидаза

27.3 нейраминидаза

27.4 эндотоксин

27.5 жгутики

28. Для бруцеллеза характерно (несколько правильных ответов):

28.1 лихорадка с ознобом и проливным потом

28.2 преимущественное поражение нервной системы, опорно-двигательного аппарата и половой системы

28.3 увеличение печени, селезенки и розеолезная сыпь

28.4 анемия, увеличение печени и селезенки

28.5 менингоэнцефалит, розеолезно-петехиальная сыпь

29. При бруцеллезе реже всего поражается (несколько правильных ответов):

29.1 опорно-двигательная система

29.2 нервная система

29.3 дыхательная система

29.4 сердечно-сосудистая система

29.5 репродуктивная система

30. Для бруцеллеза характерна (один правильный ответ):

- 30.1 высокая смертность
- 30.2 пандемичность
- 30.3 высокая инвалидизация
- 30.4 отсутствие разработанных схем лечения
- 30.5 молниеносное развитие заболевания

31. Клиника бруцеллеза определяется (несколько правильных ответов):

- 31.1 аллергизацией организма
- 31.2 интоксикацией
- 31.3 незавершенным фагоцитозом
- 31.4 поражением нервной системы
- 31.5 поражением опорно-двигательной системы

32. В диагностике бруцеллеза используются методы (несколько правильных ответов):

- 32.1 инструментальный
- 32.2 вирусологический
- 32.3 бактериологический
- 32.4 серологический
- 32.5 кожно-аллергический

33. При диагностике бруцеллеза используют аллергическую пробу (один правильный ответ):

- 33.1 Манту
- 33.2 Бюрне
- 33.3 Пирке
- 33.4 Шика
- 33.5 Дика

34. В обычных лабораториях основным методом диагностики бруцеллеза является (один правильный ответ):

- 34.1 бактериологический
- 34.2 биологический
- 34.3 аллергический
- 34.4 микроскопический
- 34.5 культуральный

35. Для микробиологической диагностики бруцеллеза используют методы (несколько правильных ответов):

- 35.1 бактериологический
- 35.2 биологический
- 35.3 серологический
- 35.4 аллергический
- 35.5 вирусологический

36. Для серодиагностики бруцеллеза применяют (несколько правильных ответов):
- 36.1 РИФн
  - 36.2 РА Райта
  - 36.3 РА Хеддельсона
  - 36.4 РСК
  - 36.5 РП
37. Диагностический титр РА Райта при диагностике бруцеллеза (один правильный ответ):
- 37.1 1:50
  - 37.2 1:100
  - 37.3 1:200
  - 37.4 1:400
  - 37.5 1:800
38. С помощью пробы Бюрне определяют (один правильный ответ):
- 38.1 аллергическую перестройку организма
  - 38.2 видовую принадлежность бруцелл
  - 38.3 напряженность гуморального иммунитета
  - 38.4 антигенную структуру бруцелл
  - 38.5 неполные антитела
39. Для выявления неполных антител при бруцеллезе используют реакцию (один правильный ответ):
- 39.1 Райта
  - 39.2 Хеддельсона
  - 39.3 РИФн
  - 39.4 Кумбса
  - 39.5 РНГА
40. Микробиологическая диагностика бруцеллеза включает (несколько правильных ответов):
- 40.1 посев крови в среду накопления
  - 40.2 заражение лабораторных животных
  - 40.3 постановку кожно-аллергической пробы
  - 40.4 микроскопию материала от больного
  - 40.5 посев мочи в среду накопления
41. Для пробы Бюрне используют (один правильный ответ):
- 41.1 люминесцентную сыворотку
  - 41.2 бруцеллин
  - 41.3 агглютинирующую сыворотку
  - 41.4 иммуноглобулин
  - 41.5 бруцеллезный диагностикум

42. Для определения антител в сыворотке крови больного бруцеллезом не используют реакции (один правильный ответ):

- 42.1 агглютинации
- 42.2 пассивной гемагглютинации
- 42.3 связывания комплемента
- 42.4 коаггутинации
- 42.5 опсоно-фагоцитарную

43. Для обнаружения бруцеллезных антигенов в сыворотке крови больного не используют реакции (один правильный ответ):

- 43.1 агрегат-гемагглютинации
- 43.2 коаггутинации
- 43.3 опсоно-фагоцитарную
- 43.4 иммуноферментный анализ
- 43.5 реакцию нейтрализации антител

44. Реакция Хеддельсона – это реакция (один правильный ответ):

- 44.1 опсоно-фагоцитарная
- 44.2 агглютинации на стекле
- 44.3 кольцепреципитации
- 44.4 связывания комплемента
- 44.5 агглютинации в пробирке

45. Реакцию Райта ставят с целью (один правильный ответ):

- 45.1 определения бруцеллезных антигенов в сыворотке крови больного
- 45.2 определения бруцеллезных антител в сыворотке крови больного
- 45.3 аллергической диагностики бруцеллеза
- 45.4 отбора лиц, подлежащих вакцинации против бруцеллеза
- 45.5 определения завершенности фагоцитоза

46. Серологическую диагностику бруцеллеза начинают проводить от начала заболевания на (один правильный ответ):

- 46.1 3-5 день
- 46.2 7-8 день
- 46.3 10-12 день
- 46.4 3 неделе
- 46.5 4 неделе

47. С помощью реакции Кумбса определяют (один правильный ответ):

- 47.1 завершенность фагоцитоза
- 47.2 опсонины
- 47.3 преципитины
- 47.4 неполные антитела
- 47.5 полные антитела

48. Специфическая профилактика при бруцеллезе проводится (один правильный ответ):

- 48.1 живой вакциной EV
- 48.2 живой вакциной СТИ
- 48.3 живой вакциной Гайского-Эльберта
- 48.4 живой вакциной 19-ВА
- 48.5 иммуноглобулином

49. Какой препарат используют для специфической профилактики бруцеллеза (один правильный ответ):

- 49.1 живую вакцину из штамма EV
- 49.2 вакцину СТИ
- 49.3 вакцину из штамма *B.abortus* 19-ВА
- 49.4 аутовакцину
- 49.5 убитую вакцину

50. Основная мера предупреждения заболевания бруцеллезом (один правильный ответ):

- 50.1 всеобщая вакцинация людей
- 50.2 выведение генетически устойчивых животных
- 50.3 санэпиднадзор на молокозаводах, мясокомбинатах и в животноводстве
- 50.4 пастеризация продуктов
- 50.5 контроль водоснабжения

Правильные ответы: 1.3; 2.2; 3.3; 4.2; 5.2; 6.1, 6.2, 6.3, 6.4; 7.3; 8.2, 9.3; 10.2; 11.3; 12.1; 13.3; 14.2; 15.2, 15.3, 15.4, 15.5; 16.2; 17.1, 17.2, 17.3, 17.4, 17.5; 18.4; 19.2, 19.3, 19.5; 20.3, 20.5; 21.1; 22.2; 23.1, 23.2, 23.3, 23.5; 24.3; 25.3; 26.1, 26.2, 26.4; 27.2, 27.3, 27.4; 28.1, 28.2; 29.3, 29.4; 30.3; 31.1, 31.2, 31.3, 31.4, 31.5; 32.3, 32.4, 32.5; 33.2; 34.3; 35.1, 35.2, 35.3, 35.4; 36.1, 36.2, 36.3, 36.4; 37.3; 38.1; 39.4; 40.1, 40.2, 40.3, 40.5; 41.2; 42.4; 43.3; 44.2; 45.2; 46.3; 47.4; 48.4; 49.3; 50.3.



### 4.3. Франциселлы

**Историческая справка.** В 1910 г. сотрудники Калифорнийской противочумной станции Джордж Мак-Кой (G. W. McCoy, 1876-1952 гг.) и Чарльз Чепин (C. W. Chapin, род. в 1877 г.) обратили внимание на бубоны, похожие на чумные, у калифорнийских сусликов (земляных белок), обитающих вблизи озера Туляре в штате Калифорния на западном побережье США (рисунок 4.57).



Рисунок 4.57 – А – штат Калифорния; Б - земляная белка - калифорнийский суслик. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Подобные заболевания под названиями малая чума, кроличья лихорадка, мышьяная болезнь, оленья лихорадка отмечались и у других животных. Попытки выделить чумной микроб при этих заболеваниях не увенчались успехом, но в 1912 г. из органов погибших сусликов Д. Мак-Кой и Ч. Чепин выделили возбудителя новой болезни. В процессе изучения возбудителя Ч. Чепин и два его сотрудника заболели, что послужило доказательством опасности этого возбудителя для человека. В 1921 г. американский бактериолог Э. Френсис (рисунок 4.58) установил возможность передачи возбудителя заболевания от грызунов человеку контактным путем и кровососущими членистоногими. По названию местности, где впервые был выделен возбудитель, Э. Френсис предложил называть это заболевание туляремией.

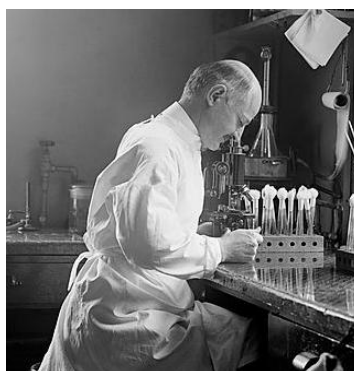


Рисунок 4.58 - Эдвард Фрэнсис (Edward Francis, 1872 – 1957 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1925 г. японский врач Х. Охара (H. Ohara, 1882-1943 гг.) описал у кроликов так называемую заячью болезнь (болезнь Охари). Из воспаленного и увеличенного лимфатического узла женщины, ухаживавшей за кроликами, был выделен микроорганизм, получивший название кокк Охари. В 1928 г. Э. Фрэнсис установил тождественность выделенного им возбудителя (*Bacterium tularensis*) и кокка Охари. Позднее возбудитель получил наименование *Francisella tularensis* в честь первооткрывателя Э. Фрэнсиса и по названию озера Туляре.

**Туляремия** – это острое или хроническое природно-очаговое заболевание человека и животных, проявляющееся лихорадкой, интоксикацией, увеличением лимфатических узлов и поражением различных органов. Туляремия распространена во многих странах мира. В России туляремию впервые описали врачи астраханской противочумной станции С.В. Суворов, А.А. Вольферц и М.М. Воронкова в 1926 г. в низовьях реки Волги у Астрахани во время вспышки этого заболевания среди охотников за водяными крысами. Диагноз был подтвержден выделением от больных людей чистой культуры возбудителя.

В изучение туляремии в нашей стране большой вклад внесли Е.Н. Павловский, Н.Г. Олсуфьев, Н.А. Гайский, Б.Я. Эльберт и многие другие ученые. В частности, Е.Н. Павловский разработал учение о природной очаговости инфекционных заболеваний, в том числе туляремии, а Н.Г. Олсуфьев провел комплексное обследование очагов туляремии в разных зонах бывшего СССР, определил роль млекопитающих и переносчиков в распространении возбудителя инфекции (рисунок 4.59).



Рисунок 4.59 – А - Евгений Никанорович Павловский (1884 – 1965 гг.); Б - Николай Григорьевич Олсуфьев (1905-1988 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Н.А. Гайский и Б.Я. Эльберт (рисунок 4.60) разработали вакцину против туляремии.



## А Б

Рисунок 4.60 – А - Николай Акимович Гайский (1884-1947 гг.); Б - Борис Яковлевич Эльберт (1890-1963 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Таксономическое положение.** Возбудитель туляремии (*Francisella tularensis*) относится к царству *Bacteria*, типу *Proteobacteria*, классу *Gammaproteobacteria*, порядку *Thiotrichales*, семейству *Francisellaceae*, роду *Francisella*. Род *Francisella* включает 6 видов: *F. tularensis*, *F. hispaniensis*, *F. novicida*, *F. noatunensis*, *F. philomiragia*, *F. piscicida*. В пределах вида *F. tularensis* различают четыре подвида или географические расы: *F. tularensis subsp. holarctica*, *F. tularensis subsp. mediasiatica*, *F. tularensis subsp. novicida*, *F. tularensis subsp. tularensis (nearctica)*. Патогенными для человека являются подвиды неарктический, голарктический и среднеазиатский. Эти подвиды отличаются некоторыми биологическими особенностями. Четвертый подвид (*F. tularensis subsp. novicida*) считается условно патогенным для человека, отмечены единичные случаи выделения этого подвида от людей со сниженным иммунитетом.

**Неарктическая** (американская) разновидность (тип А или подвид *tularensis (nearctica)* – *F. tularensis subsp. tularensis*) является высоко патогенной, ферментирует глицерин и содержит фермент цитруллинуреидазу. Этот подвид распространен в Северной Америке.

**Голарктическая** (европейско-азиатская) разновидность туляремийного микроба (тип В или подвид *holarctica* – *F. tularensis subsp. holarctica*) является умеренно патогенной, не ферментирует глицерин и не продуцирует цитруллинуреидазу. Этот подтип регистрируется в Европе и Азии и включает 3 биологических варианта: японский биовар, биовар I (эритромицин-чувствительный - Ery S) и биовар II (эритромицин-резистентный - Ery R). Биовар *japonica* голарктической разновидности выделен в Японии, бактерии этого варианта ферментируют глицерин. Биовар I распространен в Старом и Новом свете. Биовар II выделяется в некоторых регионах Европы и Азии.

**Среднеазиатская** разновидность (подвид *mediasiatica* – *F. tularensis subsp. mediasiatica*) туляремийного микроба является мало патогенной, ферментирует глицерин, содержит цитруллинуреидазу. Этот подвид вызывает заболевания в Средней Азии в дельтах рек Или и Аму-Дарья.

Таксономическое положение *F. novicida* остается неопределенным.

На территории России распространен голарктический подвид с биоварами эритромицин-чувствительный и эритромицин-резистентный.

Наибольшей вирулентностью для человека обладает североамериканский подвид *tularensis (nearctica)*, менее вирулентными являются штаммы подвида *holarctica*, а штаммы подвида *mediasiatica* способны вызывать заболевания в единичных случаях.

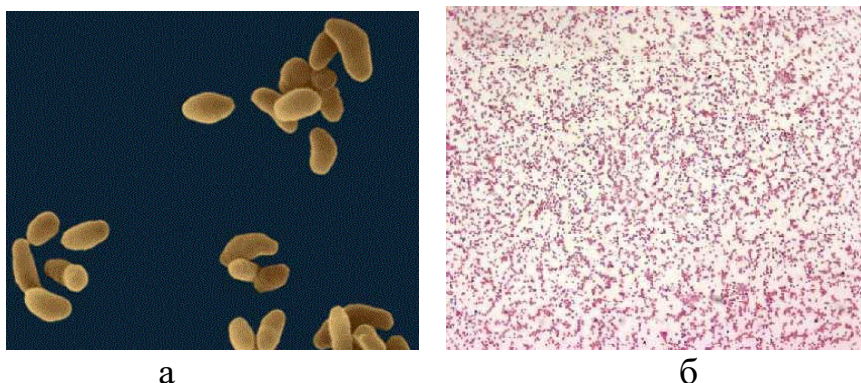
Сравнительная характеристика подвидов *F. tularensis* представлена в таблице 4.5.

Таблица 4.5 - Сравнительная характеристика подвидов *F. tularensis*

Признак	Подвиды <i>F. tularensis</i>			
	<i>tularensis</i>	<i>holarctica</i>	<i>mediasiatica</i>	<i>novicida</i>

Распространение	Северная Америка	Северное полушарие	Казахстан, Узбекистан	Северная Америка
Вирулентность для людей (ЛД <sub>50</sub> ), количество микробных клеток	10 и менее	1000 и менее	Нет данных	Более 1000
Рост на среде с цистеином	+	+	+	-
β-лактамазная активность	+	+	-	+
Ферментация сахарозы	-	-	-	+
Ферментация глицерина	+	-	+	+
Продукция цитруллинуреидазы	+	-	+	+

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Возбудитель туляремии представляет собой мелкие грамотрицательные палочки (коккобациллы) размером 0,3-0,7 мкм в длину и 0,2-0,4 мкм в ширину (рисунок 4.61).

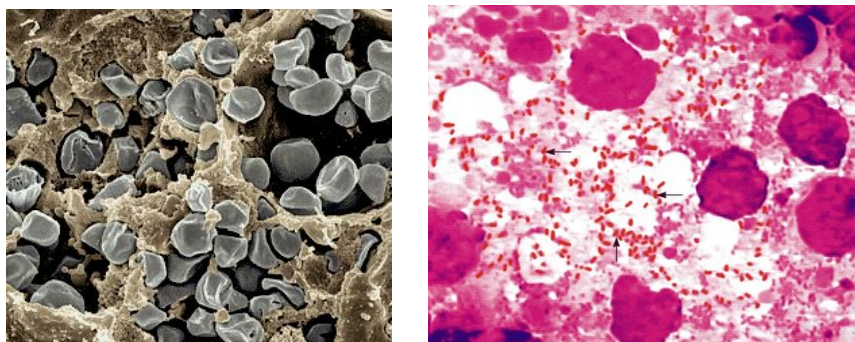


а

б

Рисунок 4.61 - Клетки туляремиального микроба: а – сканирующая электронная микроскопия, компьютерная визуализация, б – окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В мазках из культур доминируют кокковидные формы, в мазках из органов - палочковидные (рисунок 4.62).



а

б

Рисунок 4.62 – а - *F. tularensis* в тканях (микрофотография, компьютерная визуализация); б - *F. tularensis* (указано стрелками) в отпечатке из селезенки, окраска по Романовскому-Гимзе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При электронной микроскопии клеток обнаруживается гранулярная цитоплазма и центрально расположенный нуклеоид (рисунок 4.63).

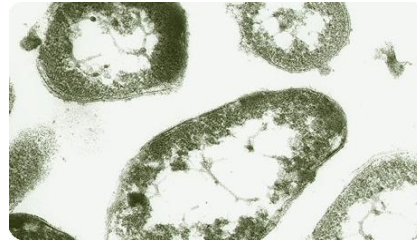


Рисунок 4.63 – Электронная микрофотография возбудителя туляремии.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Микроб неподвижен, спор не образует, синтезирует капсулу (особенно в организме животных).

Основным компонентом внешней мембраны вирулентных клеток туляремийного микроба является S-форма ЛПС, состоящая из O-полисахарида (O-антигена), присоединенного к липиду А через олигосахарид кора. Фазовые вариации липида А влияют на способность туляремийного микроба к внутриклеточному существованию и размножению. ЛПС туляремийного микроба не способен связываться с ЛПС-связывающим белком и рецептором TLR4 на макрофагах. O-антиген играет важную роль во внутриклеточном выживании туляремийного микроба. В отличие от ЛПС других грамотрицательных бактерий ЛПС туляремийного микроба не обладает токсичностью и не индуцирует синтез провоспалительных цитокинов. Для авирулентных штаммов характерен синтез R-ЛПС без O-цепей.

**Культуральные свойства.** Возбудитель туляремии не растет на простых питательных средах, что является одним из дифференциально-диагностических признаков. Для его культивирования применяют среды, содержащие яичный желток, кровь, витамины, цистин, цистеин, тиамин, экстракты органов и тканей животных. Для выращивания туляремийного микроба используют свернутую желточную среду Мак-Коя, полужидкую среду с кровью Емельяновой, среду Фрэнсиса, полужидкую желточную среду Дрожевкиной, FT-агар. На желточных средах и средах с кровью вирулентные штаммы туляремийного микроба формируют блестящие выпуклые небольшие колонии (1-2 мм) с ровными краями S-формы молочно-белого цвета с голубоватым оттенком (рисунок 4.64).



Рисунок 4.64 - Колонии туляремийного микроба на плотной питательной среде.

Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Возбудитель туляремии является факультативным анаэробом, температурный оптимум составляет 36-38°C, рН 6,8-7,4. Посевы выдерживают в термостате от 2 до 14 суток.

В жидких питательных средах туляремийный микроб растет только на поверхности среды и значительно хуже, чем на плотных средах. Бактерия хорошо размножается также в желточном мешке развивающегося куриного эмбриона.

**Биохимические свойства.** Туляремийный микроб не обладает выраженной биохимической активностью. Способность разлагать углеводы и спирты у этого микроба выявляется лишь на специальных плотных средах с пониженным содержанием белка и с определенным значением рН. Среда Гисса для этой цели непригодна. Бактерия ферментирует с образованием кислоты без газа глюкозу и мальтозу. В некоторых случаях микроб ферментирует левулезу и маннозу. Другие углеводы туляремийный микроб не ферментирует. Образует сероводород и индол, редуцирует тионин, метиленовый голубой, малахитовый зеленый.

**Антигенная структура.** Вирулентные штаммы возбудителя туляремии (S-форма колоний) имеют два антигенных комплекса, локализованных на поверхности клетки. **Vi-антиген** является вариантом капсульного антигена, он содержит липиды и белки. **O-антиген** располагается в клеточной стенке и представляет собой термостабильный гликопротеин. Эти антигены вызывают образование агглютинирующих, преципитирующих и комплементсвязывающих антител, а также участвуют в развитии гиперчувствительности замедленного типа. Антигены возбудителя туляремии родственны антигенам возбудителей чумы и бруцеллеза, поэтому возможны перекрестные серологические реакции, что необходимо учитывать при иммунологических исследованиях.

Культуры в R-форме утрачивают Vi-антиген и содержат только O-антиген, поэтому они авирулентны и лишены иммуногенных свойств. Полная потеря вирулентности сопровождается утратой иммуногенных свойств, поэтому у вакцинных штаммов туляремийных бактерий сохраняется "остаточная вирулентность" для белых мышей.

**Резистентность.** Возбудитель туляремии в воде и влажной почве при 4°C сохраняется без снижения вирулентности свыше 4 месяцев, в воде при 20-25°C - 10-15 суток, в зерне и соломе при температуре ниже 0°C - до 6 месяцев, при 8-12°C - 56 суток, при 20-30°C - не более 20 суток, в речной воде при температуре 10°C - до 9 месяцев. Возбудитель туляремии неустойчив к высоким температурам - при 60°C погибает через 5-10 минут, при кипячении - через 1-2 минуты. К низким температурам возбудитель малочувствителен и выживает при минус 30°C, в замороженном мясе сохраняется до 93 дней, в молоке и сливках при 8-10°C - не менее 3 недель, в замороженном молоке - до 104 суток. В трупах грызунов возбудитель сохраняется до 90 суток. В замороженных трупах животных, павших от туляремии, возбудитель сохраняется до 8 месяцев, в их шкурах при 8-12°C - более месяца, при 32-33°C - 1 неделю. Прямые солнечные лучи убивают возбудителя через 30 минут. Микроб устойчив к высушиванию.

Для дезинфекции эффективны растворы обычных дезинфицирующих веществ в принятых концентрациях. Особенно чувствителен возбудитель к этиловому спирту (погибает через 0,5-1 минуту). От 3% растворов лизола, крезола и формалина туляремийные бактерии погибают в течение нескольких минут. Возбудитель чувствителен *in vitro* ко многим антибиотикам – аминогликозидам (стрептомицину, гентамицину, неомицину, канамицину), тетрациклинам (доксциклину, миноциклину), макролидам (эритромицину), фениколам (левомецетину), рифампицинам, фторхинолонам (офлоксацину, ципрофлоксацину). Вместе с тем возбудитель устойчив к пенициллину.

**Экология возбудителя.** Туляремия является природно-очаговой зоонозной инфекцией, возбудитель способен циркулировать среди животных в очаге инфекции длительное время. Природная очаговость заболевания поддерживается дикими грызунами и кровососущими членистоногими. В природных очагах естественными **носителями** (резервуаром) возбудителя туляремии являются зайцы, кролики, водяные крысы, полевки, среди которых периодически возникают эпизоотии и от которых заражаются синантропные мышевидные грызуны (рисунок 4.65).



Рисунок 4.65 - Резервуар возбудителя туляремии в природе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Инфицированные грызуны сохраняют возбудителя в крови с момента развития септицемии до гибели животного. К туляремийному микробу восприимчивы серые крысы, лесные и домовые мыши, суслики, бурундуки, хомяки, песчанки, кроты, землеройки. Из домашних животных к возбудителю туляремии чувствительны овцы, кошки, собаки, свиньи; из лабораторных животных - морские свинки и белые мыши. Возбудитель туляремии приспособился более чем к 140 видам позвоночных и 100 видам кровососущих членистоногих, способных передавать возбудителя.

**Переносчиками** инфекции являются кровососущие членистоногие. Наибольшее эпидемиологическое значение из переносчиков имеют слепни, клещи, комары (рисунок 4.66).

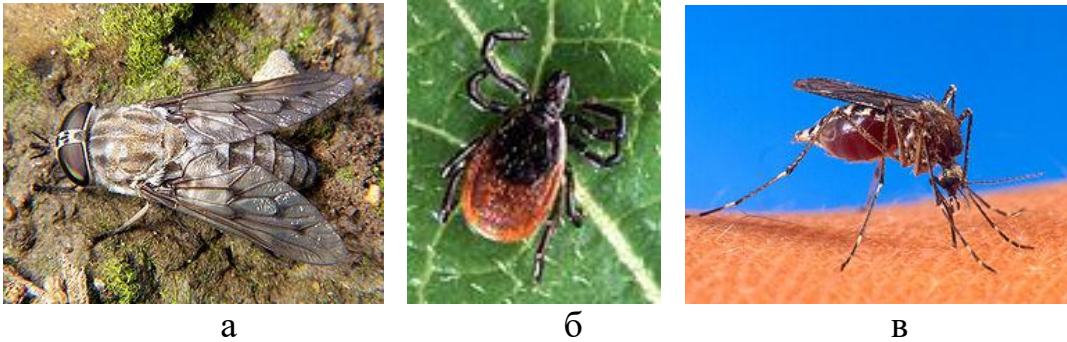


Рисунок 4.66 - Переносчики туляреминого микроба: а – слепень, б – клещ, в – комар. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

По степени чувствительности к возбудителю туляремии выделяют три группы животных.

Первая группа – высоковосприимчивые и высокочувствительные млекопитающие: мелкие мышевидные грызуны, полевки, водяные крысы, хомяки, песчанки, домовые мыши, землеройки, зайцы. У этих животных заболевание протекает по типу острой септицемии при минимальной заражающей дозе. При этом возбудитель в большом количестве выделяется с мочой и калом. Животные погибают на 6-10-й день после инфицирования. Внутренние органы и кровь павших животных содержат большое количество возбудителя.

Вторая группа – высоковосприимчивые, но малочувствительные млекопитающие (суслики, серые и черные крысы, белки, ежи). Инфекционный процесс у них часто заканчивается выздоровлением. Отмечается умеренное обсеменение бактериями паренхиматозных органов и крови.

Третья группа – маловосприимчивые и нечувствительные млекопитающие (хищные млекопитающие и сельскохозяйственные животные - кошки, собаки, волки, енотовидные собаки, лисицы, хорьки). У них болезнь даже при заражении большими дозами возбудителя протекает без видимых клинических проявлений.

Туляремия у сельскохозяйственных животных возникает sporadически и также протекает без видимых клинических проявлений. Заражение происходит с инфицированными кормами и водой, воздушно-капельным путем, а также в результате укусов кровососущих членистоногих. Туляремия чаще проявляется в весенне-осенний период года, что связано с миграцией грызунов, трансмиссивным характером передачи возбудителя, обмолотом хлебов. Болезнь у сельскохозяйственных животных сопровождается небольшим обсеменением тканей бактериями; в крови и в выделениях возбудитель не обнаруживается.

Природные очаги туляремии распространены на всех континентах Северного полушария в Европе, Азии и Северной Америке. Выделяют различные типы очагов (лесные, степные, лугово-полевые, пойменно-болотные и др.). Каждому типу очагов соответствуют свои виды животных и членистоногих, принимающих участие в передаче возбудителя. Заболевания людей регистрируются в виде sporadических случаев и эпидемических вспышек во многих странах. Нередко вспышки охватывают несколько сотен человек. Рост заболеваемости наблюдается в годы повышенной численности грызунов.

В Российской Федерации туляремия обнаружена на территории практически всех краев, областей и республик. В 90-е годы прошлого века в нашей стране ежегодно фиксировалось от 100 до 400 случаев заболевания людей туляремией, при



этом 75% приходилось на Северный, Центральный и Западно-Сибирский регионы. В 2000-2003 гг. заболеваемость в РФ существенно снизилась и составляла 50-65 случаев в год, однако в 2004 г. число заболевших вновь возросло до 123 человек, а в 2005 г. туляремией заболело несколько сотен человек. В 2009 г. зарегистрировано 57 случаев туляремии у людей, в 2010 г. - 115 случаев. В 2011 г. только в Нижегородской области отмечено более 100 случаев туляремии, в Свердловской области - около 50 случаев. В августе – сентябре 2013 г. в г. Ханты-Мансийске и Ханты-Мансийском районе заболело 1005 человек.

**Эпидемиология.** Природные очаги туляремии распространены в умеренном климатическом поясе северного полушария. Основными **источниками туляремийной инфекции** для человека являются обыкновенные полёвки, домовые мыши, ондатры, зайцы. **Факторами передачи инфекции** могут быть вода, сено, солома, пищевые продукты, контаминированные экскрементами больных животных. **Переносчики инфекции** - кровососущие членистоногие: иксодовые и гамазовые клещи, блохи, слепни, комары, москиты. **Механизмы и пути заражения:**

- **контактный механизм** - через микротравмы кожи при снятии шкур, разделке тушек, при укусе грызуна (рисунок 4.67);



Рисунок 4.67 - Контактный механизм заражения туляремией: а – укус грызуна, б – снятие шкурки. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

- **трансмиссивный механизм** - при укусе инфицированными клещами, комарами, слепнями (рисунок 4.68);



Рисунок 4.68 – Укус слепня. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

- фекально-оральный механизм - через желудочно-кишечный тракт при употреблении пищевых продуктов и воды, инфицированных выделениями грызунов;

- аспирационный (аэрозольный) механизм - воздушно-пылевой путь при вдыхании контаминированной возбудителем пыли (частичек сена, соломы).

Таким образом, инфекция передается человеку непосредственно при контакте с животными, через зараженные пищевые продукты и воду, аспирационным путем (при уходе за животными, обработке зерновых и фуражных продуктов, обмолоте хлеба), кровососущими членистоногими (слепнями, иксодовыми и гамазовыми клещами, блохами, комарами и др.). Пути заражения человека туляремией представлены на рисунке 4.69.



Рисунок 4.69 – Пути заражения человека туляремией. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Заражающая доза *F. tularensis* для человека при аэрогенном инфицировании составляет всего 10 микробных клеток. Чаще всего заболевания туляремией регистрируются в сельскохозяйственных районах, примыкающих к пойменно-болотным очагам инфекции. Возбудитель туляремии в природе сохраняется в организме мелких грызунов и клещей и передается сельскохозяйственным животным кровососущими насекомыми.

Различают 4 вида эпидемических вспышек:

- промыслово-охотничьи вспышки;
- сельскохозяйственные вспышки;
- водные вспышки;
- пищевые вспышки.

Характерной эпидемиологической особенностью туляремии является почти 100%-ная восприимчивость к ней человека вне зависимости от возраста. Другой особенностью является то, что больные люди не опасны для окружающих. Среди заболевших преобладают взрослые (охотники, рыбаки, сельскохозяйственные рабочие). Мужчины болеют в 2-3 раза чаще, чем женщины. Туляремия регистрируется на протяжении всего года, но основная часть случаев (более 80%) приходится на лето и осень.

**Факторы патогенности.** Возбудитель туляремии обладает следующими факторами патогенности:

- пили 4-го типа;
- капсула (капсулоподобный покров);
- структурные белки: белки клеточной стенки (наружной мембраны, периплазматического пространства и внутренней мембраны); белки, образующие систему секреции шестого типа (Т6SS);
- белки-эффекторы;
- секретируемые белки (нейраминидаза, цитруллинуреидаза, каталаза, кислая фосфатаза, супероксиддисмутаза).

**Пили** представляют собой гибкие волокнистые поверхностные структуры, состоящие из белка пилина. Они обеспечивают адгезию микроба на клетках хозяина.

**Капсула** (капсулоподобный покров) полисахаридной природы обеспечивает устойчивость микроба к бактерицидным факторам сыворотки крови.

**Белки** внешней мембраны микробных клеток, периплазмы и внутренней мембраны участвуют в адгезии возбудителя и проникновении его внутрь клеток хозяина.

**Нейраминидаза** обеспечивает инвазию микробных клеток в ткани.

**Цитруллинуреидаза** туляремийного микроба катализирует деградацию цитруллина в орнитин с образованием углекислого газа и аммиака и тем самым снижает уровень продукции окиси азота, обладающей антимикробной активностью. В результате этого возбудитель выживает в макрофагах.

**Секретируемые белки-эффекторы** обеспечивают выход микроба из фагосомы в цитозоль для последующего размножения.

Факторы патогенности туляремийного микроба транспортируются с помощью систем секреции, среди которых особое значение имеет **система Т6SS**. На рисунке 4.70 представлены основные факторы патогенности туляремийного микроба.

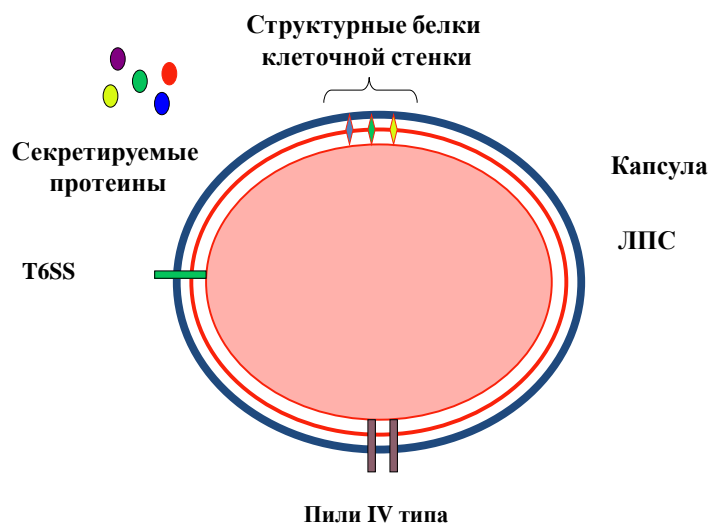


Рисунок 4.70 – Факторы патогенности *F. tularensis*.

Гены, детерминирующие синтез белков, позволяющих туляреийному микробу выживать внутри фагоцитов, локализованы в специфическом участке хромосомы, получившем название туляреийный островок патогенности FPI (*Francisella pathogenic island*).

**Патогенез.** Возбудитель туляремии является внутриклеточным паразитом, способным выживать не только в фагоцитах, но и в фибробластах, клетках эндотелия, эпителиальных и других клетках. Адгезия возбудителя на клетках организма происходит за счет пилей, капсулы и белков наружной мембраны клеточной стенки. После адгезии возбудитель индуцирует у макрофагов образование асимметричных псевдоподий (рисунок 4.71).

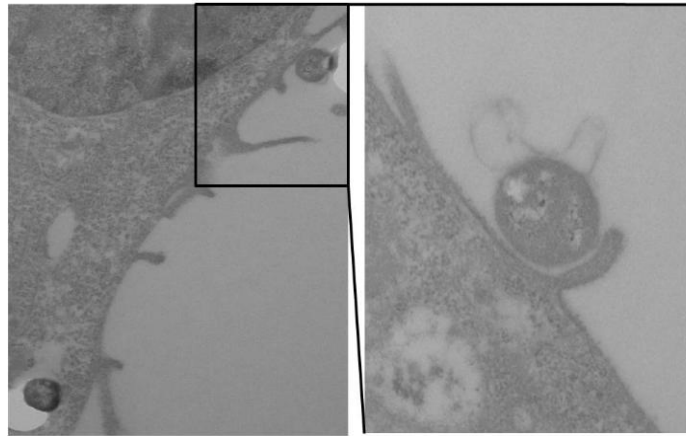


Рисунок 6.73 – Электронная микрофотография процесса проникновения *F. tularensis* в клетку (А. Hartlova, 2010).

Проникнув внутрь клетки, туляреийный микроб некоторое время находится в фагосоме (FCP – Francisella-containing phagosome, FCV - Francisella-containing vacuole), блокирует созревание фагосомы и после деградации эндосомальной мембраны через 30-60 минут после фагоцитоза проникает в цитоплазму (“убегает” из фагосомы). В цитоплазме возбудитель активно размножается, в результате чего клетка погибает (срабатывает смерть клетки по механизму апоптоза или пироптоза). После этого микроб высвобождается и поражает другие клетки (рисунок 4.72).

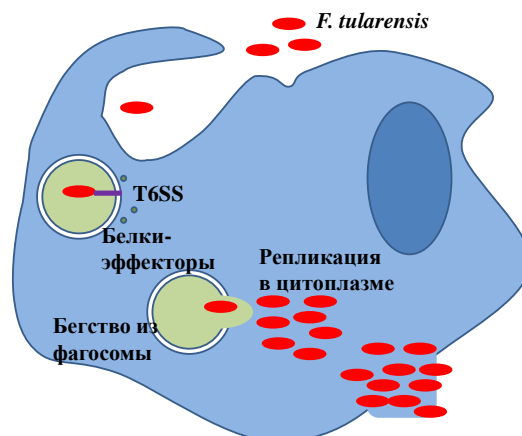


Рисунок 4.72 - Репликация *F. tularensis* в макрофагах.

В лимфатических узлах формируются **туляремийные бубоны**. Бубоны могут быть первичными (связаны с входными воротами) и вторичными (связаны с заносом возбудителя из первичного бубона). Периодически из очагов инфекции возбудитель проникает в лимфу и кровь (**бактериемия**). Бактериемия приводит к образованию очагов в печени, селезёнке, лёгких, костном мозге и других органах (вторичные поражения).

Проникший в организм с вдыхаемым воздухом возбудитель через М-клетки эпителия бронхиол попадает в подлежащие ткани и поглощается дендритными клетками. Дендритные клетки в региональных лимфатических узлах представляют антигены туляремийного микроба Т-хелперам. Пролиферация Т-хелперов приводит к синтезу цитокинов и активации макрофагов. В результате этого формируется **туляремийная гранулема** (рисунок 4.73).

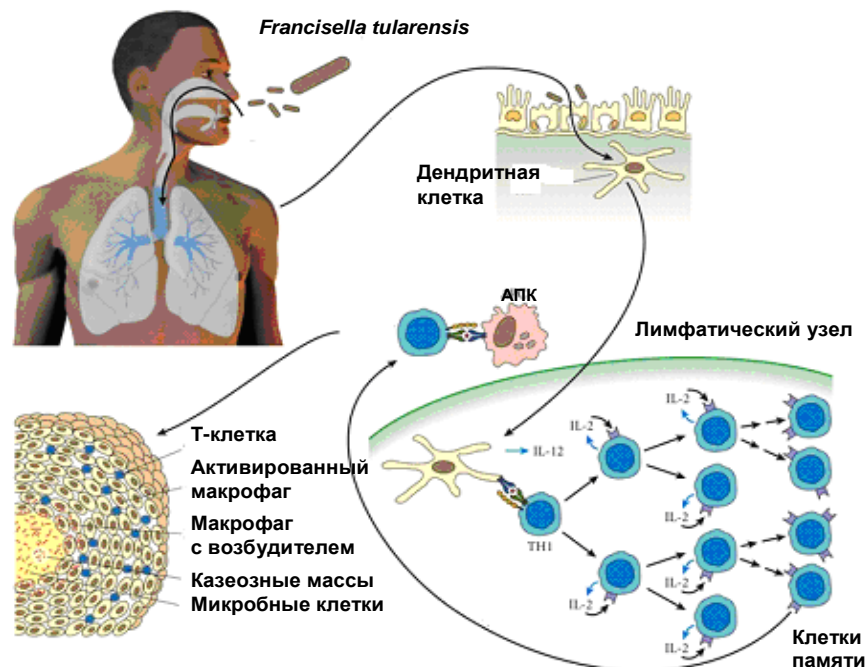


Рисунок 4.73 - Формирование туляремийной гранулемы при аэрогенном заражении. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Туляремийные гранулемы формируются в пораженных внутренних органах и лимфоузлах. По внешнему виду они представляют собой узелки диаметром 1-4 мм (рисунок 4.74).

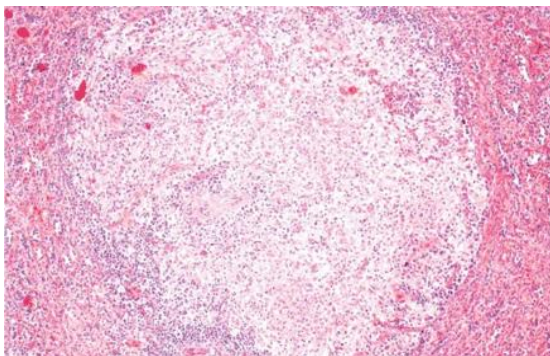


Рисунок 4.74 – Туляремийная гранулема. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Центральная часть гранулемы представлена участком некроза. Формированию гранулемы способствует незавершенный фагоцитоз, при котором отсутствует внутриклеточный киллинг. Образование гранулемы в первичных бубонах приводит к их нагноению, вскрытию и образованию длительно не заживающих язв. В случае замещения гранулемы соединительной тканью наблюдается склерозирование.

**Клинические признаки заболевания.** Инкубационный период при туляремии длится от 3 до 12 дней. Начало заболевания острое, часто без продромального периода. Больные угнетены, температура тела повышается до 41°C. Лихорадочный период продолжается от 2 до 7 дней, сопровождается головной болью, головокружением, мышечными болями. Пульс и дыхание учащаются. Слизистые оболочки становятся бледными: резко снижается содержание гемоглобина в крови. Лимфатические узлы увеличены (рисунок 4.75).

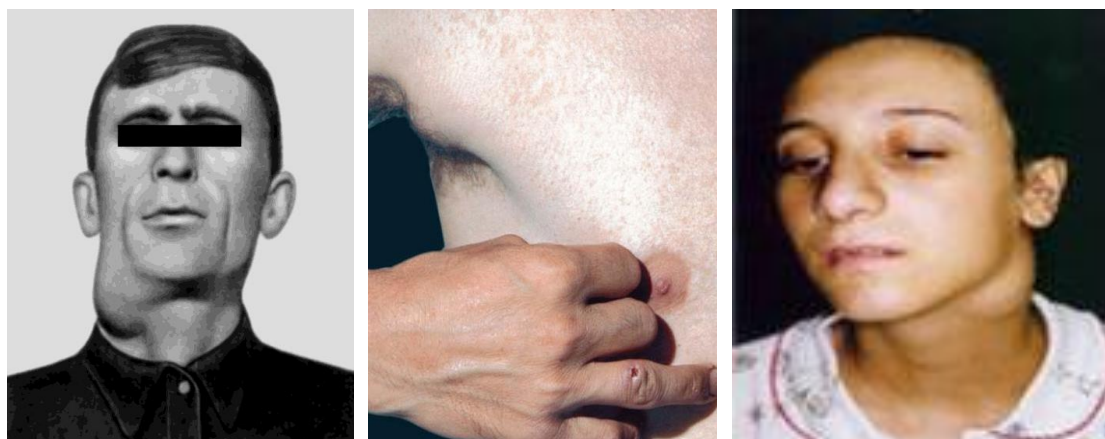


Рисунок 4.75 - Увеличение лимфатических узлов при туляремии. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

По локализации процесса выделяют следующие клинические формы туляремии:

- туляремия с поражением кожи, слизистых оболочек и лимфатических узлов (бубонная, язвенно-бубонная, ангинозно-бубонная формы);
- туляремия с преимущественным поражением внутренних органов (легочная, абдоминальная формы);

- генерализованная форма.

По классификации ВОЗ (1995 г.) выделяют следующие формы заболевания:

- ульцерогландулярная (язвенно-бубонная, кожно-бубонная);
- окулогландулярная (глазобубонная, офтальмическая);
- торакальная (легочная);
- абдоминальная (желудочно-кишечная);
- генерализованная.

По длительности течения туляремия может быть острой, затяжной, рецидивирующей, по тяжести течения - легкой, средней тяжести, тяжелой. Туляремия сопровождается развитием аллергии, которая появляется во время болезни и сохраняется в течение многих лет, иногда всю жизнь. После выздоровления развивается **стойкий, пожизненный иммунитет**. Летальность в последнее время незначительная. В связи с широким применением антибиотиков в большинстве случаев болезнь заканчивается выздоровлением.

**Бубонная форма туляремии** возникает при проникновении возбудителя через кожу и проявляется воспалением регионарных лимфатических узлов, в которых накапливается возбудитель. Наиболее часто поражаются шейные, подмышечные, паховые и бедренные лимфатические узлы (рисунок 4.76).



Рисунок 4.76 – Туляремийные бубоны. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На 2-3-й день появляется отчетливая болезненность, в последующие дни узел увеличивается до 8-10 см. Кожа не спаяна с бубоном и долго сохраняет нормальную окраску. В дальнейшем бубоны медленно (в течение 1-4 месяцев) рассасываются или нагнаиваются. При нагноении через образовавшийся свищ выделяется густой молочно-белый гной. Заживление свища протекает медленно, с образованием рубца.

При **язвенно-бубонной форме** на месте внедрения возбудителя вначале появляется пятно, которое в последующем трансформируется в язву. При этом поражение регионарных лимфатических узлов протекает по типу первичных бубонов (рисунок 4.77).

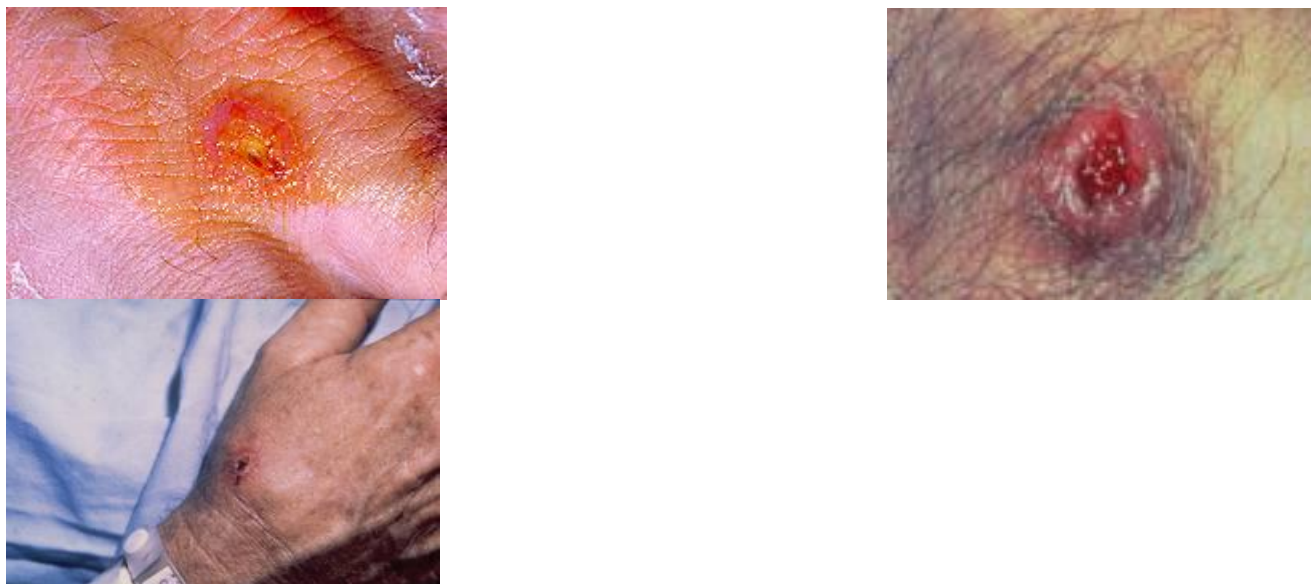


Рисунок 4.77 – Язвенно-бубонная форма туляремии. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Глазо-бубонная форма** туляремии развивается при попадании возбудителя на конъюнктиву. Для этой формы характерен резко выраженный конъюнктивит, сопровождающийся выделением густого желтоватого гноя.

**Ангинозно-бубонная форма** туляремии развивается при проникновении возбудителя с инфицированными пищевыми продуктами и водой. Для этой формы характерны умеренные боли в горле, затруднение глотания и гиперемия зева. Миндалины отечны, с гнойным налетом. Ангинозно-бубонная форма туляремии сопровождается образованием шейных бубонов (рисунок 4.78).



Рисунок 4.78 – Ангинозно-бубонная форма туляремии. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Легочная форма** заболевания сопровождается воспалением лимфатических узлов грудной клетки и клинически проявляется загрудинными болями, сухим кашлем, хрипами. Инфильтративные изменения в легких носят очаговый, лобарный или диссеминированный характер.

**Абдоминальная форма** сопровождается поражением мезентериальных лимфоузлов и проявляется схваткообразными болями в животе, тошнотой, рвотой.

**Генерализованная форма** туляремии встречается у ослабленных лиц и сопровождается общетоксическими симптомами: головной болью, слабостью, мышечными болями, повышением температуры тела до 39-40<sup>0</sup>С, спутанным



сознанием, бредом. Эта форма может осложняться вторичной пневмонией, менингитом, менингоэнцефалитом, полиартритами, миокардиодистрофией.

**Диагностика туляремии.** При диагностике заболевания руководствуются Методическими указаниями МУК 4.2.2939-11 (Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней).

**Материалом для исследования** является содержимое бубонов, отделяемое слизистой оболочки, мокрота, кровь, испражнения. При взятии материала и его доставке в лабораторию соблюдают правила асептики и меры предосторожности (рисунок 4.79).



Рисунок 4.79 – Взятие материала для исследования из туляремийного бубона. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Исследования с материалом, подозрительным на присутствие возбудителя туляремии, проводят в лаборатории, имеющей разрешение на работы с микроорганизмами II группы патогенности. При необходимости исследуют ткани животных (печень, почки, селезенку, лимфатические узлы), солому, фураж, воду.

Лабораторная диагностика туляремии включает:

- экспресс-диагностику;
- культуральное исследование (посев материала на питательные среды, выделение чистой культуры и ее идентификация);
- биопробу (заражение белых мышей или морских свинок);
- серологические реакции;
- кожно-аллергическую пробу.

**Экспресс-методом** диагностики туляремии является прямая РИФ с люминесцирующим туляремийным иммуноглобулином. При обработке исследуемого материала люминесцирующим туляремийным иммуноглобулином в положительных случаях в люминесцентном микроскопе обнаруживается специфическое ярко-зеленое свечение туляремийных бактерий (рисунок 4.80).

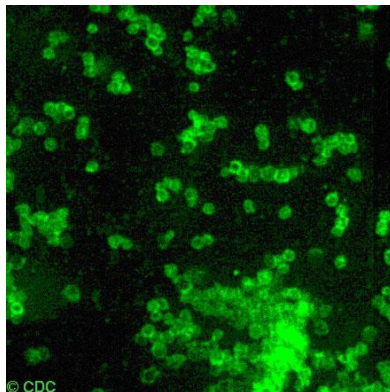


Рисунок 4.80 - РИФ при диагностике туляремии. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

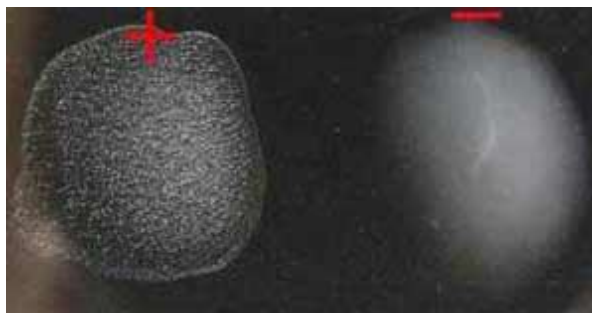
Эта реакция позволяет выявлять живые или нежизнеспособные бактерии в пунктате бубона, отделяемом, смывах. Однако этот метод является сигнальным, и положительные результаты должны подтверждаться выделением чистой культуры возбудителя. Следует отметить, что выделение культуры не всегда возможно, так как органы и ткани больного человека содержат небольшое количество возбудителя. Кроме того, выделение возбудителя наиболее вероятно в течение первых 2-3 недель от начала заболевания.

Для **выделения чистой культуры** возбудителя проводят посев материала на специальные питательные среды (свернутая желточная среда Мак-Коя, среды Дрожжевкиной и Емельяновой). Одновременно делают контрольные посевы на МПА и в МПБ, которые инкубируют в аэробных и анаэробных условиях при температуре 37°C в течение 10-14 суток (на этих средах рост туляремийного микроба отсутствует).

Для выделения возбудителя используют **биологический метод**, так как получение культуры непосредственно от больного человека в большинстве случаев затруднено. Для биологической пробы подкожно заражают белых мышей или морских свинок материалом от больных. При наличии в исследуемом материале туляремийных бактерий белые мыши погибают через 3-4 суток, морские свинки – через 4-6 суток. При низкой концентрации микробных клеток в исследуемом материале гибель животных отмечается через 8-20 суток. Павших животных вскрывают, из органов делают мазки-отпечатки и производят посев на питательные среды.

Полученную чистую культуру идентифицируют по морфологическим и тинкториальным свойствам, характеру роста на желточной среде и отсутствию роста на простых питательных средах (МПА, МПБ).

**Серологические реакции.** Реакция **агглютинации (РА)** используется в качестве метода ретроспективной диагностики, а также для обнаружения антител в сыворотке крови привитых людей (рисунок 4.81).



а б

Рисунок 4.81 - Положительная (а) и отрицательная (б) реакция агглютинации.  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для постановки реакции агглютинации используют коммерческий диагностикум туляреминый жидкий для РА.

Для определения титра антител используется эритроцитарный туляреминый антигенный диагностикум, а для выявления антигенов – диагностикум эритроцитарный туляреминый иммуноглобулиновый (рисунок 4.82).



а б

Рисунок 4.82 - Диагностикум эритроцитарный туляреминый антигенный (а) и диагностикум эритроцитарный туляреминый иммуноглобулиновый (б).  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Антитела в крови больных появляются на 10-15 день заболевания в титре 1:50-1:100, а в последующем нарастают до титра 1:400-1:800. Диагностическим титром считается 1:100 и выше. Для подтверждения заболевания обязательно должно выявляться нарастание титра антител. У привитых против туляремии лиц антитела обнаруживаются через 2-3 недели после вакцинации, затем нарастают до титра 1:160-1:320, в последующем незначительно снижаются и сохраняются в течение 5-7 лет.

**Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА)** является более чувствительной, чем реакция агглютинации. Она используется как для ранней, так и для ретроспективной диагностики, а также с целью определения иммунологического состояния привитых лиц. **У больных туляремией** антитела обнаруживаются через 1-2 недели после заболевания, через 1-1,5 месяца их титр достигает максимальных показателей (1:10000-1:20000), после чего титр антител снижается и длительное время сохраняется на уровне 1:100-1:200. **У привитых лиц** количество антител повышается через 1-1,5 месяца до титра 1:2000-1:5000, а затем снижается и

сохраняется в течение нескольких лет на уровне 1:20-1:80. РПГА проводят с эритроцитами, сенсibilизированными туляреминым антигеном (диагностикум эритроцитарный туляреминый антигенный жидкий).

Для диагностики туляремии и определения состояния иммунитета у вакцинированных используют **иммуноферментный анализ (ИФА)**. Этот метод позволяет обнаруживать специфические антитела через 6-10 дней после заболевания. Для постановки ИФА применяют иммуноферментную диагностическую тест-систему (рисунок 4.83).



Рисунок 4.83 - Тест-система диагностическая для выявления возбудителя туляремии с помощью иммуноферментного анализа. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Выявление туляреминых антител происходит за счет взаимодействия антигена туляреминого микроба, адсорбированного на носителе (планшете), с туляремиными антителами сыворотки крови. Образовавшийся комплекс “антиген+антитело” выявляют с помощью конъюгата и субстрата (конъюгат - антиглобулиновые антитела, меченые ферментом; субстрат или хромоген – соединение, изменяющее окраску под действием фермента).

Для раннего выявления туляремии или ретроспективной диагностики ставят кожную **аллергическую пробу** с тулярином, так как состояние аллергии возникает рано (на 3-5 день болезни) и сохраняется длительное время (несколько лет). Аллергическая проба проводится внутрикожно (для ранней диагностики туляремии) или на кожно (для определения иммунитета у привитых лиц).

Для **внутрикожной пробы** используют тулярин (аллерген туляреминый), представляющий собой взвесь туляреминых бактерий вакцинного штамма, убитых нагреванием при 70°C в течение 1 часа. Взвесь готовят на 3% глицерине. В 1 мл препарата содержится 500 млн. убитых бактерий. Препарат выпускается в ампулах, содержащих 1 мл взвеси (10 человеко-доз). Вводится 0,1 мл (100 млн. микробных клеток) препарата строго внутрикожно в области предплечья. Результаты учитываются через 24-48 часов. Положительная реакция проявляется формированием инфильтрата (уплотнения) и гиперемии диаметром не менее 0,5 см. Положительная аллергическая проба отмечается во время болезни, у переболевших лиц, а также у привитых против туляремии.

Для определения иммунитета у привитых против туляремии лиц применяют **накожный тулярин**, который содержит в 1 мл 10 млрд. убитых бактерий (20 человеко-доз). Каплю препарата наносят на кожу в области плеча и стерильным скарификатором производится две насечки. Затем тулярин тщательно втирают в

насечки. Учет результатов проводится через 48-72 часа. Положительная реакция проявляется отеком кожи вокруг насечек и гиперемией диаметром не менее 0,5 см.

При наличии противопоказаний к применению тулярина (повышенная сенсibilизация) используют метод алергодиагностики *in vitro* – **реакцию лейкоцитолита** (РЛ). Эта реакция основана на учете степени разрушения лейкоцитов сенсibilизированного организма под влиянием специфического аллергена (антигена). РЛ становится положительной через 3-4 дня после заболевания (вакцинации) и сохраняется в течение многих лет.

В качестве одного из методов диагностики туляремии у человека используется полимеразная цепная реакция (**ПЦР**), направленная на обнаружение в патологическом материале ДНК возбудителя. Для проведения этого исследования выпускаются комплекты реагентов для амплификации ДНК и последующей электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле (рисунок 4.84).



Рисунок 4.84 - Комплект реагентов для выявления возбудителя туляремии методом ПЦР. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Профилактика туляремии** осуществляется в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.7.2642-10. Для специфической профилактики туляремии применяют живую ослабленную вакцину, разработанную в 1946 г. Н.А. Гайским и Б.Я. Эльбертом на основе штамма №15 НИИЭГ. Вакцина выпускается в сухом виде (рисунок 4.85).



Рисунок 4.85 – Вакцина туляремийная живая сухая. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Вакцинация людей живой туляремийной вакциной приводит к формированию специфического и длительного гуморального и клеточного иммунитета. Такой же иммунитет формируется и у людей, переболевших туляремией.

В 1956 г. культура штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ была передана в США. При посеве культуры было получено 2 типа колоний – голубые и серые. В дальнейшем на основе голубых колоний был получен вакцинный штамм LVS (Live Vaccine Strain).

В настоящее время для приготовления вакцин против туляремии используются 2 штамма: в России – штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ, в США и странах Западной Европы – штамм *F. tularensis* LVS.

Вакцина на основе штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ применяется подкожно и внутрикожно. Прививкам подлежат население, проживающее на энзоотических по туляремии территориях. Ежегодно в России против туляремии прививают более 1,5 млн. человек. В частности, в 2012 г. было вакцинировано 275559 человек и ревакцинировано 1240626 человек.

В целях профилактики туляремии важное значение имеет контроль за природными очагами инфекции, истребление грызунов и переносчиков, охрана источников водоснабжения, складских помещений, жилищ от грызунов. При мониторинге за природными очагами туляремии проводят выделение культур возбудителя или выявление туляремийного антигена в объектах внешней среды. Обязательно периодически производится анализ заболеваемости людей туляремией, прогнозирование эпизоотической и эпидемической ситуации, обоснование объемов проведения профилактических мероприятий.

**Лечение.** Для лечения туляремии применяют антибиотики (стрептомицин, гентамицин, амикацин, нетилмицин, тетрациклин, доксициклин, левомицетин, рифампицин). Стрептомицин назначают по 1,0 г в сутки в течение 8-10 дней, тетрациклин – по 2,0 г в сутки, доксициклин – 0,2 г в сутки, левомицетин – 2-2,5 г в сутки, канамицин – по 0,5 г 4 раза в сутки, сизомицин – по 0,1 г 3 раза в сутки. Курс лечения антибиотиками продолжают до 5-7 дня нормальной температуры тела. Наряду с антибиотиками используют дезинтоксикационные средства, антигистаминные и противовоспалительные препараты, витамины.

### **Вопросы для контроля усвоения материала**

1. История открытия и изучения возбудителя туляремии.
2. Таксономия возбудителя туляремии.
3. Морфологические и тинкториальные свойства туляремийного микроба.
4. Культуральные свойства возбудителя туляремии.
5. Антигенная структура туляремийного микроба.
6. Устойчивость туляремийного микроба во внешней среде, резистентность к физическим и химическим факторам.
7. Эпидемиология туляремии (источник инфекции, механизмы и пути заражения человека туляремией).
8. Факторы патогенности возбудителя туляремии.

9. Патогенез и клинические формы туляремии.
10. Принципы и методы лабораторной диагностики туляремии.
11. Специфическая профилактика туляремии.
12. Основные принципы лечения туляремии.

### Тренировочные тесты

1. Возбудитель туляремии выделен (один правильный ответ):
  - 1.1 Д.И. Ивановским
  - 1.2 И.И. Мечниковым
  - 1.3 Д. Мак-Коем и Ч. Чепиным
  - 1.4 Л. Пастером
  - 1.5 Р. Кохом
  
2. Возбудитель туляремии относится к (один правильный ответ):
  - 2.1 прионам
  - 2.2 бактериям
  - 2.3 вирусам
  - 2.4 грибам
  - 2.5 риккетсиям
  
3. Возбудитель туляремии относится к роду (один правильный ответ):
  - 3.1 *Yersinia*
  - 3.2 *Brucella*
  - 3.3 *Francisella*
  - 3.4 *Escherichia*
  - 3.5 *Bacillus*
  
4. Возбудитель туляремии по морфологии представляет собой (один правильный ответ):
  - 4.1 микрококки
  - 4.2 тетракокки
  - 4.3 коккобактерии
  - 4.4 стрептококки
  - 4.5 стафилококки
  
5. По типу дыхания возбудитель туляремии является (один правильный ответ):
  - 5.1 строгим аэробом
  - 5.2 строгим анаэробом
  - 5.3 микроаэрофилом
  - 5.4 факультативным анаэробом
  - 5.5 аэробом и микроаэрофилом
  
6. Особенность возбудителя туляремии (один правильный ответ):
  - 6.1 растет при отсутствии кислорода
  - 6.2 оптимальная температура выращивания – 36-38<sup>0</sup>С

6.3 оптимальная температура выращивания – 41°C

6.4 хорошо растет на МПА

6.5 быстро растет

7. Для культивирования возбудителя туляремии используют среды (один правильный ответ):

7.1 универсальные

7.2 Эндо и Плоскирева

7.3 теллуритовые

7.4 картофельно-глицериновые

7.5 желточные среды с цистеином, кровью

8. Для выращивания туляремиального микроба используют (несколько правильных ответов):

8.1 желточную среду Мак-Коя

8.2 среду Левина

8.3 среду Фрэнсиса

8.4 висмут-сульфитный агар

8.5 среду Китта-Тароцци

9. Факторами патогенности возбудителя туляремии являются (несколько правильных ответов):

9.1 эндотоксин

9.2 нейраминидаза

9.3 капсула

9.4 плазмокоагулаза

9.5 экзотоксин

10. Особенности патогенеза туляремии являются (несколько правильных ответов):

10.1 проникновение возбудителя в ликвор

10.2 уход возбудителя из фагосомы

10.3 сенсбилизация организма

10.4 формирование гранулемы

10.5 продуцирование экзотоксина

11. Источник инфекции при туляремии (несколько правильных ответов):

11.1 водяные крысы

11.2 больной человек

11.3 зайцы

11.4 бактерионосители

11.5 водоплавающая птица

12. Переносчики возбудителя туляремии (несколько правильных ответов):

12.1 вши

12.2 слепни



- 12.3 клещи
- 12.4 комары
- 12.5 пчелы

13. Пути передачи инфекции при туляремии (несколько правильных ответов):

- 13.1 контактный
- 13.2 воздушно-пылевой
- 13.3 алиментарный
- 13.4 трансмиссивный
- 13.5 половой

14. Клинические симптомы туляремии (несколько правильных ответов):

- 14.1 мигрирующая эритема
- 14.2 везикулезная сыпь
- 14.3 бубон
- 14.4 повышение температуры до 41<sup>0</sup>С
- 14.5 профузный понос

15. Материал для исследования при диагностике туляремии (несколько правильных ответов):

- 15.1 фекалии
- 15.2 пунктат бубонов
- 15.3 кровь
- 15.4 желудочный сок
- 15.5 ликвор

16. Лабораторную диагностику на туляремию осуществляют (несколько правильных ответов):

- 16.1 в лабораториях крупных лечебных учреждений
- 16.2 в лабораториях медицинских ВУЗов
- 16.3 в лабораториях медицинских училищ
- 16.4 в противочумных институтах
- 16.5 в лабораториях, имеющих специальное разрешение

17. Тулярин представляет собой (один правильный ответ):

- 17.1 живой авирулентный штамм возбудителя
- 17.2 фильтрат бульонной культуры вирулентного штамма
- 17.3 лизат бульонной культуры вакцинного штамма
- 17.4 убитую нагреванием культуру возбудителя туляремии
- 17.5 убитую УФО культуру возбудителя туляремии

18. Чистая культура возбудителя туляремии выделяется (один правильный ответ):

- 18.1 посевом на мясо-пептонный агар
- 18.2 посевом на кровяной агар
- 18.3 посевом в жидкую среду

18.4 заражением лабораторных животных с последующим высевом на желточную среду

18.5 заражением клеточных культур

19. Экспресс-метод диагностики туляремии (один правильный ответ):

19.1 бактериологический

19.2 РИФ

19.3 бактериоскопический

19.4 аллергический

19.5 биологический

20. В трупах грызунов антиген возбудителя туляремии определяют с помощью реакции (несколько правильных ответов):

20.1 непрямой гемагглютинации

20.2 реакции нейтрализации антител

20.3 термопреципитации

20.4 иммуноферментного метода

20.5 реакции связывания комплемента

21. Для серологической диагностики туляремии используют (несколько правильных ответов):

21.1 реакцию Хеддельсона

21.2 реакцию Кумбса

21.3 опсоно-фагоцитарную реакцию

21.4 РА

21.5 РПГА

22. Для аллергической диагностики туляремии применяют (один правильный ответ):

22.1 бруцеллин

22.2 пестин

22.3 антраксин

22.4 тулярин

22.5 туберкулин

23. Метод специфической профилактики туляремии (один правильный ответ):

23.1 уничтожение грызунов

23.2 уничтожение переносчиков

23.3 вакцинация животных

23.4 вакцинация всего населения

23.5 вакцинация контингентов риска

24. Для специфической профилактики туляремии используют (один правильный ответ):

24.1 живую вакцину Гайского-Эльберта

24.2 убитую вакцину

24.3 анатоксин

24.4 вакцину СТИ

24.5 вакцину EV

25. Туляремию вакцину вводят (один правильный ответ):

25.1 внутримышечно

25.2 внутривенно

25.3 подкожно

25.4 наочно и внутриочно

25.5 внутриочно и подкожно

Правильные ответы: 1.3; 2.2; 3.3; 4.3; 5.4; 6.2; 7.5; 8.1, 8.3; 9.1, 9.2, 9.3; 10.2, 10.3, 10.4; 11.1, 11.3; 12.2, 12.3, 12.4; 13.1, 13.2, 13.3, 13.4; 14.3, 14.4; 15.2, 15.3; 16.4, 16.5; 17.4; 18.4; 19.2; 20.1, 20.4; 21.4, 21.5; 22.4; 23.5; 24.1; 25.4.

## 5. Грамотрицательные анаэробные палочки

### 5.1. Бактероиды

**Историческая справка.** Бактероиды (греч. *bakterion* – палочка, *eidōs* – вид, форма) представляют отдельный род грамотрицательных облигатных анаэробных палочек, не образующих споры. Они являются условно-патогенными микроорганизмами, входящими в состав нормальной микрофлоры человека и животных.

Первое описание бактериоидов принадлежит А. Veillon и А. Zuber, которые в 1898 г. из гноя при аппендиците выделили анаэробные микроорганизмы, не

образующие спор (*Bacteroides fragilis*). Родовое название *Bacteroides* было введено в 1919 г. А. Castellani и А. Chalmers.

Классификация. Бактероиды относятся к царству бактерий, типу *Bacteroidetes*, классу *Bacteroidia*, порядку *Bacteroidales*, семейству *Bacteroidaceae*, роду *Bacteroides*. Тип (филум, отдел) *Bacteroidetes* включает в себя следующих представителей, имеющих медицинское значение (таблица 5.1).

Таблица 5.1 - Представители типа *Bacteroidetes*, имеющие медицинское значение

Тип	Класс	Порядок	Семейство	Род
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>
			<i>Porphyromonadaceae</i>	<i>Porphyromonas</i> <i>Tannerella</i>
			<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i>
	<i>Flavobacteria</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Flavobacterium</i>

Род *Bacteroides* объединяет более 10 видов (*B. acidifaciens*, *B. biacutis*, *B. distasonis*, *B. gracilis*, *B. fragilis*, *B. oris*, *B. ovatus*, *B. putredinis*, *B. pyogenes*, *B. stercoris*, *B. suis*, *B. tectus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*). Виды, входящие в состав рода *Bacteroides*, по морфологическим и биохимическим признакам, продукции жирных кислот, способности поражать те или иные органы и ткани подразделяются на группы, например, *fragilis*, *melaninogenicus-oralis*, *asaccharolyticus*. Клиническое значение имеют виды *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*.

При классификации бактериоидов выделяют особую группу *Bacteroides fragilis*, включающую в себя сам вид *B. fragilis*, а также *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron* и *B. vulgatus*. Эти бактерии устойчивы к пенициллину за счет продукции бета-лактамаз, являются представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта и преобладают при внутрибрюшной инфекции, при периректальных абсцессах, пролежнях.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Бактероиды представляют собой грамотрицательные палочки, которые отличаются высоким полиморфизмом. Клетки бактериоидов могут быть кокковидной (коккобациллы), палочковидной или ветвящейся формы размером 1-3x0,5-0,8 мкм. В мазке располагаются одиночно, парами, небольшими цепочками (рисунок 5.1).

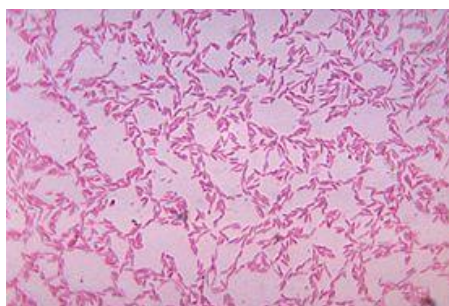


Рисунок 5.1 - *Bacteroides fragilis*, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Одни виды бактероидов являются неподвижными, другие виды имеют перитрихально расположенные жгутики. Бактероиды не образуют спор, некоторые виды имеют полисахаридную капсулу (рисунок 5.2).



Рисунок 5.2 - *Bacteroides fragilis*, а – просвечивающая электронная микроскопия, б – сканирующая электронная микроскопия, компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Клеточная стенка бактероидов имеет некоторые особенности: между наружной и внутренней мембранами располагается периплазматическое пространство (рисунок 5.3).



Рисунок 5.3 - Структура клеточной стенки *Bacteroides fragilis*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные, биохимические и антигенные свойства.** Бактероиды являются облигатными анаэробами. Культивируются на обогащенных питательных средах: кровяном агаре, на средах с добавлением яичного белка, желчи, эскулина, тканевых экстрактов (мозгового, сердечного). Рост бактероидов стимулирует добавление в среды гемина, витамина К, цистеина, декстрозы. Желчно-эскулиновый агар используется для селективного выделения, идентификации и культивирования микроорганизмов группы *Bacteroides fragilis*. Эта среда содержит компоненты, поддерживающие рост прихотливых анаэробных микроорганизмов и подавляющие рост большинства других микробов, кроме эскулинположительных бактероидов.

Бактероиды лучше растут в атмосфере 10% углекислого газа при температуре 37°C. *B. fragilis* образует каталазу и супероксиддисмутазу, поэтому

является аэротолерантным микроорганизмом. Культивирование бактериоидов проводят в анаэро­статах (рисунок 5.4).



Рисунок 5.4 – Анаэро­стат.

Размножение бактериоидов протекает медленно, посе­вы инкубируют в течение 2-5 дней.

На плотных питательных средах бактериоиды образуют мелкие жемчужно-серые или белые колонии. На кровяном агаре *B. fragilis* образует мелкие (1-3 мм) выпуклые непигментированные колонии, а *B. melaninogenicus* – пигментированные колонии черного или темно-коричневого цвета. Некоторые штаммы бактериоидов могут вызывать гемолиз (рисунки 5.5 и 5.6).

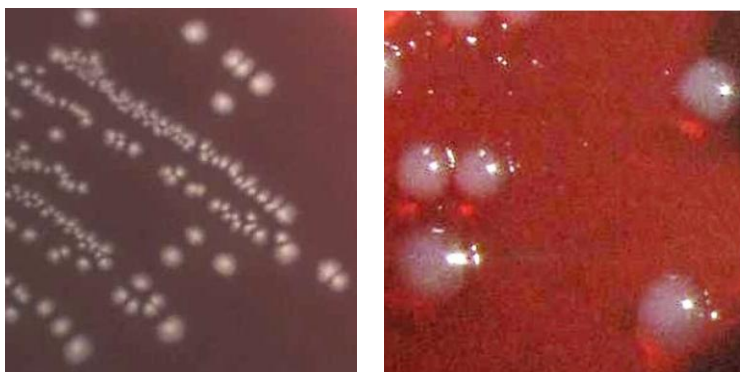


Рисунок 5.5 - Рост бактериоидов на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

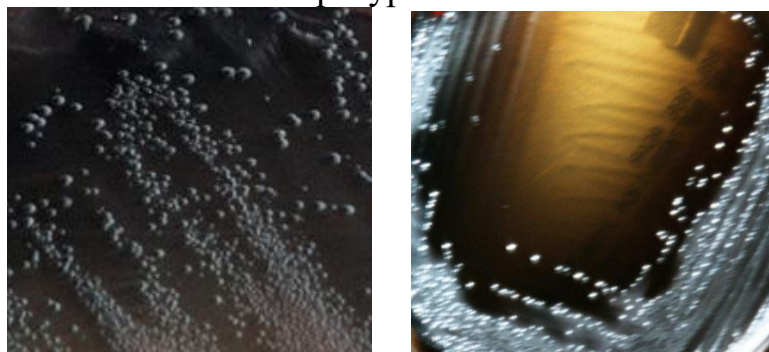


Рисунок 5.6 - Колонии *B. fragilis* на агаре для бактериоидов с желчью и эскулином (эскулиновом агаре). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На плотных питательных средах с желчью колонии бактериоидов окружены опалесцирующей зоной выпавших в осадок желчных солей (рисунок 5.7).

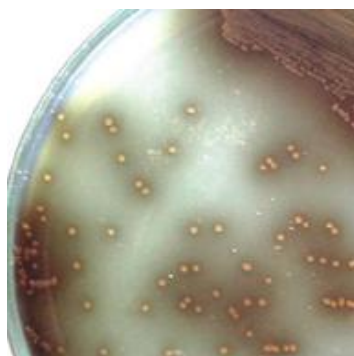


Рисунок 5.7 – Рост *Bacteroides fragilis* на агаре с желчью. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Рост бактериоидов в жидких питательных средах сопровождается равномерным помутнением.

Ключевыми признаками бактериоидов является способность расти в присутствии 20% желчи, резистентность к канамицину (100 мкг), ванкомицину (5 мкг) и колистину (10 мкг).

Протеолитическая активность у бактериоидов умеренная, лецитиназу не образуют, большинство штаммов не вызывают гемолиза эритроцитов, гиппурат не гидролизуют, индол не образуют. Гидролизуют эскулин, сбраживают различные углеводы (глюкозу, мальтозу, сахарозу, фруктозу и др.), синтезируют каталазу. Одни штаммы бактериоидов являются уреазоположительными, другие – уреазоотрицательными. Основные дифференциальные признаки представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Основные дифференциальные признаки бактерий рода *Bacteroides*, имеющих клиническое значение

Вид	Образование индола	Гидролиз желатина	Гидролиз эскулина	Образование сероводорода	Ферментация углеводов с образованием кислоты			
					рамнозы	глюкозы	лактозы	сахарозы
<i>B. fragilis</i>	-	+/-	+	+	-	+	+	+
<i>B. thetaio-taomicron</i>	+	+/-	+	+	+	+	+	+
<i>B. vulgatus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+

Бактероиды содержат соматический О-антиген, могут иметь капсульный К-антиген и жгутиковый Н-антиген.

Геномы бактериоидов представлены кольцевыми двухцепочечными молекулами ДНК. Установлена возможность переноса генов между *E. coli* и *B. fragilis* с помощью плазмид.

**Экология бактериоидов.** Бактероиды являются представителями нормальной микрофлоры кишечника, мочеполовых органов, верхних дыхательных путей, полости рта. Основное место обитания бактериоидов в организме человека – толстая кишка (рисунок 5.8).

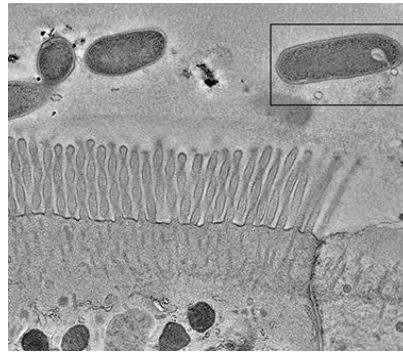


Рисунок 5.8 – *B. fragilis* на эпителии кишечника (Chu H. e. a., 2016).

Бактероиды появляются в кишечнике человека через 10 дней после рождения, у детей первого года жизни их количество в фекалиях достигает  $10^7$ - $10^8$  КОЕ/г, у взрослых –  $10^9$ - $10^{10}$  КОЕ/г, у пожилых людей –  $10^{10}$ - $10^{11}$  КОЕ/г. В тонком кишечнике бактериоидов намного меньше – до  $10^7$  КОЕ/г, а в полости рта их количество составляет не более  $10^3$  КОЕ/г. В ротовой полости бактериоиды обнаруживаются главным образом в десневых карманах. В стерильных внутренних органах здоровых людей бактериоиды отсутствуют.

Бактероиды являются антагонистами шигелл, сальмонелл, некоторых видов эшерихий. Они участвуют в процессах разложения углеводов, белков и биотрансформации жёлчных кислот.

Патология, обусловленная бактериоидами, развивается чаще всего как эндогенная инфекция в результате повреждения слизистых оболочек – мест обитания этого микроба. При развитии патологических процессов выявляются ассоциации бактериоидов с другими анаэробными, а также с аэробными и факультативно-анаэробными бактериями (кишечной палочкой, стрептококками, стафилококками, синегнойной палочкой). Однако *B. fragilis* способен вызывать моноинфекции.

#### **Факторы патогенности бактериоидов и патогенез заболеваний.**

Патогенность бактериоидов обусловлена следующими факторами:

##### 1. Адгезины:

- лектиноподобные поверхностные белки;
- пили;
- капсула.

##### 2. Ферменты:

- супероксиддисмутаза;
- нейраминидаза;
- гиалуронидаза;
- фибринолизин;
- коллагеназа;
- дезоксирибонуклеаза;



- гепариназа;
- IgA-протеаза;
- бета-лактамаза.

### 3. Токсины:

- эндотоксин;
- энтеротоксин;
- лейкоцидин.

### 4. Метаболиты.

**Поверхностные структуры клетки** (лектиноподобные поверхностные белки, пили и капсула) обуславливают адгезию к субстрату и защищают бактерию от фагоцитоза. Капсульный полисахарид состоит из двух компонентов: полисахарида А и полисахарида В. В своем составе полисахариды имеют необычную повторяющуюся последовательность углеводных групп. Капсульные полисахариды активируют Т-лимфоциты и тем самым способствуют образованию абсцессов, возникающих при бактериоидной инфекции.

Продуцируемые бактериоидами **гистолитические ферменты** (протеазы, нейраминидаза, гиалуронидаза, нуклеаза, коллагеназа и др.) вызывают деструкцию иммуноглобулинов, компонентов комплемента, матриксных белков (коллагена, ламинина, фибронектина и др.), что способствует некрозу тканей и распространению гнойного процесса. В частности, протеаза разрушает секреторные антитела (IgA) и тем самым подавляет иммунитет слизистых оболочек организма. Она также разрушает факторы комплемента, препятствуя фагоцитозу.

**Инактивирующие кислород ферменты** (каталаза, супероксиддисмутаза) создают в тканях анаэробные условия, благоприятные для размножения бактериоидов. Кроме того супероксиддисмутаза бактериоидов защищает бактерии от фагоцитоза.

**Дезоксирибонуклеаза** расщепляет ДНК клеток организма, что способствует абсцедированию пораженных тканей.

**Гепариназа** вызывает образование локальных тромбов, обуславливает внутрисосудистые изменения и тканевую ишемию в результате разрушения гепарина.

**Бета-лактамаза** обуславливает устойчивость к бета-лактамам антибиотикам (пенициллинам, цефалоспорином).

**Эндотоксин** бактериоидов отличается от ЛПС других грамотрицательных бактерий. Он оказывает общетоксическое действие на ткани организма, вызывает синтез цитокинов, в результате чего развивается воспаление.

**Энтеротоксин** повреждает цитоскелет энтероцитов, изменяет их секреторные свойства и вызывает дегенерацию эпителиоцитов кишечника. Энтеротоксин *B. fragilis* (*Bacteroides fragilis toxin, BFT*, фрагилизин) является цинковой металлопротеазой. Энтеротоксигенные штаммы *B. fragilis* (ETBF) могут продуцировать 3 варианта энтеротоксина. Синтез этого токсина кодируется генами *btf-1, btf-2, btf-3*. Токсин разрушает структурно-функциональные контакты между эпителиоцитами кишечника, в результате чего наступает их эксфолиация и гиперсекреция жидкости. Таким образом, энтеротоксин способствует проникновению бактерий в глубже лежащие ткани и развитию воспалительной реакции.

**Жирные кислоты** (метаболиты бактероидов) оказывают антифагоцитарный эффект: угнетают хемотаксис и кислородзависимую цитотоксичность лейкоцитов.

Развитию бактероидной инфекции способствуют аэробные и факультативно-анаэробные бактерии – ассоцианты, обнаруживаемые в патологическом материале. В пораженных тканях они поглощают кислород и выделяют продукты метаболизма, оказывающие благоприятное влияние на развитие бактероидов.

**Заболевания, вызываемые бактероидами.** Бактероиды способны вызывать у человека неклостридиальные анаэробные гнойно-воспалительные инфекции: хронический синусит, хроническое воспаление среднего уха, инфекции ротовой полости, абсцессы, некротическую пневмонию (рисунок 5.9).

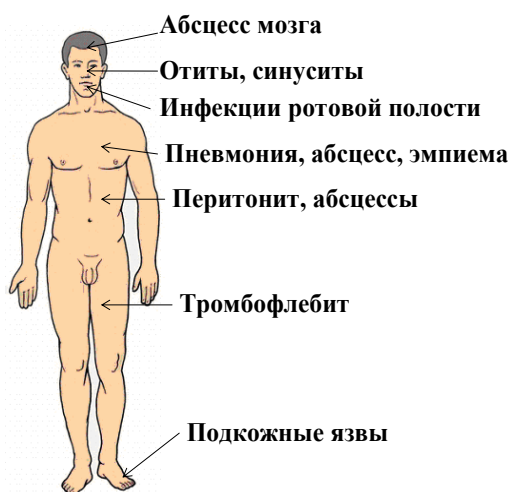


Рисунок 5.9 – Поражения, вызываемые бактероидами.

Бактероиды вызывают различные гнойно-воспалительные заболевания после травм, оперативных вмешательств, при онкологических заболеваниях (перитонит, абсцессы, эндокардит, сепсис, тонзиллит, пародонтоз, поражения костей и суставов). Инфекции бактероидной этиологии возникают обычно у лиц с иммунодефицитами. Часто бактероиды являются причиной воспалительных заболеваний женских половых органов (цервицитов, эндометритов, аднекситов). У мужчин бактероиды обнаруживаются при простатитах, хронических уретритах.

Развитию анаэробной инфекции способствуют:

- хирургические операции;
- наличие злокачественных новообразований;
- травматические и прочие повреждения внутренних органов с перфорацией;
- длительная химиотерапия, гормонотерапия, применение цитостатиков;
- нарушение кровоснабжения тканей.

Возможно развитие генерализованной бактероидной инфекции с диссеминацией возбудителей по организму и образованием множественных метастатических очагов.

Клинически бактероидная инфекция проявляется в виде следующих заболеваний:

- инфекции ротовой полости, десен, некротизирующие инфекции глотки, придаточных пазух, органов зрения, слуха, гангрена лицевой области;
- абсцессы головного мозга;
- пневмонии и абсцессы легкого;
- перитонит, аппендицит, абсцессы печени;
- эндометриты;
- глубокие инъекционные абсцессы, флегмоны;
- остеомиелиты, гнойные артриты.

**Резистентность.** При попадании на воздух бактероиды погибают в течение короткого времени. Они устойчивы к пенициллинам, цефалоспорином I и II поколений, аминогликозидам (стрептомицину, гентамицину, канамицину, мономицину), тетрациклину (рисунок 5.10).



Рисунок 5.10 – Чувствительность бактероидов к антибиотикам. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В последние годы отмечено повышение устойчивости бактероидов к противомикробным препаратам: пенициллинам, цефалоспорином, тетрациклином, эритромицину и другим антибиотикам, что делает их непригодными для терапии инфекций, вызванных *B. fragilis*. Препаратами выбора при лечении бактероидной инфекции являются левомецетин, метронидазол, имипенем.

Бактероиды чувствительны к действию обычно применяемых в клинической практике антисептиков и дезинфектантов.

**Диагностика.** Материалом для исследования служит отделяемое из глубины раны, гной абсцессов, кусочки пораженных тканей, кровь. Сбор и транспортировку материалов осуществляют в строго анаэробных условиях. По-возможности материал для исследования отбирают путем пункции и доставляют в лабораторию в шприце, вытеснив из него воздух. Материал немедленно доставляют в лабораторию для исследования. Лучше доставлять материал в специальном контейнере с бескислородной газовой смесью или погруженным в полужидкую транспортную среду (рисунок 5.11).

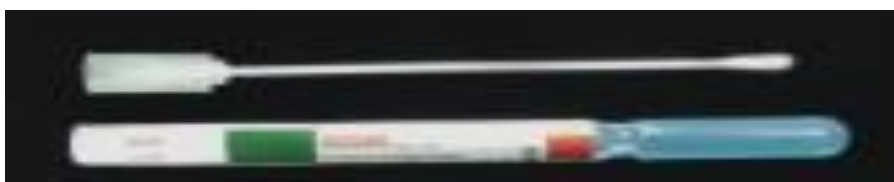


Рисунок 5.11 – Транспортная среда для облигатных анаэробов. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Лабораторная диагностика включает проведение следующих исследований:

- микроскопическое исследование окрашенных по Граму мазков, приготовленных из исследуемого материала;
- бактериологическое (культуральное) исследование: посев материала на специальные плотные питательные среды (кровяной агар, среда с настоем мозга и факторами роста, кровяной агар с желчью и канамицином);
- полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Культуральный метод является основным методом диагностики заболевания. Посевы инкубируют при 37<sup>0</sup>С в анаэробных условиях в течение 3-5 дней. Выделенные культуры идентифицируют по морфологическим признакам, культуральным и биохимическим свойствам, устойчивости к желчи и некоторым антибиотикам.

Для ПЦР используются тест-системы “БАКТОПОЛ” для обнаружения различных видов бактероидов, а также штаммов *B. fragilis*, продуцирующих энтеротоксин. Материалом для ПЦР-диагностики служит кал, урогенитальные соскобы, раневое отделяемое, мазки из зева и др. Применение выпускаемых тест-систем позволяет установить видовой состав бактерий рода *Bacteroides* в исследуемом материале, а также оценить патогенный потенциал *B. fragilis* путем обнаружения генов синтеза энтеротоксина.

Идентификация бактероидов до уровня семейства основывается на следующих признаках:

- отрицательная окраска по Грамму;
- отсутствие роста в аэробных условиях;
- отсутствие спорообразования;
- наличие перитрихально расположенных жгутиков.

Идентификация бактероидов до уровня рода и вида предусматривает определение продуктов метаболизма (в частности, жирных кислот) с помощью газожидкостной хроматографии и изучение ферментативной активности.

В качестве экспресс-диагностики применяют иммунофлюоресцентный метод (рисунок 5.12).

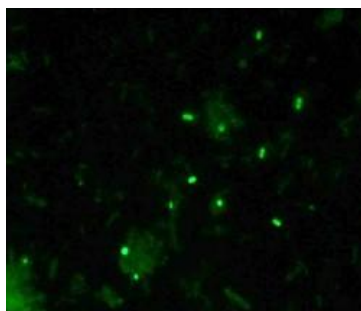


Рисунок 5.12 – РИФ при диагностике бактероидной инфекции. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Профилактика.** Средства специфической профилактики бактериоидной инфекции отсутствуют. Неспецифическая профилактика бактериоидной инфекции заключается в использовании дооперационных парентеральных антибиотиков, подготовке пациентов к оперативным вмешательствам, соблюдении санитарно-гигиенических правил при выполнении хирургических вмешательств, использовании эффективной терапии гнойно-воспалительных заболеваний.

**Лечение.** В лечении бактериоидной инфекции особое значение имеют дренаж и санация патологического очага. Для лечения бактериоидных инфекций используются метронидазол, тинидазол, левомецетин, эритромицин, имипенем и другие антибиотики.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение бактериоидов.
2. Морфологические, культуральные и биохимические свойства бактериоидов.
3. Факторы патогенности и патогенез инфекций, вызванных бактериоидами.
4. Диагностика бактериоидной инфекции.
5. Принципы профилактики и лечения инфекций, вызванных бактериоидами.

### Тренировочные тесты

1. *B. fragilis* относится к семейству (один правильный ответ):

- 1.1 *Brucellaceae*
- 1.2 *Bacteroidaceae*
- 1.3 *Bartonellaceae*
- 1.4 *Burkholderiaceae*
- 1.5 *Vacillaceae*

2. Для бактериоидов характерно (несколько правильных ответов):

- 2.1 грамположительная окраска
- 2.2 образование спор
- 2.3 грамотрицательная окраска
- 2.4 облигатные анаэробы
- 2.5 извитая форма

3. Бактериоиды синтезируют токсин (один правильный ответ):

- 3.1 экзотоксин А
- 3.2 эндотоксин
- 3.3 тетаноспазмин
- 3.4 нейротоксин
- 3.5 эксфолиативный токсин

4. Для культивирования бактериоидов используют среду (один правильный ответ):

- 4.1 Эндо
- 4.2 висмут-сульфитный агар
- 4.3 кровяной агар с желчью

4.4 среду Плоскирева

4.5 среду Левенштейна-Йенсена

5. Для диагностики бактериоидной инфекции применяют (несколько правильных ответов):

5.1 газо-жидкостную хроматографию

5.2 аллергопробу

5.3 культуральное исследование

5.4 биологическую пробу

5.5 ПЦР

6. Для экспресс-диагностики бактериоидной инфекции применяют (один правильный ответ):

6.1 реакцию иммунофлюоресценции

6.2 аллергопробу

6.3 реакцию преципитации

6.4 биологическую пробу

6.5 серологический метод

Правильные ответы: 1.2; 2.3, 2.4; 3.2; 4.3; 5.1, 5.3, 5.5; 6.1.

## **6. Грамположительные спорообразующие палочки**

### **6.1. Бациллы**

Бациллы представляют собой род грамположительных палочковидных спорообразующих бактерий. Большинство бацилл являются почвенными сапрофитами, они также обитают в морской и пресной воде. Бациллы относятся к домену *Bacteria*, типу *Firmicutes*, классу *Bacilli*, порядку *Bacillales*, семейству *Bacillaceae*, роду *Bacillus*. Род *Bacillus* объединяет более 100 видов. В настоящее

время 6 видов бацилл (*B. anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstrphanensis*) объединены в таксономическую группу “*Bacillus cereus*” в связи с тем, что они имеют много общих морфологических свойств, высокую гомологию, сходную организацию геномов. Эти виды бацилл трудно различить на основе фенотипических и генетических особенностей. Патогенным для человека и животных является возбудитель сибирской язвы (*Bacillus anthracis*). Возбудителем токсикоинфекций у человека может служить восковидная бацилла (*Bacillus cereus*).

### 6.1.1. Возбудитель сибирской язвы

**Сибирская язва** (антракс) – остро протекающая опасная инфекционная болезнь, характеризующаяся тяжелой интоксикацией организма, лихорадкой, септициемией, возникновением карбункулов, поражением кишечника и легких. Это одна из опасных инфекционных болезней, общих для животных и человека (зооноз).

Болезнь известна еще до нашей эры. Древнеарабские врачи называли ее “персидским огнем”, древнегреческие и древнеримские ученые – “священным огнем”. В древнерусских летописях XI – XII веков упоминается о массовых заболеваниях животных “карбункулезной болезнью”.

Большой вклад в изучение сибирской язвы в России внесли многие отечественные ученые. Так, врачи А. Эшке (1758) и Н. Ножевщиков (1762), работая в Сибири, первыми дали описание этой болезни у человека и животных.

**Абрам Эшке** (жил в XVIII в.) – врач, первый штаб-лекарь (высшее врачебное звание в России в XVIII в.) по указанию Сената в 1751 г. был назначен на Алтай, где изучал заболеваемость и условия труда работников рудников и заводов. По итогам своей работы А. Эшке представил в Медицинскую Канцелярию “Краткое известие о Колывани и окололежащих местах, о свирепствующих там болезнях между людьми и скотом, напоследок о растущих в некоторых местах Сибири травах и минералах”. В одном из разделов этих “Известий” (“О болезнях рудокопов”) он впервые подробно описал клиническую картину сибирской язвы.

**Ножевщиков Никита Григорьевич** (1720-1768) в 1758 г. “за отличные знания в лекарском искусстве при честном и радивом состоянии” назначен штаб-лекарем Колывано-Воскресенских заводов, сменив в этой должности А. Эшке. В 1762 г. он представил в Медицинскую Канцелярию научный труд “О болезнях, встречающихся среди людей в Колывано-Воскресенском округе и Иртышской линии”. В этой работе он подробно описал клиническую картину болезни, поражающей людей и животных (сибирской язвы), и методы ее лечения.

Но современное название сибирской язвы связано с именем штаб-лекаря **С.С. Андреевского** (рисунок 6.1).



Рисунок 6.1 – Степан Семенович Андреевский в Западной Сибири (1760-1818 гг.).  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1786-1789 гг. в Уральском наместничестве (Западная Сибирь) среди животных и людей было широко распространено заболевание, сопровождающееся высокой смертностью. С.С. Андреевский прибыл из Санкт-Петербурга для изучения причин этой инфекции. Для доказательства заразительности болезни он произвел самозаражение – ввел себе под кожу жидкость из карбункула (“язвенную материю”). Болезнь протекала тяжело, но закончилась выздоровлением. В 1788 г. он представил в медицинскую коллегию Санкт-Петербурга подробное сочинение “О сибирской язве”.

Необходимо заметить, что во многих странах эта болезнь в настоящее время имеет общепризнанное название “антракс”, что означает “горящие угли”. Это название очень четко характеризует клинический признак кожной формы сибирской язвы у людей: на фоне ярко-красного основания язвы отчетливо выделяется струп угольно-черного цвета. Именно ссылки на понятие “антракс” как “горящие угли” в произведении Гомера “Илиада” и в текстах Гиппократом некоторыми исследователями трактуются как первые ссылки на сибирскую язву.

В недалеком прошлом эта болезнь охватывала большие территории в виде эпизоотий и эпидемий, оставляя после себя так называемые “проклятые поля” во Франции, Черногории, Сербии и других странах, особенно в районах с развитым животноводством. Болезнь зарегистрирована во многих странах мира и практически на всех континентах. Возникнув в какой-либо местности однажды, она может укореняться, сохраняя на многие десятилетия угрозу повторных вспышек. Потому места гибели животных или захоронения сибиреязвенных трупов (скотомогильники) остаются потенциально опасными. В России большинство неблагополучных пунктов расположено в Европейской части.

Возбудитель сибирской язвы впервые обнаружил в крови погибших от сибирской язвы животных в 1849 г. А. Поллендер в Германии (рисунок 6.2).





Рисунок 6.2 - Аллоус Поллендер (Alloys Pollender, 1800-1879 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1857 г. русский ученый профессор Дерптской ветеринарной школы Фридрих Август Брауэль (1807-1882 гг.) впервые обнаружил возбудителя сибирской язвы в крови человека. Он экспериментально доказал восприимчивость к этой болезни разных видов животных и установил возможность диагностики заболевания по наличию в крови больных животных (овец) неподвижных и неветвящихся палочковидных микроорганизмов.

В 1876 г. немецкий микробиолог Р. Кох впервые получил чистую культуру возбудителя сибирской язвы. Выделенными чистыми культурами Р. Кох и Л. Пастер (рисунок 6.3) воспроизвели болезнь у животных.



А



Б

Рисунок 6.3 – А - Роберт Кох (Heinrich Hermann Robert Koch, 1843 – 1910 гг.); Б – Луи Пастер (Louis Pasteur, 1822 – 1895 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В России чистую культуру сибирезвренного микроба получил В.К. Высокоч в 1882 г. (рисунок 6.4).

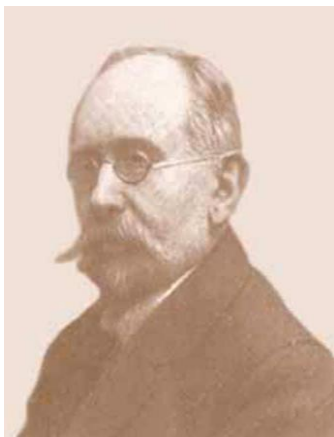


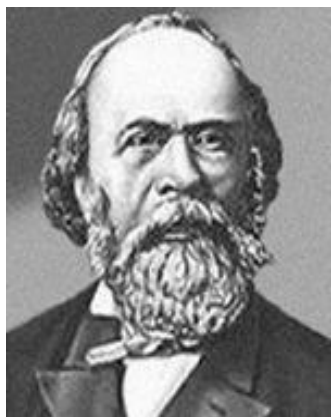
Рисунок 6.4 – Высокович Владимир Константинович (1854 – 1912 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для профилактики сибирской язвы среди животных французский ученый Л. Пастер предложил две живые вакцины (I и II вакцины Пастера), отличающиеся друг от друга по степени ослабления вирулентности. Первые прививки животных против сибирской язвы были проведены в мае 1881 г. (рисунок 6.5).



Рисунок 6.5 – Иммунизация животных против сибирской язвы вакцинами Л. Пастера, 5 мая 1881 г. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1883 г. русский ученый Л.С. Ценковский также селекционировал две живые вакцины, различающиеся по степени снижения вирулентности. Эти вакцины длительное время использовались для иммунизации сельскохозяйственных животных. До сих пор II вакцина Ценковского применяется в качестве тест-культуры при контроле качества сибиреязвенных вакцин. Аналогичные вакцины двух степеней ослабления были разработаны И.Н. Ланге (рисунок 6.6).



А



Б

Рисунок 6.6 – А - Лев Семенович Ценковский (1822-1887 гг.), Б - Иван Николаевич Ланге (1845-1912 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1941 г. военные ученые Н.Н. Гинсбург и А.Л. Тамарин (рисунок 6.7) разработали живую вакцину СТИ на основе селекционированного ими бескапсульного штамма СТИ-1.



А



Б

Рисунок 6.7 – А - Николай Николаевич Гинсбург (1901 – 1969 гг.), Б – Александр Лазаревич Тамарин (1908 – 1989 гг.).

Штамм СТИ-1 был выделен Н.Н. Гинсбургом и А.Л. Тамариным в Санитарно-техническом институте (г. Киров) 29 мая 1940 г. из штамма “Красная Нива” путем многократного отбора бескапсульных вариантов на свернутой лошадиной сыворотке. В конце 1941 г. вакцина СТИ была представлена на Государственные испытания, а с 1942 г. она стала широко использоваться для иммунизации вначале животных, а затем - людей. За разработку сибирезывенной вакцины этим ученым была присуждена Сталинская премия.

**Таксономическое положение возбудителя.** Возбудитель сибирской язвы относится к типу (филуму) *Firmicutes*, классу *Bacilli*, порядку *Bacillales*, семейству *Bacillaceae*, роду *Bacillus*, виду *Bacillus anthracis*.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Возбудитель сибирской язвы представляет собой крупную неподвижную палочку (рисунок 6.8).

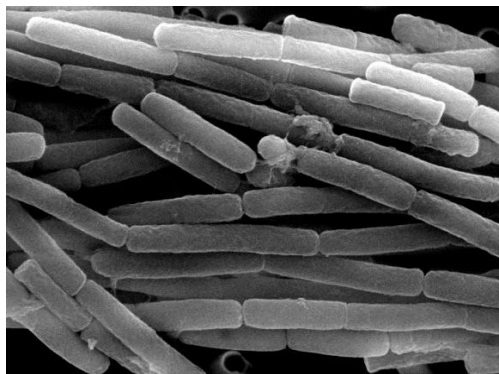


Рисунок 6.8 – Сканирующая электронная микроскопия клеток *B. anthracis*.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Микроб способен образовывать три формы:

- вегетативную бескапсульную палочку;
- вегетативную капсульную палочку;
- спору.

Размеры вегетативных клеток составляют 1-1,5x6,0-10,0 мкм, спор – 0,8-1,0x1,5 мкм.

**Вегетативные бескапсульные клетки** образуются на простых питательных средах и представляют собой крупные неподвижные палочки с обрубленными слегка утолщенными концами. Палочки располагаются в виде цепочках, напоминая “бамбуковую трость”. Цепочки могут быть как короткими, так и длинными. Вегетативные клетки по Граму окрашиваются положительно (рисунок 6.9).



Рисунок 6.9 – Вегетативные бескапсульные клетки сибиреязвенного микроба, окраска по Граму. Займствовано из Интернет-ресурсов.

**Вегетативные капсульные клетки** сибиреязвенного микроба образуются в организме человека и животных, а также на специальных питательных средах в определенных условиях культивирования (сывороточный или бикарбонатный агар, атмосфера углекислого газа). В этих условиях возбудитель продуцирует хорошо выраженную капсулу, которая окружает всю цепочку клеток. Капсулу образуют только вирулентные штаммы возбудителя. Капсула сибиреязвенного микроба представляет собой полимер D-глутаминовой кислоты. Вакцинные штаммы капсулу не синтезируют. Для выявления капсулы мазки окрашивают специальными

методами: по Ребигеру, метиленовой синькой Леффлера, тушью по Бурри-Гинсу, по Романовскому-Гимзе (рисунок 6.10).



Рисунок 6.10 – Vegetативные капсульные клетки сибиреязвенного микроба, мазок-отпечаток из органов павшего животного, окраска по Ребигеру. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Споры** образуются только при неблагоприятных условиях: во внешней среде при доступе кислорода воздуха или на питательных средах при длительном инкубировании в аэробных условиях. При этом в вегетативной клетке образуются одна центрально расположенная овальная спора (рисунок 6.11).

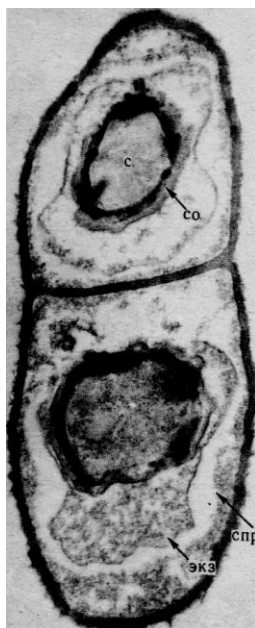


Рисунок 6.11 - Споры *B. anthracis*. Видны сформировавшиеся споровые оболочки (со), экзоспориум (экз) и частично лизированный спорангий (спр). Просвечивающая электронная микроскопия (Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д., 1976).

Поперечник спор у сибиреязвенного микроба не превышает поперечного размера вегетативной клетки. При доступе кислорода при температуре 12-42<sup>0</sup>С споры образуются в течение 6-8 часов, на плотных питательных средах при температуре 34-36<sup>0</sup>С они формируются через 4 суток (рисунок 6.12).

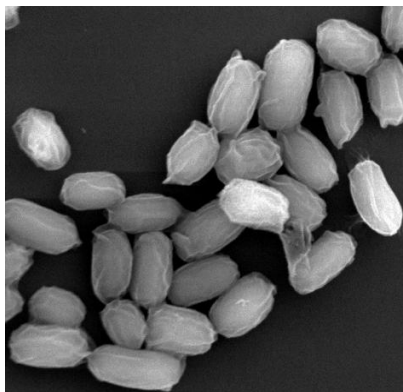


Рисунок 6.12 – Споры сибиреязвенного микроба. Сканирующая электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В каждой вегетативной клетке образуется только одна эндоспора. В живом организме или невскрытом трупe споры не образуются.

**Геном** сибиреязвенного микроба представлен нуклеоидом и двумя плазмидами. Плазмида рХО1 детерминирует синтез трехкомпонентного экзотоксина, а плазмида рХО2 определяет капсулообразование микроба (рисунок 6.13).

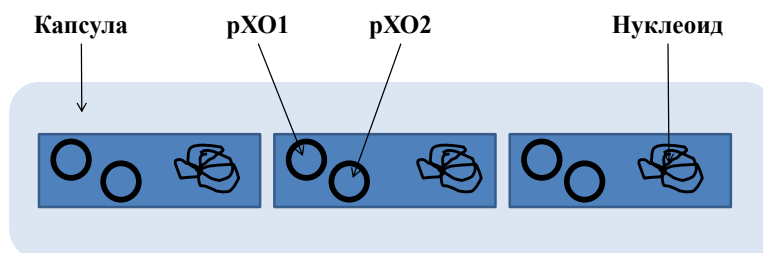


Рисунок 6.13 – Геном сибиреязвенного микроба.

Для окраски спор используют методы Ауески (Ожешки), Пешкова, Цилю-Нельсена. При окраске по Цилю-Нельсену вегетативные клетки окрашиваются в синий (фиолетовый) цвет, а споры - в красный (рисунок 6.14).

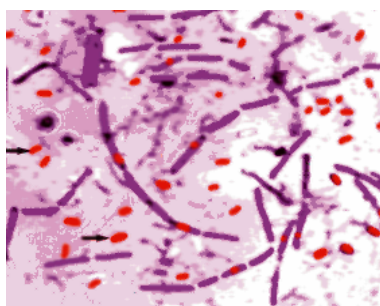


Рисунок 6.14 – Вегетативные клетки (фиолетовые) и споры (красные) сибиреязвенного микроба, окраска по Цилю-Нельсену. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** Сибиреязвенный микроб относится к факультативным анаэробам. Оптимальная температура культивирования - 34-37°C,

pH 7,2-7,5. Возбудитель сибирской язвы хорошо растет на простых питательных средах (МПБ, МПА, МПЖ). На плотных питательных средах уже через 24 часа инкубирования возбудитель образует крупные шероховатые матовые колонии R-формы сероватого или серовато-белого цвета. R-форма колоний на простых плотных питательных средах характерна как для вирулентных, так и авирулентных (вакцинных) штаммов возбудителя сибирской язвы. Такие колонии образованы бескапсульными вегетативными клетками (рисунок 6.15).



Рисунок 6.15 – Рост сибиреязвенного микроба на соевом агаре с казеиновым переваром (HiMedia). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При малом увеличении **край колонии** имеет мелковолоконнистую структуру и волнистые очертания, так как он представлен переплетающимися цепочками клеток. В результате этого край колоний в R-форме сравнивают с локонами волос, гривой льва или головой Медузы Горгоны (рисунок 6.16).

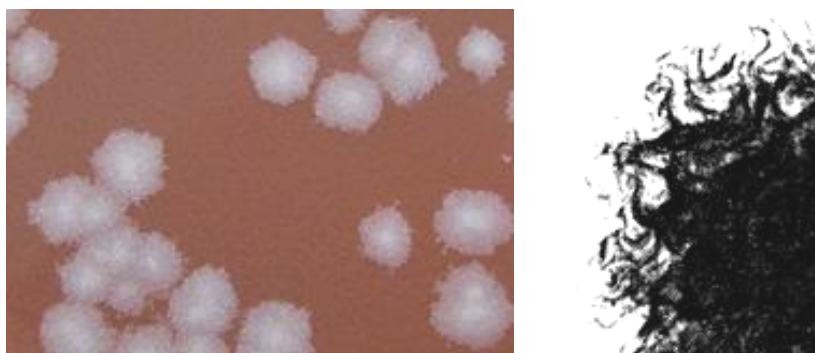


Рисунок 6.16 – Край колоний сибиреязвенного микроба. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Горгоны в греческой мифологии – это три крылатые женщины-чудовища со змеями вместо волос, олицетворяющие все ужасное. Взгляд Горгон превращал все живое в камень. Они были тремя дочерьми Форкида. Из всех Горгон единственной смертной была Медуза, которая была обезглавлена Персеем. Ее голову Персей преподнес Афине, которая прикрепила голову Медузы к своему щиту-эгиде (рисунок 6.17).



Рисунок 6.17 – Голова Медузы Горгоны на щите Афины. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**На специальных питательных средах** (сывороточный агар, бикарбонатный агар) в атмосфере углекислого газа возбудитель сибирской язвы через 1-2 суток инкубирования образует крупные гладкие выпуклые колонии S-формы слизистой консистенции, состоящие из вегетативных капсульных клеток (рисунок 6.18).



Рисунок 6.18 – Рост возбудителя сибирской язвы на сывороточном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На 3-5%-ном **кровяном агаре** образуются шероховатые нежные колонии R-формы диаметром 3-4 мм без зоны гемолиза (рисунок 6.19).



Рисунок 6.19 – Рост сибиреязвенного микроба на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



При посеве уколом в столбик желатина (10-15%) или полужидкого агара (0,5-1%) через 2-6 суток отмечается характерный рост в виде “перевернутой или опрокинутой елочки” (рисунок 6.20).

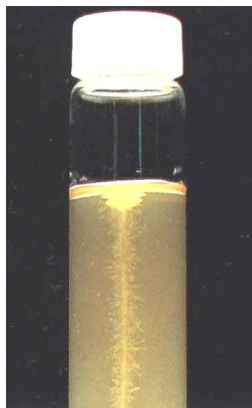


Рисунок 6.20 – Рост сибирезвенного микроба в мясо-пептонном желатине. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**В МПБ** возбудитель сибирской язвы через 24 часа выращивания образует нежный осадок в виде комочка ваты, среда остается прозрачной. При встряхивании бульон не мутнеет, осадок вначале поднимается вверх в виде косички, а затем разбивается на мелкие хлопья, что является одним из характерных признаков сибирезвенного микроба (рисунок 6.21).

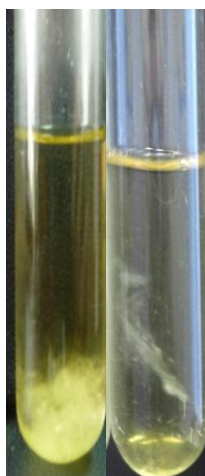


Рисунок 6.21 – Рост сибирезвенного микроба в МПБ. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При выращивании в течение 3 часов на агаре или в бульоне с пенициллином (0,05-0,5 ЕД/мл) сибирезвенный микроб образует цепочки, состоящие из шарообразных клеток. Этот феномен называется “**жемчужным ожерельем**” и широко используется при дифференциации возбудителя сибирской язвы от близкородственных бацилл. Подобное явление объясняется тем, что пенициллин вызывает нарушение процесса синтеза пептидогликана клеточной стенки, в результате чего клетки преобразуются в протопласты, имеющие шарообразную форму (рисунок 6.22).

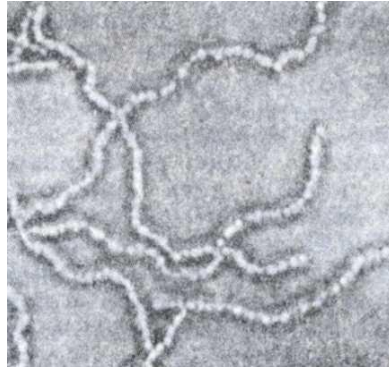


Рисунок 6.22 – Феномен “жемчужного ожерелья”. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Сибирезвенный микроб обладает выраженной **биохимической активностью**. Он ферментирует до кислоты, глюкозу, фруктозу, мальтозу, сахарозу и другие сахара (рисунок 6.23).

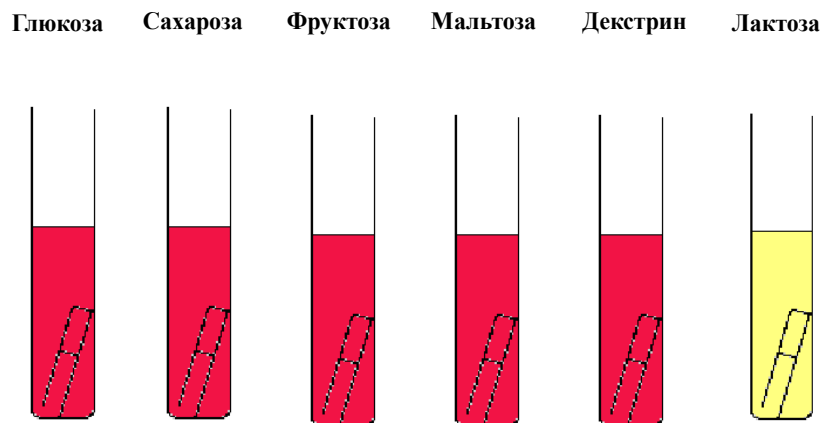


Рисунок 6.23 – Биохимические свойства сибирезвенного микроба.

Возбудитель сибирской язвы образует сероводород и аммиак, не образует индола, гидролизует крахмал, пептонизирует и медленно свертывает молоко.

**Антигенная структура.** У возбудителя сибирской язвы различают клеточные антигены и антигены – продукты метаболизма:

1. Капсульный антиген – К-антиген.
2. Соматический полисахаридный ST-антиген клеточной стенки. Этот антиген содержит N-ацетил-D-глюкозамин с D-галактозой. На обнаружении этого антигена основана реакция термопреципитации Асколи.
3. Белковый экзотоксин, состоящий из трех компонентов: протективного антигена (ПА), летального фактора (ЛФ) и фактора отека или эдематогенного фактора (ФО).

**Устойчивость.** Устойчивость и длительность выживания во внешней среде у вегетативных клеток и спор возбудителя сибирской язвы различны. Вегетативные клетки относительно лабильны, споры достаточно резистентны, что и обуславливает длительность существования почвенных очагов сибирской язвы.

Вегетативные клетки обладают слабой устойчивостью к неблагоприятным факторам: при кипячении гибнут в течение нескольких минут, при температуре  $75^{\circ}\text{C}$  погибают через 5-10 минут, при  $60^{\circ}\text{C}$  – через 15 минут, при  $50^{\circ}\text{C}$  – через 1 час. В невскрытых трупах животных вегетативные клетки сохраняются в течение 2-7 суток, после чего лизируются протеолитическими ферментами. В желудочном соке при температуре  $38^{\circ}\text{C}$  они гибнут через 30 минут, в замороженном мясе при температуре минус  $15^{\circ}\text{C}$  остаются жизнеспособными 15 дней, в засоленном мясе – до 1,5 месяцев. Спирт, эфир, 2%-ный формалин, 5%-ный фенол, 5-10%-ный хлорамин, 5%-ный раствор хлорной извести, 10%-ный раствор перекиси водорода разрушают вегетативные клетки в течение 5 минут.

Споры чрезвычайно устойчивы к неблагоприятным воздействиям. Они выдерживают автоклавирование ( $121^{\circ}\text{C}$ ) в течение 5-10 минут, кипячение – в течение 15-30 минут. В воде сохраняются до 10 лет, в почве до 30 лет и более. Например, при археологических раскопках в Национальном парке Крюгера (Южная Африка), в котором время от времени возникали эпизоотии сибирской язвы, из костей животных 300-летней давности были выделены жизнеспособные вирулентные сибиреязвенные споры. В почве споры возбудителя сибирской язвы не только сохраняются длительное время, но при определенных условиях (температура не ниже  $12-15^{\circ}\text{C}$ , влажность в пределах 29-85%, наличие питательных веществ) могут прорасти, размножиться и вновь образовывать споры, поддерживая длительное существование почвенного очага.

Дезсредства (1%-ный раствор формалина, 10%-ный раствор едкого натра, 3%-ный раствор перекиси водорода) споры выдерживают в течение 1-2 часов. Возбудитель сибирской язвы проявляет высокую чувствительность ко многим антибиотикам (пенициллинам, тетрациклинам, левомицетину, аминогликозидам, цефалоспорином, фторхинолонам).

**Факторы патогенности.** Основными факторами патогенности сибиреязвенного микроба являются капсула и трехкомпонентный экзотоксин (рисунок 6.24), состоящий из фактора отека (ФО), протективного антигена (ПА) и летального фактора (ЛФ). Указанные факторы патогенности сибиреязвенного микроба детерминируются плазмидами рХО1 и рХО2.

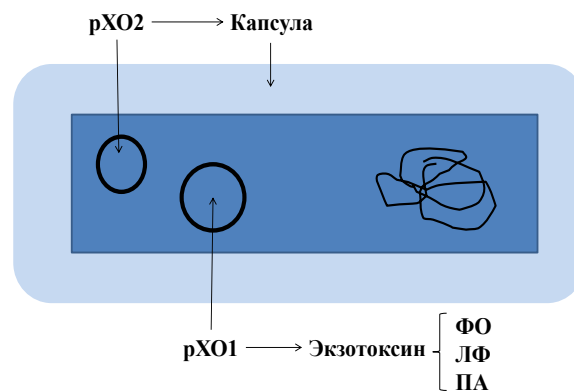


Рисунок 6.24 – Факторы патогенности сибиреязвенного микроба.

**Капсула** сибиреязвенного микроба синтезируется при прорастании спор в восприимчивом организме (или на специальных питательных средах) и защищает образующиеся вегетативные клетки от фагоцитоза. Синтез капсулы определяется генами (*capA*, *capB*, *capC*), расположенными на плазмиде *pXO2* (рисунок 6.25).

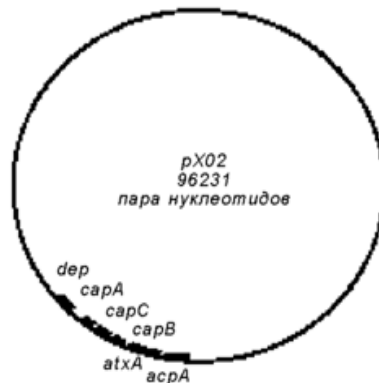


Рисунок 6.25 – Схема плазмиды *pXO2*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Экзотоксин** сибиреязвенного микроба имеет белковую природу. Он состоит из трех компонентов: фактора отека или эдематогенного фактора (ФО), летального фактора (ЛФ) и протективного антигена (ПА). Экзотоксин синтезируют как капсульные, так и бескапсульные клетки сибиреязвенного микроба. Синтез сибиреязвенного токсина определяется генами (*суа*, *pag*, *lef*), локализованными на плазмиде *pXO1* (рисунок 6.26).

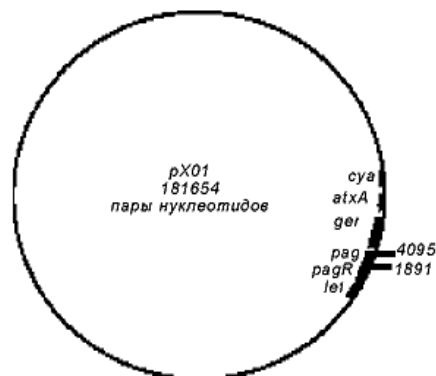


Рисунок 6.26 – Схема плазмиды *pXO1*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Некоторые авторы к факторам патогенности возбудителя сибирской язвы относят протеолитическую активность микроба. Гены, ответственные за протеолитическую активность сибиреязвенного микроба, локализованы на бактериальной хромосоме.

**Эпидемиология.** Сибирская язва – зоонозное заболевание. Среди животных наиболее восприимчивы травоядные. Заболеваемость человека носит выраженный профессиональный характер (сельскохозяйственные рабочие, работники перерабатывающих предприятий, скотобоен). Ежегодно в мире регистрируют около 1 млн. случаев сибирской язвы у животных и 25-100 тыс. случаев заболевания у

людей. Сибирская язва распространена повсеместно, особенно в районах с развитым животноводством.

Эпидемиологическая обстановка по сибирской язве во многих странах и на территории Российской Федерации остается напряженной. Ежегодно в России регистрируется в среднем 11 случаев заболевания людей сибирской язвой. За период с 2009 по 2014 г. в России зарегистрировано 40 случаев заболевания людей сибирской язвой, из них 2 случая закончились летальным исходом. Причинами заболевания в большинстве случаев явились непосредственные контакты с больными сельскохозяйственными животными. В 2010 г. в Российской Федерации зарегистрировано 22 случая сибирской язвы у людей, в 2011 г. – 4 случая, в 2012 г. – 11 случаев, в 2013 г. – 2 случая, в 2014 г. - 7 случаев, в 2015 г. – 3 случая. В июле-августе 2016 г. возникла вспышка сибирской язвы в Ямало-Ненецком округе. Заболевание обнаружили у 20 человек, один ребенок скончался. Вспышка среди людей возникла после массового падежа оленей.

**Резервуаром** для сибиреязвенного микроба является инфицированная почва, в которой сибиреязвенный микроб сохраняется в споровой форме, формируя неблагоприятные пункты. На территории России учтено более 30 тыс. неблагоприятных по сибирской язве населенных пунктов. Животные заражаются при заглатывании спор с частичками почвы во время выпаса или при поедании загрязнённых спорами кормов. У животных преобладают кишечная и септическая формы заболевания. Сибирской язвой болеют козы, овцы, коровы, лошади, олени и другие виды животных. Домашние свиньи менее восприимчивы к сибирской язве. К тому же у свиней сибирская язва протекает в виде локальной формы, поражая в основном заглоченные лимфатические узлы. Как правило, животные заболевают сибирской язвой при пастбищном содержании.

**Источником инфекции** для человека являются **больные животные** (крупный рогатый скот, лошади, свиньи, олени, овцы и др.), **инфицированные продукты питания и кожевенно-меховое сырье**, полученное от больных животных. Возможно также заражение человека через инфицированную почву или загрязненные инфицированной почвой предметы. Больные животные выделяют бактерии с фекалиями, мочой, слюной, кровянистым отделяемым. Особенно много микробов в кровянистой пенистой жидкости, вытекающей из естественных отверстий агонирующих животных в последние минуты жизни и в первые часы после смерти (рисунок 6.27).



Рисунок 6.27 – Внешний вид животных, павших от сибирской язвы. Отмечаются кровянистые пенистые выделения изо рта, вздутые трупы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Возбудитель выделяется от животных как с явно выраженной клиникой болезни, так и со стертыми клиническими формами (бессимптомно больные животные и бациллоносители). Например, у овец-бациллоносителей возбудитель выделяется с молоком, мочой, слюной, фекалиями в течение 1 месяца, а у коров – в течение 9-11 месяцев. Возбудитель попадает на объекты внешней среды также во время прирезки больных животных, при снятии шкуры, разделке туши. Попав в почву, вегетативные клетки трансформируются в споры, сохраняющиеся в почве длительное время. Формирование неблагоприятных по сибирской язве пунктов представлено на рисунке 6.28.

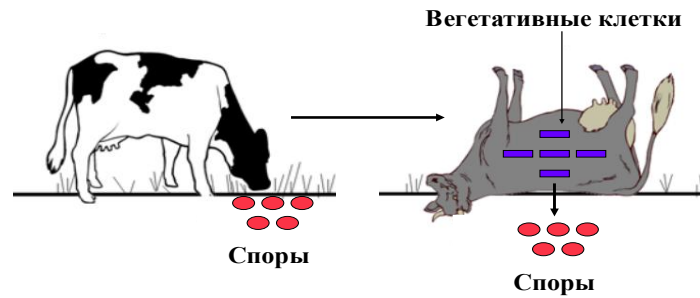


Рисунок 6.28 – Схема образования неблагоприятных по сибирской язве пунктов на месте гибели больных животных.

**Факторами передачи** возбудителя могут быть источники водоснабжения, загрязненные сточными водами кожевенных заводов, забойных пунктов, предприятий, перерабатывающих животное сырье, корма животного происхождения (мясокостная мука, кровяная и мясная мука), инфицированные предметы ухода за животными, бытовые вещи, мясо больных животных, кожевенно-меховое сырье (рисунок 6.29).



Рисунок 6.29 – Факторы передачи инфекции при сибирской язве. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Например, в литературе описаны случаи заражения ребенка от куклы, изготовленной из контаминированной овечьей шерсти, заражение мужчины после пользования кисточкой для бритья. Наибольшее количество возбудителя содержится в трупe погибшего животного. Все его органы и ткани содержат очень большое количество бацилл (существует выражение “органы нафаршированы бациллами”). Вскрытие таких трупов не разрешается, так как при вскрытии трупa

происходит доступ воздуха к возбудителю, массовое образование спор и обсеменение ими почвы и других объектов внешней среды.

**Почва** является не только фактором передачи сибиреязвенного микроба, но и резервуаром возбудителя сибирской язвы. С длительным сохранением спор в почве связано наличие многочисленных неблагоприятных пунктов. Например, в районах Поволжья и Урала в настоящее время насчитывается свыше 6,5 тысяч почвенных сибиреязвенных очагов. Большую эпидемическую опасность представляют скотомогильники, особенно содержащиеся в неудовлетворительном состоянии (рисунок 6.30).



Рисунок 6.30 – Сибиреязвенные скотомогильники. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В Уральском регионе также располагается множество скотомогильников. Например, в Свердловской области зарегистрировано 365 скотомогильников, в Челябинской области – 246 скотомогильников, в Курганской области – 554 скотомогильника, в Тюменской области – 439 скотомогильников.

**Пути заражения** человека сибирской язвой – **контактно-бытовой** (уход за больными животными, переработка шерсти, шкур, кож, земляные работы), **алиментарный** (употребление в пищу мяса больных животных), **воздушно-пылевой** (вдыхание спор). Человек заражается при уходе за больными животными, во время убоя больного животного, при переработке продуктов животного происхождения и кожевенного сырья, при употреблении инфицированного мяса или других продуктов животноводства. **Входные ворота** – поврежденная кожа, слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей (рисунок 6.31).

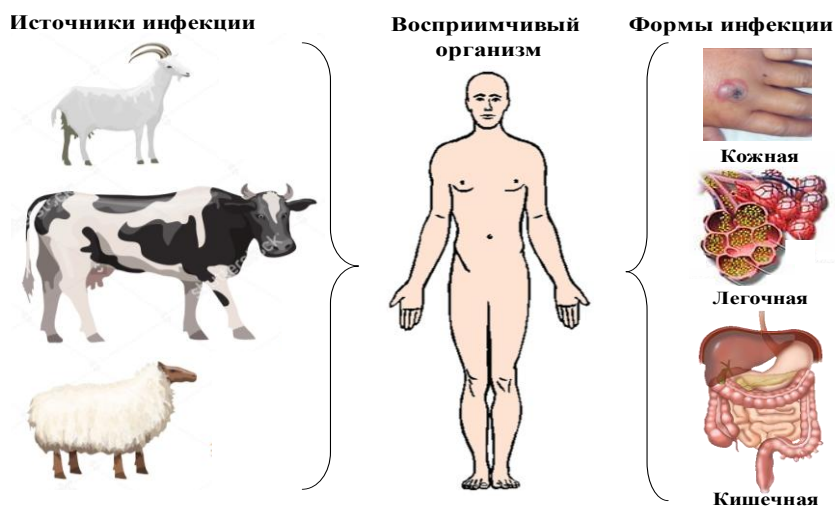


Рисунок 6.31 – Схема заражения человека сибирской язвой.

От человека к человеку возбудитель не передается. Инфицирующая доза *B. anthracis* для человека составляет 10000-20000 спор.

**Патогенез.** Входными воротами для возбудителя сибирской язвы в большинстве случаев служит кожа, имеющая микроповреждения (порезы, ссадины). Значительно реже входными воротами являются слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей.

После попадания в организм человека споры сибирезвеного микроба фагоцитируются макрофагами и транспортируются в регионарные лимфатические узлы (рисунок 6.32).

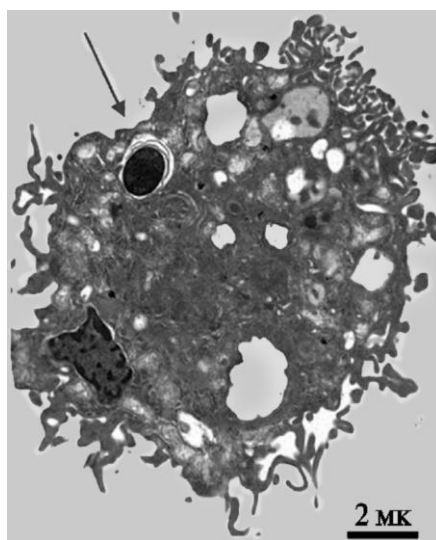


Рисунок 6.32 – Фагоцитоз сибирезвеновых спор (указано стрелкой) альвеолярными макрофагами. Просвечивающая электронная микроскопия (Ribot W. et. al., 2006).

Во время забоя больных животных возможно заражение через микротравмы кожи вегетативными клетками возбудителя сибирской язвы. В этом случае микробные клетки также фагоцитируются и транспортируются в лимфатические узлы (рисунок 6.33).





Рисунок 6.33 – Фагоцитоз вегетативных клеток сибирязвенного микроба.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В лимфатических узлах споры прорастают, образуя капсульные вегетативные клетки, синтезирующие сибирязвенный экзотоксин. Вегетативные клетки и сибирязвенный токсин лимфогенно и гематогенно распространяются по организму и обуславливают развитие воспалительных процессов в различных органах – головной мозг, легкие, селезенка и др. (рисунок 6.34).

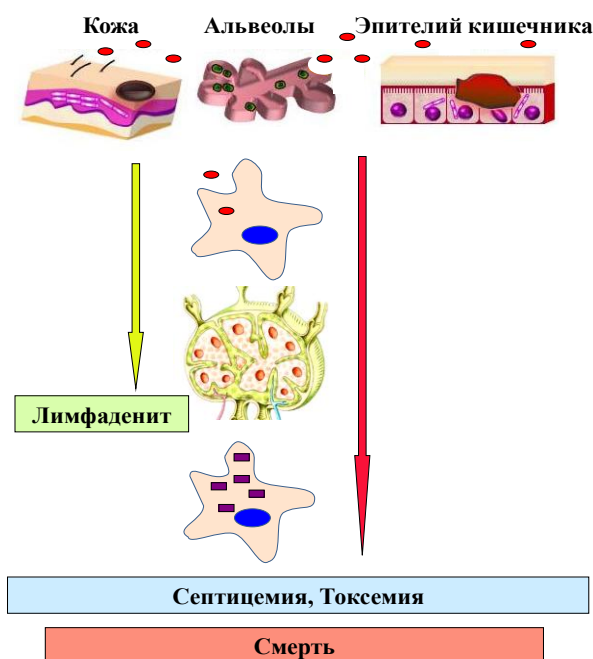


Рисунок 6.34 – Патогенез сибирязвенной инфекции.

Основное патогенетическое влияние на организм человека оказывает трехкомпонентный сибирязвенный экзотоксин. Сибирязвенный токсин состоит из протективного антигена (ПА), фактора отека (ФО, кальмодулин-зависимая аденилатциклаза) и летального фактора (ЛФ, цинк-мелаллопротеаза). По отдельности компоненты токсина не оказывают токсического действия на клетки организма. Механизм действия сибирязвенного токсина заключается в следующем. Вначале протективный антиген связывается на поверхности эукариотической клетки с рецептором АТН (anthrax toxin receptor). Затем протеаза клетки-мишени (фурин)

расщепляет протективный антиген на 2 фрагмента: один фрагмент с молекулярной массой 20 кД (ПА20) и другой фрагмент с молекулярной массой 65 кД (ПА65). После этого фрагмент с молекулярной массой 65 кД формирует гептамер и связывается с другими компонентами токсина (ЛФ или ФО), образуя летальный (ПА+ЛФ) или отечный (ПА+ФО) токсины (рисунок 6.35).

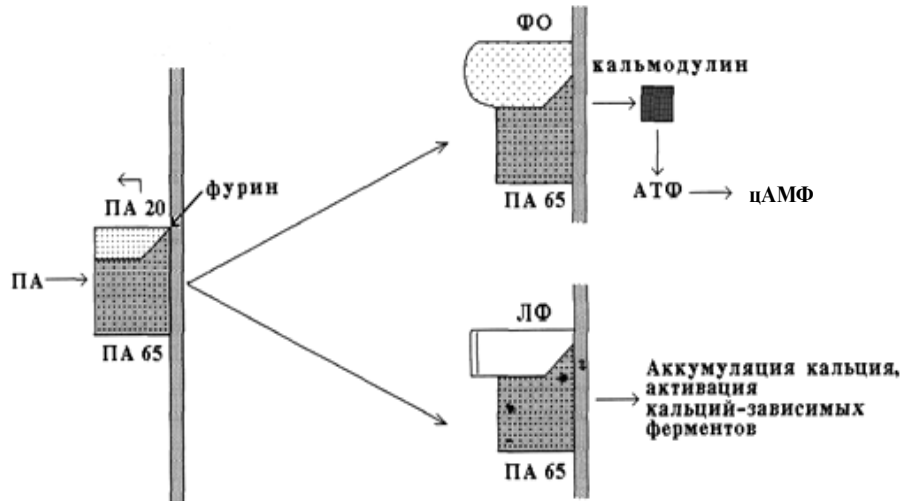


Рисунок 6.35 – Механизм проникновения ЛФ и ФО внутрь клетки.

Следовательно, ПА выполняет акцепторную и интернализирующую функции, а ФО и ЛФ – эффекторную функцию. В чистом виде ПА не обладает токсичностью. Летальный и отечный токсины эндоцитозом проникают внутрь клетки. Летальный токсин, состоящий из ПА и ЛФ, вызывает внутри клетки продуцирование активных форм кислорода, что приводит к деструкции и гибели клетки (некрозу клеток). Летальный токсин вызывает также продукцию провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухолей альфа, интерлейкин-1 бета), ответственных за шок и смерть больного.

Комплекс ПА с ФО, проникнув внутрь клетки, активируется внутриклеточным белком кальмодулином, в результате чего в клетках значительно повышается уровень циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Высокий уровень цАМФ приводит к увеличению проницаемости клеток, образованию отеков и подавлению функции нейтрофилов. Механизм действия сибиреязвенного токсина на макроорганизм представлен на рисунке 6.36.

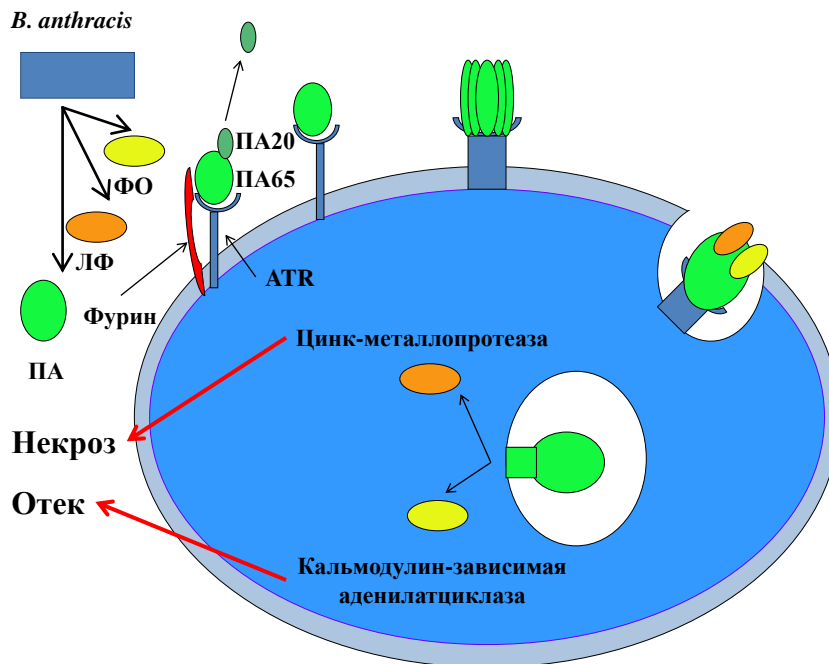


Рисунок 6.36 – Механизм действия сибиреязвенного токсина на эукариотическую клетку.

Прорастание спор и размножение вегетативных клеток в фагоцитах обеспечивается способностью синтезировать токсин и образовывать капсулу. Синтез токсина способствует переходу прорастающих клеток из фагосомы в цитоплазму. Образование капсулы вегетативными клетками начинается в макрофаге, что обеспечивает быстрый выход вегетативных клеток из макрофагов. Капсула защищает вышедшие из макрофагов вегетативные клетки от последующего фагоцитоза.

На месте внедрения возбудителя **через поврежденную кожу** возникает сибиреязвенный карбункул в виде очага серозно-геморрагического воспаления с некрозом, отеком прилегающих тканей и регионарным лимфаденитом. При гистологическом исследовании обнаруживаются некроз, полнокровие, кровоизлияния и студенистый отек.

**При ингаляционном проникновении** возбудителя в организм споры попадают непосредственно в альвеолы вместе с частицами пыли диаметром менее 5 мкм. Затем споры поглощаются альвеолярными макрофагами и переносятся ими в лимфатические узлы средостения, где прорастают. В результате этого возникают геморрагический некроз лимфатических узлов и геморрагический медиастинит. Выход возбудителя в кровь (бактериемия) приводит к генерализации процесса и развитию сепсиса.

В случае **алиментарного инфицирования** споры частично разрушаются в желудке, а частично попадают в кишечник, где проникает через слизистую оболочку и размножается в лимфатических образованиях тонкой кишки. В результате этого формируется серозно-геморрагический лимфаденит. В дальнейшем возбудитель проникает в кровь, обуславливая генерализацию процесса. При аутопсии в крови, лимфатических узлах и во внутренних органах обнаруживается большое количество капсульных вегетативных клеток *B. anthracis*.

**Клиника сибирской язвы. Инкубационный период** при сибирской язве в зависимости от формы заболевания продолжается от нескольких часов до 6-8 дней (чаще – 2-3 дня). Различают следующие формы заболевания:

- **кожная (наружная) форма** (геморрагически-некротическое воспаление глубоких слоев дермы - карбункул) – до 95-98% случаев, летальность не превышает 10%;

- **висцеральная (внутренняя) форма** (легочная, кишечная и септическая разновидности) – 2-5% случаев, летальность до 100%.

При кожной форме в месте входных ворот инфекции сначала появляется красноватое **пятно**, быстро трансформирующееся в **папулу** медно-красного цвета. Через несколько часов на месте папулы образуется **везикула** (пузырек) диаметром 2-3 мм; её содержимое сначала имеет серозный характер, затем становится тёмным, кровянистым. Затем везикула превращается в **пустулу** (гнойный пузырек в коже). Из-за сильного зуда больные часто срывают эпидермис (либо пузырек лопается сам) и на пораженном месте образуется язва, покрытая вначале **струпом** (корочкой) черного цвета. Струп окружает инфильтрат в виде багрового вала и студневидный отек, охватывающий большие участки. По характерной клинической картине этого периода болезнь имела название “углевик”. В последующем под струпом формируется гранулирующая поверхность и рубцевание (рисунок 6.37).



Рисунок 6.37 – Кожная форма сибирской язвы.

Кожная форма сибирской язвы может протекать в виде множественных карбункулов, которые часто сопровождаются сильным отеком прилегающих тканей. При этом вокруг зудящей папулы возникают дочерние везикулы.

Наиболее часто кожная форма сибирской язвы развивается на открытых участках тела – руках, лице, шее. Однако карбункулы могут возникать и на других участках тела - на нижних конечностях, туловище. Развитие карбункула в области глаз называют глазной формой сибирской язвы (рисунок 6.38).



Рисунок 6.38 – Сибирязвенный карбункул в области глаза. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Легочная форма** сибирской язвы развивается при ингаляции спор и часто носит профессиональный характер (“болезнь сортировщиков шерсти”, “болезнь тряпичников”). Она имеет короткий инкубационный период (около суток), острое начало: резкий подъем температуры, пневмония, отек легких, сердечная недостаточность. Мокрота при легочной форме сибирской язвы имеет вид “малинового желе”. Смерть больного наступает на 2-3 сутки. Диагноз ставится чаще всего на вскрытии. При вскрытии находят увеличенную дряблую селезенку. На разрезе селезенка темно-вишневого, почти черного цвета. Особенно характерно для легочной формы развитие геморрагического менингоэнцефалита. Мягкие мозговые оболочки отечны, пропитаны кровью, имеют темно-красный цвет (“красный чепец” или “шапочка кардинала”). Микроскопически обнаруживают серозно-геморрагическое воспаление оболочек и ткани мозга с разрушением стенок мелких сосудов и скоплением в просвете сосудов клеток возбудителя. В связи с отсутствием специфических патологоанатомических изменений со стороны легких во многих странах выделяют не легочную форму сибирской язвы, а ингаляционную сибирскую язву, подчеркивая путь заражения человека.

**Кишечная форма** сибирской язвы также имеет острое начало: повышение температуры тела, рвота с примесью крови, диарея с примесью крови, боли в эпигастриальной области. Затем отмечается прогрессирующая сердечная недостаточность. Смерть больного наступает через 3-4 суток.

**Диагностика сибирской язвы.** Материалом для исследования от больных людей является содержимое карбункула или язвы, струп, кровь, моча, мокрота, испражнения, рвотные массы. При патологоанатомическом исследовании забирают кровь, экссудаты, кусочки органов. По эпидемическим показаниям исследуют материал от животных, почву, фураж, воду, продовольственное сырье и продукты животного происхождения, кожевенное сырье (шерсть, щетину, шкуры). Исследования проводят в специализированных лабораториях особо опасных инфекций. Пробы из объектов внешней среды, содержащие споры, для освобождения от посторонних микроорганизмов подвергают прогреванию при температуре 80°C в течение 20 минут. Пробы, содержащие вегетативные клетки возбудителя (материал от больного человека или животных), прогреванию не подвергают.

Методы лабораторной диагностики сибирской язвы:

1. Бактериоскопический метод (окраска по Граму, Ожешко, Бурри-Гинсу).  
Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)
2. Бактериологический метод (посев на МПА, МПБ, КА, тест жемчужного ожерелья, чувствительность к бактериофагу).
3. Биологический метод (биопроба на морских свинках, белых мышах и кроликах).
4. Аллергопроба с антраксином (ретроспективная диагностика после выздоровления).

Схема лабораторной диагностики сибирской язвы представлена на рисунке 6.39.

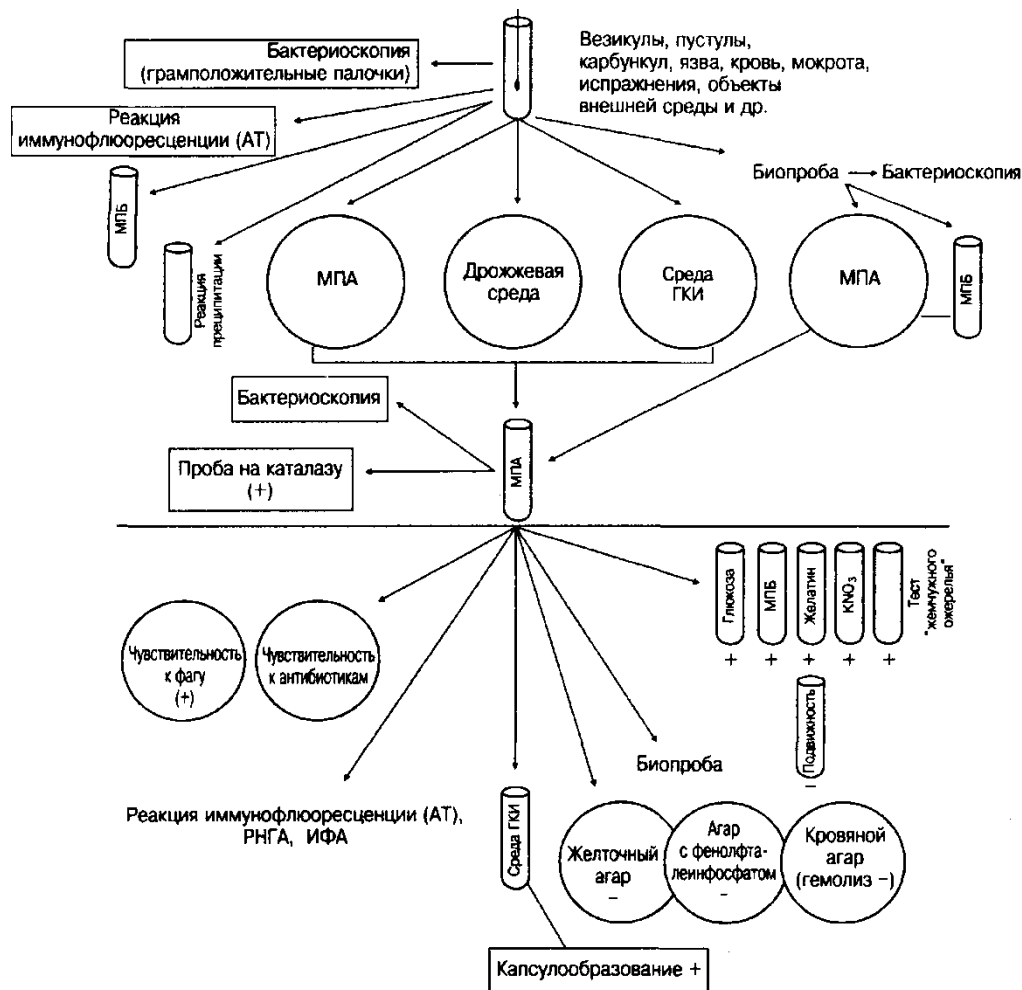


Рисунок 6.39 – Схема лабораторной диагностики сибирской язвы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Бактериоскопическое исследование** проводится для выявления в исследуемом материале возбудителя. При этом используются разные методы окраски: окраска по Граму – для выявления вегетативных клеток, окраска по Бурри-Гинсу, Ребигеру, Михину, Ольту, Гинсу, Романовскому-Гимзе, синькой Лёффлера – для обнаружения капсулы, окраска по Ожешко – для обнаружения спор, сибирезавенной люминесцирующей сывороткой (антисоматической или антиспоровой, в зависимости от вида пробы) – для выявления возбудителя. При

бактериоскопическом исследовании материала от больного обнаруживаются капсульные вегетативные клетки (рисунок 6.40).

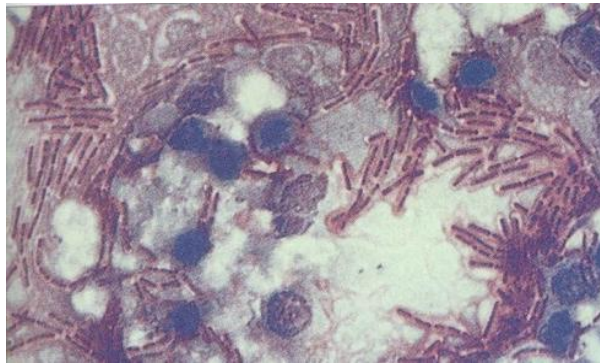


Рисунок 6.40 – Капсульные вегетативные клетки в отделяемом карбункула.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

**Исследование на подвижность** проводят микроскопическим методом раздавленной капли. Возбудитель сибирской язвы неподвижен.

**РИФ** с сибиреязвенной люминесцирующей сывороткой является одним из методов экспресс-диагностики сибирской язвы. Для люминесцентной микроскопии мазки готовят из патологического материала, из подозрительных колоний, из материала, взятого от биопробных животных. На высохшие и фиксированные мазки наносят сибиреязвенные люминесцирующие адсорбированные иммуноглобулины. Этим методом можно выявить в пробах сибиреязвенные микробы в споровой или вегетативной форме. При наличии в пробе вегетативных клеток обнаруживаются палочки, окруженные ободком зеленоватого цвета (рисунок 6.41).

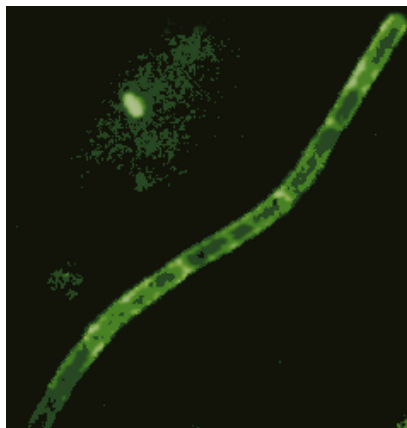


Рисунок 6.41 - Люминесцентная микроскопия сибиреязвенного микроба.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Обнаружение в мазке из материала от больного (трупа) крупных грамположительных палочек, окруженных капсулой, позволяет поставить предварительный диагноз сибирской язвы.

**Бактериологическое исследование** направлено на выделение чистой культуры и ее идентификацию для окончательного подтверждения диагноза. Для посева исследуемого материала используют МПА и МПБ. Пробы,

контаминированные посторонней микрофлорой, высевают на питательные среды с полимиксином В, лизоцимом, ЭДТА и ацетатом таллия. Посевы инкубируют при 36-37<sup>o</sup>С в течение 18-24 часов.

Для выделения чистой культуры, особенно из загрязненного материала, используют также лабораторных животных (морских свинок, белых мышей). Исследуемый материал вводится подкожно (морским свинкам – в паховую область, белым мышам – в корень хвоста). Мышам вводят по 0,2-0,5 мл, свинкам – по 0,5-1,0 мл. Морские свинки обычно погибают через 2-4 суток, а белые мыши – через 1-2 суток. При наличии сибиреязвенного микроба у лабораторных животных отмечается характерная патологоанатомическая картина: отек в месте введения материала, темная не свернувшаяся кровь, кровоизлияния в клетчатку, рыхлая селезенка. В мазках-отпечатках из внутренних органов и в препаратах, приготовленных из крови, обнаруживаются грамположительные палочки, окруженные капсулой.

Чистую культуру пересевают на скошенный МПА и инкубируют при температуре 37<sup>o</sup>С в течение 4 суток для получения споровой культуры. Идентификацию выделенной культуры проводят на основании изучения характера роста микроба на питательных средах, подвижности, капсулообразующей способности, теста жемчужного ожерелья, чувствительности к бактериофагу. Дополнительно определяют лецитиназную, фосфатазную и гемолитическую активность культуры.

**Капсулообразующую способность** изучают на МПА с 0,7% бикарбоната натрия, на МПА с сывороткой крови крупного рогатого скота. Посевы инкубируют в течение 24-48 часов при 37<sup>o</sup>С в атмосфере 5-10% углекислого газа. Посевы культуры для выявления капсулы можно производить в жидкую среду ГКИ (инактивированная сыворотка крови в растворе Хенкса). В сомнительных случаях капсулообразование выявляют путем заражения лабораторных животных. Через 1-2 часа животных забивают, из перитонеальной жидкости и крови готовят мазки, а из селезенки и печени – мазки-отпечатки. Препараты окрашивают для выявления капсулы и микроскопируют.

**Лецитиназную активность** проверяют на агаре с добавлением куриного желтка или в жидкой желточной среде. Сибиреязвенный микроб не свертывает желток в жидкой среде в течение нескольких суток. При росте на плотной среде вокруг колоний сибиреязвенного микроба мутная белая зона не образуется, так как возбудитель сибирской язвы не обладает лецитиназной активностью.

**Фосфатазную активность** проверяют на питательном агаре, содержащем фенолфталеинфосфат натрия. Посевы на этой среде инкубируют при 37<sup>o</sup>С в течение 18-24 часов. Перед просмотром посевов в крышку чашки вносят раствор аммиака и через 1 минуту учитывают результаты. Под действием паров аммиака происходит окрашивание в розовый цвет колоний микроорганизмов, обладающих фосфатазной активностью. Сибиреязвенный микроб фосфатазной активностью не обладает, поэтому его колонии остаются бесцветными.

**Гемолитическую активность** проверяют при посеве исследуемой культуры на кровяной агар (3-5%) или в бульон с кровью. Результаты учитывают через 16-20 часов инкубирования посевов в термостате при 37<sup>o</sup>С. Возбудитель сибирской язвы гемолитической активностью не обладает, поэтому вокруг колоний зоны гемолиза не образуется.



Сибирязвенный микроб лизируется специфическими **бактериофагами** (Гамма-фаг, К-ВИЭВ, Саратов, ВА-9 и другие). Проба с бактериофагами проводится на плотной питательной среде путем нанесения капли суспензии бактериофага на предварительно высеянную культуру. Можно использовать также метод стекающей капли, при котором после нанесения капли суспензии бактериофага чашку наклоняют. Капля суспензии бактериофага при этом стекает по поверхности агара. Результат исследования в виде стерильного пятна или фаговой дорожки (отсутствие роста культуры) обнаруживается через 18-24 часа инкубирования при температуре 36°С (рисунок 6.42).



Рисунок 6.42 – Литическое действие бактериофага гамма на сибирязвенную культуру. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Серодиагностика** проводится в тех случаях, когда возбудитель сибирской язвы не обнаруживается в исследуемом материале. Для **определения антител** в сыворотке крови больного применяют реакцию латексной агглютинации или РПГА с протективным сибирязвенным антигеном. Сибирязвенные **антигены** можно выявлять в РИФ, ИФА, РСК, РНГА, РП в геле и в реакции термопреципитации по Асколи.

**Реакция термопреципитации по Асколи** чаще всего используется для выявления сибирязвенного возбудителя или соматического полисахаридного антигена в различных субстратах (кожевенном сырье, изделиях из кожи и шерсти, мясе, почве, испражнениях). Эта реакция позволяет определять наличие сибирязвенного антигена как в свежем, так и в разложившемся сырье или мумифицированных трупах животного. Эту реакцию разработал в 1902 г. итальянский врач и иммунолог Альберто Асколи для выявления возбудителя в кожевенном сырье. Она позволяет обнаружить антигены возбудителя при отрицательных результатах бактериологического исследования. Компонентами этой реакции являются экстракт исследуемого материала и преципитирующая сибирязвенная сыворотка. Перед постановкой реакции свежий материал предварительно выдерживают в термостате в течение 18-20 часов. Несвежий материал экстрагируют без выдерживания в термостате. Для приготовления экстракта материал заливают физиологическим раствором, кипятят в течение 10-45 минут и фильтруют. Иммунную преципитирующую сыворотку (0,2-0,3 мл) вносят в специальную узкую преципитационную пробирку и на нее осторожно наслаивают равное количество исследуемого экстракта. На границе соприкосновения компонентов в течение 1-5 минут образуется мутное кольцо преципитации белого цвета, что расценивается как положительный результат (рисунок 6.43).

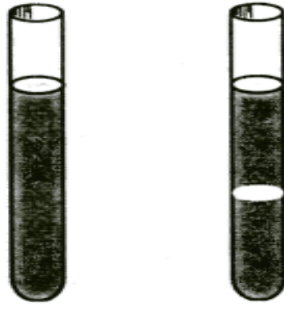


Рисунок 6.43 – Реакция термопреципитации по Асколи.

**Биологическая проба.** Для постановки биологической пробы используют белых мышей, морских свинок, кроликов. Заражение лабораторных животных исходным материалом является обязательным этапом диагностики. Исследуемый материал вводится подкожно. Гибель зараженных животных наступает через 1-3 суток. Павших животных вскрывают, делают мазки-отпечатки их тканей и органов и посева на МПА. При вскрытии животных отмечается характерный для сибиреязвенной инфекции студенистый геморрагический отек подкожной клетчатки в месте введения материала, гиперемия внутренних органов, увеличение селезенки и несвернувшаяся кровь. В мазках обнаруживаются сибиреязвенные бактерии в виде коротких цепочек, окруженных капсулой. В посевах вырастают типичные для сибиреязвенного микроба шероховатые колонии.

**Аллергологическое исследование.** Для ретроспективной диагностики сибирской язвы используется **кожная аллергическая проба** с антраксином. Реакцию разработал Эль Наумович Шляхов (1920 – 2005 гг.). Антраксин вводят внутрикожно в ладонную поверхность предплечья в объеме 0,1 мл. Результат учитывают через 24-48 часов. Пробу считают положительной при наличии гиперемии и инфильтрата диаметром более 15 мм (таблица 6.1).

Таблица 6.1 – Оценка кожной аллергической пробы с сибиреязвенным аллергеном (антраксином)

Элементы местной реакции через		Оценка реакции
24 часа	48 часов	
Инфильтрат отсутствует	Гиперемия возможна	Реакции нет (-)
Гиперемия до 8 мм в диаметре с инфильтратом	Гиперемия менее 8 мм в диаметре	Сомнительная реакция (±)
Гиперемия 8-15 мм в диаметре с инфильтратом	Гиперемия 8 мм и более в диаметре	Положительная реакция (+)
Гиперемия 16-25 мм в диаметре с инфильтратом	Гиперемия 8 мм и более в диаметре	Положительная реакция (++)
Гиперемия 26-40 мм в диаметре с инфильтратом	Гиперемия 8 мм и более в диаметре	Резко положительная реакция (+++)
Гиперемия более 40 мм в диаметре с инфильтратом	Гиперемия 8 мм и более в диаметре	Очень резко положительная реакция (++++)

Положительная проба с антраксином сохраняется длительное время после переболевания, что позволяет использовать эту реакцию для ретроспективной диагностики заболевания.

### **Сроки исследования при сибирской язве:**

- микроскопического – в день поступления материала;
- бактериологического – до 3 суток;
- биологического – до 10 суток.

В настоящее время разработаны **новые методы диагностики** сибирской язвы:

- люминесцентно-серологический метод при помощи системы фаг-флюоресцентный антифаг основан на использовании явления специфической адсорбции частиц сибиреязвенного индикаторного бактериофага на клетках чувствительного гомологичного микроба, специфической реакции их с антифаговой флюоресцирующей сывороткой и на последующем выявлении возбудителя путем люминесцентной микроскопии;
- твердофазный иммуноферментный метод позволяет обнаружить возбудителя сибирской язвы даже при наличии одной бациллы в 1 мл воды и 50 бацилл в 1 г зерна или сена;
- серологическая реакция непрямой гемагглютинации (РНГА) для выявления сибиреязвенных антител;
- ПЦР – диагностика;
- ПДАФ - метод (метод AFLP) - полиморфизм длины амплифицированного фрагмента, основанный на обнаружении локуса, специфичного для каждого штамма.

**Лечение сибирской язвы.** Основными лекарственными средствами, используемыми для лечения сибирской язвы у людей, являются антибиотики и противосибиреязвенная сыворотка или противосибиреязвенный иммуноглобулин. Сибиреязвенный микроб обладает высокой чувствительностью к пенициллинам, цефалоспорином, аминогликозидам, тетрациклинам, фторхинолонам. Меньшую чувствительность он проявляет к макролидам, линкозамидам, фениколам, а к полимиксинам возбудитель сибирской язвы устойчив. В связи с этим устойчивость сибиреязвенного микроба к полимиксинам используется при выделении возбудителя из внешней среды. Для лечения сибирской язвы применяют такие антибиотики как пенициллин, ампициллин, тетрациклин, гентамицин, тобрамицин, стрептомицин, фторхинолоны и многие другие препараты. Рекомендуется использовать также комбинации антибиотиков друг с другом (пенициллин со стрептомицином, пенициллин с тетрациклином, ампициллин с гентамицином и т.д.).

Наряду с антибиотиками для лечения сибирской язвы применяют лечебную противосибиреязвенную сыворотку или противосибиреязвенный иммуноглобулин. Такая схема лечения рекомендуется при любой форме заболевания.

При легком течении заболевания (незначительный отек, отсутствие тенденции к увеличению размеров некроза, слабо выраженная интоксикация) больному назначают лишь антибиотики (пенициллин по 500 тыс. – 1 млн. ЕД внутримышечно 6-8 раз в сутки в течение 5-7 дней; тетрациклин по 0,05-0,1 г внутримышечно 2-3 раза в сутки в течение 5-7 дней).

При среднетяжелом и тяжелом течении сибирской язвы (выраженная склонность отека и некроза к увеличению с усилением явлений интоксикации) лечение антибиотиками сочетается с введением 40-50 мл внутримышечно однократно **противосибиреязвенного глобулина** (рисунок 6.44).



Рисунок 6.44 – Противосибирезвенный глобулин лошадиный. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Индивидуальную чувствительность к глобулину проверяют внутрикожной пробой. С этой целью разведенный глобулин вводят внутрикожно в количестве 0,1 мл. Проба считается отрицательной, если через 20 минут после введения диаметр папулы не превышает 0,9 см. После этого пробу повторяют с неразведенным глобулином. При отсутствии через 30 минут реакции на месте введения неразведенного глобулина вводят лечебную дозу глобулина. В случае крайне тяжелого течения заболевания дозу антибиотиков и глобулина значительно увеличивают.

**Профилактика сибирской язвы. Неспецифическая профилактика.** Основными направлениями профилактики сибирской язвы у людей является проведение ветеринарно-санитарных мероприятий: вакцинация восприимчивых животных; изоляция больных и подозрительных животных, уничтожение трупов погибших животных и обеззараживание объектов (подстилка, навоз), обезвреживание мест содержания больных животных; учет и ликвидация почвенных очагов (мест сохранения возбудителя в почве); очистка водопоев, осушение заболоченных участков; организация скотомогильников (глубина ямы не менее 2 м, использование хлорной извести при захоронении трупов животных); проведение санитарно-ограничительных мероприятий; санитарный надзор за предприятиями, занятыми переработкой животного сырья; разъяснительная работа среди населения.

Необходимо добиваться прекращения бесконтрольного убоя животных, соблюдения правил утилизации, уборки и уничтожения трупов, осуществлять надзор за заготовкой сырья животного происхождения, следить за санитарным состоянием ферм, пастбищ, водопоя, трасс прогона скота. Очень важно регистрировать и изолировать инфицированные территории с сибирезвенными захоронениями. Скотомогильники огораживают и дезинфицируют. На угрожаемой территории обязательно контролируют выполнение ветеринарно-санитарных правил при проведении гидромелиоративных, строительных и других земляных работ.

При вспышке сибирской язвы немедленно устанавливают карантин. Запрещают ввод, вывод, перегруппировку животных, убой на мясо, заготовку и вывоз продукции животноводства. Всех животных клинически обследуют. Больных и подозрительных по заболеванию изолируют и лечат, а через 14 дней после выздоровления вакцинируют. Клинически здоровых вакцинируют немедленно. Молоко от больных животных обеззараживают и уничтожают, а от подозреваемых в заражении – допускают к употреблению после кипячения. Трупы сжигают,

захоронение их при сибирской язве запрещено. Места, где были трупы или больные животные тщательно дезинфицируют. Почву орошают раствором хлорной извести, содержащим 5% активного хлора (10 л на 1 кв. м), затем перекапывают на глубину 25 см и перемешивают с сухой хлорной известью, содержащей не менее 25% активного хлора (на 3 части почвы 1 часть хлорной извести). После этого сухую почву увлажняют.

Инфицированный навоз сжигают. Все кожевенное сырье исследуют в лаборатории на сибирскую язву, контаминированное сырье сжигают.

Карантин снимают через 15 суток после последнего случая гибели или выздоровления животного, окончания реакции на прививки и проведения заключительных ветеринарно-санитарных мероприятий.

При выявлении случаев сибирской язвы на мясокомбинатах убой животных прекращают и проводят обеззараживание всех инфицированных объектов.

**Специфическая профилактика.** В настоящее время для профилактики сибирской язвы у людей применяют живую вакцину СТИ (производится из бескапсульного штамма *B. anthracis* СТИ-1), химическую вакцину (на основе протективного антигена штамма СТИ-1), комбинированную вакцину (на основе спор бескапсульного штамма СТИ-1 и протективного антигена этого же штамма). Все вакцины применяются по эпидемиологическим показаниям (рисунок 6.45).



Рисунок 6.45 – Живая сибирезвенная вакцина СТИ. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

За рубежом в практике ветеринарии и медицины используют только химическую вакцину, представляющую собой очищенный протективный антиген, продуцируемый клетками штамма *Sterne* на специальных питательных средах.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Назовите возбудителя сибирской язвы.
2. Какую форму имеют клетки сибирезвенного микроба?
3. Как по Граму окрашивается возбудитель сибирской язвы?
4. В какой форме существует возбудитель сибирской язвы в организме больного?
5. В какой форме существует возбудитель сибирской язвы в почве?

6. Обладает ли возбудитель сибирской язвы подвижностью?
7. Каким методом выявляется подвижность бактерий?
8. Образует ли возбудитель сибирской язвы споры?
9. Каким методом окрашивают препараты для выявления спор?
10. Образует ли возбудитель сибирской язвы капсулу?
11. Как выявляется капсула у сибиреязвенного микроба?
12. Какие питательные среды используют для выращивания сибиреязвенного микроба?
13. Опишите характер роста сибиреязвенного микроба на плотных питательных средах.
14. Опишите характер роста сибиреязвенного микроба в жидких питательных средах.
15. Назовите основные факторы патогенности сибиреязвенного микроба.
16. Какую роль выполняют в клетках сибиреязвенного микроба плазмиды?
17. Назовите источник инфекции при сибирской язве.
18. Назовите пути заражения человека сибирской язвой.
19. Назовите средства специфической профилактики сибирской язвы.
20. Какие средства используются для лечения сибирской язвы?

### Тренировочные тесты

1. Возбудителем сибирской язвы является (один правильный ответ):
  - 1.1 *B. abortus*
  - 1.2 *B. anthracis*
  - 1.3 *B. melitensis*
  - 1.4 *F. tularensis*
  - 1.5 *Y. pestis*
2. Спорообразование - характерная особенность возбудителя (один правильный ответ):
  - 2.1 туляремии
  - 2.2 бруцеллеза
  - 2.3 чумы
  - 2.4 сибирской язвы
  - 2.5 дифтерии
3. Наиболее устойчив в окружающей среде возбудитель (один правильный ответ):
  - 3.1 туляремии
  - 3.2 бруцеллеза
  - 3.3 сибирской язвы
  - 3.4 чумы
  - 3.5 коклюша
4. Возбудитель сибирской язвы представляет собой (один правильный ответ):
  - 4.1 грамотрицательный кокк
  - 4.2 грамположительный кокк

- 4.3 грамположительную палочку
- 4.4 грамотрицательную палочку
- 4.5 извитую бактерию

5. Факторы патогенности сибиреязвенного микроба (несколько правильных ответов):

- 5.1 жгутики
- 5.2 капсула
- 5.3 пили
- 5.4 экзотоксин
- 5.5 корд-фактор

6. Для обнаружения сибиреязвенного антигена в исследуемом кожном материале используют реакцию (один правильный ответ):

- 6.1 встречной иммунодиффузии
- 6.2 радиальной иммунодиффузии
- 6.3 кольцепреципитации по Асколи
- 6.4 флоккуляции
- 6.5 агглютинации

7. Вакцина СТИ предназначена для профилактики (один правильный ответ):

- 7.1 столбняка
- 7.2 чумы
- 7.3 туляремии
- 7.4 бруцеллёза
- 7.5 сибирской язвы

8. Типичное проявление кожной формы сибирской язвы у человека (один правильный ответ):

- 8.1 фурункул
- 8.2 панариций
- 8.3 карбункул
- 8.4 флегмона
- 8.5 рожистое воспаление

9. Наличие на коже больного язвы, покрытой струпом черного цвета, позволяет заподозрить (один правильный ответ):

- 9.1 дифтерию
- 9.2 чуму
- 9.3 сибирскую язву
- 9.4 бруцеллез
- 9.5 туляремию

10. Наиболее распространенная форма сибирской язвы (один правильный ответ):

- 10.1 бубонная
- 10.2 легочная

- 10.3 кишечная
- 10.4 кожная
- 10.5 висцеральная

11. Наличие возбудителя сибирской язвы в кожевенном сырье определяют с помощью (один правильный ответ):

- 11.1 окраски по Цилю-Нельсену
- 11.2 окраски по Граму
- 11.3 реакции термореципитации по Асколи
- 11.4 реакции Манту
- 11.5 реакции Пирке

12. Для диагностики сибирской язвы используют кожную пробу (один правильный ответ):

- 12.1 с бруцеллином
- 12.2 с туберкулином
- 12.3 с антраксином
- 12.4 с тулярином
- 12.5 с холерогеном

13. Возбудителем сибирской язвы является (один правильный ответ):

- 13.1 *Corynebacterium diphtheriae*
- 13.2 *Bacillus anthracis*
- 13.3 *Klebsiella pneumoniae*
- 13.4 *Bacteroides fragilis*
- 13.5 *Pseudomonas aeruginosa*

14. Для возбудителя сибирской язвы характерно (один правильный ответ):

- 14.1 овоидные грамположительные палочки
- 14.2 мелкие грамотрицательные палочки
- 14.3 изогнутые грамотрицательные палочки
- 14.4 крупные грамположительные палочки с обрубленными концами
- 14.5 грамположительные палочки в форме веретена

15. Возбудитель сибирской язвы (один правильный ответ):

- 15.1 факультативный анаэроб
- 15.2 облигатный анаэроб
- 15.3 капнофил
- 15.4 микроаэрофил
- 15.5 облигатный аэроб

16. Возбудитель сибирской язвы (один правильный ответ):

- 16.1 требовательный к питательным средам
- 16.2 хорошо растет на простых питательных средах
- 16.3 обладает подвижностью
- 16.4 окрашивается биполярно



## 16.5 кислотоустойчивый

17. Сибирезвенные споры в большом количестве можно выявить в (один правильный ответ):

- 17.1 артезианских скважинах
- 17.2 воде открытых водоемов
- 17.3 воздухе
- 17.4 скотомогильниках
- 17.5 овощехранилищах

18. Бациллы сибирской язвы в организме (несколько правильных ответов):

- 18.1 образуют капсулу
- 18.2 образуют споры
- 18.3 обладают подвижностью
- 18.4 синтезируют экзотоксин
- 18.5 образуют сферопласты

19. Метод экспресс-диагностики сибирской язвы (один правильный ответ):

- 19.1 аллергический
- 19.2 иммунофлюоресцентный
- 19.3 бактериологический
- 19.4 серологический
- 19.5 биологический

20. На МПА возбудитель сибирской язвы образует колонии в виде (один правильный ответ):

- 20.1 битого стекла
- 20.2 ромашки
- 20.3 кружевных платочков
- 20.4 гривы льва
- 20.5 цветной капусты

21. В бульоне возбудитель сибирской язвы растет в виде (один правильный ответ):

- 21.1 зернистого осадка
- 21.2 сталактитов
- 21.3 комочка ваты
- 21.4 равномерного помутнения
- 21.5 нежной серой пленки

22. “Жемчужное ожерелье” сибирезвенных бацилл представляет собой (один правильный ответ):

- 22.1 вегетативные капсульные клетки
- 22.2 бескапсульные клетки
- 22.3 цепочку протопластов
- 22.4 некультивируемую форму возбудителя
- 22.5 спорную форму

23. Источники инфекции при сибирской язве (несколько правильных ответов):

- 23.1 больной человек
- 23.2 крупный рогатый скот
- 23.3 мелкий рогатый скот
- 23.4 рыбы
- 23.5 человек-бактерионоситель

24. Пути заражения сибирской язвой (несколько правильных ответов):

- 24.2 алиментарный
- 24.2 трансплацентарный
- 24.3 воздушно-пылевой
- 24.4 контактный
- 24.5 трансмиссивный

25. Входные ворота при сибирской язве (несколько правильных ответов):

- 25.1 неповрежденная кожа
- 25.2 поврежденная кожа
- 25.3 конъюнктивы глаз
- 25.4 слизистые оболочки дыхательных путей
- 25.5 слизистые оболочки ЖКТ

26. Первый создатель живой сибиреязвенной вакцины (один правильный ответ):

- 26.1 Н.Н. Гинсбург
- 26.2 С.С. Андреевский
- 26.3 Л.С. Ценковский
- 26.4 И.Н. Ланге
- 26.5 Л. Пастер

27. Для специфической профилактики сибирской язвы применяют (один правильный ответ):

- 27.1 живую вакцину EV
- 27.2 антраксин
- 27.3 живую вакцину СТИ
- 27.4 эритроцитарный сибиреязвенный диагностикум
- 27.5 антибиотики

28. Для лечения сибирской язвы используют (несколько правильных ответов):

- 28.1 антибиотики
- 28.2 сибиреязвенный бактериофаг
- 28.3 сибиреязвенную вакцину СТИ
- 28.4 противосибиреязвенный иммуноглобулин
- 28.5 антраксин

Правильные ответы: 1.2; 2.4; 3.3; 4.3; 5.2, 5.4; 6.3; 7.5; 8.3; 9.3; 10.4; 11.3; 12.3; 13.2; 14.4; 15.1; 16.2; 17.4; 18.1, 18.4; 19.2; 20.4; 21.3; 22.3; 23.2, 23.3; 24.1, 24.3, 24.4; 25.2, 25.4, 25.5; 26.5; 27.3; 28.1, 28.4.

## 6.2. Клостридии

Клостридии представляют собой род грамположительных спорообразующих анаэробных бактерий. Клостридии относятся к домену *Bacteria*, типу *Firmicutes*, классу *Clostridia*, порядку *Clostridiales*, семейству *Clostridiaceae*, роду *Clostridium*. Род *Clostridium* объединяет более 20 видов. Некоторые виды клостридий входят в состав нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, обнаруживаются на коже и в ротовой полости. К патогенным клостридиям относятся возбудители ботулизма, столбняка, анаэробной газовой инфекции (газовой гангрены, клостридиальной анаэробной инфекции).

### 6.2.1. Возбудитель ботулизма

**Историческая справка.** Ботулизм (лат. *botulus* – колбаса, ихтиизм – греч. *ichthys* – рыба, аллантиазис – греч. *allantos* – колбаса) - тяжелый пищевой токсикоз (пищевая интоксикация), развивающийся после употребления продуктов, содержащих ботулинический токсин. Заболевание характеризуется развитием парезов и параличей поперечно-полосатой и гладкой мускулатуры в результате блокады ботулиническим токсином выделения ацетилхолина в нервно-мышечных синапсах.

Заболевание известно с древних времен (IX - X века). Оно возникало после употребления в пищу кровяной колбасы. В связи с этим византийский император Лев VI (рисунок 6.46) запретил употреблять в пищу кровяную колбасу.



Рисунок 6.46 – Византийский император Лев VI (866 – 912 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1793 г. в Германии после употребления в пищу копченой кровяной колбасы одновременно заболело 13 человек, из них 6 человек скончалось. Аналогичные пищевые отравления колбасой с гибелью людей были описаны в Германии в 1795-1813 гг. В связи с этим болезнь получила название ботулизм (лат. *botulus* - колбаса).

Впервые анализом причин возникновения ботулизма занялся немецкий профессор медицины Й. Аутенрит (рисунок 6.47).



Рисунок 6.47 – Йохан Аутенрит (Johann Hermann Heinrich Ferdinand von Autenrieth, 1772-1835 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1817 г. он опубликовал перечень симптомов, характерных для ботулизма. Этот список включал желудочно-кишечные расстройства и нарушения со стороны органов зрения (двоение в глазах и расширение зрачков). Описание многих случаев заболевания ботулизмом Й. Аутенриту представил немецкий санитарный врач Ю. Кернер (рисунок 6.48).



Рисунок 6.48 – Юстинус Кернер (Justinus Andreas Christian Kerner, 1786 – 1862 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Ю. Кернер считал, что причиной заболевания является наличие в колбасе “колбасного яда”, “жирного яда” или “жировой кислоты”. В 1822 г. он опубликовал монографию, в которой подробно описал эпидемиологию и клинику большого количества случаев ботулизма у человека и результаты испытаний яда на животных. Проведенные исследования позволили Ю. Кернеру сделать вывод о том, что ботулинический токсин нарушает передачу импульса в периферической нервной системе.

Возбудитель ботулизма открыл в 1869 г. бельгийский бактериолог Э. ван Эрменгем (рисунок 6.49), который выделил его из остатков ветчины и организма человека, погибшего после употребления этой ветчины.



Рисунок 6.49 - Эмиль ван Эрменгем (Emile Pierre Marie Van Ermengem, 1851-1932 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Э. Эрменгем установил, что в толще ветчины образуется токсин, который является причиной заболевания. В результате дальнейших исследований выделенный Э. Эрменгемом возбудитель ботулизма был отнесен к типу А. С 1910 по 1960 гг. были выделены клостридии ботулизма, принадлежащие к типам В, С, D, Е, F, G.

В России ботулизм подробно описал в 1818 г. Эдуард Фердинанд Зенгбуш под названием ихтизм. Возникновение заболевания связывалось с употреблением соленой и копченой рыбы.

За период с 1818 по 1913 г. в России было зарегистрировано 98 групповых вспышек ботулизма, при которых заболело 608 человек. За 1974-1982 гг. зарегистрирована 81 вспышка. С 2007 г. в Российской Федерации ежегодно регистрируется около 200 случаев заболеваний ботулизмом с числом пострадавших около 300 человек. Летальность при ботулизме составляет 10-11% от числа заболевших. Так, в 2007 г. отмечено 15 летальных случаев. В 2010 г. в России зарегистрировано 26 летальных случаев. В 2011 г. зарегистрирован 91 случай ботулизма, при этом пострадало 160 человек (14 летальных случаев), в том числе 7 детей.

**Таксономическое положение.** Возбудители ботулизма относятся к типу (филуму) *Firmicutes*, классу *Clostridia*, порядку *Clostridiales*, семейству *Clostridiaceae*, роду *Clostridium*, виду *Clostridium botulinum*. Возбудитель ботулизма образует экзотоксины, различающиеся по антигенным свойствам. По структуре продуцируемого экзотоксина клостридии ботулизма подразделяются на 7 серотипов (антигенных вариантов): *Cl. botulinum* А, *Cl. botulinum* В, *Cl. botulinum* С (подтипы С1 или С $\alpha$  и С2 или С $\beta$ ), *Cl. botulinum* D, *Cl. botulinum* Е, *Cl. botulinum* F и *Cl. botulinum* G. В патологии человека преобладают серотипы А, В, Е и редко - F.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Возбудитель ботулизма может находиться в двух формах – вегетативной и споровой. Вегетативные клетки возбудителя ботулизма представляют собой крупные **грамположительные палочки** с закругленными концами размером (0.6-1,0)х(4-9) мкм. В мазках палочки

располагаются одиночно, небольшими скоплениями или в виде коротких цепочек. Возбудитель ботулизма в неблагоприятных условиях образует **споры** (рисунок 6.50).

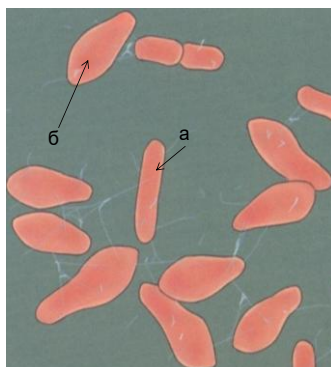


Рисунок 6.50 – Vegetативные клетки возбудителя ботулизма (а) и клетки со спорами (б), компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Споры возбудителя ботулизма овальные, располагаются терминально и субтерминально, придавая клетке форму **теннисной ракетки** (рисунок 6.51).

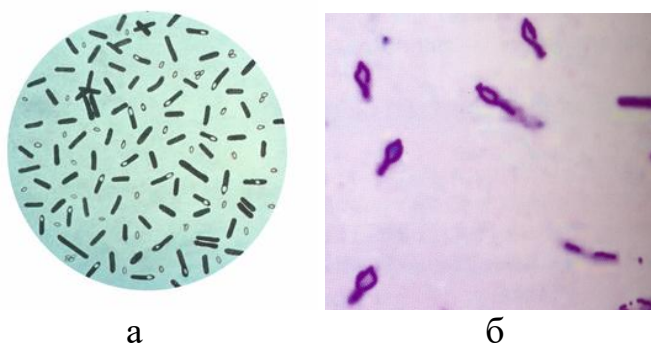


Рисунок 6.51 – Клетки возбудителя ботулизма в стадии спорообразования: а – схематическое расположение спор, б - окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В окружающей среде споры сохраняют жизнеспособность в течение десятилетий. Спора окружена споровыми оболочками и экзоспориумом (рисунок 6.52).

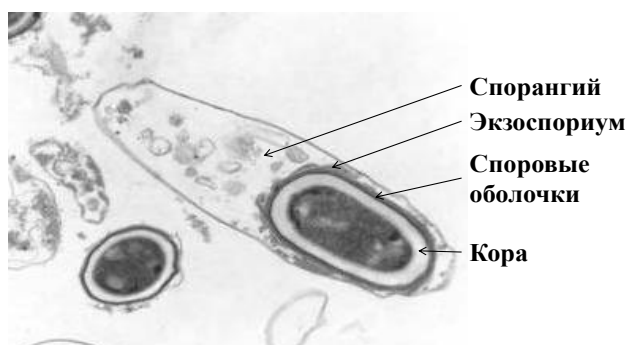


Рисунок 6.52 – Сформировавшаяся спора *Cl. botulinum* располагается в спорангии материнской клетки и окружена корой, споровыми оболочками и экзоспориумом. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Клостридии ботулизма не образуют капсул. За счет перитрихально расположенных жгутиков вегетативные клетки возбудителя ботулизма обладают подвижностью. У одной клетки может быть от 4 до 35 жгутиков (рисунок 6.53).

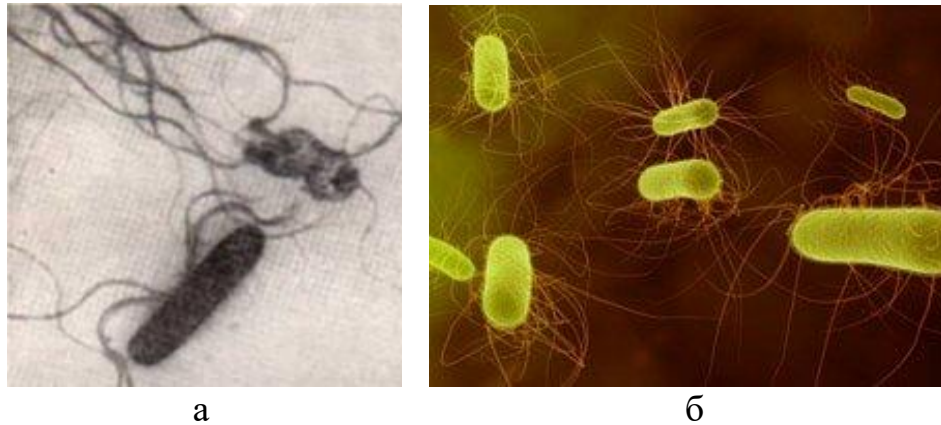


Рисунок 6.53 – Жгутики возбудителя ботулизма: а - электронная микроскопия, б – компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные и биохимические свойства.** Возбудитель ботулизма является строгим анаэробом. Оптимальная температура роста и токсинообразования 28-35<sup>0</sup>С в зависимости от серотипа возбудителя, рН - 7,3-7,6. Для выращивания клостридий применяется жидкая среда Китта-Тароцци, а также плотные питательные среды (печеночный агар, железо-сульфитный агар, глюкозно-кровоной агар Цейслера) и культивирование в анаэростатах.

В среде Китта-Тароцци и МПБ в анаэробных условиях рост клостридий ботулизма сопровождается равномерным помутнением (рисунок 6.54).

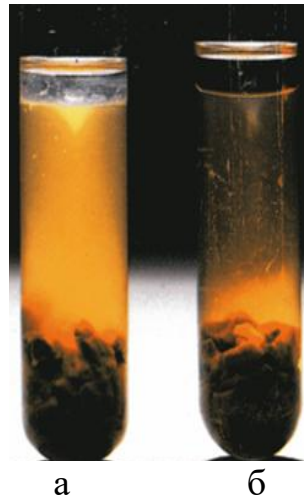


Рисунок 6.54 – Среда Китта-Тароцци: а - рост возбудителя ботулизма, б – контроль. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На печеночном или сахарном агаре в анаэробных условиях клостридии ботулизма формируют шероховатые колонии R-формы (рисунок 6.55).



Рисунок 6.55 – Рост клостридий ботулизма на печеночном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На кровяном агаре возбудитель ботулизма образует колонии с ровными или изрезанными краями и блестящей поверхностью, окруженные зоной гемолиза (рисунок 6.56).



Рисунок 6.56 – Рост возбудителя ботулизма на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На желатиновой среде формируются сероватые колонии, окруженные зоной разжиженного желатина. Протеолитические свойства наиболее выражены у бактерий, продуцирующих токсины типов А и В. Менее выражены протеолитические свойства у бактерий, синтезирующих токсин типа F, а у бактерий, продуцирующих токсины типов С, D и E, протеолитическая способность очень слабая.

На железо-сульфитном агаре (среде Вильсона-Блера) клостридии ботулизма в анаэробных условиях формируют колонии черного цвета за счет образования сульфида железа под влиянием продуцируемого бактериями сероводорода (рисунок 6.57).

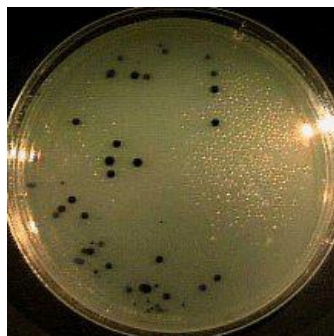


Рисунок 6.57 – Рост клостридий ботулизма на среде Вильсона-Блера. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



Все типы возбудителя ботулизма продуцируют желатиназу и лецитиназу (рисунок 6.58).



Рисунок 6.58 – Образование лецитиназы возбудителем ботулизма (радужный венчик вокруг колоний). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

*C. botulinum* ферментирует с образованием газа и кислоты глюкозу, левулезу, мальтозу, глицерин, декстрин, салицин, адонит, инозит и не разлагает галактозу, сахарозу, дульцит, маннит, арабинозу и рамнозу. Однако эти свойства непостоянны.

По биохимическим свойствам выделяют 4 группы *Cl. botulinum*:

- бактерии I группы обладают выраженными протеолитическими свойствами, гидролизуют желатин и эскулин, ферментируют глюкозу и мальтозу, проявляют липазную активность (в эту группу входят штаммы, продуцирующие нейротоксин типа А, и протеолитические штаммы, продуцирующие нейротоксины типов В и F);

- бактерии II группы ферментируют глюкозу и мальтозу, но не обладают протеолитической активностью (эта группа объединяет непротеолитические штаммы, продуцирующие нейротоксины типов В и F, и все штаммы, продуцирующие токсин типа E);

- бактерии III группы обладают липазной активностью и гидролизуют желатин (группа включает штаммы, продуцирующие токсины типов С и D);

- бактерии IV группы гидролизуют желатин, но не обладают сахаролитическими свойствами и липазной активностью (эта группа представлена протеолитическими, но не сахаролитическими штаммами, продуцирующими токсины типа G).

**Антигенная структура.** Серотипы возбудителя ботулизма сходны по морфологическим, культуральным свойствам и действию на организм человека. Каждый тип токсина отличается друг от друга по антигенной структуре. Поэтому выделяют 7 антигенных вариантов возбудителя ботулизма (А, D, С, D, E, F, G). Специфичность каждого варианта выявляют в реакции с антитоксическими сыворотками.

В вегетативных клетках возбудителя ботулизма выявляют соматический О-антиген и жгутиковый Н-антиген. Эти антигены идентифицируются в реакции агглютинации. Соматический **О-антиген** является групповым, общим для протеолитических штаммов *C. botulinum* сероваров А и В. Жгутиковый **Н-антиген** является типоспецифическим. Он идентичен для бактерий, различающихся по типу экзотоксина.

**Резистентность.** В природе возбудитель ботулизма встречается в почве, навозе, воде, иле водоемов, в кишечнике животных и рыб. В окружающей среде споры возбудителя ботулизма сохраняются в течение длительного времени, а при благоприятных условиях прорастают и размножаются. Споры выдерживают кипячение в течение 3-6 часов, автоклавирование в течение 30 минут. Под воздействием 20% формалина и 6% перекиси водорода споры погибают через 24 часа, под воздействием 10% раствора соляной кислоты – через 1 час. В 14-15% растворе хлористого натрия споры сохраняют жизнеспособность в течение 2 месяцев.

Споры клостридий ботулизма разных сероваров различаются по устойчивости к повышенной температуре. Например, споры сероваров А, В и F наиболее устойчивы к кипячению; споры серовара Е обладают низкой устойчивостью, а споры сероваров С и D имеют промежуточную устойчивость. При температуре 105°C споры возбудителя ботулизма погибают через 2 часа, при 120°C - через 20-30 минут. Надежным способом обезвреживания спор возбудителя ботулизма является автоклавирование при 120°C в течение не менее 30 минут.

В высушенном состоянии споры сохраняют жизнеспособность несколько десятилетий. Они хорошо переносят низкие температуры. При температуре минус 16°C споры сохраняются в течение года.

Вегетативные клетки возбудителя ботулизма при температуре 80°C погибают через 30 минут, при кипячении - через 5 минут.

Ботулинический токсин достаточно устойчив к воздействию неблагоприятных условий внешней среды. Он выдерживает температуру 80°C в течение 30-60 минут, кипячение - в течение 10-25 минут. Токсин устойчив к действию пепсина и трипсина, выдерживает высокие концентрации поваренной соли, не разрушается в консервированных продуктах, содержащих различные специи. В консервах ботулинический токсин сохраняется в течение 6-8 месяцев. При температуре ниже 8°C токсин в консервированных продуктах обычно не накапливается. Образование токсина не происходит при концентрации в консервах хлорида натрия более 11%. При производстве консервов также учитывают, что *Cl. botulinum* не развивается в продуктах с рН ниже 3,7. Для исключения опасности заражения целесообразно равномерно прогреть консервированный продукт при температуре 100°C в течение 10 минут или при температуре 80°C в течение 30 минут. Копчение, вяление, соление и замораживание продуктов не снижает активности токсина.

**Эпидемиология.** Возбудитель ботулизма обнаруживается в почве, иле озер и прудов, в кишечнике разных видов домашних и диких животных, птиц и рыб (транзитное носительство). Ботулизм регистрируется повсеместно. Больной человек не представляет опасности для окружающих. В естественных условиях **резервуаром** возбудителя инфекции является **почва**. **Механизм передачи** – **фекально-оральный**. **Путь передачи** – **алиментарный**. Попадая в пищевые продукты, споры клостридий ботулизма прорастают и образуют токсин. Наибольшую опасность представляют приготовленные с нарушением технологического режима мясные, рыбные и овощные герметически укупоренные консервы домашнего приготовления, ветчина, колбасы, копченая и вяленая рыба, маринованные в домашних условиях грибы. В России чаще регистрируются

заболевания, связанные с употреблением консервированных в домашних условиях грибов, копченой или вяленой рыбы, в европейских странах – мясных и колбасных изделий, в США – бобовых консервов, в Японии – рыбы и морепродуктов. В некоторых плотных пищевых продуктах отмечается неравномерное (“гнездное”) накопление токсина, поэтому часто встречаются вспышки, при которых заболевают не все лица, употреблявшие один и тот же продукт. Токсин образуется в продуктах питания при подходящих условиях (рН более 4,5, отсутствие кислорода). При этом внешний вид продуктов и их органолептические свойства не меняются (рисунок 6.59).



Рисунок 6.59 – Продукты питания – факторы передачи возбудителя ботулизма. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Ботулизм регистрируется в виде спорадических случаев и групповых заболеваний. Сезонность не выражена.

Заболевание, возникшее в результате попадания ботулинического нейротоксина в желудочно-кишечный тракт вместе с пищевыми продуктами, протекает как пищевой токсикоз или **пищевая интоксикация**. В редких случаях заболевание развивается при попадании спор возбудителя в рану и размножении в ней (раневой ботулизм) или в результате размножения попавших с пищей спор в кишечнике ребенка (ботулизм детского возраста). В этих случаях происходит размножение возбудителя и продуцирование токсина в организме пострадавшего. Заболевание при таких путях заражения протекает как **токсикоинфекция**.

**Факторы патогенности.** Основным фактором патогенности возбудителя ботулизма является ботулинический экзотоксин, продуцируемый вегетативными клетками. К факторам патогенности клостридий ботулизма относятся также **ферменты агрессии**: протеаза, лецитиназа, декарбоксилаза.

**Ботулинический токсин** (ботулотоксин) представляет собой белок, обладающий **нейротоксическим действием**. Ботулотоксин является самым сильным ядом: 1 г кристаллического токсина содержит  $10^{12}$  смертельных для человека доз. Смертельная доза для человека составляет 1 нг/кг массы тела, то есть менее 1 мкг на человека. Например, для человека весом 70 кг летальная доза ботулинического токсина типа А составляет около 0,09-0,15 мкг внутривенно или внутримышечно, 0,7-0,9 мкг ингаляционно и 70 мкг перорально. Летальность при поражении ботулиническим токсином составляет 35-85%.

Токсинообразование у бактерий типов С, D и E детерминировано генами умеренных фагов и проявляется при интеграции ДНК бактериофага в бактериальную хромосому (рисунок 6.60).

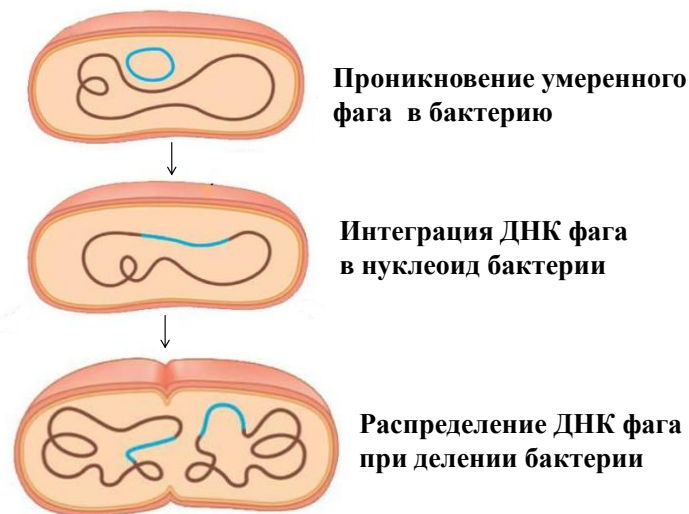


Рисунок 6.60 – Схема заражения бактерий умеренным фагом. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

У остальных типов возбудителя токсинообразование определяется хромосомными генами.

Ботулинические токсины всех типов синтезируются в виде комплексов (протоксинов), состоящих из нейротоксина и нетоксического белкового компонента, включающего гемагглютинин (НА) и нетоксический негемагглютинирующий белок (NTNH). Протоксин имеет молекулярную массу 450 кД. Действующим началом является нейротоксин. Однако нейротоксин без других белков комплекса очень лабильный. Белковый компонент является стабилизатором и защищает нейротоксин от действия протеолитических ферментов и соляной кислоты пищеварительного тракта. У ботулинических токсинов идентифицировано 3 типа гемагглютининов (НА17, НА35 и НА70). Структура ботулинического токсина представлена на рисунке 6.61.

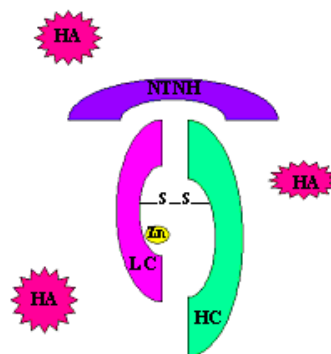


Рисунок 6.61 – Структура ботулинического токсина. Нейротоксин состоит из 2 субъединиц (легкой цепи LC и тяжелой цепи HC), соединенных дисульфидной связью. Токсин удерживает около себя нетоксичные протеины: гемагглютинины (НА) и негемагглютинин (NTNH).

Все ботулинические нейротоксины синтезируются в виде полипептида с молекулярной массой около 150000 Д. В результате действия протеаз происходит активация токсина. У большинства типов возбудителя протеолиз осуществляется собственными клостридиальными (эндогенными) протеазами, а у возбудителя типа Е – экзогенными протеазами желудочно-кишечного тракта. В результате действия протеаз токсин распадается на 2 субкомпонента: L-легкую цепь (молекулярная масса 50 кД) и Н-тяжелую цепь (молекулярная масса 100 кД). Между ними сохраняется дисульфидная связь. Легкая цепь после разрушения дисульфидной связи приобретает цинк-эндопептидазную активность (рисунок 6.62).

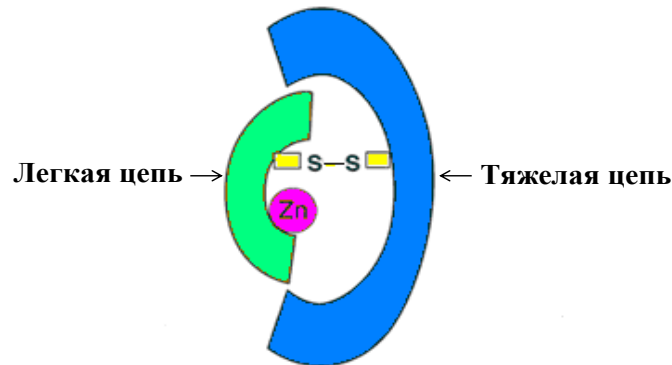


Рисунок 6.62 – Структура ботулинического нейротоксина.

Тяжелая цепь соответствует фрагменту В (связывающему) бинарного токсина. Посредством С-концевого (рецептор-связывающего) домена тяжелая цепь связывается с рецепторами на мембране аксона, а с помощью N-концевого (транслокационного) домена перемещает легкую цепь через мембрану в цитозоль нервной клетки. Легкая цепь токсина соответствует фрагменту А (активатору) бинарного токсина и оказывает непосредственное токсическое действие на клетку-мишень – мотонейрон (рисунок 6.63).

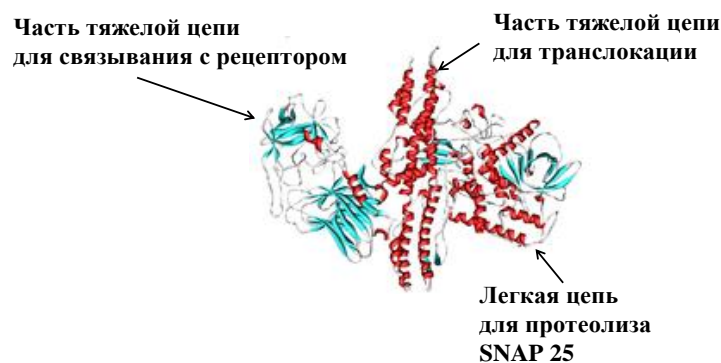


Рисунок 6.63 - Трехмерная структура молекулы ботулинического нейротоксина типа А. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Легкая цепь разрушает транспортные белки, отвечающие за слияние секреторного пузырька с пресинаптической мембраной нервно-мышечного синапса. В результате протеолиза транспортных белков нарушается слияние синаптического пузырька с мембраной, высвобождение ацетилхолина в синаптическую щель и передача импульса с нервного волокна на мышцу.

Гены, детерминирующие синтез ботулинического токсина, собраны в кластер, который располагается на бактериальной хромосоме, плазмиде или в геноме бактериофага. Обычно клетки одного штамма продуцируют один тип токсина. Гены токсинообразования могут переноситься между разными штаммами посредством трансформации, конъюгации или трансдукции.

Добавление к ботулиническому токсину 0,3-0,5% формалина и инкубирование смеси в термостате при температуре 36-37<sup>o</sup>C в течение 3-4 недель приводит к полной потере токсичности. Обезвреженный таким способом токсин называется **анатоксином**. Ботулинический анатоксин используют для иммунизации людей, а также для гипериммунизации животных (лошадей) с целью получения гипериммунных сывороток (антитоксинов).

**Патогенез ботулизма** включает следующие стадии:

1. Споры возбудителя ботулизма попадают в пищевые продукты, где в процессе размножения в анаэробных условиях продуцируют токсин.

2. Токсин вместе с пищевыми продуктами попадает в организм человека, сорбируется на клетках слизистой оболочки кишечника и всасывается в кровь. Токсин может всасываться также через слизистые оболочки глаз и верхних дыхательных путей.

3. Вместе с кровью токсин разносится по организму и достигает периферических нервных окончаний, где нарушает передачу сигнала с нервного окончания на мышечное волокно путем блокировки выделения ацетилхолина в мионевральные синапсы (“химическая денервация”). В результате этого нарушается передача нервного импульса на мышцу, что приводит к развитию характерных параличей мышц.

В норме для передачи сигнала с нервной клетки на мышечное волокно необходим выброс ацетилхолина из нервного окончания в синаптическую щель (рисунок 6.64).

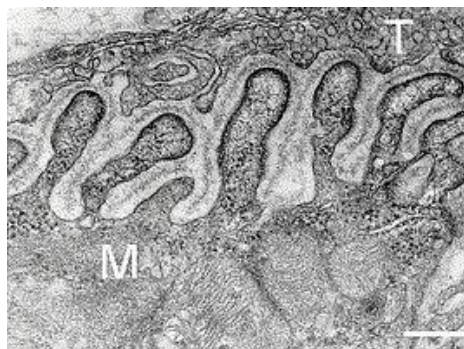


Рисунок 6.64 - Электронная микрофотография среза нервно-мышечного синапса: Т – окончание аксона, М – мышечное волокно. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для этого выброса мембрана находящегося в нервном окончании синаптического пузырька, содержащего ацетилхолин, сливается с пресинаптической мембраной аксона. В процессе выброса ацетилхолина из синаптического пузырька в синаптическую щель участвуют специфические транспортные белки нервной клетки, входящие в белковый комплекс SNARE.

**SNARE** (англ. - soluble NSF attachment receptor) – это группа белков, осуществляющих слияние внутриклеточных везикул с клеточной мембраной и экзоцитоз нейромедиаторов в синаптическую щель. В комплекс SNARE входят белки синаптобревин, SNAP-25 и синтаксин. **Синаптобревин** является небольшим трансмембранным белком секреторных везикул (везикуло-ассоциированный мембранный белок, VAMP). **SNAP-25** (синаптосомально-ассоциированный протеин) осуществляет стыковку синаптического пузырька с пресинаптической мембраной нейрона, а **синтаксин** обеспечивает слияние синаптического пузырька с пресинаптической мембраной. При этом синаптобревин располагается на поверхности синаптического пузырька, а синтаксин и SNAP-25 - на пресинаптической мембране. Ацетилхолин, высвобождающийся из нервного окончания в синаптическую щель, связывается с рецепторами на поверхности мышечной клетки и вызывает сокращение иннервируемой мышцы.

При ботулизме попавший в продукт возбудитель размножается и синтезирует токсин. Вместе с пищей токсин проникает в организм человека. Всасывание токсина происходит через слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта, начиная с полости рта, но наибольшее количество - через слизистую оболочку тонкой кишки. Всосавшийся токсин попадает в лимфу, а затем - в кровь. С током крови токсин заносится в синаптическую щель. В синаптической щели ботулотоксин с помощью тяжелой цепи связывается со специфическими гликопротеиновыми рецепторами на пресинаптической мембране и в течение 30 минут путем рецептор-опосредованного эндоцитоза проникает в нервное окончание (интернализация токсина).

В нервном окончании токсин формирует везикулы, в которых дисульфидный мостик между цепями токсина разрывается, и легкая цепь через поры выходит в цитозоль нервной клетки. В цитозоле легкая цепь связывается с белками, которые участвуют в выбросе ацетилхолина из нервного окончания в синаптическую щель, и разрушает эти белки. В частности, мишенью для токсинов типов А и Е является белок SNAP-25, токсинов типов В, D, F и G – синаптобревин, токсина типа С – синтаксин и SNAP-25. В результате разрушения этих белков не происходит слияния ацетилхолиновых пузырьков с пресинаптической мембраной, ацетилхолин в синаптическую щель не попадает, и сигнал на мышцу не поступает (рисунок 6.65).

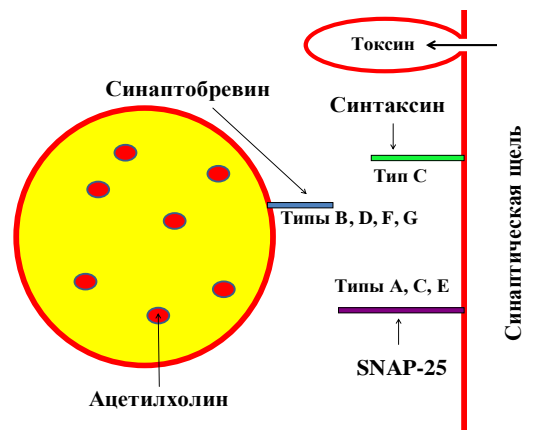


Рисунок 6.65 – Проникновение ботулинических токсинов в нервное окончание и действие токсинов на белки – мишени.

Результатом действия ботулинического токсина является развитие вялых параличей. Экспериментально установлено, что для блокирования одного синапса достаточно 10 молекул ботулинического токсина. В первую очередь нарушается иннервация мышц глазо-двигательного аппарата, мышц глотки и гортани. В результате нарушения вегетативной иннервации снижается секреция слюнных, слезных, потовых желез (парез желудочно-кишечного тракта, гипогидроз).

Поражение, вызванное ботулиническим токсином, является обратимым и со временем двигательная функция полностью восстанавливается. Восстановление двигательной активности происходит за счет образования новых синаптических связей.

**Клиника ботулизма.** В соответствии с рекомендациями ВОЗ различают 4 категории ботулизма:

- **пищевой ботулизм**, возникающий после употребления в пищу продуктов, содержащих накопившийся ботулинический токсин;
- **раневой ботулизм**, развивающийся при загрязнении почвой раны, в которой имеются анаэробные условия для прорастания попавших спор и токсинообразования;
- **ботулизм детского возраста** (ботулизм новорожденных, ботулизм младенцев), возникающий у детей первого года жизни при попадании спор возбудителя ботулизма с пищей;
- **неклассифицированный ботулизм**, при котором связь заболевания с каким-либо пищевым продуктом не установлена.

Основной формой заболевания является **пищевой ботулизм**, который возникает после употребления продуктов, содержащих ботулинический токсин. При этом **инкубационный период** колеблется от 2 часов до 4 дней в зависимости от дозы токсина. В единичных случаях инкубационный период продолжается до 9-12 дней. Чаще всего инкубационный период при ботулизме составляет 18-36 часов. Вначале появляются **желудочно-кишечные расстройства** - тошнота, рвота, боли в животе. Лихорадка, как правило, отсутствует. Затем развиваются **неврологические симптомы**. Наиболее типичными ранними признаками ботулизма являются офтальмоплегический и бульбарный синдромы. **Офтальмоплегический синдром** проявляется нарушением зрения: двоение предметов (диплопия), туман перед глазами. При обследовании выявляются **блефароптоз** (опущение верхнего века), горизонтальный **нистагм** (непроизвольные колебательные движения глаз), **мидриаз** (расширение зрачка), **анизокория** (поражение сфинктера зрачка), вялая реакция зрачка на свет (рисунок 6.66).

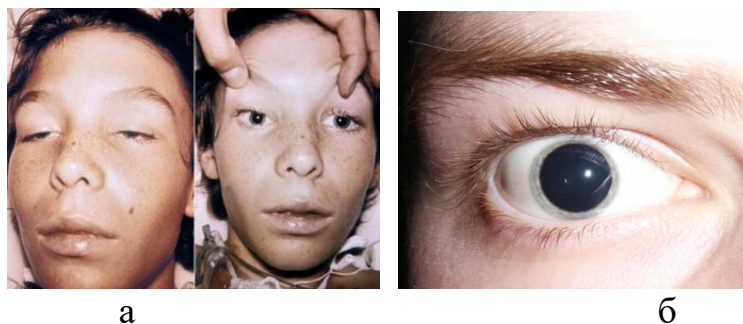


Рисунок 6.66 – Офтальмоплегические симптомы: а – блефароптоз, б - мидриаз.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.



Одновременно с глазными симптомами появляются признаки поражения ядер IX и XII пар черепных нервов (**бульбарный синдром**): нарушение речи (гнусавость или осиплость голоса вплоть до полной афонии), затруднение глотания (дисфагия), ограничение подвижности мягкого неба и языка, гиперсаливация или гипосаливация (рисунок 6.67).



Рисунок 6.67 – Проявление бульбарного синдрома. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В последующем у больного отмечается прогрессирующая мышечная слабость в результате развития двусторонних нисходящих вялых параличей мышц: вялость движений, адинамия, парезы и параличи глоточных, гортанных мышц, мышц шеи и конечностей (рисунок 6.68).



Рисунок 6.68 – Общий вид больного ботулизмом. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Слабость затылочных мышц приводит к тому, что голова свисает, и больные вынуждены поддерживать ее руками. Слабость межреберных мышц выражается поверхностным дыханием. Из-за слабости скелетной мускулатуры больные малоподвижны. Смерть наступает от острой дыхательной недостаточности на фоне сохраненной сердечной деятельности и ясного сознания. Выздоровление протекает медленно – в течение нескольких месяцев.

**Раневой ботулизм** возникает в результате попадания спор в рану, в которой создаются анаэробные условия. При прорастании спор и образовании вегетативных клеток продуцируется ботулинический токсин, который всасывается и вызывает развитие типичных неврологических симптомов. Симптоматика со стороны желудочно-кишечного тракта отсутствует.

**Ботулизм новорожденных** (ботулизм грудных детей, ботулизм младенцев) наблюдается у детей первого года жизни. Заболевание возникает в основном в социально неблагополучных семьях, проживающих в неудовлетворительных санитарно-гигиенических условиях. В кишечнике ребенка, у которого собственная микрофлора еще не сформирована, попавшие споры прорастают и продуцируют токсин. Образующийся токсин всасывается в кровь и достигает клеток-мишеней. Первыми симптомами заболевания являются вялость, слабое сосание, задержка стула. Затем появляются офтальмоплегические симптомы, хриплый плач.

**Иммунитет.** У отдельных людей встречается индивидуальная устойчивость к ботулиническому токсину. Однако естественный иммунитет к ботулизму у человека отсутствует. После заболевания иммунитет также не формируется, так как поражающая доза токсина во много раз меньше иммуногенной дозы.

**Диагностика ботулизма** основывается на клинической картине заболевания (нарушение зрения, глотания, речи, мышечная слабость), эпидемиологических данных (употребление подозрительных консервированных продуктов) и результатов лабораторных исследований. Лабораторная диагностика в первую очередь направлена на **обнаружение токсина и установление его типа**. Выделение возбудителя является вторичным этапом исследований.

**Исследуемым материалом при** диагностике ботулизма служат промывные воды желудка, кровь, рвотные массы, фекалии, моча, секционный материал, остатки пищевых продуктов. Пробы отбирают в максимально короткие сроки после заболевания в стерильную посуду, не обработанную дезинфицирующими средствами. Консерванты не добавляют. До поступления в лабораторию исследуемый материал хранят в холодильнике при температуре 4-6<sup>0</sup>С.

Кровь исследуют на наличие токсина (биопроба на мышах), фекалии – на наличие возбудителя (посев на питательные среды), остальной материал – на наличие токсина и возбудителя. В качестве экспрессных методов диагностики ботулизма используются полимеразная цепная реакция (**ПЦР**) и иммуноферментный анализ (**ИФА**).

Основным методом диагностики ботулизма является выявление токсина. Для обнаружения токсина в исследуемом материале используют **реакцию нейтрализации** токсина на лабораторных животных (биопроба). Для обнаружения токсинов для каждой пробы используют белых мышей. Одно животное подкожно заражают только исследуемым материалом, а остальных мышей - смесью материала с 200 МЕ антитоксической диагностической сыворотки разных типов (А, В и Е). Предварительно смеси выдерживают при комнатной температуре в течение 40 минут для нейтрализации токсина антитоксином. Наблюдение за животными проводят в течение 4 дней. При наличии в материале токсина в течение 4-5 часов погибают все животные, кроме той мыши, которой была введена смесь токсина и гомологичной антитоксической сыворотки (рисунок 6.69).

**Смеси исследуемого материала  
с антитоксическими сыворотками**

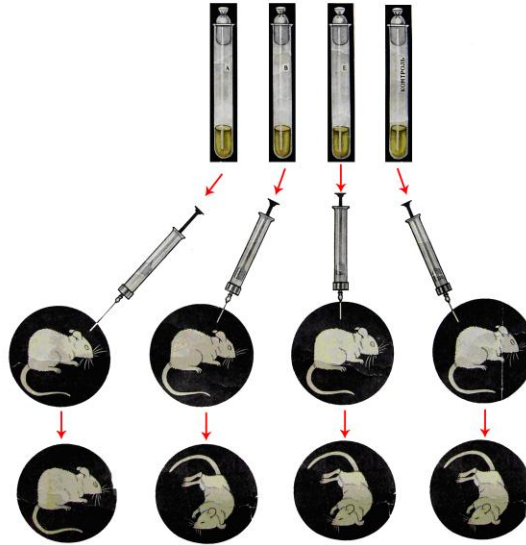


Рисунок 6.69 – Схема постановки биопробы на белых мышах при ботулизме. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При введении материала, содержащего ботулинический токсин, у мышей отмечается учащенное дыхание, полное расслабление мышц, развивается типичный симптом поражения - “осиная талия” (рисунок 6.70).



Рисунок 6.70 – Внешнее проявление действия ботулинического токсина на белых мышей. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для обнаружения и идентификации токсина используют также **РПГА** с эритроцитарными иммуноглобулиновыми диагностикумами моноспецифическими типов А, В и Е. Иммуноглобулиновый (антительный) диагностикум представляет собой эритроциты, сенсibilизированные антитоксином соответствующего типа.

**ИФА** и **РПГА** используются для быстрого анализа подозрительных продуктов на присутствие в них ботулинического токсина.

Перспективным методом диагностики ботулизма является **ПЦР**, позволяющая идентифицировать возбудитель в пищевых продуктах и содержимом кишечника.

Выделение возбудителя производят из кала больного и остатков пищи путем посева в среду Китта-Тароцци и культивирования в анаэробных условиях.

Выросшую культуру идентифицируют по морфологическим и тинкториальным свойствам (микроскопия окрашенных по Граму мазков), ферментативной активности и в реакции нейтрализации на мышах с противоботулиническими сыворотками.

Серологические исследования при диагностике ботулизма не проводятся, так как заболевание не сопровождается выработкой антител.

**Лечение** больного ботулизмом проводится в стационаре. Первая помощь заключается в промывании желудочно-кишечного тракта 2-5%-ным раствором гидрокарбоната натрия. После промывания желудка больным вводят энтеросорбенты. Затем вводят лечебные противоботулинические сыворотки, которые выпускаются в жидком и лиофильно высушенном виде. До установления типа токсина, вызвавшего заболевание, больному вводят внутримышечно **поливалентную антитоксическую сыворотку** или смесь сывороток типов А и Е по 10000 МЕ и типа В 5000 МЕ. После установления типа токсина на белых мышах или иным методом вводят соответствующую **моновалентную антитоксическую сыворотку** (рисунок 6.71).



Рисунок 6.71 – Противоботулиническая сыворотка. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Перед введением сыворотки ставят внутрикожную пробу с разведенной 1:100 сывороткой для выявления чувствительности к лошадиному белку. Антитоксическую сыворотку вводят по методу Безредка (0,1 мл подкожно, через 15 минут - 0,2 мл, еще через 15 минут – внутримышечно всю дозу сыворотки, предварительно подогретой до 36-37°C). Противоботулиническая сыворотка представляет собой сыворотку крови лошадей, гипериммунизированных анатоксинами возбудителя ботулизма. В качестве консерванта в сыворотку добавляют 0,5% хлороформа.

Для лечения ботулизма младенцев в США разработан человеческий противоботулинический иммуноглобулин, получаемый от людей, иммунизированных пентавалентным ботулиническим анатоксином.

Наряду с сыворотками используют **антибиотики** (левомецетин, тетрациклин), детоксикационные, симптоматические и общеукрепляющие средства. Противопоказано применение аминогликозидных антибиотиков (гентамицина, тобрамицина), которые усиливают эффект ботулинических токсинов.

При раневом ботулизме проводят тщательную хирургическую обработку раны с последующим использованием антисептиков.

**Профилактика ботулизма. Неспецифическая профилактика** включает комплекс санитарно-гигиенических мероприятий, направленных на предотвращение попадания бактерий и их спор в пищевые продукты, соблюдение санитарно-гигиенических правил при производстве пищевых продуктов (колбас, консервов). Большое значение имеет разъяснительная работа с населением. При домашнем консервировании продукты следует тщательно мыть, использовать тепловую обработку банок, крышек, продуктов. Хранить домашние консервы следует при температуре 3-6<sup>0</sup>С. Консервы из банок, имеющих признаки бомбажа, не следует использовать в пищу. Приготовленные в домашних условиях консервированные продукты после вскрытия банок целесообразно перед употреблением прогреть при 100<sup>0</sup>С в течение 30 минут для разрушения токсина. Продукты питания, не подлежащие термической обработке (соленая или копченая рыба), должны храниться при температуре не выше 10<sup>0</sup>С.

Лицам, употреблявшим подозрительный продукт, проводят **экстренную профилактику** с помощью поливалентной или моновалентной (типов А, В, Е) лошадиной сыворотки. С этой целью внутримышечно вводят по 1000-2000 МЕ противоботулинических сывороток типов А, В, Е. За этими лицами проводят медицинское наблюдение в течение 12 дней. Остатки подозрительной пищи изымаются и подвергаются бактериологическому исследованию.

**Специфическая профилактика** проводится с помощью ботулинического **полианатоксина (трианатоксина, содержащего анатоксины типов А, В, Е)** в составе секстанатоксина, который кроме трех ботулинических анатоксинов содержит анатоксины *Cl. perfringens*, *Cl. novyi* и *Cl. tetani*. Иммунизация трехкратная. Последующие однократные ревакцинации проводят через каждые 5 лет.

Для специфической профилактики применяют также **тетраанатоксин** очищенный адсорбированный жидкий, формирующий иммунитет против ботулизма и столбняка продолжительностью не менее 5 лет. Этот препарат представляет собой смесь адсорбированных на геле гидроокиси алюминия ботулинических анатоксинов типов А, В, Е и столбнячного анатоксина (рисунок 6.72). Курс иммунизации состоит из 3 прививок.



Рисунок 6.72 – Тетраанатоксин. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Одна доза тетраанатоксина (1 мл) содержит 5 ЕС анатоксина типа А, по 3 ЕС анатоксинов типов В и Е и 2,5 ЕС столбнячного анатоксина. Одна доза трианатоксина (1 мл) содержит 5 ЕС анатоксина типа А и по 3 ЕС анатоксинов типов В и Е.

Активная иммунизация осуществляется лицам, имеющим контакт с ботулиническим токсином (работники медицинских предприятий, исследовательских лабораторий). Для установления напряженности иммунитета после вакцинации разработан метод иммуноферментного определения титров противоботулинических антител типа А в сыворотке крови. Наличие антител регистрируют в сыворотке крови в титре 1:400 – 1:3200 после второго введения препарата.

**Использование ботулинического токсина в медицине.** В конце 60-х годов XX века Alan Scot открыл лечебные свойства ботулинического токсина. В 1977 г. впервые применили ботулинический токсин в качестве лечебного средства у пациентов со страбизмом (косоглазием). После этого ботулотоксин стали применять для лечения блефароспазма. В последующем препараты ботулинического токсина стали использоваться для лечения детского церебрального паралича, ормандибулярной дистонии, спастической кривошеи, ларингеальной дистонии, дистонии шейки матки, лицевого гемиспазма, гипергидроза. В косметологии ботулотоксин применяется для эстетической коррекции мимических морщин. В медицинской практике ботулинический токсин используется под торговыми названиями “Ботокс”, “Диспорт”, “Ксеомин”, “Нейроблок”, “Лантокс” и др. (рисунок 6.73).



Рисунок 6.73 – Лечебный препарат ботулинического токсина типа А “Ботокс”. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Эти препараты состоят из ботулинического токсина и вспомогательных веществ. В качестве вспомогательных веществ используют сыворотку крови человека, альбумин, лактозу, сахарозу, сукцинат натрия и др. Некоторые препараты (в частности, “Ксеомин”) не содержат нетоксичные белки (гемагглютинирующий и негемагглютинирующий протеины). Лечебные препараты ботулинического токсина оказывают миорелаксирующее действие, поэтому используются для разглаживания морщин, ослабления чрезмерной мышечной активности. Препараты вводятся подкожно в мимические мышцы (рисунок 6.74).



Рисунок 6.74 – Инъекция “Ботокса”. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При внутримышечном введении действие токсина проявляется спустя 2-3 дня, достигает максимума примерно через 2 недели, а спустя 2,5 месяца начинает медленно уменьшаться. Клинические эффекты проявляются через 2-10 дней. Отравление токсином при этих манипуляциях невозможно, так как используются очень низкие концентрации. При введении в терапевтических дозах ботулотоксин не проникает через гематоэнцефалический барьер.

Через 1-2 месяца после введения препарата начинается процесс отрастания новых терминалей от аксона, в котором был блокирован транспорт ацетилхолина. В результате этого образуются новые функционально активные нервно-мышечные синапсы. Рост аксонов в направлении клеток-мишеней, обеспечивающий “реусиление” существующих связей, обозначается термином **спрутинг** (рисунок 6.75).

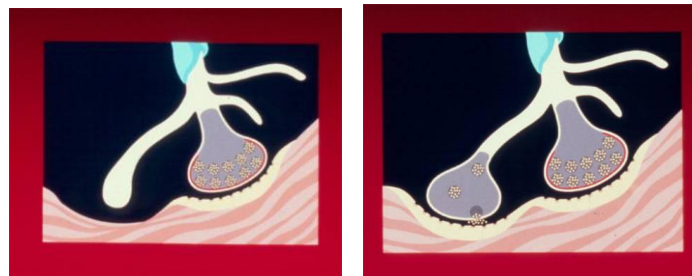


Рисунок 6.75 – Регенерация нервных отростков и формирование нового нервно-мышечного синапса (спрутинг). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В результате этого через 3-6 месяцев после инъекции мышечный тонус восстанавливается.

За 2011 г. во всем мире на медицинские и косметологические цели израсходовано около 1 г чистого ботулинического токсина.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Расскажите о таксономическом положении возбудителя ботулизма.
2. Охарактеризуйте морфологические и тинкториальные свойства возбудителя ботулизма.

3. Назовите культуральные и биохимические особенности возбудителя ботулизма.
4. Расскажите о структуре ботулинического токсина.
5. Как происходит заражение человека ботулизмом?
6. Охарактеризуйте патогенез ботулизма.
7. Назовите клинические симптомы ботулизма.
8. Расскажите о методах диагностики ботулизма.
9. В чем заключается профилактика ботулизма?
10. Какие средства применяют для лечения ботулизма?

### Тренировочные тесты

1. Возбудителя ботулизма открыл (один правильный ответ):
  - 1.1 Л. Пастер
  - 1.2 Э. Эрменгем
  - 1.3 Р. Кох
  - 1.4 И.И. Мечников
  - 1.5 И.Д. Ивановский
2. Возбудитель ботулизма относится к семейству (один правильный ответ):
  - 2.1 *Enterobacteriaceae*
  - 2.2 *Bacillaceae*
  - 2.3 *Micrococcaceae*
  - 2.4 *Corynebacteriaceae*
  - 2.5 *Neisseriaceae*
3. Отличительные признаки клостридий (несколько правильных ответов):
  - 3.1 грамотрицательные палочки
  - 3.2 спорообразующие бактерии
  - 3.3 капсулообразующие диплококки
  - 3.4 перитрихи
  - 3.5 извитые бактерии
4. Для выращивания клостридий ботулизма используют питательную среду (несколько правильных ответов):
  - 4.1 Эндо
  - 4.2 Левина
  - 4.3 висмут-сульфитный агар
  - 4.3 Китта-Тароцци
  - 4.5 Вильсона-Блера
5. Факторами патогенности возбудителя ботулизма являются (один правильный ответ):
  - 5.1 энтеротоксин
  - 5.2 эндотоксин
  - 5.3 нейротоксин



5.4 муциназа

5.5 уреазы

6. По механизму действия ботулотоксин является (один правильный ответ):

6.1 лейкоцидином

6.2 ингибитором синтеза белка

6.3 активатором аденилатциклазы

6.4 блокатором передачи нервного импульса

6.5 гемолизином

7. Путь заражения ботулизмом (один правильный ответ):

7.1 контакт с больным человеком

7.2 контакт с больным

7.3 употребление воды из открытых источников

7.4 употребление инфицированных консервов

7.5 эндоскопические исследования

8. Мишенью для ботулинического токсина является (один правильный ответ):

8.1 гепатоциты

8.2 нервно-мышечные синапсы

8.3 энтероциты

8.4 потовые железы

8.5 пейеровы бляшки

9. Основной метод диагностики ботулизма (один правильный ответ):

9.1 определение специфических антител

9.2 выделение чистой культуры

9.3 кожно-аллергическая проба

9.4 обнаружение ботулотоксина в исследуемом материале

9.5 обнаружение возбудителя в нервных клетках

10. Основное средство лечения ботулизма (один правильный ответ):

10.1 пробиотики

10.2 пенициллин

10.3 анатоксин

10.4 антитоксическая сыворотка

10.5 бактериофаг

Правильные ответы: 1.2; 2.2; 3.2, 3.4; 4.4, 4.5; 5.3; 6.4; 7.4; 8.2; 9.4; 10.4.

## 6.2.2. Возбудитель столбняка

**Историческая справка.** Столбняк (греч. *tetanus* – оцепенение, отвердение, судорога) – остро протекающая неконтагиозная раневая инфекция с поражением нервной системы, напряжением скелетной мускулатуры и генерализованными судорогами. Название болезни принадлежит Гиппократу (рисунок 6.76).

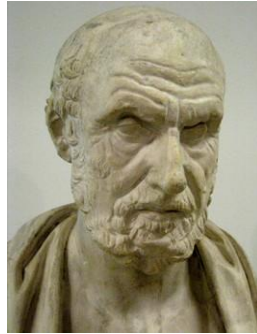


Рисунок 6.76 – Гиппократ (Hippocrates, 460 г. до н. э. - между 377 и 356 гг. до н. э.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Считается, что сын Гиппократа умер от столбняка. Гиппократ впервые описал клиническую картину этой болезни, выделив три основных клинических симптома столбняка: **тризм** (судорожное сжатие челюстей в результате спазма жевательной мускулатуры), **“сардоническую улыбку”** (презрительно-ироническое выражение лица в результате спазма мимической мускулатуры) и **дисфагию** (затрудненное глотание в результате сокращения мышц глотки). Эти симптомы столбняка известны под названием **триады Гиппократа**. Столбняк в большинстве случаев возникал среди мужчин во время военных действий (“бич войны”) и у женщин после родов или абортв в антисанитарных условиях.

Возбудитель заболевания обнаружил в экссудате раны человека, умершего от столбняка, в 1883 г. русский ученый Н.Д. Монастырский (рисунок 6.77).



Рисунок 6.77 – Нестор Дмитриевич Монастырский (1847-1888 гг.). Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1884 г. немецкий терапевт А. Николайер (рисунок 6.78) подробно описал возбудителя заболевания и экспериментально воспроизвел столбняк на белых мышцах и морских свинках.



Рисунок 6.78 – Артур Николайер (Arthur Nicolaier, 1862-1942 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Чистую культуру возбудителя выделил в 1887 г. японский микробиолог С. Китасато (рисунок 6.79). Он установил, что введение чистой культуры возбудителя вызывает у лабораторных животных развитие характерного заболевания.



Рисунок 6.79 – Сибасабуру Китасато (1853-1931 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1890 г. датский терапевт К. Фабер (рисунок 6.80) обнаружил столбнячный ТОКСИН.



Рисунок 6.80 – Кнуд Хельге Фабер (Knud Helge Faber, 1862-1956 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1890 г. С. Китасато совместно с немецким бактериологом Э. Берингом (рисунок 6.81) приготовил противостолбнячную сыворотку.



Рисунок 6.81 – Эмиль Адольф фон Беринг (Emil Adolf von Behring, 1854-1917 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1923 г. французский ветеринарный врач Г. Рамон (рисунок 6.82) для профилактики столбняка приготовил столбнячный анатоксин.



Рисунок 6.82 – Гастон Рамон (Gaston Ramon, 1886-1963 гг.). Займствовано из  
Интернет-ресурсов.

**Таксономическое положение.** Возбудитель столбняка относится к типу (филуму) *Firmicutes*, классу *Clostridia*, порядку *Clostridiales*, семейству *Clostridiaceae*, роду *Clostridium*, виду *Clostridium tetani*. По структуре Н-антигена выделяют 10 сероваров возбудителя.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Возбудитель столбняка может существовать в виде вегетативных клеток и спор. Вегетативная клетка *C. tetani* представляет собой крупную палочку с закругленными концами размером 4-8x0,3-0,8 мкм (рисунок 6.83).



Рисунок 6.83 – Вегетативные клетки *C. tetani*, компьютерная визуализация.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

По Граму вегетативные клетки *C. tetani* окрашиваются положительно (рисунок 6.84).

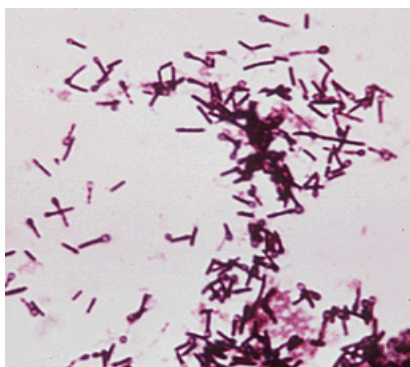


Рисунок 6.84 – Вегетативные клетки возбудителя столбняка, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При неблагоприятных условиях внешней среды возбудитель столбняка образует споры округлой формы, располагающиеся терминально. Диаметр споры превышает поперечник вегетативной клетки, поэтому клетка со спорой имеет вид барабанной палочки (рисунок 6.85).

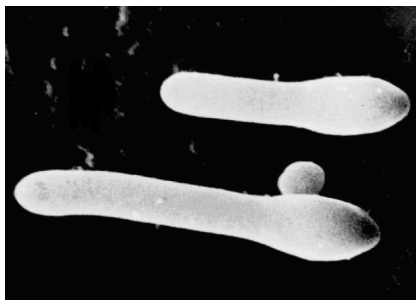


Рисунок 6.85 – Споры возбудителя столбняка внутри вегетативной клетки и свободно лежащая спора, сканирующая электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Вегетативные клетки *C. tetani* обладают подвижностью за счет наличия жгутиков. Одна клетка имеет до 20 жгутиков и более (рисунок 6.86).

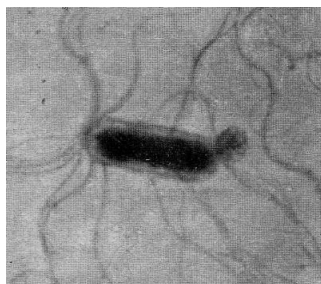


Рисунок 6.86 – Жгутики *C. tetani*, просвечивающая электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Столбнячная палочка капсул не образует.

**Культуральные и биохимические свойства.** Возбудитель столбняка является облигатным анаэробом, поэтому не продуцирует ферменты, необходимые для аэробного дыхания (цитохромоксидазу, пероксидазу, каталазу). Столбнячная палочка растет при температуре от 14 до 45°C. В качестве жидких питательных сред для выращивания возбудителя столбняка используют среду Китта-Тароцци, бульон Мартена, среду Вейнберга. Для создания анаэробных условий среды разливают высоким столбиком, помещают в них адсорбенты кислорода (кусочки печени или мяса), сверху наносят слой вазелинового масла. Перед посевом среды дополнительно кипятят на водяной бане с целью удаления растворенного кислорода. В жидких питательных средах столбнячная палочка вызывает равномерное помутнение (рисунок 6.87).



Рисунок 6.87 - Рост клостридий в среде Китта-Тароцци: а - рост культуры; б – контроль. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В плотные питательные среды для культивирования *C. tetani* добавляют кровь, сыворотку крови, молоко, яичный желток. Для обеспечения анаэробных условий культивирование на плотных питательных средах осуществляют в анаэростатах или в герметизируемых специальных контейнерах с использованием газогенерирующих пакетов типа Gas Pack (рисунок 6.88).



Рисунок 6.88 – Анаэростат (а), контейнеры для культивирования и газогенерирующие пакеты Gas Pack (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На поверхности агаровых сред в анаэробных условиях образуются прозрачные со стекляннным блеском сливающиеся паукообразные шероховатые

колонии R-формы с отростками. На средах с кровью выявляется зона гемолиза (рисунок 6.89).

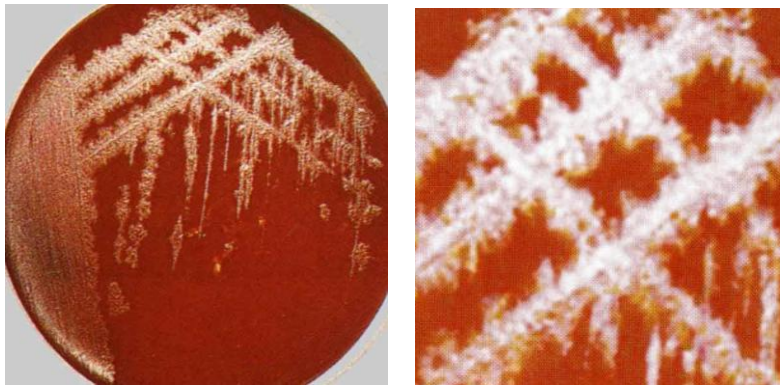


Рисунок 6.89 – Рост *C. tetani* на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При посеве уколом в столбик агара образуются мелкие колонии, похожие на кусочки ваты.

*C. tetani* не обладает сахаролитической и протеолитической активностью. Не образует индола. Некоторые штаммы ферментируют глюкозу, медленно пептонизируют молоко и разжижают желатин с образованием газа. *C. tetani* обладает фибринолитической активностью.

**Антигенная структура.** Возбудитель столбняка имеет групповой специфический термостабильный O-антиген и типоспецифический термолабильный H-антиген.

**Резистентность.** Вегетативные клетки возбудителя столбняка малоустойчивы к воздействию температуры и химических веществ.

Споры *C. tetani* обладают высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам. Они выдерживают нагревание до 80°C в течение 4-6 часов, до 90°C - в течение 2 часов, при кипячении споры погибают через 40-50 минут. Полное обезвреживание спор возбудителя столбняка достигается автоклавированием при температуре 130°C в течение 20 минут. В сухом состоянии споры выдерживают нагревание до 115°C в течение 20 минут.

В почве споры сохраняются более 10 лет. При благоприятной температуре наблюдается прорастание спор в почве с образованием вегетативных клеток. В последующем цикл спорообразования повторяется, в результате чего происходит накопление возбудителя во внешней среде.

В 5% растворе фенола споры сохраняют жизнеспособность в течение 24 часов, в 1% растворе сулемы – в течение 10-12 часов, в 10% растворе хлорной извести – в течение 10 минут. Споры образуются в присутствии кислорода при температуре не ниже 4°C.

Столбнячный токсин инактивируется при 65°C в течение 5 минут, легко разрушается ферментами желудочно-кишечного тракта.

**Эпидемиология.** Столбняк встречается повсеместно. Наибольшее распространение он имеет в странах с жарким и влажным климатом. Естественным резервуаром возбудителя является почва. Кроме того, столбнячная палочка

относится к постоянным обитателям кишечника травоядных животных и обнаруживается в кишечнике 5-40% здоровых людей. Попадая с фекалиями в почву, палочка превращается в спорую форму. Споры столбнячной палочки из почвы попадают на растения и овощи, с которыми вновь проникают в кишечник животных и человека.

Из внешней среды возбудитель заболевания попадает в организм человека при ранениях, ожогах, обморожениях, при родах и абортах, протекающих в антисанитарных условиях. Развитию столбняка способствует не только загрязнение ран почвой, но и наличие нежизнеспособных тканей и инородных тел в ране, запоздалая первичная обработка раны, отсутствие у больного иммунитета. Например, до введения в практику специфической профилактики во время Первой мировой войны 1914-1919 гг. столбняк развивался у 2,4-8 человек из 1000 раненых. После введения обязательной иммунизации против столбняка во время Второй мировой войны 1939-1945 гг. заболеваемость столбняком составила 0,1-0,6 человек на 1000 раненых.

В глубокой ране, имеющей размозженные ткани и обеспечивающей анаэробные условия, благоприятные для развития возбудителя, споры трансформируются в вегетативные клетки, продуцирующие столбнячный токсин (рисунок 6.90).

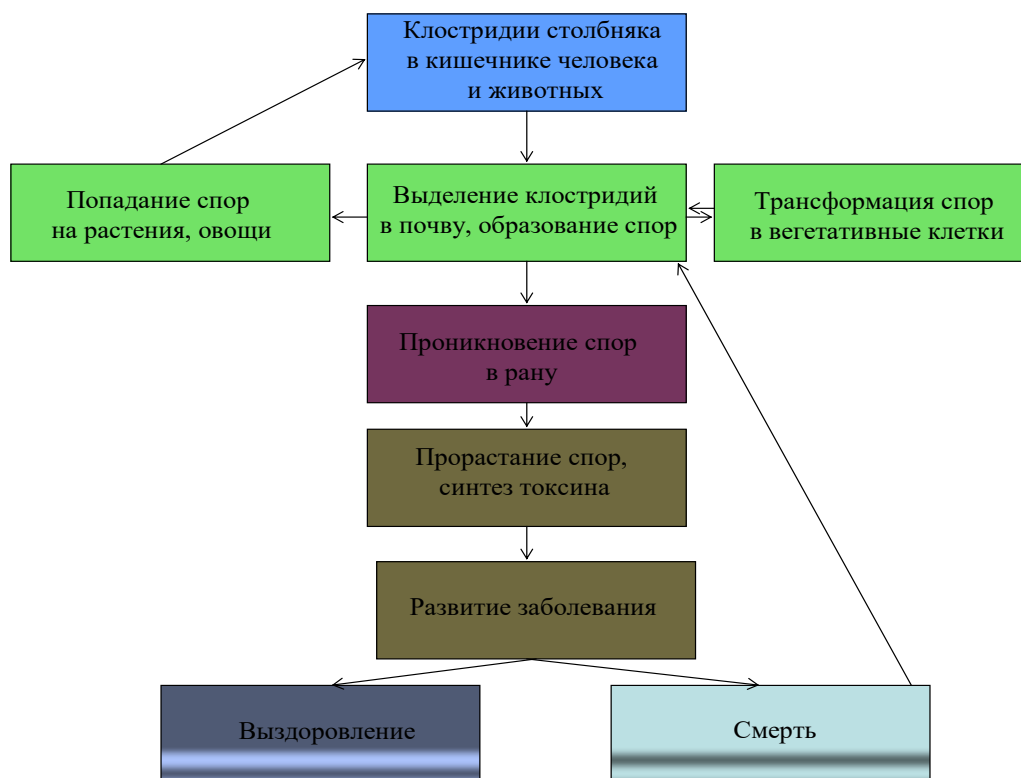


Рисунок 6.90 - Схема циркуляции столбнячной палочки в природе.

Для столбняка характерен контактный **механизм передачи** возбудителя. **Путь передачи** - раневой: бытовые и производственные травмы, ранения, ожоги, обморожения, операционные и инъекционные раны (рисунок 6.91).





Рисунок 6.91 - Входные ворота возбудителя при столбняке. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Основную группу риска составляют работники сельского хозяйства и дорожные рабочие. Больной человек для окружающих не опасен. В летние месяцы заболеваемость столбняком выше. Чаще болеют мужчины. В странах, где отсутствует плановая вакцинация, часто заболевают новорожденные и дети младшего возраста. При этом смертность у новорожденных достигает 95%. Например, во всем мире в 1993 г. от столбняка умерло 515000 новорожденных. Частота заболеваемости в развивающихся странах составляет 10-50 случаев на 100 тысяч населения, а в странах с обязательной иммунопрофилактикой - 0,1-0,6 случая на 100 тысяч населения.

В Российской Федерации в 2000 г. было зарегистрировано 33 случая заболевания столбняком, в 2001 г. – 42 случая, в 2002 г. – 40 случаев (2 случая – дети до 14 лет), в 2003 г. – 25 случаев, в 2004 г. – 35 случаев, в 2005-2012 гг. – по 30-35 случаев ежегодно. Летальность при столбняке составляет 38-39 %.

**Факторы патогенности возбудителя.** Возбудитель столбняка, проникнув в рану, активно размножается в месте входных ворот инфекции и вырабатывает столбнячный токсин. **Столбнячный токсин** является основным фактором патогенности возбудителя. Он состоит из двух фракций - тетаноспазмина (нейротоксина, TeNT) и тетанолизина (гемолизина). Летальная доза столбнячного токсина для человека составляет 2 нг/кг массы тела. Ведущая роль в развитии заболевания принадлежит тетаноспазмину. **Тетаноспазмин** относится к токсинам группы протеаз, он накапливается в микробной клетке и высвобождается из клетки во внешнюю среду при аутолизе и спорообразовании. Тетаноспазмин вызывает длительное напряжение поперечно-полосатой мускулатуры (мышечную ригидность) и ее болезненное сокращение (тетанус). Между одиночными сокращениями полного расслабления мышцы не происходит, поэтому мышца находится в максимально сокращенном состоянии. **Тетанолизин** обладает гемолитическим и кардиотоксическим действием, вызывая развитие метаболического ацидоза.

Синтез столбнячного токсина кодируется генами, расположенными на плазмиде pE88 (рисунок 6.92).

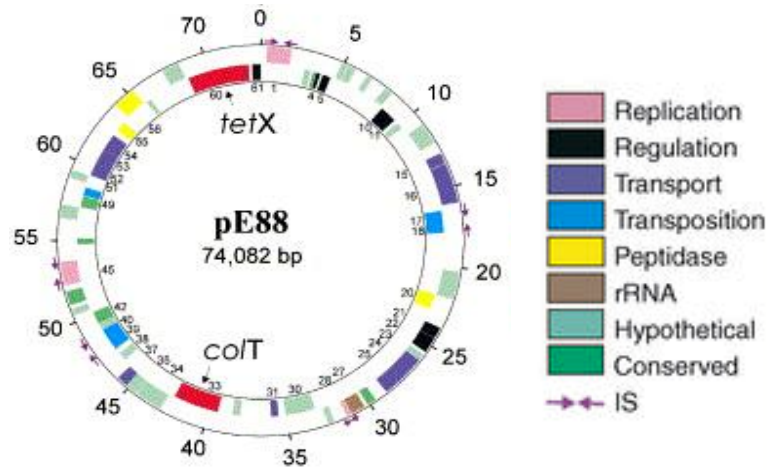


Рисунок 6.92 - Плазмида pE88 *Clostridium tetani*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Тетаноспазмин представляет собой белок с молекулярной массой 150 кД, состоящий из легкой L-цепи (50кД) и тяжелой H-цепи (100 кД), соединенных дисульфидной связью.

**Легкая цепь** является цинк-зависимой эндопептидазой, способной расщеплять синаптобrevин (один из белков, участвующий в высвобождении нейромедиаторов в синаптическую щель).

**Тяжелая цепь** состоит из домена связывания с ганглиозидными рецепторами (дисialogанглиозидами GD2 и GD1b) нервной клетки (С-концевой домен, С-терминальная последовательность, H<sub>C</sub>) и домена трансмембранного перемещения (N-концевой домен, N-терминальная последовательность, H<sub>N</sub>). Схематическое изображение структуры тетаноспазмина представлено на рисунке 6.93.

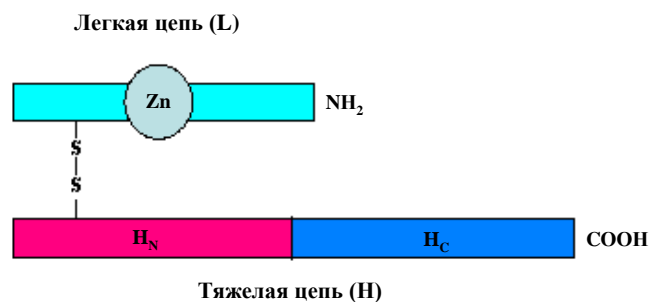


Рисунок 6.93 – Структура тетаноспазмина.

Механизм действия столбнячного токсина на организм человека можно представить в виде нескольких этапов (рисунок 6.94).

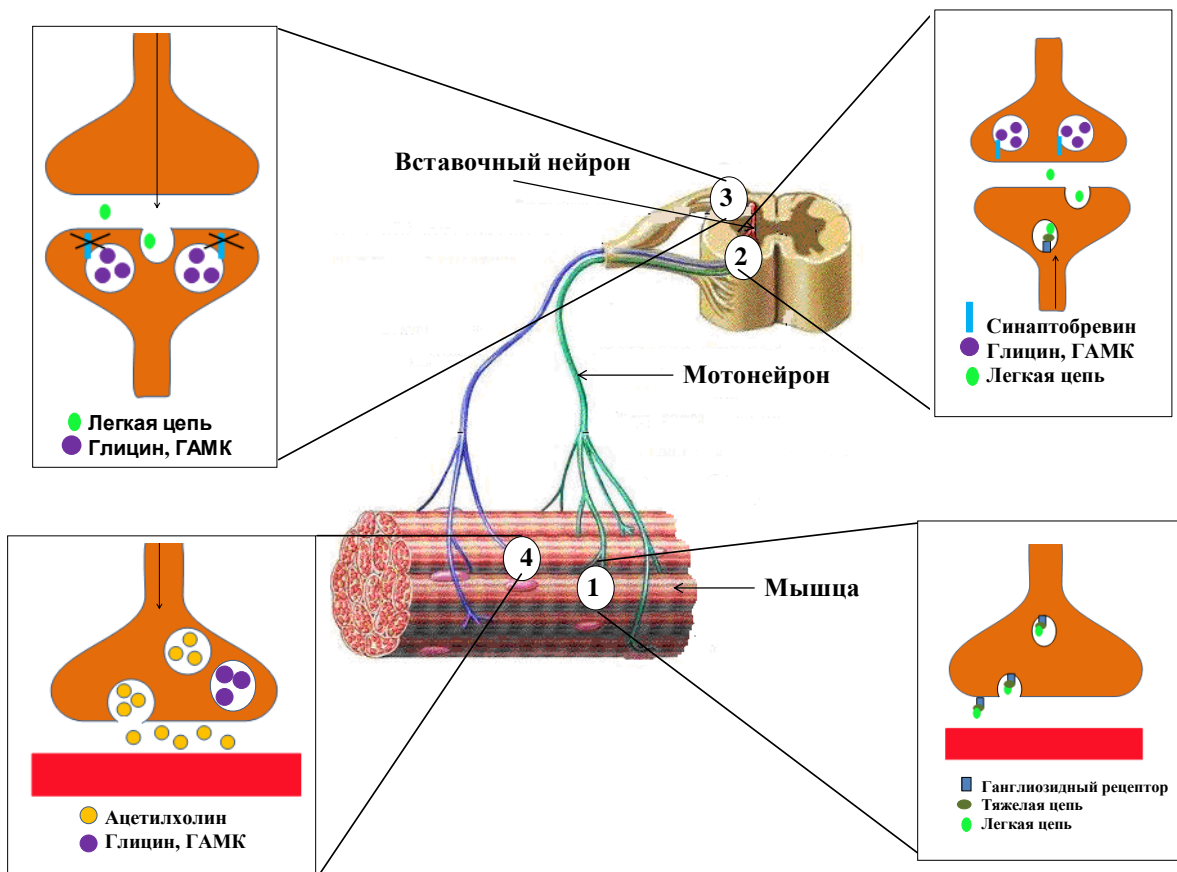


Рисунок 6.94 – Этапы действия столбнячного токсина на организм человека. Пояснения в тексте. Стрелками и цифрами показано направление сигнала.

**На первом этапе** тетаноспазмин из входных ворот инфекции по лимфатическим и кровеносным сосудам проникает в нервно-мышечный синапс. В нервно-мышечном синапсе тяжелая цепь тетаноспазмина с помощью  $H_C$ -домена связывается с ганглиозидными рецепторами пресинаптической мембраны нервных окончаний мотонейронов и внедряется  $H_N$ -участком в мембрану. Затем комплекс “рецептор + тетаноспазмин” подвергается эндоцитозу и перемещается ретроградно по аксоплазме с помощью белков динеинов (двигательных белков) в тела мотонейронов.

**На втором этапе** комплекс “рецептор + тетаноспазмин” высвобождает легкую цепь через постсинаптическую мембрану в синаптическую щель между телом мотонейрона и вставочного нейрона (тормозящего интернейрона), расположенного в центральной нервной системе (спинном и продолговатом мозге).

**На третьем этапе** легкая цепь токсина из синаптической щели путем эндоцитоза проникает в тело вставочного нейрона и разрушает синаптобrevин, в результате чего блокируется экзоцитоз везикул с тормозящими нейромедиаторами (глицином и гамма-аминомасляной кислотой) в синаптическую щель.

**На четвертом этапе** на мышечное волокно действуют возбуждающие нейромедиаторы (ацетилхолин), но не действуют тормозящие нейромедиаторы (глицин, ГАМК). В результате этого резко повышается мышечный тонус (гипертонус) и отмечается гиперрефлексия. При этом малейшие внешние раздражители вызывают тетанические судороги.

При добавлении к столбнячному токсину формалина и выдерживании смеси при повышенной температуре экзотоксин превращается в **анатоксин** или **токсоид** (рисунок 6.95), который применяют для специфической профилактики столбняка у человека или для гипериммунизации животных с целью получения антитоксина.

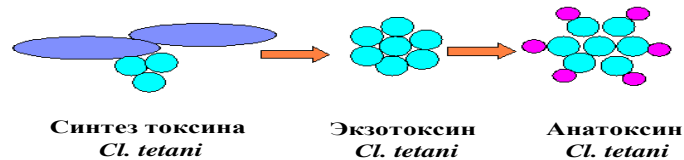


Рисунок 6.95 - Схема получения столбнячного анатоксина.

**Клиника.** К основным формам заболевания относятся раневой, послеоперационный, послеродовой, постинъекционный столбняк. Летальность при посттравматическом столбняке составляет 45-50%, при постабортальном и послеоперационном – до 70%, при столбняке новорожденных – до 90%.

По распространенности в организме выделяют **местный** (ограниченный) столбняк и **общий** (распространенный или генерализованный) столбняк. При местном столбняке развиваются судороги мышц непосредственно в области раны. При генерализованном столбняке в процесс последовательно вовлекаются мышцы головы, туловища и конечностей.

Выделяют следующие **периоды заболевания**.

**Инкубационный период** при столбняке составляет 6-14 дней. Чем короче инкубационный период, тем тяжелее протекает болезнь.

**Начальный (продромальный) период** продолжается до 2 дней. Наиболее ранним симптомом этого периода являются тупые тянущие боли в области раны (в месте входных ворот инфекции). Причем ко времени появления первых симптомов может наблюдаться полное заживление раны. Через 1-2 дня развивается **тризм** – напряжение и судорожное сокращение жевательных мышц (рисунок 9.96).



Рисунок 6.96 – Тризм при столбняке. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Период разгара (судорожный период)** продолжается в среднем 8-12 дней, в тяжелых случаях до 2-3 недель. Основное проявление столбняка - **судорожный**

**синдром:** болезненные сокращения мышц (**тетанус**) и длительное напряжение мышц (**мышечная ригидность**).

В период разгара заболевания наблюдаются ригидность затылочных мышц и “сардоническая улыбка” или оскал (*Risus sardonicus* или *risus caninus*): брови подняты, рот растянут, углы рта опущены, лицо одновременно выражает улыбку и плач (рисунок 6.97). Название этого симптома связывают с островом Сардиния. По преданию, на острове росла особая трава, при употреблении которой в пищу люди умирали, а их лица искажались судорогами, похожими на смех.



Рисунок 6.97 – “Сардоническая улыбка” при столбняке. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В этот период отмечается также затрудненное глотание в результате спазма мышц глотки (**дисфагия**), что сопровождается обильным слюнотечением без возможности сглатывания. Тризм, “сардоническая улыбка” и дисфагия являются классической триадой симптомов, характерных для столбняка (**триада Гиппократ**).

В последующем ригидность распространяется в нисходящем направлении (**нисходящий столбняк**) на мышцы шеи, спины, живота, конечностей. Напряжение отдельных групп мышц приводит к тому, что тело больного принимает дугообразное положение (**опистотонус** – судорожное выгибание позвоночника связанное с тоническим сокращением мускулатуры спины), ноги вытягиваются в струну, руки согнуты в локтях, четко выявляются контуры мышц. Судороги не распространяются на мышцы кистей и стоп. Опистотонус развивается в результате гипертонуса мышц разгибателей туловища (рисунок 6.98).



Рисунок 6.98 – Опистотонус при столбняке. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Судороги могут быть очень сильными и приводить к перелому X-XII грудных позвонков. Болезненные судороги вначале бывают редкими, а затем продолжаются почти непрерывно. Судороги возникают спонтанно или под влиянием внешних раздражителей (свет, звук). Между судорогами расслабления мышц не происходит. Спазмы мышц приводят к нарушению дыхания, глотания, дефекации, мочеиспускания, развитию застойных явлений во внутренних органах. Больной находится в полном сознании. Смерть наступает от паралича сердца или от асфиксии вследствие поражения мышц гортани, межреберных мышц и диафрагмы.

**Период выздоровления** продолжается до 2 месяцев и характеризуется постепенным снижением силы и количества судорог и напряжения мышц.

**Столбняк новорожденных** представляет собой особую форму заболевания. Вначале у ребенка нарушается глотание и сосание, затем развиваются судороги, сопровождающиеся цианозом, спазмом век. Тело ребенка приобретает “позу лягушонка”: положение на спине с запрокинутой головой, согнутыми и поджатыми к туловищу конечностями, на лице – страдальческое выражение. В последующем развивается тетанический спазм мышц всего тела (рисунок 6.99).



Рисунок 6.99 - Столбняк новорожденных. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

После тяжелой формы столбняка остаются парезы, параличи, токсический миокардит, поражения суставов.

Естественный иммунитет против столбняка слабый. Иммунитет после заболевания не формируется. Выраженный противостолбнячный иммунитет обеспечивается путем иммунизации столбнячным анатоксином.

**Лабораторная диагностика.** Поскольку клиническая картина столбняка очень характерна, лабораторную диагностику обычно не проводят. К лабораторным исследованиям прибегают лишь в спорных, неясных случаях, а также при обследовании перевязочного и шовного материала или образцов почвы.

**Исследуемым материалом** при столбняке служат кусочки тканей из ран, отделяемое ран, кровь, секционный материал, перевязочный материал, почва.

Исследование проводится в двух направлениях:

- обнаружение токсина путем постановки биопробы;
- выделение возбудителя.

Для обнаружения токсина проводят реакцию биологической нейтрализации (**РБН**) на лабораторных животных. Для нейтрализации токсина используют антитоксическую сыворотку. Подкожное введение мышам фильтрата исследуемого

материала при наличии токсина приводит к спазму мышц и искривлению тела в сторону места введения токсина (рисунок 6.100).



Рисунок 6.100 – Характерная поза белых мышей при гибели от столбнячного токсина. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для обнаружения токсина разработаны также серологические реакции: реакция непрямой гемагглютинации (**РНГА**), иммуноферментный анализ (**ИФА**), реакция латекс-агглютинации и реакция коаггутинации.

**Обнаружение возбудителя** производится путем бактериоскопического и бактериологического (культурального) исследования материала с места входных ворот инфекции.

**Бактериоскопическое исследование** направлено на обнаружение в мазках или мазках-отпечатках микробных клеток в виде “барабанных палочек”.

**Бактериологическое (культуральное) исследование** производится путем посева материала на среду Китта-Тароцци с последующим пересевом на плотные среды для выделения чистой культуры и изучения ее свойств.

В качестве экспрессного метода диагностики используют реакцию иммунофлюоресценции (**РИФ**) мазков и мазков-отпечатков из раны.

Для определения уровня антител к столбнячному анатоксину в сыворотке крови человека используют реакцию пассивной гемагглютинации (**РПГА**), проводимую микро- или макрометодом. РПГА осуществляется с помощью столбнячного эритроцитарного диагностикума (рисунок 6.101).



Рисунок 6.101 – Столбнячный эритроцитарный диагностикум для РПГА. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Лечение.** Основными принципами лечения столбняка являются:  
- хирургическая обработка раны (вскрытие, санация, аэрация);

- нейтрализация столбнячного токсина;
- тотальная миорелаксация;
- поддержание дыхательной и сердечно-сосудистой систем.

Лечение больных столбняком проводится в стационаре. Больной помещается в отдельную затемненную палату, где исключается возможность воздействия внешних раздражителей (шум, свет и т. д.).

Для специфического (этиотропного) лечения применяют **противостолбнячную антитоксическую очищенную концентрированную сыворотку (антитоксин)**, полученную путем гипериммунизации лошадей столбнячным анатоксином. Используют также донорский **противостолбнячный иммуноглобулин** (рисунок 6.102).



Рисунок 6.102 – Противостолбнячный иммуноглобулин. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Специфическую серотерапию начинают как можно раньше, так как через 2-3 дня токсин проникает в нервные клетки и исчезает из крови. Сыворотку вводят однократно внутримышечно новорожденным 10000-20000 МЕ, детям более старшего возраста 20000-80000 МЕ, взрослым – 100000-150000 МЕ в течение 2-3 дней. Противостолбнячный иммуноглобулин вводят внутримышечно в дозе 20000-50000 МЕ.

К сывороточным препаратам добавляют антибиотики, симптоматические средства (миорелаксанты, противосудорожные средства, анальгетики). Несмотря на лечение, летальность при столбняке превышает 30%.

**Профилактика. Неспецифическая профилактика** столбняка включает в себя профилактику травматизма в быту и на производстве и тщательную хирургическую обработку ран.

**Специфическая профилактика** столбняка может быть плановой (активная иммунизация детей и взрослых) и экстренной (посттравматической).

**Плановая специфическая профилактика** столбняка у детей начинается с 3-месячного возраста с последующей введением вакцины в 4,5 месяца и в 6 месяцев. Ревакцинация проводится в 18 месяцев, в 7 и 14 лет. Плановая вакцинация проводится в соответствии с национальным календарем профилактических прививок.

Плановая активная иммунизация осуществляется с помощью препаратов, разрешенных к применению. Для профилактики используют столбнячный анатоксин, входящий в состав АКДС-вакцины (против коклюша, дифтерии и столбняка), АДС-анатоксина (против дифтерии и столбняка), АС-анатоксина



(против столбняка), секстанатоксина (против ботулизма, столбняка, анаэробной инфекции), вакцин Инфанрикс (против дифтерии, коклюша, столбняка), ДТ Вакс (против дифтерии и столбняка), Имовакс ДТ (против дифтерии и столбняка), Тетракок 05 (против коклюша, дифтерии, столбняка и полиомиелита) и других препаратов (рисунок 6.103).



Рисунок 6.103 – Препараты для специфической профилактики столбняка.  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для плановой профилактики столбняка среди военнослужащих разработана также вакцина ТАВте (против брюшного тифа, паратифов А и В и столбняка).

**Экстренная иммунопрофилактика** проводится при травмах с нарушением целостности кожных покровов и слизистых оболочек (особенно при загрязненных и обширных ранах), обморожениях и ожогах II, III и IV степеней, внебольничных абортах, родах вне медицинских учреждений. В соответствии с действующими нормативными документами экстренную профилактику столбняка проводят до 20 дня с момента получения травмы. При этом используются следующие **схемы**:

- пассивная иммунизация с помощью антитоксической противостолбнячной сыворотки;
- активно-пассивная иммунизация с использованием столбнячного анатоксина и противостолбнячной сыворотки или иммуноглобулина;
- экстренная ревакцинация столбнячным анатоксином.

Для экстренной профилактики столбняка применяют следующие **препараты**:

- противостолбнячный человеческий иммуноглобулин;
- противостолбнячная лошадиная сыворотка (рисунок 6.104);
- адсорбированный столбнячный анатоксин.



Рисунок 6.104 - Сыворотка противостолбнячная лошадиная. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Иммунопрофилактика столбняка проводится в соответствии с действующими нормативными документами: приказ МЗ РФ №174 от 17.05.1999 г., СП 3.1.1381-03 “Профилактика столбняка”, МУ 3.1.2436-09 “Эпидемиологический надзор за столбняком”, МУ 3.1.1760-03 “Профилактика инфекционных болезней. Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета против управляемых инфекций (дифтерия, столбняк, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит)”.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. История изучения возбудителя столбняка.
2. Морфологические и тинкториальные свойства возбудителя столбняка.
3. Культуральные свойства и биохимическая активность *Cl. tetani*.
4. Эпидемиология столбняка.
5. Факторы патогенности возбудителя столбняка и патогенез заболевания.
6. Клинические симптомы столбняка.
7. Лабораторная диагностика столбняка.
8. Профилактика столбняка.
9. Принципы лечения столбняка.

### Тренировочные тесты

1. Возбудитель столбняка обнаружил (один правильный ответ):
  - 1.1 Л. Пастер
  - 1.2 Р. Кох
  - 1.3 Н.Д. Монастырский
  - 1.4 Д.И. Ивановский
  - 1.5 И.И. Мечников
  
2. Возбудитель столбняка относится к роду (один правильный ответ):
  - 2.1 *Bacillus*
  - 2.2 *Escherichia*
  - 2.3 *Shigella*
  - 2.4 *Clostridium*
  - 2.5 *Proteus*

3. Для возбудителя столбняка характерно (несколько правильных ответов):

- 3.1 грамотрицательные палочки
- 3.2 крупные грамположительные палочки
- 3.3 образуют споры
- 3.4 не образуют спор
- 3.5 образуют капсулу

4. Характерные свойства столбнячной палочки (несколько правильных ответов):

- 4.1 строгий аэроб
- 4.2 облигатный анаэроб
- 4.3 наличие эндотоксина
- 4.4 кислотоустойчивость
- 4.5 синтез тетаноспазмина

5. Главный фактор патогенности возбудителя столбняка (один правильный ответ):

- 5.1 высокая протеолитическая активность
- 5.2 капсула
- 5.3 экзотоксин
- 5.4 эндотоксин
- 5.5 плазмокоагулаза

6. Пути передачи возбудителя столбняка (один правильный ответ):

- 6.1 половой
- 6.2 трансплацентарный
- 6.3 раневой
- 6.4 трансмиссивный
- 6.5 водный

7. Столбнячный экзотоксин содержит (несколько правильных ответов):

- 7.1 гемагглютинин
- 7.2 тетаноспазмин
- 7.3 нейраминидазу
- 7.4 тетанолизин
- 7.5 фибринолизин

8. Ведущее звено патогенеза столбняка (один правильный ответ):

- 8.1 некроз мягких тканей
- 8.2 эндотоксический шок
- 8.3 обезвоживание организма
- 8.4 бактериемия
- 8.5 спастический паралич поперечнополосатых мышц

9. У человека возбудитель столбняка вызывает (один правильный ответ):

- 9.1 пневмонию
- 9.2 восходящий столбняк
- 9.3 нисходящий столбняк

9.4 вялые параличи мышц

9.5 пищевую токсикоинфекцию

10. Лабораторная диагностика столбняка предусматривает (несколько правильных ответов):

10.1 выявление специфических антител

10.2 проведение кожно-аллергической пробы

10.3 выявление сенсибилизации организма

10.4 обнаружение токсина в исследуемом материале

10.5 обнаружение возбудителя в исследуемом материале

11. Для активной специфической профилактики столбняка используют (один правильный ответ):

11.1 анатоксин

11.2 антитоксические сыворотки

11.3 иммуноглобулины

11.4 антибиотики

11.5 бактериофаги

12. Для пассивной иммунопрофилактики столбняка используют (несколько правильных ответов):

12.1 бактериофаги

12.2 иммуноглобулин

12.3 антибиотики

12.4 антитоксическая сыворотка

12.5 нормальная лошадиная сыворотка

13. Для специфического лечения столбняка используют (несколько правильных ответов):

13.1 анатоксин

13.2 антитоксическая сыворотка

13.3 иммуноглобулин

13.4 сульфаниламиды

13.5 бактериофаги

Правильные ответы: 1.3; 2.4; 3.2, 3.3; 4.2, 4.5; 5.3; 6.3; 7.2, 7.4; 8.5; 9.3; 10.4, 10.5; 11.1; 12.2, 12.4; 13.2, 13.3.

### 6.2.3. Возбудители анаэробной клостридиальной инфекции

**Анаэробная клостридиальная инфекция** (раневая газовая инфекция, газовая гангрена, *gangraina* – разъедающая язва) представляет собой тяжелую раневую инфекцию человека и животных, обусловленную бактериями рода *Clostridium*. Заболевание представляет собой полиэтиологичную инфекцию, которая возникает при инфицировании ран отдельными видами клостридий, несколькими видами клостридий, ассоциациями клостридий с разными видами аэробных и анаэробных микроорганизмов. Анаэробная клостридиальная инфекция характеризуется тяжелым течением, прогрессирующим развитием некроза и отека тканей, газообразованием в месте патологического процесса и развитием крепитации окружающих тканей, тяжелой интоксикацией в результате действия бактериальных токсинов и продуктов распада тканей. Чаще всего анаэробная инфекция возникает во время боевых действий. Однако раневая инфекция может быть осложнением ран любого генеза. Заболевание вызывают преимущественно клостридии, обитающие в почве.

Впервые раневую гангрену описал французский хирург А. Паре (рисунок 6.105).



Рисунок 6.105 – Амбруаз Паре (Ambroise Paré, 1510-1590 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Французский врач А. Вельпо в 1839 г. (рисунок 6.106) опубликовал свои наблюдения над похожим заболеванием, названном им “травматическая эмфизема”.

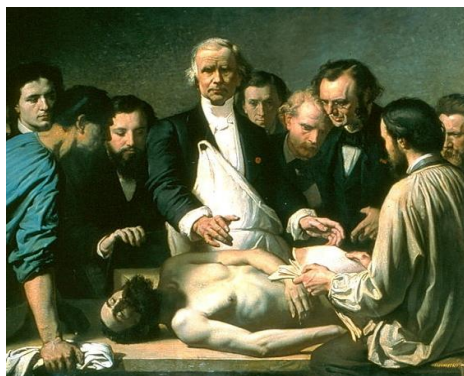


Рисунок 6.106 – Альфред Вельпо (Alfred-Armand-Louis-Marie Velpeau, 1795-1867 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Полное описание клинической картины анаэробной раневой инфекции дал российский врач Н.И. Пирогов (рисунок 6.107) во время Севастопольской и Кавказской военных кампаний.



Рисунок 6.107 – Николай Иванович Пирогов (1810-1881 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1861 г. Л. Пастер (рисунок 6.108) описал одного из возбудителей анаэробной инфекции - *Vibrion septique* (септический вибрион), получившего в последующем название *Clostridium septicum*.



Рисунок 6.108 – Луи Пастер (Louis Pasteur, 1822-1895 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1892 г. американские ученые У. Г. Уэлч (рисунок 6.109) и Г. Неттал выделили и описали *Clostridium perfringens*.

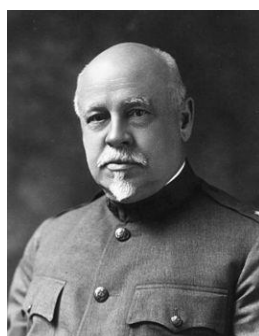


Рисунок 6.109 – Уильям Генри Уэлч (William H. Welch, 1850-1934 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1894 г. Ф. Нови подробно охарактеризовал возбудителя, получившего имя исследователя (*Clostridium novyi*).

М.В. Вейнберг (рисунок 6.110) и П. Сеген (P. Sequin) в 1915-1917 г. выделили от больных газовой гангреной людей несколько возбудителей: *Clostridium fallax*, “бациллу злокачественного отека” *Clostridium oedematiens* и “растворяющую ткань” бациллу *Clostridium histolyticum*.



Рисунок 6.110 – Михаил Вениаминович Вейнберг (1868-1940 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1922 г. аргентинский микробиолог А. Сорделли (рисунок 6.111) от больного газовой гангреной человека выделил еще одного возбудителя этого заболевания - *Clostridium sordellii*.



Рисунок 6.111 – Альфред Сорделли (Alfredo Sordelli, 1891-1967 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Таксономическое положение возбудителей.** Возбудители анаэробной клостридиальной инфекции относятся к типу (филуму) *Firmicutes*, классу *Clostridia*, порядку *Clostridiales*, семейству *Clostridiaceae*, роду *Clostridium*. Род *Clostridium* объединяет более 100 видов, в том числе – *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*, *C. histolyticum*, *C. bifermentans*, *C. ramosum*, *C. sporogenes*, *C. fallax*, *C. sordelli* и другие. Основными возбудителями анаэробной клостридиальной инфекции являются *C. perfringens*, *C. histolyticum*, *C. novyi*, *C. septicum*. По антигенной структуре внутри видов выделяют серовары (серотипы), а внутри серотипов – подтипы. В частности у *C. perfringens* различают 6 серотипов (А, В, С, D, Е, F), у *C. novyi* – 4 серотипа (А, В, С, D).

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Клостридии анаэробной инфекции представляют собой крупные ( $3\div 10 \times 0,4\div 1,2$  мкм) спорообразующие грамположительные палочки. Споры располагаются терминально или субтерминально (рисунки 6.112 и 6.113).

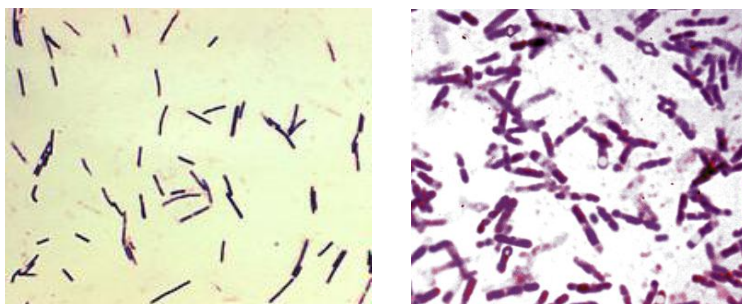


Рисунок 6.112 - *C. perfringens*, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



Рисунок 6.113 - Споры клостридий, окраска малахитовым зеленым. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Большинство клостридий являются подвижными за счет перитрихально расположенных жгутиков (рисунок 6.114).

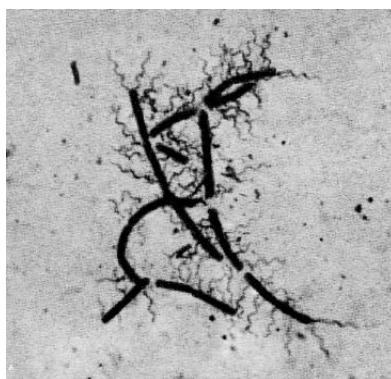


Рисунок 6.114 – Жгутики у суточной культуры *C. septicum*. Окраска по Морозову (К.И. Матвеев и др., 1966 г.).

Некоторые клостридии образуют капсулу, особенно в организме человека или животных (рисунок 6.115).



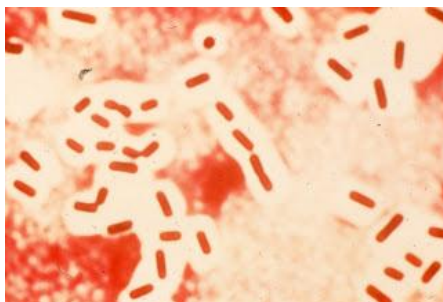


Рисунок 6.115 – Капсула *C. perfringens*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Морфологические особенности клостридий представлены в таблице 6.1.

Таблица 6.1 - Морфологические особенности возбудителей анаэробной клостридиальной инфекции

Виды клостридий	Размер палочек	Расположение спор	Наличие капсулы	Подвижность
<i>C. perfringens</i>	4÷8x0,8÷1,5 мкм	Ц, СТ	+	неподвижна
<i>C. histolyticum</i>	3÷5x0,5÷0,8 мкм	СТ	-	перитрих
<i>C. novyi</i>	4÷10x1÷2 мкм	СТ	-	перитрих
<i>C. septicum</i>	2÷10x0,8÷2 мкм	Ц, СТ	-	перитрих

Примечание: Расположение спор: Ц – центральное, СТ – субтерминальное.

**Культуральные и биохимические свойства.** Клостридии являются факультативными или облигатными анаэробами. Оптимальной для роста является температура 35-37<sup>o</sup>C, оптимальное значение pH 7,2-7,4. На плотных питательных средах клостридии формируют колонии S-формы с ровным краем и гладкой поверхностью или R-формы с неровным краем и шероховатой поверхностью. В глубине агары колонии напоминают комочки ваты или зерна чечевицы (рисунки 6.116 и 6.117).

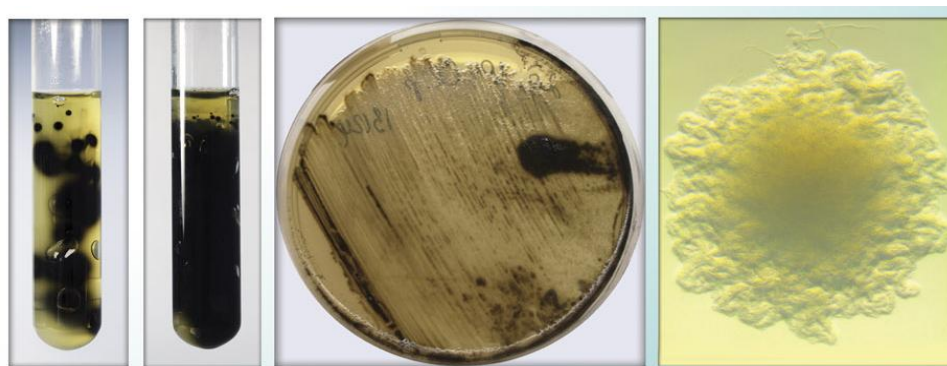


Рисунок 6.116 – Характер роста *C. perfringens* на сульфитном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



Рисунок 6.117 – Рост *C. perfringens* на МПА. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На кровяном агаре клостридии образуют колонии, окруженные зоной полного или частичного гемолиза (рисунок 6.118).

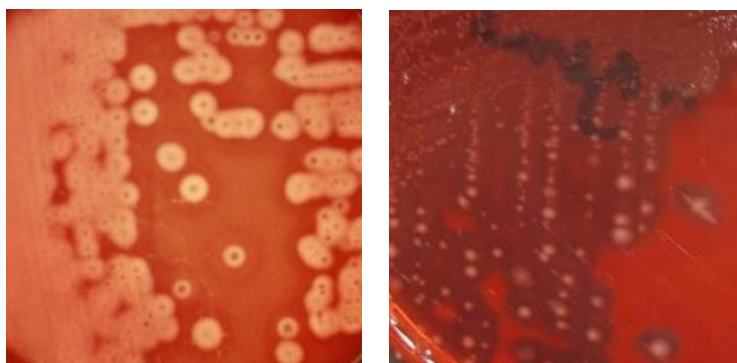


Рисунок 6.118 – Рост клостридий на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На среде Вильсона-Блера (железо-сульфитный агар для патогенных анаэробов) в процессе роста клостридий сернокислый натрий восстанавливается с образованием сернистого железа. На этой среде *C. perfringens* образуют черные колонии, а *C. histolyticum* – колонии зеленовато-черного цвета (рисунок 6.119).

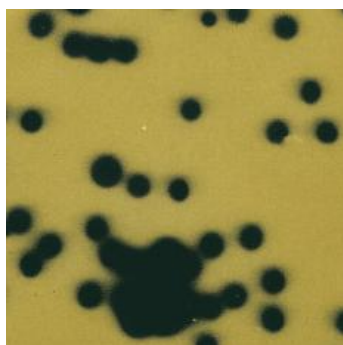


Рисунок 6.119 - Рост клостридий на среде Вильсона-Блера. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В среде Китта-Тароцци рост клостридий сопровождается помутнением среды и активным газообразованием (рисунок 6.120).



Рисунок 6.120 – Рост клостридий на среде Китта-Тароцци. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В молоке рост клостридий сопровождается створаживанием молока и образованием губкообразного сгустка – так называемая “штормовая реакция” (рисунок 6.121).



Рисунок 6.121 – Образование губкообразного сгустка при росте клостридий в молоке. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На желточном агаре в результате разложения лецитина лецитиназой вокруг колоний наблюдается зона опалесценции (рисунок 6.122).

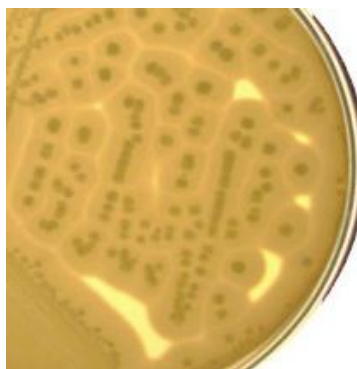


Рисунок 6.122 – Рост *C. perfringens* на желточном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

По сахаролитической и протеолитической активности разные виды клостридий различаются друг от друга. Наиболее характерным признаком для них является способность вызывать масляно-кислое брожение и анаэробный распад углеводов с образованием масляной кислоты и газов.

Культуральные и биохимические особенности разных видов клостридий представлены в таблице 6.2.

Таблица 6.2 – Культуральные и биохимические признаки клостридий

Виды клостридий	Форма колоний на кровяном агаре	Рост в молоке	Рост в желатине	Ферментация углеводов
<i>C. perfringens</i>	Круглые колонии зеленоватого цвета с зоной гемолиза	Бурное свертывание молока, образование губкообразного сгустка	Медленное разжижение желатина	Ферментирует галактозу, гликоген, глюкозу, инозит, ксилозу, крахмал, лактозу, левулезу, мальтозу, маннозу, раффинозу, сахарозу
<i>C. histolyticum</i>	Мелкие гладкие колонии (росинки) без гемолиза	Свертывание молока	Сильное помутнение	Отсутствует
<i>C. novyi</i>	Серые шероховатые колонии с изрезанными краями с зоной гемолиза	Свертывание молока медленное	Медленное разжижение желатина	Ферментирует глицерин, глюкозу, некоторые типы – фруктозу и мальтозу
<i>C. septicum</i>	Нежные кружевные колонии с зоной гемолиза	Свертывание молока	Медленное разжижение желатина	Ферментирует галактозу, глюкозу, лактозу, левулезу, мальтозу, салицин

**Факторы патогенности.** Основными факторами патогенности клостридий являются экзотоксины и ферменты агрессии. Разные виды клостридий синтезируют разный набор экзотоксинов. Эти экзотоксины обладают гемолитическим, некротизирующим, летальным действием. Ферменты агрессии (лецитиназа, ДНК-аза, гиалуронидаза) вызывают распад тканей (таблица 6.3).

Таблица 6.3 – Характеристика экзотоксинов и экзоферментов клостридий

Вид клостридий	Синтезируемые экзотоксины	Биологическое действие токсинов
<i>C. perfringens</i>	α-токсин	Фосфолипаза С. Дерматонекротизирующее, гемолитическое, и летальное действие
	β-токсин	Некротизирующее действие
	δ-токсин	Гемолитическое действие и летальное действие на лабораторных животных
	θ-токсин	Гемолитическое, дерматонекротизирующее, летальное действие
	ε-токсин	Белок, образующий поры в мембранах эпителиоцитов кишечника и вызывающий выход из клетки ионов

		калия и воды
	ι-токсин	Летальное, дерматонекротизирующее действие
	κ-токсин	Летальное, некротизирующее действие
	λ-токсин	Коллагеназная и желатиназная активность
	γ-токсин	Летальное действие
	η-токсин	Летальное действие
	μ-токсин	Повышение проницаемости тканей
	ν-токсин	Расщепление нуклеиновой кислоты
	Гиалуронидаза	Расщепление гиалуроновой кислоты соединительной ткани
	Энтеротоксин	Пищевые токсикоинфекции
<i>C. histolyticum</i>	α-токсин	Летальное и некротическое действие
	β-токсин	Коллагеназа (цинк-металлопротеаза), расщепляющая коллаген и желатин
	γ-токсин	Протеиназы, вызывающие деструкцию и омертвление мышц
	δ-токсин	Эластаза, расщепляющая желатин и казеин
	ε-токсин	Гемолитическая активность
<i>C. novyi</i>	α-токсин	Летальное и некротическое действие
	β-токсин	Лецитиназа С; летальное, некротическое и гемолитическое действие
	γ-токсин	Лецитиназа; некротическое и гемолитическое действие
	δ-токсин	Гемолитическое действие
	ε-токсин	Липаза
	ξ-токсин	Гемолитическое действие
	η-токсин	Тропомииозиназа
	θ-токсин	Лецитиназная активность
	Гиалуронидаза	Расщепление гиалуроновой кислоты
<i>C. septicum</i>	α-токсин	Летальная, некротизирующая и гемолитическая активность
	β-токсин	ДНК-аза
	γ-токсин	Гиалуронидаза
	δ-токсин	Гемолитическая активность

**Эпидемиология.** Источником клостридиальной инфекции являются человек и животные, в желудочно-кишечном тракте которых обитают клостридии. **Естественным резервуаром** инфекции и **фактором передачи** служит инфицированная почва. **Механизм заражения** – контактный. **Путь передачи** – раневой. **Входными воротами** инфекции служит поврежденная кожа. Восприимчивость человека к анаэробной клостридиальной инфекции высокая, заболеваемость значительно возрастает во время военных действий. В мирное время основными группами риска являются работники сельского хозяйства, строительные и дорожные рабочие.

**Патогенез.** Возникновению клостридиальной анаэробной инфекции способствует загрязнение раны землей, наличие обширных очагов размножения и некроза тканей. Омертвевшие ткани, богатые гликогеном, служат для клостридий благоприятной питательной средой. После попадания в рану в условиях гипоксии споры прорастают в вегетативные клетки, клостридии размножаются в месте входных ворот и синтезируют экзотоксины и ферменты агрессии. В частности, лецитиназа расщепляет лецитин клеточных мембран, гиалуронидаза и коллагеназа

увеличивают проницаемость тканей. Результатом действия токсинов и экзоферментов является некроз мышечной и соединительной ткани, развитие отека, скопление газов в тканях, интоксикация организма. Условиями развития клостридиальной инфекции является травматический некроз тканей и наличие в ране анаэробных условий (карманов). Токсины микробов и продукты распада тканей оказывают общее токсическое действие на организм, что приводит к тяжелой интоксикации, нарушающей функции всех жизненно важных органов и систем.

**Клиническая картина.** Инкубационный период при клостридиальной анаэробной инфекции составляет 1-3 дня. Кожные покровы вокруг раны бледные, с синюшным оттенком. Края раны отечные, видимые мышцы напоминают вареное мясо (рисунок 6.123).



Рисунок 6.123 – Клостридиальная анаэробная инфекция. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Патогномоничными признаками клостридиальной анаэробной раневой инфекции являются зловонный гнилостный запах, серо-зеленый или коричневый цвет отделяемого раны, гнилостный характер некроза (бесструктурный детрит серого, сине-зеленого или коричневого цвета), газообразование, выявляемое как крепитация (хруст) при пальпации и аускультации, ячеистый или перистый рисунок тканей на рентгенограмме. При надавливании из раны выделяются пузырьки газа с неприятным запахом. При пальпации отмечается характерная крепитация. Выражена общая интоксикация организма.

Специфическими симптомами газовой гангрены являются:

- симптом лигатуры (симптом Мельникова) – при наложении лигатуры (завязанной нити, швов) на участок конечности с газовой гангреной уже через 15-20 минут завязанная нить начинает впиваться в кожу из-за отека (рисунок 6.124);



Рисунок 6.124 – Симптом лигатуры. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

- симптом пробки шампанского – при извлечении тампона (салфетки) из раневого хода слышен хлопок из-за выхода образовавшегося газа;
- симптом шпателя - при постукивании металлическим шпателем по поражённой области слышен хрустящий звук;
- симптом бритвы - при бритье кожных покровов вокруг раны слышен хрустящий звук;
- симптом Краузе - межмышечные скопления газа на рентгеновском снимке напоминают “ёлочки”.

**Диагностика.** Исследуемым материалом при клостридиальной анаэробной инфекции служат пораженные и некротизированные ткани, взятые из раны на границе со здоровыми тканями, экссудат, гной, раневое отделяемое, кровь. От трупов берут кусочки мышц, печени, селезенки; кровь из сердца, раневое отделяемое. При пищевых токсикоинфекциях исследуют рвотные массы, фекалии, кровь, остатки пищевых продуктов.

При лабораторной диагностике клостридиальной анаэробной инфекции используют бактериоскопический, культуральный и биологический методы.

**Бактериоскопический метод** включает микроскопию мазков, приготовленных из исследуемого материала и окрашенных по Граму (рисунок 6.125) и Бурри-Гинсу (для выявления капсулы).

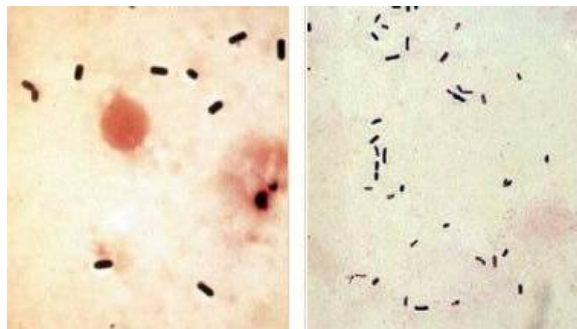


Рисунок 6.125 – Мазок отделяемого из раны. Окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Подвижность культур определяют методом “висячей капли”. В качестве экспресс-метода используют РИФ.

**Культуральный метод** предусматривает посев исследуемого материала в жидкую питательную среду Китта-Тароцци для накопления бактерий с последующим пересевом культуры на плотные среды (кровяной сахарный агар Цейслера, среду Вильсона-Блера). Посевы инкубируют в анаэроостате при температуре 37<sup>0</sup>С. Выросшую культуру идентифицируют по морфологическим и биохимическим свойствам.

**Биологический метод** основан на реакции нейтрализации токсинов (фильтратов бульонных культур или центрифугатов исследуемого материала) специфическими антитоксическими сыворотками с последующим заражением белых мышей или морских свинок.

Кроме результатов лабораторных исследований в диагностике клостридиальной анаэробной инфекции большое значение имеет характерная

клиническая картина заболевания, общая интоксикация организма, рентгенологическое исследование (“пористость” мышечной ткани).

**Лечение.** Основное внимание уделяется хирургической обработке раны: удаление некротизированных тканей, обеспечение оттока отделяемого раны (дренаж) и притока кислорода, применение повязок с раствором перекиси водорода (рисунок 6.126).



Рисунок 6.126 – Основные принципы лечения анаэробной инфекции. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для обеспечения тканей кислородом используют гипербарическую оксигенацию – создание с помощью специального оборудования повышенной концентрации кислорода в крови: концентрация кислорода 3% считается бактериостатической, 6% - бактерицидной (рисунок 6.127).



Рисунок 6.127 – Аппарат гипербарической оксигенации. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Нейтрализацию клостридиальных токсинов проводят с помощью антитоксических сывороток против *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*. Антибактериальная терапия предусматривает введение максимальных доз антибиотиков (пенициллина, тетрациклина).

**Иммунитет.** Постинфекционный и поствакцинальный иммунитет определяется антитоксическими антителами.



**Профилактика.** Для специфической профилактики с целью создания искусственного активного иммунитета используют “Секстанатоксин”, в состав которого входят столбнячный анатоксин, ботулинические анатоксины типов А, В и Е, а также анатоксины *C. perfringens* и *C. novyi*.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение клостридий.
2. Представители клостридий – возбудители анаэробной инфекции.
3. Морфологические, культуральные и биохимические свойства клостридий.
4. Факторы патогенности возбудителей клостридиальной анаэробной инфекции.
5. Патогенез клостридиальной анаэробной инфекции.
6. Клиника клостридиальной анаэробной инфекции.
7. Принципы диагностики, профилактики и лечения клостридиальной анаэробной инфекции.

### Тренировочные тесты

1. Возбудителями анаэробной инфекции являются представители семейства:
  - 1.1 *Coxiellaceae*
  - 1.2 *Campylobacteraceae*
  - 1.3 *Clostridiaceae*
  - 1.4 *Corynebacteriaceae*
  - 1.5 *Chlamydiaceae*
  
2. По морфологии возбудители клостридиальной анаэробной инфекции являются:
  - 2.1 грамположительными спорообразующими палочками
  - 2.2 грамотрицательными палочками
  - 2.3 стрептококками
  - 2.4 стафилококками
  - 2.5 извитыми формами
  
3. Клостридии являются:
  - 3.1 грамотрицательными палочками
  - 3.2 грамположительными палочками
  - 3.3 грамотрицательными кокками
  - 3.4 грамположительными кокками
  - 3.5 извитыми формами
  
4. Возбудителями газовой гангрены являются:
  - 4.1 *C. perfringens*
  - 4.2 *C. tetani*
  - 4.3 *C. botulinum*
  - 4.4 *C. histolyticum*
  - 4.5 *C. septicum*

5. Для выращивания клостридий используют среду:

- 5.1 Эндо
- 5.2 Китта-Тароцци
- 5.3 Левина
- 5.4 Плоскирева
- 5.5 Вильсона-Блера

6. Клостридии являются:

- 6.1 спорообразующими анаэробными палочками
- 6.2 спорообразующими аэробными палочками
- 6.3 неспорообразующими бактериями
- 6.4 извитыми бактериями
- 6.5 кокками

7. Для развития газовой анаэробной гангрены необходимы условия:

- 7.1 травматический некроз тканей
- 7.2 анаэриоз
- 7.3 наличие клостридий в ране
- 7.4 проникновение клостридий в кровь
- 7.5 доступ в рану кислорода

8. Заражение человека клостридиями газовой анаэробной гангрены происходит при:

- 8.1 контакте с больным человеком
- 8.2 употреблении инфицированных продуктов
- 8.3 загрязнении ран почвой
- 8.4 внутривенном введении лекарств
- 8.5 переливании инфицированной крови

9. Локализация возбудителя при клостридиальной анаэробной инфекции:

- 9.1 спинномозговая жидкость
- 9.2 входные ворота инфекции
- 9.3 кровь
- 9.4 паренхиматозные органы
- 9.5 лимфатические узлы

10. Для специфической профилактики клостридиальной анаэробной инфекции используется:

- 10.1 живая вакцина
- 10.2 инактивированная вакцина
- 10.3 анатоксин
- 10.4 антитоксин
- 10.5 антибиотики

Правильные ответы: 1.3; 2.1; 3.2; 4.1, 4.4, 4.5; 5.2, 5.5; 6.1; 7.1, 7.2, 7.3; 8.3; 9.2; 10.3.

## 7. Грамположительные палочки неправильной формы

### 7.1. Коринебактерии

Коринебактерии объединяют большую группу прямых или изогнутых неподвижных аспорогенных грамположительных палочек. Они относятся к типу (филуму) *Actinobacteria*, классу *Actinobacteria*, порядку *Corynebacteriales*, семейству *Corynebacteriaceae*, роду *Corynebacterium*, включающему в настоящее время 89 видов, из них 53 вида имеют медицинское значение. К видам коринебактерий, имеющим медицинское значение, относятся *C. amycolatum*, *C. auris*, *C. glucuronolyticum*, *C. jeikeium*, *C. minutissimum*, *C. propinquum*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. pseudotuberculosis*, *C. striatum*, *C. ulcerans*, *C. urealyticum*, *C. xerosis* и др. Многие виды коринебактерий выделяются от животных, птиц и из внешней среды (воды, пищевых продуктов, окружающих предметов).

Среди коринебактерий выделяют патогенные и непатогенные для человека и животных виды. Типичными патогенными для человека коринебактериями являются *C. diphtheria*, *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis*. Они вызывают у человека дифтерию и дифтериеподобные заболевания. Выделяют также недифтерийные или условно-патогенные коринебактерии, которые могут входить в число нормальных обитателей кожи, слизистых оболочек зева, носоглотки, глаз, дыхательных путей, уретры и половых органов человека. У лиц с нарушениями иммунитета они могут вызывать гнойно-септические заболевания.

Коринебактерии, близкие по морфологическим и биохимическим свойствам возбудителю дифтерии, часто называются коринеформными бактериями или дифтероидами. Они широко распространены в почве, воздухе, на пищевых продуктах. Термин “дифтероиды” в настоящее время не употребляется, так как большинство видов коринеформных бактерий не имеет сходства с возбудителем дифтерии.

В цитоплазме коринебактерий часто обнаруживаются зерна волютина, а в клеточной стенке – миколовые кислоты. По способности к биотрансформации жиров коринебактерии подразделяются на липолитические и нелиполитические. Большинство видов коринебактерий являются нелиполитическими бактериями. В свою очередь нелиполитические коринебактерии подразделяются на ферментирующие и неферментирующие виды. К ферментирующим коринебактериям относится возбудитель дифтерии.

**Дифтерия** - это острое инфекционное заболевание, характеризующееся общей интоксикацией организма и образованием в месте входных ворот инфекции пленчатых налетов беловато-серого цвета. Название заболевания происходит от греч. *diphthera* - пленка, перепонка, кожа. Образование плотной пленки, спаянной с подлежащими тканями, характерно для этого заболевания. Дифтерия относится к **антропонозным** инфекциям.

**Историческая справка.** Дифтерия известна с глубокой древности. Еще древнеримский философ и врач А. Каппадокийский (рисунок 7.1) называл дифтерию сирийской и египетской болезнью, сопровождающейся “злокачественными язвами на миндалинах, ведущими к удушью”.



Рисунок 7.1 – Барельеф с изображением Аретей Каппадокийского (вторая половина I века – первая половина II века). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Во второй половине XIX века дифтерия из Азии проникла и широко распространилась в Европе, Америке и России.

Возбудитель дифтерии был обнаружен в 1883 г. немецким бактериологом Э. Клебсом (рисунок 7.2) в срезах пленок, взятых из зева больного.



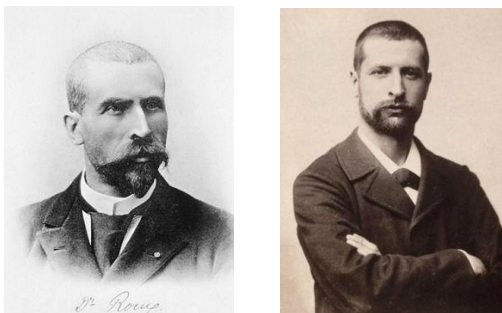
Рисунок 7.2 – Эдвин Клебс (Edwin Klebs, 1834-1913 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1884 г. немецкий бактериолог Ф. Лёффлер (рисунок 7.3) получил чистую культуру возбудителя дифтерии. С тех пор возбудитель стали называть палочкой Клебса-Лёффлера.



Рисунок 7.3 – Фридрих Лёффлер (Friedrich August Johannes Loeffler, 1852-1915 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1888 г. французский бактериолог и иммунолог П. Ру и его ученик швейцарский бактериолог А. Йерсен (рисунок 7.4) обнаружили способность возбудителя дифтерии синтезировать экзотоксин.



А

Б

Рисунок 7.4 – А - Пьер Поль Эмиль Ру (Pierre Paul Emile Roux, 1853-1933); Б - Александр Йерсен (Alexandre Emile Jean Yersin, 1863-1943 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1892 г. немецкий бактериолог Э. Беринг (рисунок 7.5) методом гипериммунизации (многократной иммунизации) животных получил антитоксическую противодифтерийную сыворотку.



Рисунок 7.5 – Эмиль Адольф фон Беринг (Emil Adolf von Behring, 1854-1917 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В последующем Э. Беринг и японский бактериолог С. Китасато (рисунок 7.6) использовали антитоксическую сыворотку, полученную от животных, для лечения больных дифтерией людей.



Рисунок 7.6 – Сибасабуру Китасато (1856-1931 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

За внедрение в медицинскую практику метода лечения дифтерии с помощью сывороточных препаратов Э. Беринг и П. Ру в 1901 г. были удостоены Нобелевской премии.

В 1923 г. французский бактериолог и иммунолог Г. Рамон (рисунок 7.7) при изучении механизмов действия тепла и формалина на бактериальные токсины разработал метод получения дифтерийного анатоксина (токсоида).



Рисунок 7.7 – Гастон Рамон (Gaston Ramon, 1886-1963 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Анатоксин** представляет собой препарат токсина, утратившего токсические свойства, но сохранившего иммуногенность. По методу Г. Рамона анатоксин получают путем добавления к экзотоксину 0,3-0,4% формалина и инкубирования смеси в течение 3-4 недель при температуре 38-40°C. Дифтерийный анатоксин используется для вакцинации людей против дифтерии и для гипериммунизации животных с целью получения противодифтерийной антитоксической лечебной сыворотки (антитоксина).

**Таксономическое положение возбудителя.** Возбудитель дифтерии относится к типу *Actinobacteria*, классу *Actinobacteria*, порядку *Corynebacteriales*, семейству *Corynebacteriaceae*, роду *Corynebacterium*, виду *Corynebacterium diphtheriae*. Название микроба происходит от греч. *koryne* - булава, *bacteria* - палочка, *diphthera* - пленка.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** *C. diphtheriae* – прямая или слегка изогнутая палочка, которая имеет вздутия на концах и напоминает булаву или гантели. После деления клетки коринебактерий не расходятся, а располагаются в мазках под углом, напоминая латинские буквы L, X, V, Y или растопыренные пальцы рук, иероглифы (рисунок 7.8).

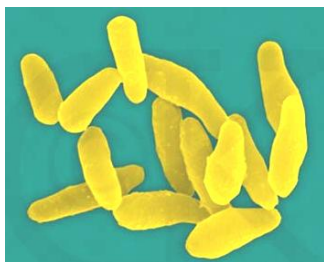


Рисунок 7.8 – Взаимное расположение коринебактерий, компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Возбудитель дифтерии обладает полиморфизмом: в препаратах могут встречаться нитевидные, ветвящиеся, кокковидные, дрожжеподобные формы. Дифтерийные палочки неподвижные, спор не образуют, имеют микрокапсулу и пили (рисунок 7.9).

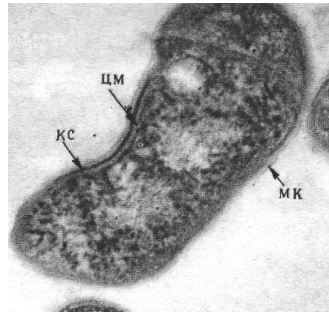


Рисунок 7.9 – Клетки *C. Diphtheriae*, электронная микроскопия: ЦМ – цитоплазматическая мембрана, КС – клеточная стенка, МК – микрокапсула (Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д., 1976).

Коринебактерии дифтерии легко окрашиваются анилиновыми красителями. По Граму они окрашиваются в фиолетовый цвет, то есть являются грамположительными (рисунок 7.10).

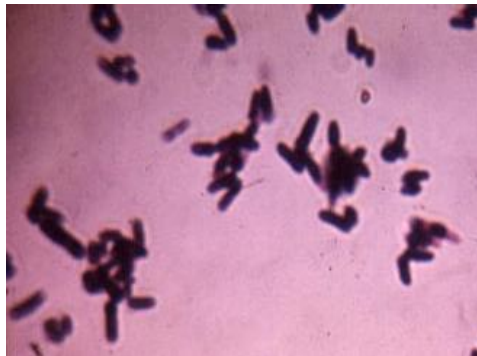


Рисунок 7.10 - *C. diphtheriae*, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При окраске препаратов **щелочным метиленовым синим** или **по методу Нейссера** на полюсах коринебактерий обнаруживаются зерна волютина (**зерна Бабеша-Эрнста**). Количество зерен волютина у дифтерийной палочки не превышает 6, непатогенные коринебактерии содержат 18-20 зерен. По химической природе волютин представляет собой полиметафосфаты, которые служат для микробной клетки запасными питательными веществами. При окраске по Граму зерна волютина не выявляются.

При использовании щелочного метиленового синего тело клетки окрашивается в голубой цвет, а зерна волютина – в темно-синий (темно-бордовый) или черный цвет (рисунок 7.11).



Рисунок 7.11 - Зерна волютина в клетках возбудителя дифтерии, окраска щелочным метиленовым синим. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Метод Нейссера предусматривает окраску препарата уксуснокислым метиленовым синим и везувином. При этом способе зерна волютина окрашиваются в черный (темно-коричневый) цвет, а тело клетки – в желто-коричневый цвет (рисунок 7.12).

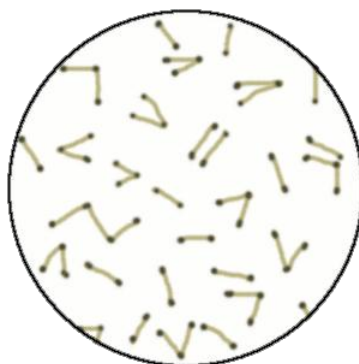


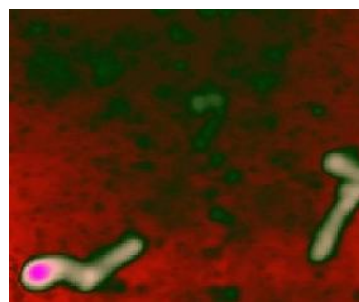
Рисунок 7.12 – Окраска *C. diphtheriae* по Нейссеру. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Полиморфизм *C. diphtheriae*, взаимное расположение клеток, наличие зерен волютина по полюсам являются дифференциально-диагностическими признаками и используются при идентификации возбудителя.

При **люминесцентной микроскопии** зерна волютина окрашиваются корифосфином в оранжево-красный цвет, в то время как тела бактерий - в желто-зеленый цвет (рисунок 7.13).



а



б

Рисунок 7.13 – Окраска зерен волютина корифосфином: а – рисунок; б - люминесцентная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



По строению клеточной стенки коринебактерии отличаются от других грамположительных бактерий. В состав клеточной стенки возбудителя дифтерии входят специфичные только для коринебактерий липиды: эфиры коринемиколовой и коринемиколиновой кислот, димиколат трегалозы, фосфатиды маннозы и инозита (фосфатидилинозитол-маннозит). Миколовые кислоты являются фактором жгутообразования (корд-фактором) коринебактерий. Наличие липидов обуславливает скопление клеток в препарате (мазке). Клеточная стенка содержит также пептидогликан и арабиногалактан – полимеры полисахаридной природы. Поверхностная белковая структура *C. diphtheriae* представляет собой капсульную субстанцию - микрокапсулу (рисунок 7.14).

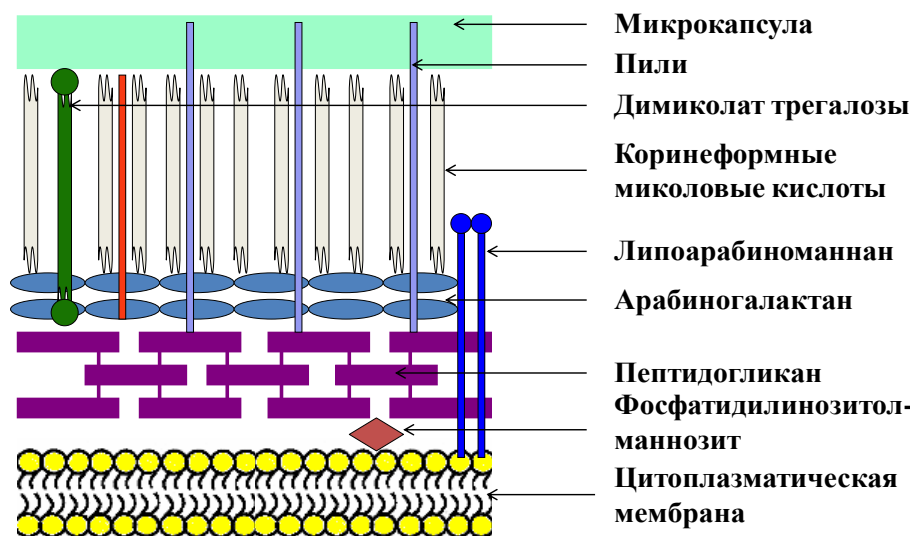


Рисунок 7.14 – Схема строения клеточной стенки *C. diphtheriae*.

Слой миколовых кислот и гликолипидов пронизан пориноподобными белками, образующими каналы. В микрокапсуле располагаются пили (фимбрии). У *C. diphtheriae* выделяют три типа пилей, различающихся по структуре: SpaA, SpaD, SpaH.

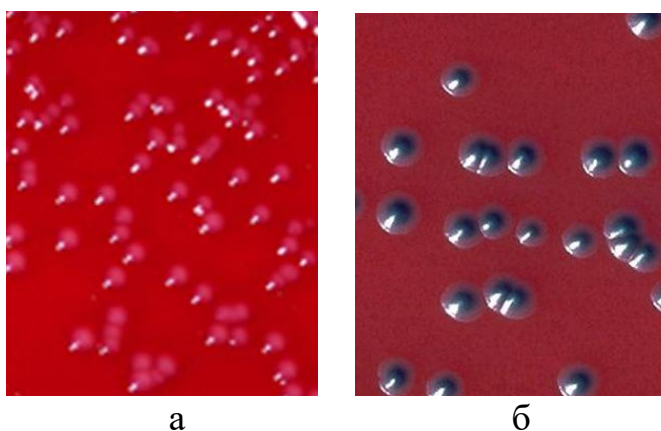
**Геном** *C. diphtheriae* представлен кольцевой молекулой ДНК. Некоторые штаммы *C. diphtheriae* содержат плазмиды в виде кольцевых молекул ДНК. Плазмиды детерминируют синтез белков. В составе бактериальной хромосомы имеется нуклеотидная последовательность гена *tox* (1683 п.о.), привнесенная бактериофагом. Указанная нуклеотидная последовательность полностью идентичная у коринефагов  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\omega$ .

**Культуральные свойства.** Коринебактерии - факультативные анаэробы, хорошо растут в аэробных условиях. Оптимальная температура роста - 35-37°C. Возбудитель дифтерии не растет на простых питательных средах, так как не продуцирует протеазы, расщепляющие белки до аминокислот. Коринебактерии усваивают аминокислоты только из продуктов гидролиза белков, поэтому питательные среды для выращивания таких бактерий должны содержать аминокислоты. Кроме того в состав питательных сред должны входить органические источники энергии, соли магния, кальция, витамины, кровь или

сыворотка крови животных, теллурит калия. Элективными средами для выращивания *C. diphtheriae* являются:

- свернутая кровяная сыворотка (среда Ру);
- сыворотка с добавлением сахарного бульона (среда Ру-Лёффлера);
- кровяной агар (КА);
- кровяной теллуритовый агар (среда Клауберга II);
- теллурит-шоколадный агар Маклеода;
- хинозольная среда Бучина;
- цистин-теллурит-сывороточная среда Тинсдаля-Садыковой.

На этих средах рост коринебактерий отмечается уже через 10-12 часов. На кровяном агаре возбудитель дифтерии формирует мелкие серо-белые колонии, а на кровяных теллуритовых средах колонии окрашены в темно-серый или черный цвет (рисунок 7.15).



а

б

Рисунок 7.15 – Характер роста возбудителя дифтерии на кровяном агаре (а) и на кровяном теллуритовом агаре (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Высокие концентрации теллурита калия подавляют рост посторонних микроорганизмов, не оказывая влияния на *C. diphtheriae*. Колонии возбудителя дифтерии на **средах с теллуритом** окрашиваются в темно-серый или черный цвет в результате восстановления теллурита до металлического теллура, который накапливается внутри бактерий в виде кристаллов.

**На среде Бучина** через 24-48 часов *C. diphtheriae* образует колонии синего цвета и на месте колоний среда также приобретает фиолетовый цвет.

**На среде Тинсдаля-Садыковой** *C. diphtheriae* образуют серые или темно-коричневые колонии, окруженные темно-коричневым ореолом.

В настоящее время для выявления коринебактерий широко используется специальная питательная среда – **коринебакагар**. Эта среда содержит панкреатический гидролизат рыбной муки, стимулятор роста, натрия хлорид, глюкозу и агар. Перед использованием в среду добавляют теллурит калия. На этой среде коринебактерии образуют шероховатые колонии темно-серого цвета со складчатой поверхностью и неровными изрезанными краями (вид “маргаритки”) или темно-серые (серовато-черные) блестящие гладкие колонии с ровными краями (рисунок 7.16).



Рисунок 7.16 – Рост возбудителя дифтерии на коринебакагаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**В бульоне** рост коринебактерий проявляется либо в виде равномерного помутнения, либо бульон остается прозрачным, а на его поверхности образуется нежная пленка, которая постепенно утолщается, крошится и хлопьями оседает на дно пробирки.

**Биохимическая активность.** Возбудитель дифтерии обладает высокой ферментативной активностью. Все штаммы *C. diphtheriae* ферментируют глюкозу, мальтозу, галактозу с образованием кислоты и не разлагают сахарозу, лактозу и маннит (рисунок 7.17).

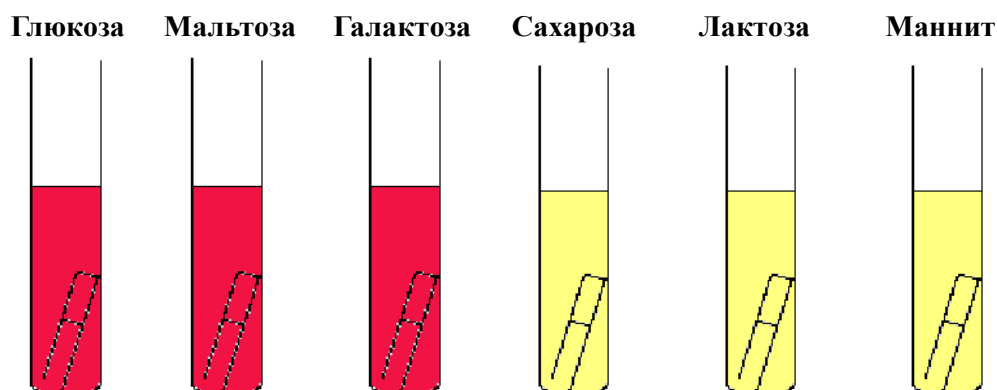


Рисунок 7.17 – Ферментация углеводов *C. diphtheriae*.

Возбудитель дифтерии восстанавливает с помощью нитратредуктазы нитриты в нитраты (за исключением биовара *belfanti*), не продуцирует уреазу, не проявляет протеолитической активности.

При идентификации выделенных культур используют следующие **биохимические особенности возбудителя дифтерии:**

- ферментация глюкозы, галактозы и мальтозы до кислоты;
- отсутствие ферментации сахарозы, лактозы, маннита;

- отсутствие разложения мочевины - **отрицательная проба Закса** – исходный желтый цвет среды с мочевиной и феноловым красным при выращивании дифтерийного микроба в течение 30 минут при 37<sup>0</sup>С не меняется, а при наличии уреазы бульон окрашивался бы в красный цвет (рисунок 7.18). Уреазу продуцируют ложнодифтерийные палочки Гофмана и некоторые непатогенные коринебактерии.

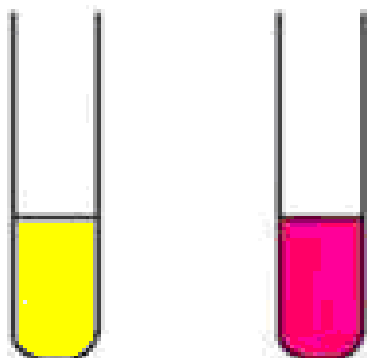


Рисунок 7.18 – Отрицательная проба Закса – исходная среда сохраняет желтый цвет (при наличии уреазы среда окрашивалась бы в розовый цвет). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

- наличие цистиназы - **положительная проба Пизу** – почернение столбика сывороточного агара (образование коричневого облачка по ходу укола) в результате образования сернистого свинца. Сернистый свинец появляется при взаимодействии присутствующего в среде уксуснокислого свинца с сероводородом, выделяющимся при расщеплении цистина цистиназой возбудителя дифтерии (рисунок 7.19).



Рисунок 7.19 – Положительная проба Пизу. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Наличие цистиназы можно обнаружить также по образованию коричневых ореолов вокруг колоний на цистин-теллурит-сывороточной **среде Тинсдаля-Садыковой**.

Представленные признаки позволяют отличать токсигенные коринебактерии от условно-патогенных видов, которые часто встречаются на слизистых оболочках глаз и носоглотки. Основные дифференциальные признаки коринебактерий представлены в таблице 7.1.

Таблица 7.1 - Дифференциальные признаки, отличающие *C. diphtheriae* от условно-патогенных коринебактерий

Виды коринебактерий	Ферментация			Уреаза (разложение мочевины – проба Закса)	Гемолиз	Проба Пизу (цистиназа)	Синтез токсина
	глюкозы	сахарозы	крахмала				
<i>C. diphtheriae</i>	+	-	±	-	+	+	+
<i>C. xerosis</i>	+	+	-	-	-	-	-
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	-	-	-	+	-	-	-

Примечание: “+” - признак положительный; “-” - признак отрицательный; “±” - признак непостоянный (либо положительный, либо отрицательный).

**Биовары возбудителя.** По совокупности культуральных и биохимических свойств возбудитель дифтерии подразделяется на биовары:

- *gravis* - грубый;
- *mitis* - тонкий, легкий;
- *intermedius* - промежуточный.

Иногда выделяют биовар *belfanti*, который в настоящее время признается разновидностью биовара *mitis*.

Биовары различаются между собой по форме колоний на средах с теллуридом, характеру роста в жидких средах, гемолитической активности, ферментации углеводов и морфологии клеток.

**Биовар *gravis*** на плотных теллуридовых средах образует сухие серовато-черные плоские радиально исчерченные колонии R-формы диаметром 2-3 мм. Радиальная исчерченность придает колониям вид “маргаритки” (рисунок 7.20).

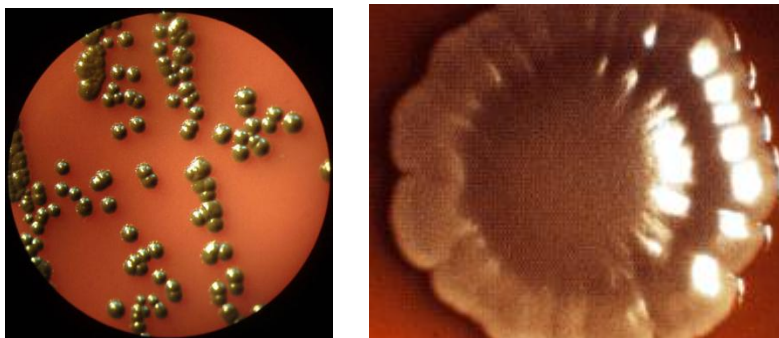


Рисунок 7.20 – Колонии биовара *gravis*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В жидких средах биовар *gravis* растет в виде пленки на поверхности и зернистого осадка, жидкость остается прозрачной. Этот биовар не вызывает гемолиза, ферментирует глюкозу, мальтозу, крахмал, гликоген. Клетки этого биовара короткие, содержат единичные зерна волютинина.

**Биовар *mitis*** образует мелкие (1-2 мм) гладкие блестящие черные колонии (рисунок 7.21) с ровными краями (S-форма), в бульоне вызывает равномерное помутнение и порошкообразный осадок. Обладает гемолитической активностью,

разлагает глюкозу и мальтозу. Палочки этого биовара длинные, изогнутые, содержат несколько зерен волютина.

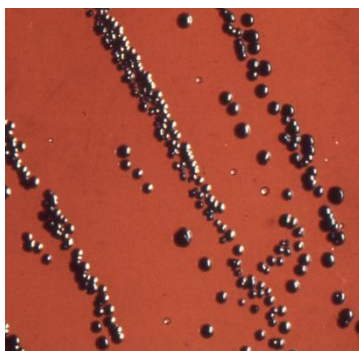


Рисунок 7.21 – Колонии биовара *mitis*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Биовар *intermedius*** образует круглые гладкие блестящие (S-форма) или шероховатые колонии с изрезанными краями (R-форма) диаметром менее 1 мм (рисунок 7.22). Клетки этого биовара самые крупные, с бочковидными очертаниями. Этот биовар ферментируют глюкозу, мальтозу, гликоген.



Рисунок 7.22 – Колонии биовара *intermedius*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Дифференциальные признаки биоваров дифтерийной палочки представлены в таблице 7.2.

Таблица 7.2 - Дифференциальные признаки биоваров *C. diphtheriae*

Признак	Биовары <i>C. diphtheriae</i>		
	<i>gravis</i>	<i>intermedius</i>	<i>mitis</i>
Морфология клеток	Короткие, беспорядочно располагающиеся палочки, мало гранул	Длинные палочки, мало гранул	Длинные искривленные палочки, много гранул
Колонии на кровяном теллуритовом агаре	Серые или с черным центром, бледной периферией с радиальной исчерченностью, неровными краями, размер колоний через 24 часа 2-3 мм	Мелкие, менее 1 мм в диаметре, через 24 часа, серовато-черные, шероховатые или гладкие	Темно-серые, черные, гладкие, блестящие, через 24 часа диаметр 1-2 мм, с ровными краями
Рост в бульоне	Поверхностная пленка,	Незначительное	Диффузное помут-

	бульон прозрачен, на дне осадок	помутнение с последующим оседанием на дно	тнение с образованием осадка
Ферментация крахмала	+	-	-
Гемолиз на кровяном агаре с эритроцитами:			
- кроличьими	+	-	+
- бычьими	-	-	+

Первоначально распределение дифтерийных бактерий на биовары основывалось на тяжести течения дифтерии. Например, **биовар *gravis*** чаще выделяется от больных с тяжелой формой дифтерии и вызывает групповые вспышки. **Биовар *mitis*** вызывает более легкие случаи заболевания, возникающие спорадически. **Биовар *intermedius*** занимает промежуточное положение между ними. Однако не все биохимические признаки у биоваров одинаково стабильны. Наиболее стабильным признаком возбудителя дифтерии является тест на ферментацию крахмала. По этому показателю возбудитель дифтерии подразделяется на два биовара: *gravis* (ферментирует крахмал) и *mitis* (не ферментирует крахмал).

**Антигенная структура.** *C. diphtheriae* содержит соматический термостабильный **О-антиген** липидно-полисахаридной природы и поверхностный термолабильный **К-антиген** белковой природы. О-антиген обуславливает родовую специфичность, а К-антиген – типовую специфичность. По особенностям К-антигена выделяют 58 сероваров, в том числе у биовара *gravis* 14 сероваров, у биовара *mitis* – 40 сероваров, у биовара *intermedius* – 4 серовара. Для определения серовара применяют развернутую реакцию агглютинации с типовыми неадсорбированными дифтерийными агглютинирующими сыворотками.

За рубежом принята классификация дифтерийных бактерий по антигенной структуре, включающая 5 серологических вариантов (I-V). В России используется серологическая классификация, по которой различают 11 серологических вариантов дифтерийных бактерий. Семь сероваров (1-7) встречаются наиболее часто, а 4 серовара (8-11) выделяются редко. Серовары 1, 2, 3, 4, 5 и 7 относятся к биовару *gravis*, а серовары 6, 8, 9, 10 и 11 - к биовару *mitis*. Недостатком серотипирования является способность многих нетоксигенных штаммов к спонтанной агглютинации.

**Фаготипирование.** Для внутривидовой идентификации *C. diphtheriae* применяют фаготипирование с помощью набора из 9 коринефагов (А, В, С, D, F, G, H, I, K).

**Факторы патогенности.** Основными факторами патогенности возбудителя дифтерии являются дифтерийный экзотоксин, гиалуронидаза, нейраминидаза, микрокапсула (К-антиген), миколовые кислоты и пили (рисунок 7.23).

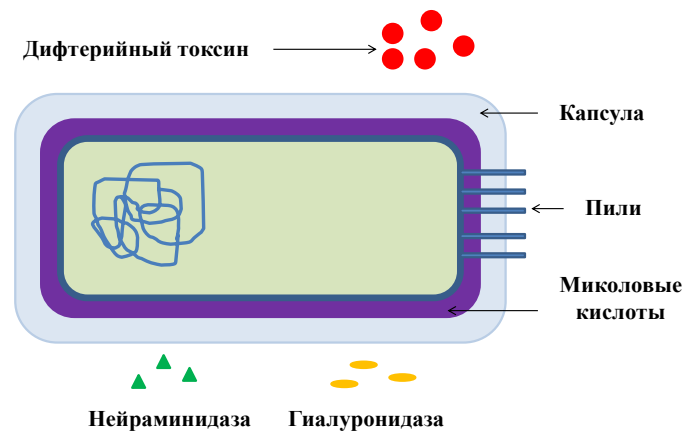


Рисунок 7.23 – Факторы патогенности *C. diphtheriae*.

**Пили** и **микрокапсула** возбудителя дифтерии способствуют адгезии бактерий на клетках организма в месте входных ворот инфекции. Каждый тип пилей (SpaA, SpaD, SpaH) взаимодействует с соответствующими рецепторами эпителиальных клеток, что позволяет возбудителю дифтерии колонизировать различные виды слизистых оболочек. Кроме фимбрий в процессе адгезии *C. diphtheriae* участвуют поверхностные белки PS1 и PS2. Адгезия возбудителя с участием пилей происходит по типу замка – молнии: вначале с рецепторами клетки связываются концы пилей, затем – боковые субъединицы от верхушки до основания пилей, а в заключении – белковые молекулы на клеточной стенке коринебактерий. В результате этого обеспечивается тесный контакт микробной клетки с клеткой макроорганизма.

**Нейраминидаза** (сиалидаза) отщепляет от различных гликопротеинов, гликолипидов и олигосахаридов сиаловые кислоты. Под влиянием этого фермента повреждаются мембраны клеток.

**Гиалуронидаза** расщепляет гиалуроновую кислоту, входящую в состав основного межклеточного вещества соединительной ткани. В результате этого повышается проницаемость кровеносных сосудов, происходит выход плазмы и отек окружающих тканей. Вышедший из сосудов фибриноген контактирует с тромбокиназой некротизированных клеток и превращается в фибрин, который в виде пленок откладывается в месте входных ворот инфекции.

**Главным фактором патогенности** дифтерийного микроба является дифтерийный экзотоксин - один из наиболее сильных биологических ядов. Летальная доза дифтерийного токсина составляет 0,5 мг/кг массы тела. **Дифтерийный экзотоксин** образуется как на питательных средах, так и в организме человека. Он синтезируется в виде неактивного предшественника (протоксина), который представляет собой полипептидную цепь с молекулярной массой 58,36 кД. Под действием протеаз полипептидная молекула расщепляется на две субъединицы (А и В). Субъединица А представляет собой С-домен (каталитический домен), а субъединица В состоит из Т-домена (трансмембранного или транспортного домена) и R-домена (рецепторного или рецепторсвязывающего домена). Схема строения молекулы дифтерийного токсина представлена на рисунке 7.24.



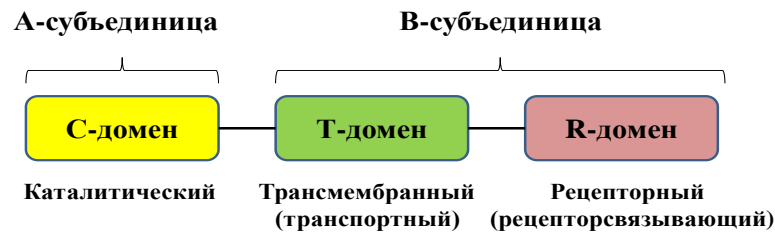


Рисунок 7.24 – Структура дифтерийного токсина.

Субъединицы А и В объединены между собой дисульфидными связями. Субъединица В распознает специфический рецептор на поверхности эукариотической клетки и связывается с ним R-доменом. Рецептором для дифтерийного токсина является рецептор предшественника гепарин-связывающего фактора роста клеток (heparin binding epidermal growth factor-like precursor, HB-EGF). Затем связанный с мембраной токсин подвергается рецептор-опосредованному эндоцитозу. В эндосоме субъединица А удерживается дисульфидной связью с субъединицей В. При снижении рН Т-домен формирует внутримембранный транспортный канал для транслокации С-домена в цитозоль клетки. Субъединица А проникает по каналу в цитозоль эукариотической клетки, и С-домен катализирует реакцию АДФ-рибозилирования фактора элонгации EF-2, который участвует в построении полипептидных молекул на рибосомах эукариотических клеток. В результате этого синтез белка в клетке останавливается, и эукариотическая клетка погибает. Прокариотические клетки нечувствительны к действию дифтерийного токсина, так как они в процессе белкового синтеза используют другой фактор элонгации (EF-6). Механизм действия дифтерийного токсина на эукариотическую клетку представлен на рисунке 7.25.

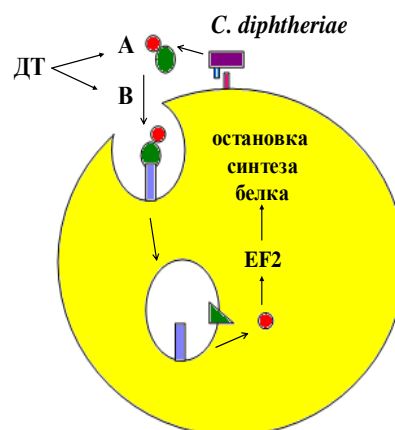


Рисунок 7.25 – Механизм действия дифтерийного токсина на эукариотическую клетку.

Дифтерийный токсин оказывает свое блокирующее воздействие на синтез белка в органах, наиболее интенсивно снабжаемых кровью: миокард, нервная система, почки и надпочечники.

Дифтерийный токсин синтезируют только лизогенные штаммы *C. diphtheriae*, содержащие в своем геноме умеренные фаги ( $\beta$ - или  $\omega$ -фаг), несущие *tox*-гены (рисунок 7.26).

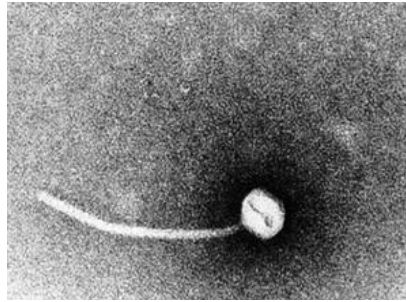


Рисунок 7.26 – Электронная фотография  $\beta$ -бактериофага *C. diphtheriae*.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Переход нетоксигенных штаммов коринебактерий в токсигенные осуществляется путем заражения нетоксигенного штамма умеренным бактериофагом в процессе фаговой конверсии (рисунок 7.27).

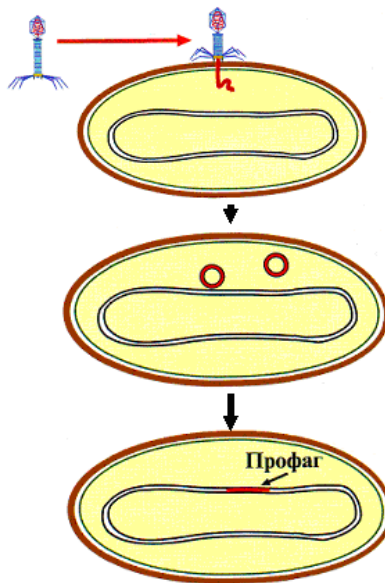


Рисунок 7.27 – Схема фаговой конверсии. Займствовано из Интернет-ресурсов.

Конверсия нетоксигенного штамма в токсигенный может происходить как *in vivo*, так и *in vitro*. Утрата клеткой профага или мутации в *tox*-опероне делают клетку нетоксигенной. Дифтериеподобный токсин обнаружен также у *C. pseudotuberculosis* и *C. ulcerans*.

**Резистентность.** Дифтерийные бактерии устойчивы в окружающей среде благодаря наличию липидов в клеточной стенке. В мелкодисперсном аэрозоле дифтерийные бактерии сохраняют жизнеспособность в течение 24-48 часов. В пыли они сохраняют жизнеспособность и вирулентность в течение 5 недель, на различных предметах – до 5,5 месяцев, на посуде и игрушках – до 15 дней, в воде и молоке – в течение 6-20 дней. При комнатной температуре возбудитель дифтерии сохраняется

до 7 месяцев. При 60°C дифтерийные палочки погибают в течение 10 минут, при кипячении - через 1-3 минуты. Они чувствительны к дезинфицирующим средствам: 1% сулема, 5% карболовая кислота, 50-60° спирт вызывают гибель дифтерийных бактерий в течение 1 минуты. Возбудитель дифтерии чувствителен к пенициллину, умеренно устойчив к сульфаниламидным препаратам.

В отличие от возбудителя, дифтерийный токсин неустойчив в окружающей среде и легко разрушается при нагревании, действии света, окислении. Токсин разрушается при 56-60°C в течение 1-2 часов, при 80°C - в течение нескольких минут.

**Эпидемиология.** В естественных условиях к дифтерии восприимчив только человек. К действию дифтерийного токсина чувствительны некоторые виды животных (кролики, морские свинки, обезьяны). **Источником инфекции** является больной человек или бактерионоситель. Носители токсигенных штаммов защищены от токсина антитоксическими антителами, поэтому они не болеют дифтерией, но служат источником инфекции. Больные заразны с появления первых признаков болезни до выздоровления. Особенно опасны больные стертыми, атипичными формами дифтерии. Длительность носительства составляет в среднем 2-3 недели, в 9-25% случаев носительство продолжается более месяца. Бактерионосители являются резервуаром токсигенных штаммов *C. diphtheriae*, так как для них терапия антибиотиками не всегда является эффективной. Это связывают со способностью возбудителя дифтерии формировать биопленки. Образованию биопленок способствуют некоторые компоненты клеточной стенки *C. diphtheriae* (ацетилглюкозамин, ацетилгалактозамин, маннозо-подобные кислотные остатки и др.). Эти компоненты осуществляют “якорную” функцию и инициируют образование биопленки.

**Пик заболеваемости** дифтерией приходится на осенне-зимние месяцы (сентябрь-ноябрь). Наиболее восприимчивы к дифтерии дети дошкольного и школьного возраста. Среди взрослых к группе повышенного риска относятся работники общественного питания и торговли, школ, детских дошкольных заведений и медицинских учреждений.

**Основной механизм заражения** – аэрогенный. **Основной путь передачи инфекции** - воздушно-капельный. Возможен воздушно-пылевой путь передачи инфекции. Микробы выделяются в окружающую среду больными или бактерионосителями при разговоре, кашле или чихании. Вместе с воздухом микробные клетки попадают на слизистые оболочки ротоглотки и верхних дыхательных путей здоровых людей. Основные пути передачи возбудителя при дифтерии представлены на рисунке 7.28.

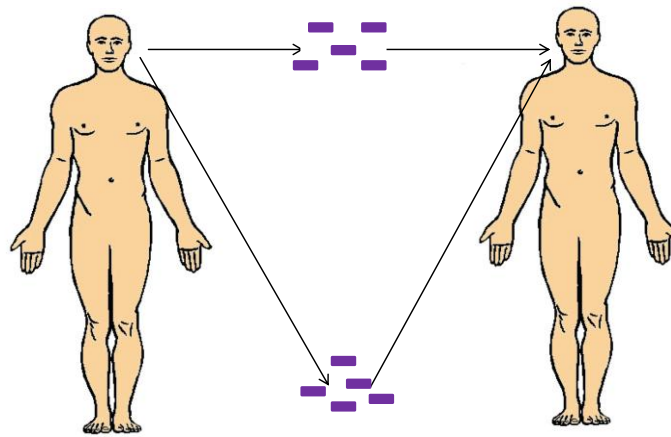


Рисунок 7.28 – Основные пути передачи возбудителя дифтерии.

Возможно также проникновение возбудителя в организм контактно-бытовым (предметным) и алиментарным (через молоко) путями. Контактным-бытовым путем возбудитель передается через предметы общего пользования (полотенца, игрушки, носовые платки). Попадание возбудителя в молоко, где он активно размножается, обуславливает алиментарный путь передачи инфекции.

**Патогенез.** **Входными воротами** для возбудителя дифтерии являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей (миндалины, зев, носоглотка, гортань, трахея), реже - конъюнктура глаз, кожа наружного слухового прохода, раневая поверхность кожи, слизистая половых органов. В месте входных ворот происходит **адгезия** возбудителя, его **размножение** и **синтез дифтерийного токсина**. В результате этого наблюдается **некроз эпителия**, выход фибриногена из сосудистого русла, превращение фибриногена в фибрин под влиянием тромбина (фактора свертывания крови III или тканевого тромбопластина), освобождающейся при некрозе эпителиальных клеток. Образовавшиеся нити фибрина вместе с некротизированным эпителием, эритроцитами, лейкоцитами и размножившимися бактериями формируют фибринозную пленку.

На слизистых оболочках с многослойным плоским эпителием (ротоглотка, надгортанник, голосовые связки, некоторые отделы полости носа) возникает **дифтеритическое воспаление**. В этих участках все клетки прочно связаны как между собой, так и с подлежащей соединительнотканной основой, поэтому фибринозная пленка также плотно спаяна с подлежащей тканью и не снимается тампоном (**дифтеритическая пленка**). При попытке снятия такой пленки обнажается кровоточащая поверхность.

На слизистых оболочках, покрытых однослойным цилиндрическим эпителием (гортань, трахея, бронхи), возникает **крупозное воспаление**. В этих местах пленка рыхло связана с подлежащей тканью и легко от нее отделяется (**крупозная пленка**). При крупозном воспалении поврежденные ткани, содержащие микробные клетки, легко отторгаются. Больные с крупозным воспалением часто откашливают отторгнутые ткани в виде слепков различных отделов дыхательных путей.

Патогенез развития дифтерии при заражении через верхние дыхательные пути представлен на рисунке 7.29.

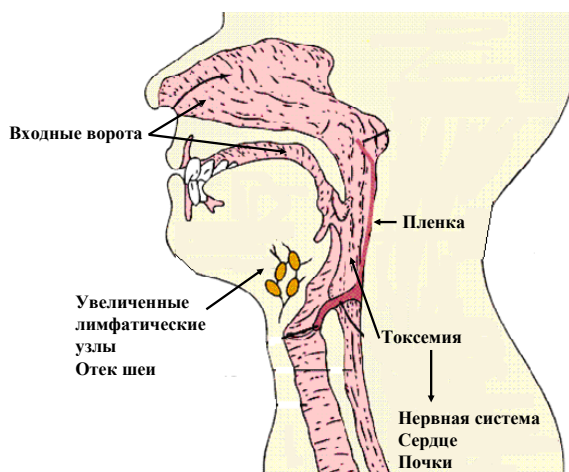


Рисунок 7.29 – Патогенез развития дифтерии.

При распространении процесса из ротоглотки вниз по дыхательным путям последовательно поражаются трахея и бронхи. В результате отека (рисунок 7.30) и отслоения крупозной пленки со слизистой трахеи может развиваться дифтерийный **круп** (шотл. *croup* - каркать) – асфиксия, возникающая при закупорке респираторного тракта.

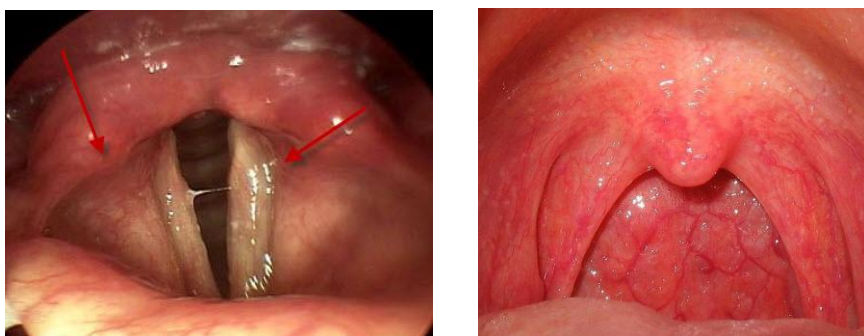


Рисунок 7.30 – Дифтерийный круп. Стрелками обозначены участки отека. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Дифтерийный или истинный круп характеризуется крупозным воспалением слизистой оболочки гортани и трахеи. В дисфоническую стадию развития крупа наблюдается нарастающая осиплость голоса, “лающий” кашель. Затем появляются симптомы стеноза верхних дыхательных путей (шумное дыхание, напряжение дыхательной мускулатуры). В асфиксическую стадию процесса может наступить удушье в результате закрытия просвета дыхательных путей отеком или пленкой.

Дифтерия является токсинемической инфекцией, при которой возбудитель остается в месте входных ворот, а основные клинические проявления заболевания связаны с действием экзотоксина, проникающего в кровь. Наиболее часто при **токсинемии** поражаются миокард, нервная ткань, надпочечники и почки. В этих органах развивается дегенерация паренхимы, некроз, обширные кровоизлияния.

**Клиническая картина дифтерии.** Различают следующие **периоды болезни**:  
- инкубационный период (от 2 до 10 дней, в среднем 5-7 суток);

- период манифестных проявлений и ранних токсических осложнений (5-10 суток);
- период поздних токсических осложнений (до 6 недель);
- период реконвалесценции (2-3 месяца).

Начало заболевания в легких случаях постепенное, при тяжелом течении - острое. Температура тела повышается до 38-40°C.

Наиболее часто развивается дифтерия зева. В месте входных ворот инфекции отмечается гиперемия, отек слизистой оболочки и пленка серовато-белого цвета. Пленка содержит большое количество клеток возбудителя. Наличие пленки является характерным признаком дифтерии (рисунок 7.31).



Рисунок 7.31 – Дифтерия зева. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При локализации процесса в зеве увеличиваются региональные (шейные) лимфатические узлы, в области шеи развивается выраженный отек мягких тканей - симптом “бычья шея” (рисунок 7.32).



Рисунок 7.32 – Отек в области шеи при дифтерии (“бычья шея”). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Иммунитет.** После переболевания дифтерией формируется пожизненный напряженный антитоксический иммунитет. В 5-6% случаев все же возможно повторное заболевание.

**Диагностика дифтерии.** Лабораторную диагностику дифтерии проводят согласно МУК 4.2.3065-13. **Бактериоскопическое исследование** при дифтерии проводится редко, так как эффективность этого метода очень низкая в связи с

возможностью обнаружения в мазках коринебактерий – представителей нормальной микробиоты. Например, в носоглотке часто обнаруживается *C. pseudodiphtheriticum* (палочка Хофмана), а на слизистой оболочке глаз - *C. xerosis*.

**Бактериологическое (культуральное) исследование** предусматривает выделение чистой культуры на элективных питательных средах и изучение ее биохимических свойств. Особое внимание уделяется пробе Пизу на цистиназу, пробе Закса на уреазу, изучению ферментативной активности с использованием укороченного пестрого ряда (глюкоза, сахароза, крахмал). В обязательном порядке проводится определение токсигенности выделенных чистых культур. **Серологические методы** диагностики являются ретроспективными.

Бактериологическое исследование проводят в следующих случаях:

- диагностическое обследование детей и взрослых с острыми воспалительными явлениями в области зева, носа и носоглотки, особенно при подозрении на дифтерию;
- обследование по эпидемическим показаниям детей и взрослых, бывших в контакте с источником инфекции;
- выявление возможных бактерионосителей среди лиц, вновь поступающих в детские дома, школы-интернаты.

**Исследуемый материал.** В качестве исследуемого материала используют слизь и пленки из очагов воспаления. Сбор материала необходимо проводить в течение 3-4 часов (не позже 12 часов) с момента обращения больного. Для взятия материала используют сухие ватные тампоны (если посев будет проведен не позднее 2-3 часов после сбора материала) или тампоны, предварительно смоченные 5% раствором глицерина (при транспортировке материала на дальние расстояния). Материал для исследования берут отдельными тампонами из ротоглотки (с миндалин) и из носа (рисунок 7.33). Отбор материала следует проводить не ранее чем через 2 часа после еды.



Рисунок 7.33 – Взятие материала из носа. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При дифтерии редких локализаций (глаз, ухо, кожная рана) материал берут с пораженных участков, а также с миндалин и из носа. При наличии налетов материал берут с границы пораженных и здоровых тканей. Посев материала необходимо провести не позднее чем через 3 часа после его взятия.

**Схема микробиологического исследования при дифтерии:**

**1 день:**

- бактериоскопическое исследование (окраска мазков корифосфином, по Граму и Нейссеру);
- посев исследуемого материала на одну из рекомендованных плотных питательных сред.

### 2 день:

- определение характера роста культур, микроскопия мазков, приготовленных с посевов и окрашенных по Граму и Нейссеру;
- посев из отдельных колоний на среду для определения токсигенности (посев из половины колонии);
- посев на скошенный сывороточный агар для получения чистой культуры (посев из другой половины колонии).

### 3 день:

- посев чистой культуры на укороченный пестрый ряд (глюкоза, сахара, крахмал);
- посев чистой культуры для выявления гемолиза, цистиназы (проба Пизу) и уреазы (проба Закса);
- постановка реакции агглютинации.

### 4 день:

- учет результатов;
- выдача заключения о выделении токсигенных или нетоксигенных коринебактерий.

**Окончательный ответ о наличии токсигенных бактерий** выдается через 48-72 часа. **Окончательный ответ по биохимическим свойствам нетоксигенных бактерий** выдается через 72-96 часов.

Для **определения токсигенности** выделенной культуры (реакция преципитации в геле, тест иммунодиффузии Илека или Элека) полоску фильтровальной бумаги смачивают антитоксической противодифтерийной сывороткой и помещают на поверхность питательной среды в чашке Петри. Испытуемые культуры высевают бляшками или штрихами по обе стороны от полоски. На одну чашку высевают несколько штаммов, один из которых является заведомо токсигенным (из коллекции лаборатории) и служит контролем. Чашки с посевами инкубируют при 37°C, результаты учитывают через 24-48 часов. В результате встречной диффузии анитоксина и токсина на месте их взаимодействия образуется четкая полоса преципитации в виде полукруглой линии или “усов”. Схема реакции и результаты теста иммунодиффузии представлены на рисунке 7.34.

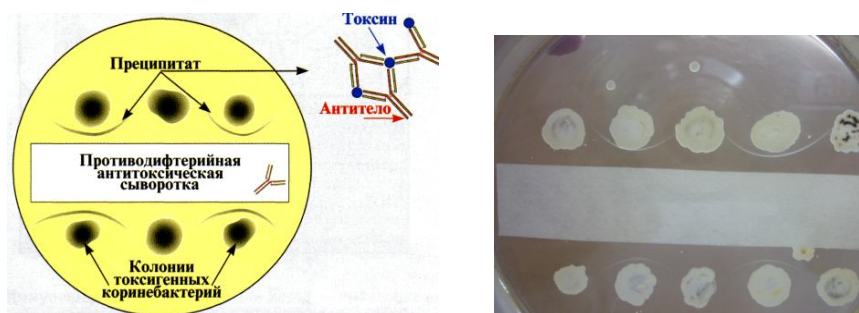


Рисунок 7.34 – Схема и результаты реакции иммунодиффузии. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



В настоящее время для выявления токсигенных дифтерийных бактерий используют следующие методы:

- **иммуноферментный анализ (ИФА)** с использованием меченых пероксидазой или щелочной фосфатазой антитоксических антител;
- **тест с иммунохроматографическими полосками (ICS)**, на которые нанесены антитоксические антитела, меченые коллоидным золотом;
- **полимеразная цепная реакция (ПЦР)** для непосредственного обнаружения тох-оперона.

**Ускоренными методами** выявления коринебактерий являются:

- микроскопический метод;
- иммунофлюоресцентный метод;
- метод “свернутого тампона” (метод Фольгера или Фольгера-Золле) - метод забора материала для бактериологического исследования на дифтерийную палочку с помощью стерильного ватного тампона, пропитанного лошадиной сывороткой. Сыворотку крови свертывают, а тампоны после взятия материала помещают на 4-6 часов в термостат, после чего используют для приготовления мазка.

Однако эти методы не позволяют говорить о токсигенности выделенных культур.

**Серологические методы** при дифтерии являются методами ретроспективной диагностики, поэтому они имеют вспомогательное значение.

**РНГА (РПГА)** с антигенным эритроцитарным диагностикумом используется для оценки напряженности антитоксического иммунитета. Эритроцитарный диагностикум получают сенсбилизацией эритроцитов дифтерийным анатоксином. Защитный титр антител в РНГА равен 1:40. Если антитела обнаруживаются в более низких разведениях сыворотки, требуется ревакцинация. Учет результатов осуществляют визуально - по степени агглютинации эритроцитов. Положительными считаются пробы, давшие реакцию агглютинации не менее чем на два плюса (++).

Для оценки напряженности антитоксического иммунитета ранее широко применялась **проба Шика**: в кожу средней трети ладонной поверхности предплечья вводят 1/40 D<sub>1m</sub> дифтерийного токсина в объеме 0,2 мл. При отсутствии в крови антитоксинов на месте введения токсина через 24-48 часов появляются припухлость и покраснение. При наличии антитоксинов (1/30 АЕ/мл) местных проявлений не наблюдается. В настоящее время эта проба практически не используется.

**Лечение** дифтерии проводится в стационаре. Для нейтрализации токсина используют специфическую **противодифтерийную лошадиную очищенную концентрированную жидкую сыворотку (антитоксин)**. Препарат получают путем многократной иммунизации лошадей дифтерийным анатоксином. Сыворотку вводят внутримышечно или подкожно (рисунок 7.35).



Рисунок 7.35 - Противодифтерийная лошадиная сыворотка. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Специфическое лечение противодифтерийной сывороткой начинают немедленно при подозрении на дифтерию, так как антитоксин нейтрализует только циркулирующий в крови и лимфе токсин, который еще не связался с тканями. Для профилактики анафилактического шока противодифтерийную сыворотку вводят дробно. Дробное введение гетерологичных сывороточных препаратов разработал А.М. Безредка (рисунок 7.36).



Рисунок 7.36 – Александр Михайлович Безредка (1870-1940 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Суть дробного метода введения гетерологичных сывороток состоит в том, что сначала в организм вводится очень малая доза сыворотки, а спустя 4 часа – остальное необходимое количество. Введение сыворотки после 3-го дня болезни считается поздним. Противодифтерийная антитоксическая сыворотка вводится внутримышечно в дозе от 10000 до 400000 МЕ в зависимости от тяжести течения болезни.

Разработан также **иммуноглобулин человека противодифтерийный** для внутривенного введения. Для получения противодифтерийного иммуноглобулина доноров прививают однократно адсорбированным дифтерийным анатоксином с уменьшенным содержанием антигена (АД-М) в дозе 0,5 мл подкожно в подлопаточную область. Через 30 дней проводят взятие крови и определение уровня антитоксина в реакции пассивной гемагглютинации с использованием эритроцитарного дифтерийного диагностикума. Для выделения иммуноглобулина

используют плазму с титром антител  $\geq 1:160$ . Выделение иммуноглобулиновой фракции проводят спиртовым методом при низких температурах.

Поскольку введение антитоксина не оказывает влияния на размножение *C. diphtheriae* в месте входных ворот инфекции, одновременно с введением антитоксической противодифтерийной сыворотки больным обязательно назначают **антибиотики**. Препаратами выбора являются пенициллин или эритромицин, либо другие  **$\beta$ -лактамы и макролиды** (кларитромицин, азитромицин, ванкомицин, джозамицин).

В связи с токсемией больным назначают детоксикационную терапию. При стенозе гортани проводят трахеотомию. Выписывают больных после двукратного отрицательного результата бактериологического обследования.

**Специфическая профилактика.** Для специфической профилактики дифтерии используют препараты, содержащие дифтерийный анатоксин (токсоид). В процессе получения анатоксин утрачивает способность связываться с клеточными рецепторами, не обладает АДФ-рибозил-трансферазной активностью и не расщепляется на А- и В-субъединицы. Этим объясняется его полная безвредность при сохранении иммуногенности. Дифтерийный анатоксин входит в состав следующих профилактических препаратов:

- адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина (АКДС-вакцина);
- адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин (АДС-анатоксин);
- адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин с уменьшенным содержанием антигенов (АДС-М-анатоксин);
- адсорбированный дифтерийный анатоксин с уменьшенным содержанием антигена (АД-М-анатоксин).

**АКДС-вакцина** представляет собой гомогенную взвесь, состоящую из убитых коклюшных палочек, дифтерийного и столбнячного анатоксинов, сорбированных на гидроокиси алюминия. Применяется для плановой иммунизации одновременно против коклюша, дифтерии и столбняка (рисунок 7.37).



Рисунок 7.37 – АКДС-вакцина. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В настоящее время используют также **бесклеточные вакцины АКДС**, которые содержат ацеллюлярный коклюшный компонент - коклюшный анатоксин и ряд протективных коклюшных антигенов. В РФ официально разрешено применение следующих АКДС-вакцин, имеющих в своем составе коклюшный анатоксин,

филаментозный гемагглютинин и пертактин: Инфанрикс, Инфанрикс-Гекса, Тетраксим и Пентаксим.

**АДС-анатоксин** состоит из смеси дифтерийного и столбнячного анатоксинов, сорбированных на гидроокиси алюминия. Применяется для плановой иммунизации против дифтерии и столбняка детей, переболевших коклюшем или привитых против коклюша.

**АД-анатоксин** представляет собой очищенный концентрированный адсорбированный на гидроокиси алюминия препарат. Он предназначен для создания активного искусственного иммунитета к дифтерии у детей.

Препараты с уменьшенным содержанием антигена (**АДС-М, АД-М**) менее реактогенны и применяются у детей старше 6 лет, подростков и взрослых (рисунок 7.38).

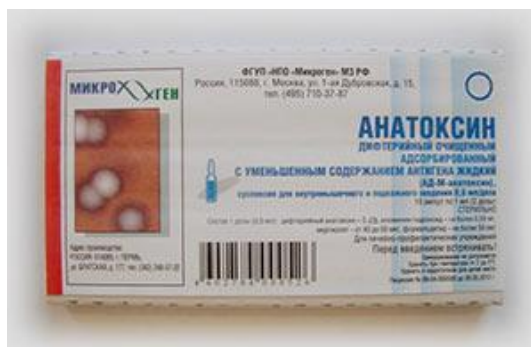


Рисунок 7.38 – Адсорбированный дифтерийный анатоксин с уменьшенным содержанием антигена. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для профилактики дифтерии, столбняка, коклюша, полиомиелита и гемофильной инфекции применяется французская вакцина **Пентаксим** (рисунок 7.39).



Рисунок 7.39 – Вакцина Пентаксим. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Эта вакцина содержит дифтерийный анатоксин, столбнячный анатоксин, коклюшный анатоксин, филаментозный коклюшный гемагглютинин, инактивированные вирусы полиомиелита 1, 2 и 3 типов, полисахарид *Haemophilus influenzae* типа b. В соответствии с Национальным календарем профилактических прививок Российской Федерации курс вакцинации при использовании этой вакцины состоит из 3 введений препарата в возрасте 3, 4,5 и 6 месяцев, а ревакцинация осуществляется в возрасте 18 месяцев.

Для иммунопрофилактики дифтерии, коклюша, столбняка и гепатита В у детей используют вакцину **Бубо-Кок** (рисунок 7.40).

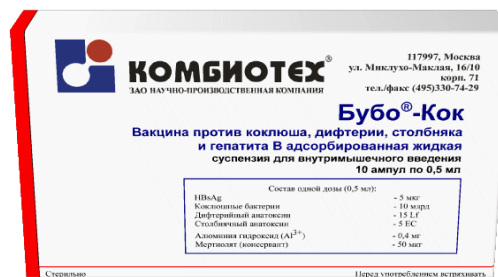


Рисунок 7.40 - Вакцина Бубо-Кок. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Вакцина представляет собой смесь, состоящую из дифтерийного и столбнячного анатоксинов, убитых коклюшных микробов и рекомбинантного дрожжевого поверхностного антигена вируса гепатита В (HBs-антигена). Вакцина вводится внутримышечно.

Для профилактики дифтерии, столбняка и гепатита В у детей старше 6 лет, подростков и взрослых используют также вакцину **Бубо-М**. Вакцина вводится внутримышечно в дельтовидную мышцу в дозе 0,5 мл.

Наибольшее распространение в России получила **вакцина АКДС – адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина**. Она состоит из коклюшных бактерий, убитых формалином или мертиолятом, дифтерийного анатоксина и столбнячного анатоксина. Первая вакцинация проводится в 3 месяца, вторая в 4,5 месяца, третья – в 6 месяцев, ревакцинация – в 18 месяцев, 6 и 14 лет. Ревакцинация взрослых при дифтерии проводится с интервалом 10 лет. Препарат вводится внутримышечно или подкожно.

В России зарегистрированы также другие вакцины против дифтерии: **Тетракок** (для профилактики коклюша, дифтерии, столбняка и полиомиелита, Франция), **Д. Т. Вакс** (для профилактики дифтерии и столбняка у детей, Франция), **ДТ-адюльт** (для профилактики дифтерии и столбняка у подростков и взрослых, Франция).

### Вопросы для самоконтроля усвоения материала

1. Расскажите об истории открытия возбудителя дифтерии.
2. Опишите морфологические свойства дифтерийного микроба.
3. Какие культуральные свойства характерны для возбудителя дифтерии?
4. Назовите биохимические особенности возбудителя дифтерии.
5. Охарактеризуйте факторы патогенности дифтерийного микроба.
6. Расскажите о патогенезе дифтерии.
7. Опишите клинические формы и симптомы дифтерии.
8. Расскажите о методах лабораторной диагностики дифтерии.
9. Охарактеризуйте средства специфической профилактики дифтерии.
10. Принципы лечения дифтерии.

### Тренировочные тесты

1. Возбудитель дифтерии впервые был обнаружен (один правильный ответ):

- 1.1 Кохом
- 1.2 Пастером
- 1.3 Клебсом
- 1.4 Ивановским
- 1.5 Мечниковым

2. В чистой культуре возбудитель дифтерии впервые был выделен (один правильный ответ):

- 2.1 Пастером
- 2.2 Кохом
- 2.3 Эрлихом
- 2.4 Лёффлером
- 2.5 Ивановским

3. Зерна воллютина окрашиваются с помощью метода (один правильный ответ):

- 3.1 Грама
- 3.2 Нейссера
- 3.3 Морозова
- 3.4 Циля-Нельсена
- 3.5 Пешкова

4. Для возбудителя дифтерии характерно (несколько правильных ответов):

- 4.1 грамотрицательные палочки
- 4.2 грамположительные палочки
- 4.3 образование спор
- 4.4 наличие зерен воллютина
- 4.5 наличие жгутиков

5. Дифтерийный токсин является (один правильный ответ):

- 5.1 эндотоксином
- 5.2 гистотоксином
- 5.3 энтеротоксином
- 5.4 нейротоксином
- 5.5 лейкоцидином

6. Основным фактором патогенности дифтерийного микроба является (один правильный ответ):

- 6.1 жгутики
- 6.2 экзотоксин
- 6.3 эндотоксин
- 6.4 гепарин
- 6.5 фибринолизин

7. Источники инфекции при дифтерии (несколько правильных ответов):

- 7.1 бактерионосители токсигенных штаммов

7.2 вода

7.3 пищевые продукты

7.4 больные

7.5 реконвалесценты

8. Для патогенеза дифтерии характерно (несколько правильных ответов):

8.1 токсинемия

8.2 бактериемия

8.3 септицемия

8.4 фибринозное воспаление

8.5 изъязвление слизистой тонкого кишечника

9. Для определения напряженности противодифтерийного иммунитета применяют (один правильный ответ):

9.1 РА с сывороткой больного

9.2 РНГА с сывороткой пациента

9.3 РСК

9.4 РП в геле агарозы

9.5 ИФА

10. Для определения токсигенности выделенных культур используют метод (один правильный ответ):

10.1 агглютинации

10.2 гемагглютинации

10.3 иммунопреципитации

10.4 кольцепреципитации

10.5 иммунофлюоресценции

11. Для специфической профилактики дифтерии применяют (несколько правильных ответов):

11.1 антибиотики

11.2 бактериофаги

11.3 антитоксическую сыворотку

11.4 АКДС

11.5 АДС-М

12. В состав вакцин для профилактики дифтерии входит (один правильный ответ):

12.1 эндотоксин

12.2 антитоксин

12.3 экзотоксин

12.4 анатоксин

12.5 инактивированная культура возбудителя

13. Для специфической терапии дифтерии используют (один правильный ответ):

13.1 анатоксин

13.2 токсид

13.3 антитоксическую сыворотку

13.4 антибиотики

13.5 экзотоксин

14. Укажите морфологию возбудителя дифтерии (один правильный ответ):

14.1 грамотрицательные палочки, имеющие нежную капсулу

14.2 грамположительные крупные палочки, образующие капсулу и споры

14.3 грамположительные палочки, не образующие капсулу, но имеющие споры

14.4 грамположительные булабовидные палочки, не образующие споры

14.5 грамположительные кокки

15. Назовите основной путь передачи дифтерии (один правильный ответ):

15.1 энтеральный

15.2 воздушно-капельный

15.3 контактный

15.4 водный

15.5 трансмиссивный

16. По типу дыхания возбудитель дифтерии является (один правильный ответ):

16.1 облигатным аэробом

16.2 облигатным анаэробом

16.3 факультативным анаэробом

16.4 микроаэрофилом

16.5 факультативным аэробом

17. Для культивирования возбудителя дифтерии используют (несколько правильных ответов):

17.1 среду Клауберга

17.2 среду Эндо

17.3 среду Левенштейна-Йенсена

17.4 хинозольную среду Бучина

17.5 среду Плоскирева

18. Чистую культуру *C. diphtheriae* выращивают на среде (один правильный ответ):

18.1 Левина

18.2 Левенштейна-Йенсена

18.3 КУА

18.4 скошенном сывороточном агаре

18.5 Эндо

19. Дифтерийный токсин вызывает (один правильный ответ):

19.1 поражение надпочечников, миокарда, нервной системы

19.2 отек легких

19.3 спазматическое сокращение поперечнополосатых мышц

19.4 поражение органов зрения

19.5 прободение стенки кишечника



20. При бактериологической диагностике дифтерии в качестве исследуемого материала используют (несколько правильных ответов):

20.1 слизь из зева и носа

20.2 пленки с миндалин

20.3 мочу

20.4 фекалии

20.5 СМЖ

21. При исследовании на дифтерию основной дифференциально-диагностической пробой является (один правильный ответ):

21.1 способность расти на кровяно-теллуритовом агаре

21.2 проба Закса

21.3 проба Пизу

21.4 ферментация углеводов

21.5 проба на токсинообразование

22. Для специфической профилактики дифтерии используют (один правильный ответ):

22.1 химическую вакцину

22.2 анатоксин

22.3 живую вакцину

22.4 убитую вакцину

22.5 антибиотики

Правильные ответы: 1.3; 2.4; 3.2; 4.2, 4.4; 5.2; 6.2; 7.1, 7.4, 7.5; 8.1, 8.4; 9.2; 10.3; 11.4, 11.5; 12.4; 13.3; 14.4; 15.2; 16.3; 17.1, 17.4; 18.4; 19.1; 20.1, 20.2; 21.5; 22.2.

## 7.2. Микобактерии

Микобактерии представляют собой кислото-, спирто- и щелочеустойчивые микроорганизмы, имеющие особую клеточную стенку. По строению клеточной стенки они ближе к грамположительным бактериям. Микобактерии относятся к домену *Bacteria*, типу (филуму) *Actinobacteria*, классу *Actinobacteria*, порядку *Corynebacteriales*, семейству *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*. Родовое название происходит от греч. *muses* – гриб и *bacteria* – палочка (бактерия, напоминающая мицелий грибов). Этот род объединяет более 120 видов, большинство из которых являются сапрофитными микроорганизмами, широко распространенными во внешней среде.

Все микобактерии **по патогенности** распределяются на 3 группы:

- патогенные микобактерии (возбудители туберкулеза и лепры);
- потенциально патогенные (атипичные) микобактерии (возбудители микобактериозов – патологических процессов, поражающих легкие, лимфатические узлы и кожу);
- сапрофитные микобактерии (непатогенные).

**По скорости роста** на питательных средах микобактерии подразделяются также на 3 группы:

- **быстрорастущие** микобактерии, образующие колонии менее чем за 7 дней (возбудители микобактериозов, представители нормальной микрофлоры и сапрофитные микобактерии, например, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis* и др.);
- **медленнорастущие** микобактерии, образующие видимые колонии более чем через 7 дней (возбудители туберкулеза);
- микобактерии, **не растущие** на питательных средах (возбудитель лепры или проказы).

Непатогенные микобактерии по скорости роста, условиям культивирования и цвету колоний подразделяются на 4 группы:

- фотохромогенные микобактерии, образующие колонии ярко-желтой или желто-оранжевой окраски при выращивании только на свету;
- скотохромогенные микобактерии, образующие колонии ярко-оранжевой окраски при выращивании как на свету, так и в темноте;
- нефотохромогенные микобактерии, образующие неокрашенные или бледно-желтые колонии независимо от освещенности;
- быстрорастущие микобактерии, формирующие пигментные или беспигментные колонии в течение 7-10 дней.

Туберкулез у человека может быть вызван следующими видами микобактерий: *M. tuberculosis* (палочка Коха, человеческий вид - вызывает заболевание в 92% случаев), *M. bovis* (бычий вид - вызывает заболевание в 5% случаев), *M. africanum* (промежуточный вид - вызывает заболевание в 3% случаев, распространен в Южной Африке).

Микобактерии, патогенные для человека и животных и вызывающие у них туберкулез, являются **микобактериями туберкулезного комплекса** (*Mycobacterium tuberculosis complex* - **МТВС**). Этот комплекс включает следующие виды: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii*. *M. microti* является вариантом *M. tuberculosis*, адаптированным к

организму мышей, а *M. canetti* представляет собой вариант *M. tuberculosis*, образующий гладкие колонии.

Микобактерии, патогенные для человека и животных и вызывающие у них диссеминированные процессы внелегочной локализации, являются микобактериями **avium-комплекса (МАС)**. В состав этого комплекса входят *M. avium*, *M. avium paratuberculosis*, *M. avium silvaticum*, *M. avium hominissuis*, *M. colombiense*.

**Историческая справка.** Туберкулез – это первично хроническое инфекционное заболевание человека, сопровождающееся образованием в различных органах специфических гранул (лат. *granulum* – зернышко), представляющих собой воспалительную реакцию в виде узелков или бугорков (лат. *tuberculum* – бугорок) с последующим их творожистым распадом и обызвествлением. После инфицирования заболевание чаще всего протекает бессимптомно (тубинфицированность), но примерно каждый десятый случай переходит в активную форму заболевания, заканчивающегося при отсутствии лечения летально в 50% случаев.

С глубокой древности это заболевание было известно под названиями чахотка (от слова чахнуть), бугорчатка (из-за характерных патологоанатомических изменений в легких). В XVIII-XIX веках легочная форма туберкулеза преимущественно была распространена среди беднейших слоев населения, проживающего в сырых подвальных помещениях (“пролетарская болезнь”), но встречалась также и среди благополучных слоев населения. Чахоткой болели Вольфганг Амадей Моцарт, Фредерик Франсуа Шопен, Николай Алексеевич Некрасов, Антон Павлович Чехов. “Чахоточный вид” в то время был в моде: дамы затягивались в корсеты, пили уксус “для томной бледности” и закапывали белладонну в глаза “для лихорадочного блеска”. Сохранилось предание, что флорентийка Симонетта Веспуччи, которая позировала Сандро Боттичелли при написании картины “Рождение Венеры”, умерла в возрасте 22 лет от туберкулеза. О наличии у натурщи туберкулезного поражения плечевого пояса свидетельствует опущенное левое плечо (рисунок 7.41).

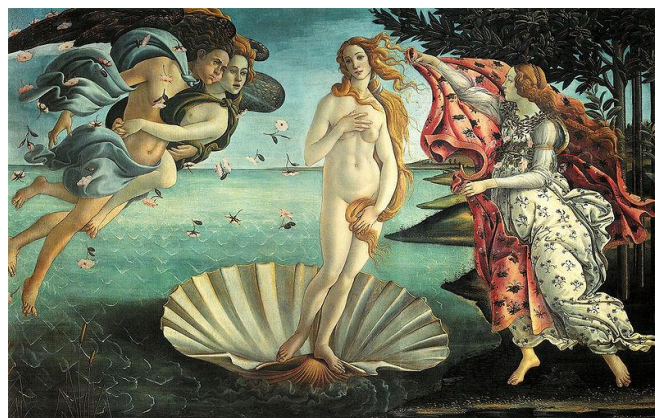


Рисунок 7.41 – Сандро Боттичелли “Рождение Венеры”. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Именно археологические находки костей человека с признаками туберкулезного поражения свидетельствуют о том, что это заболевание было распространено уже в третьем тысячелетии до нашей эры. В V веке до н. э. знаменитый древнегреческий врач Гиппократ (рисунок 7.42) описал туберкулез как самую распространенную болезнь. Древние греки называли эту болезнь “фтизис” – чахотка, истощение.

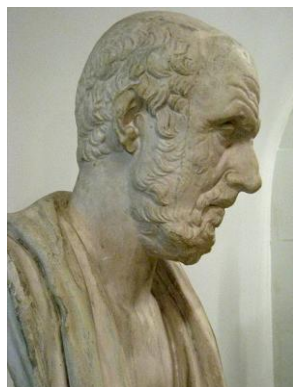


Рисунок 7.42 – Гиппократ (Hippocratis, около 460 г. до н. э. - между 377-356 гг. до н. э.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В XVII веке голландский врач Ф. Сильвий (рисунок 7.43) впервые связал обнаруженные на вскрытии бугорки (гранулемы) в различных органах с туберкулезом.



Рисунок 7.43 – Франциск Сильвий (Franciscus Sylvius, 1614-1672 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Первое подробное описание клинической и анатомической картины туберкулеза легких представил в 1819 г. французский врач Р. Лаэннек (рисунок 7.44), изобретатель стетоскопа. Он первым описал туберкулезный бугорок и казеозный некроз (морфологические проявления туберкулеза), а также ввел термин “туберкулез” или *tuberculosis* (лат. *tuberculum* – бугорок). Поэтому туберкулез часто называют бугорчаткой.



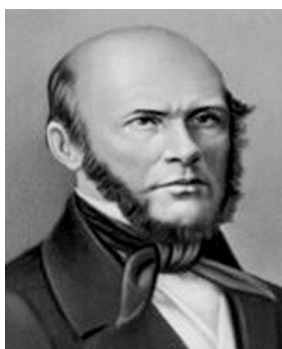
Рисунок 7.44 – Рене Лаэннек (Rene-Theophile-Huacsinthe Laennec, 1781-1826 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1865 г. французский врач Ж.А. Вильмен (рисунок 7.45) установил, что морские свинки заражаются туберкулезом при пропитывании подстилки мокротой больных людей. Так он экспериментально подтвердил инфекционную природу этого заболевания и механизм заражения.

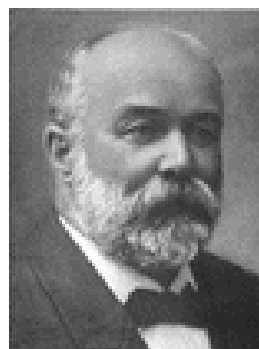


Рисунок 7.45 – Жан Антуан Вильмен (Jean Antoine Villemin, 1827-1892 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Российский ученый Н.И. Пирогов в 1852 г. описал присутствующие в туберкулезном очаге гигантские клетки. В 1868 г. швейцарский анатом и патолог Т. Лангханс также обнаружил в туберкулезном бугорке многоядерные клетки с периферическим расположением овальных ядер. В последующем эти клетки получили название клеток Пирогова-Лангханса (рисунок 7.46).



А



Б

Рисунок 7.46 – А - Николай Иванович Пирогов (1810-1881 гг.); Б - Теодор Лангханс (Langhans Theodor, 1839-1915 гг.). Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1882 г. немецкий бактериолог Р. Кох (рисунок 7.47) после 17 лет исследований впервые обнаружил возбудителя туберкулеза при микроскопическом исследовании мокроты больного человека. При этом Р. Кох применил окраску препарата везувином и метиленовым синим. Возбудитель получил название бацилла (палочка) Коха. 24 марта 1882 г. Р. Кох сообщил о том, что ему удалось выделить бактерию, вызывающую туберкулез. В связи с этим ВОЗ объявила 24 марта **Всемирным днем борьбы с туберкулезом**. Позднее Р. Кох получил чистую культуру возбудителя на сывороточной среде.

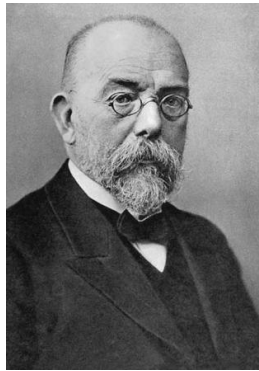


Рисунок 7.47 – Роберт Кох (Heinrich Hermann Robert Koch, 1843-1910 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1887 г. в Эдинбурге был открыт первый противотуберкулезный диспансер.

В 1890 г. Р. Кох получил туберкулин – “водно-глицериновую вытяжку туберкулезных культур”. Он предполагал использовать туберкулин для диагностики, профилактики и даже лечения туберкулеза. Однако в дальнейшем было установлено, что туберкулин может использоваться только при диагностике инфицированности. В 1905 г. Р. Кох за исследования возбудителя туберкулеза был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине.

В 1882-1884 гг. немецкие ученые Франц Циль (F. Ziehl, 1857-1926 гг.) и Ф. Нельсен (рисунок 7.48) предложили метод окраски кислотоустойчивых бактерий карболовым фуксином при нагревании в пламени горелки (метод термокислотного протравливания). Метод Циля-Нельсена до сих пор используется при микроскопическом исследовании возбудителя туберкулеза.



Рисунок 7.48 – Фридрих Нельсен (Friedrich Karl Adolf Neelsen, 1854-1894 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Немецкий ученый Р. Вирхов (рисунок 7.49) подробно описал патологоанатомические изменения тканей при туберкулезе.



Рисунок 7.49 - Рудольф Вирхов (Rudolf Ludwig Karl Virchow, 1821-1902 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1904 г. российский патологоанатом А.И. Абрикосов (рисунок 7.50) описал очаговые изменения в легких на рентгенограмме при начальных проявлениях туберкулеза у взрослых (очаг Абрикосова).



Рисунок 7.50 – Алексей Иванович Абрикосов (1875-1955 гг.). Займствовано из  
Интернет-ресурсов.

В 1907 г. австрийский педиатр К. Пирке (рисунок 7.51) предложил кожную пробу (скарификационную пробу Пирке) с туберкулином для выявления людей, инфицированных микобактериями туберкулеза.



Рисунок 7.51 – Клеменс фон Пирке (Clemens Peter Freiherr von Pirquet, 1874-1929 гг.). Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1910 г. французский исследователь Ш. Манту (рисунок 7.52) и немецкий исследователь Ф. Мендель предложили внутрикожный способ введения туберкулина (пробу Манту). Внутрикожное введение туберкулина позволяло точно дозировать количество вводимого препарата по сравнению со скарификационной кожной пробой Пирке.



Рисунок 7.52 – Шарль Манту (Charles Mantoux, 1877-1947 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1912 г. австрийский ученый А. Гон (рисунок 7.53) описал специфическое туберкулезное поражение в легких – обызвествленный первичный очаг, который стали называть очагом Гона.



Рисунок 7.53 – Антон Гон (Anton Ghon, 1866-1936 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1919 г. французские исследователи микробиолог А. Кальметт и ветеринарный врач К. Герен (рисунок 7.54) получили вакцинный штамм микобактерий туберкулеза (бациллы Кальметта-Герена, VCG – *Vacilles Calmette-Guerin* или БЦЖ). Этот штамм они селекционировали путем 230 последовательных пересевов возбудителя туберкулеза бычьего типа на картофельно-глицериновой среде с добавлением желчи, затратив на это 13 лет.



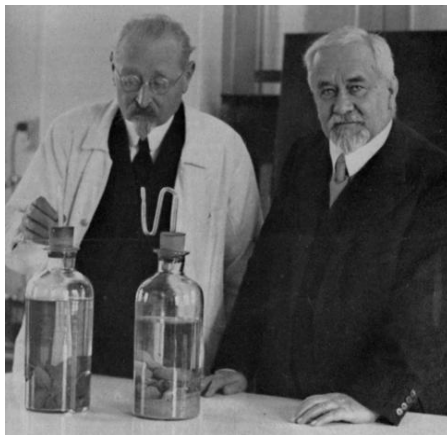


Рисунок 7.54 – Альберт Кальметт (Leon Charles Albert Calmette, 1863-1933 гг., справа) и Камиль Герен (Jean-Marie Camille Guerin, 1872-1961 гг., слева).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Во Франции 18 июня 1921 г. вакцина БЦЖ была впервые введена новорожденному ребенку. Этот день считается днем рождения БЦЖ. В 1925 г. А. Кальметт передал вакцинный штамм в СССР профессору Л.А. Тарасевичу. Через 3 года изучения было установлено, что вакцина безвредна, а смертность от туберкулеза среди вакцинированных стала намного меньше, чем среди невакцинированных людей. В 1928 г. вакцину БЦЖ стали вводить новорожденным в очагах туберкулезной инфекции. В середине 1950-х годов вакцинация новорожденных против туберкулеза в нашей стране стала обязательной.

В 1943 г. американский микробиолог З.А. Ваксман (рисунок 7.55) получил стрептомицин – первый противотуберкулезный антибиотик.



Рисунок 7.55 – Зельман Абрахам Ваксман (Selman Abraham Waksman, 1888-1973 гг.). Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1952 г. З.А. Ваксман за открытие первого противотуберкулезного антибиотика стрептомицина был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Микобактерии туберкулеза имеют вид прямых или слегка изогнутых палочек длиной 1-10 мкм, диаметром 0,2-0,6 мкм (рисунок 7.56).

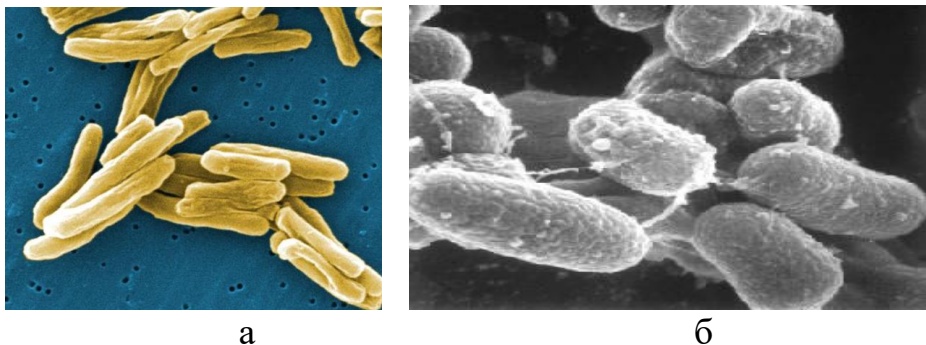


Рисунок 7.56 – Микобактерии туберкулеза: а – компьютерная визуализация; б – сканирующая электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Иногда микобактерии образуют нитевидные структуры, напоминающие мицелий грибов, что и послужило основанием для их названия (рисунок 7.57).

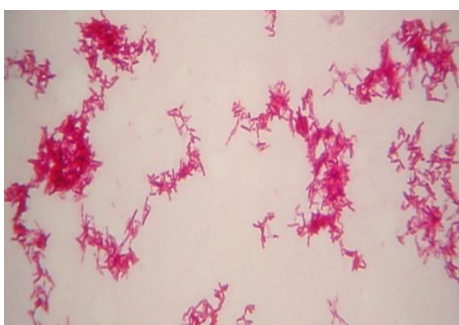


Рисунок 7.57 – Образование микобактериями нитевидных структур, напоминающих мицелий грибов. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Микобактерии неподвижны, спор не образуют, имеют микрокапсулу (рисунок 7.58).

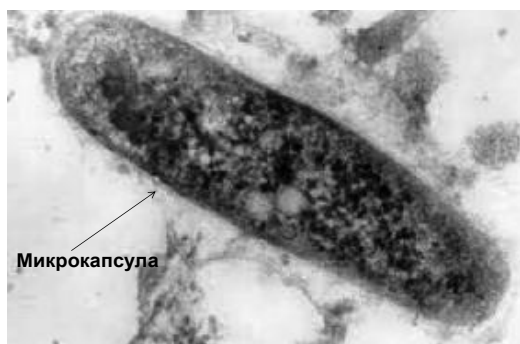


Рисунок 7.58 – Просвечивающая электронная микроскопия *M. tuberculosis*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

По химическому составу микобактерии отличаются от других микроорганизмов, они содержат специфические белки (туберкулопротеины), полисахариды и липиды. **Туберкулопротеины** составляют до 56% сухой массы микробной клетки. Они обладают высокой токсичностью, вызывают формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). **Полисахариды** составляют до 15% сухой массы клетки. **Липиды** составляют до 40% сухой массы клеток. У

микобактерий обнаружено три фракции липидов: **фосфатидная** (растворимая в эфире), **жировая** (растворимая в эфире и ацетоне), **восковая** (растворимая в эфире и хлороформе). По структурным особенностям липиды микобактерий подразделяются на 7 групп:

- жирнокислотные производные углеводов (в частности, корд-фактор);
- маннозиды фосфатидилинозита;
- жирнокислотные производные пептидов;
- гликозиды N-ацилпептидов (микозиды С);
- жирнокислотные эфиры фтиоцеролов;
- микозиды А, В, G;
- миколаты глицерина.

Микобактерии имеют особую **клеточную стенку**. **Наружные слои** представлены поверхностными (внешними) **гликолипидами** (сульфолипидами). Внешние гликолипиды называют также микозидами (специфическими восками) и сравнивают с микрокапсулой.

**В средней части** клеточной стенки основными компонентами являются разветвленные жирные (миколовые) кислоты с одной или двумя боковыми цепями и большим количеством атомов углерода. **Миколовые кислоты** обеспечивают высокую химическую устойчивость микобактерий. Миколовые кислоты могут быть ковалентно соединены с арабиногалактаном или находиться в составе свободных гликолипидов, таких как димиколат трегалозы. Наличие димиколата трегалозы способствует связыванию отдельных клеток в скопления в виде жгутов или кос, поэтому димиколат трегалозы называют “корд-фактором”.

**Внутренние слои** образованы арабиногалактаном и пептидогликаном. Пептидогликан непосредственно примыкает к цитоплазматической мембране. **Арабиногалактан** связан с одной стороны с пептидогликаном, а с другой стороны – с миколовыми кислотами.

**Липоарабиноманнан** представляет собой смесь полимеров арабинозы и маннозы с производными пальмитиновой и туберкулостеариновой кислот. Липоарабиноманнан заякорен на цитоплазматической мембране, пронизывает клеточную стенку и выходит на ее поверхность. Концевые фрагменты липоарабиноманнана (маннозные радикалы) неспецифически подавляют активацию Т-лимфоцитов и лейкоцитов, вызывая нарушения иммунного ответа на микобактерии.

В клеточной стенке микобактерий присутствуют также маннозиды и пептиды. Поверхностные слои микобактерий из фосфолипидов, гликолипидов и миколовых кислот называют **микомембраной**. Клеточная стенка микобактерий пронизана порами, обеспечивающими транспорт веществ. Схема строения клеточной стенки микобактерий представлена на рисунке 7.59.

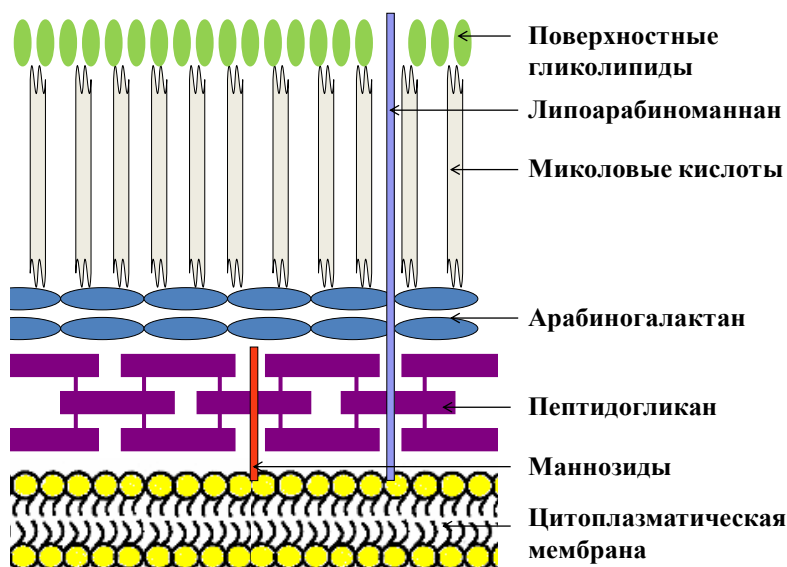


Рисунок 7.59 – Схема строения клеточной стенки микобактерий.

Высокое содержание липидов в составе клеточной стенки определяет **спиртостойчивость**, **щелочестойчивость** и **кислостойчивость** микобактерий, затрудняет окрашивание микробных клеток обычными методами, обуславливает вирулентность и длительную сохраняемость микобактерий в окружающей среде. Кроме того, липиды экранируют бактериальную клетку, подавляют фагоцитоз, блокируют активность клеточных ферментов, а терминальные фрагменты липоарабиноманнана подавляют активацию Т-лимфоцитов и лейкоцитов.

Микобактерии относятся к группе грамположительных микроорганизмов, хотя при окраске по Граму они не прокрашиваются кристаллвиолетом. К группе грамположительных бактерий они относятся в связи с наличием слоя пептидогликана, связанного с цитоплазматической мембраной и отсутствием внешней клеточной мембраны, характерной для грамотрицательных бактерий.

Для выявления микобактерий применяют **метод окраски по Цилю-Нельсену** (термокислотное протравливание карболовым фуксином). При этом микобактерии окрашиваются в красный цвет и располагаются одиночно или скоплениями по 2-3 клетки, образуя римскую цифру V (рисунок 7.60).

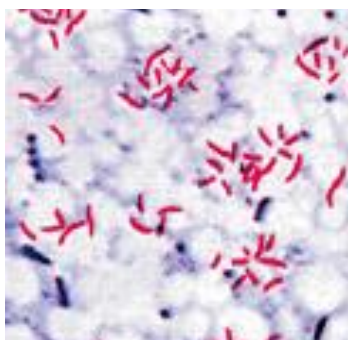


Рисунок 7.60 – Окраска микобактерий по Цилю-Нельсену. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В цитоплазме клеток могут обнаруживаться от 2 до 12 гранул, состоящих из липидов или метафосфатов (**зерна Муха**).

**Геном** микобактерий туберкулеза представлен кольцевой молекулой ДНК (бактериальной хромосомой). Особенностью генома микобактерий туберкулеза является наличие большого количества IS-элементов, что обуславливает ДНК-полиморфизм возбудителей.

Геномный анализ показал, что у микобактерий около 10% генов кодируют белки необычного аминокислотного состава. Такие белки содержат повторяющиеся сочетания либо остатков пролина и глутаминовой кислоты (PE-белки), либо остатков пролина, пролина и глутаминовой кислоты (PPE-белки). Эти белки входят в состав системы секреции VII типа (T7SS). Увеличение или снижение экспрессии генов, детерминирующих синтез этих белков, зависит от конкретных условий микроокружения. Белки семейства PE/PPE кодируются приблизительно 168 генами, что обеспечивает широкую возможность изменения их экспрессии при адаптации патогена к окружающим условиям.

Первоначально различные варианты системы секреции VII типа обозначались аббревиатурой ESX. Белки, входящие в состав этих систем, вызывают образование пор в мембранах клеток. В геноме микобактерий может присутствовать до пяти ESX-систем. Количество этих систем коррелирует с вирулентностью микобактерий. Только патогенные медленно растущие виды микобактерий имеют в своем геноме 5 ESX-систем, быстрорастущие и менее патогенные виды содержат только 3 таких кластера. Система секреции VII типа характерна для *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium*. Эта система секреции состоит из двух частей (пор). Одна пора располагается в цитоплазматической мембране, а другая - в микомембране (рисунок 7.61).

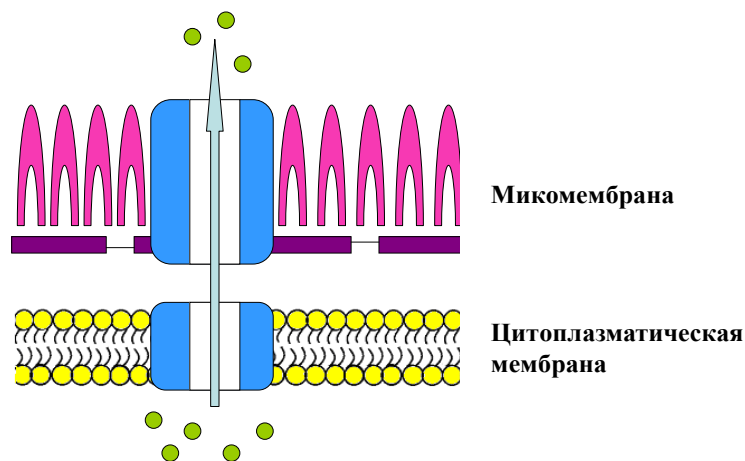


Рисунок 7.61 – Система секреции VII типа.

Для окраски туберкулезных бактерий при люминесцентной микроскопии используют аурамин или родамин. При этом микобактерии приобретают золотисто-оранжевое свечение (рисунок 7.62).

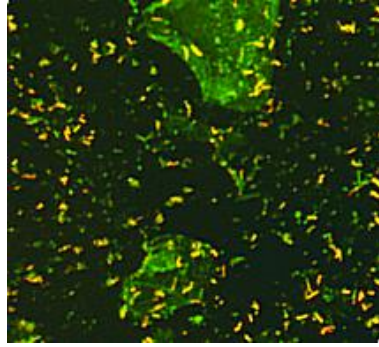


Рисунок 7.62 – Люминесцентная микроскопия микобактерий. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** *M. tuberculosis* является облигатным аэробом, а *M. bovis* и *M. africanum* – аэрофилами. Оптимальная температура роста 37-38°C. Микобактерии туберкулеза растут медленно из-за наличия в клеточной стенке липидов, замедляющих обмен веществ с окружающей средой.

Внутриклеточное дыхание микобактерий осуществляют оксидоредуктазы, из которых особый интерес представляют каталаза и пероксидаза, так как с ними связана вирулентность возбудителей.

*M. tuberculosis* в большом количестве образует никотиновую кислоту (ниацин), которая накапливается в жидкой питательной среде и дает с раствором цианида калия и хлорамином Б ярко-желтое окрашивание - **ниациновая проба Конно** (рисунок 7.63).



Рисунок 7.63 - Ниациновый тест на способность микобактерий туберкулеза синтезировать никотиновую кислоту – ниацин (правая пробирка). Левая пробирка – контроль. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Микобактерии очень требовательны к питательным средам. Они нуждаются в глицерине (**глицеринзависимые бактерии**), растут на средах, содержащих яичный желток, сыворотку крови, факторы роста (биотин, никотиновую кислоту), соли магния, калия, натрия, железа, активированный уголь. Для подавления роста сопутствующих микроорганизмов в среды добавляют пенициллин или малахитовый зеленый. Микобактерии туберкулеза размножаются простым делением. Цикл деления составляет 14-18 часов.

**Элективными питательными средами** для микобактерий являются:

- яичные среды Левенштейна-Йенсена (рисунок 7.64) и Финна-2;
- глицериновые агаровые среды Миддлбука;

- картофельные среды с желчью (среда Петраньяни);
- полусинтетическая среда Школьниковой;
- синтетические среды Сотона, Дюбо.



Рисунок 7.64 – Питательная среда Левенштейна-Йенсена. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Наиболее часто для выращивания микобактерий используют плотные яичные среды Левенштейна-Йенсена и Финна-2. Эти среды рекомендованы ВОЗ в качестве стандартных при диагностике туберкулеза. Они выпускаются в готовом виде в специальных пробирках с закручивающимися пробками, предохраняющими среду от высыхания (рисунок 71.65).



Рисунок 7.65 - Коммерческая готовая среда Левенштейна-Йенсена. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На таких средах на 15-40 день культивирования микобактерии туберкулеза образуют неправильной формы шероховатые плотные колонии кремового цвета (цвет “слоновой кости”). По внешнему виду колонии напоминают кочаны цветной капусты или бородавки (рисунок 7.66).

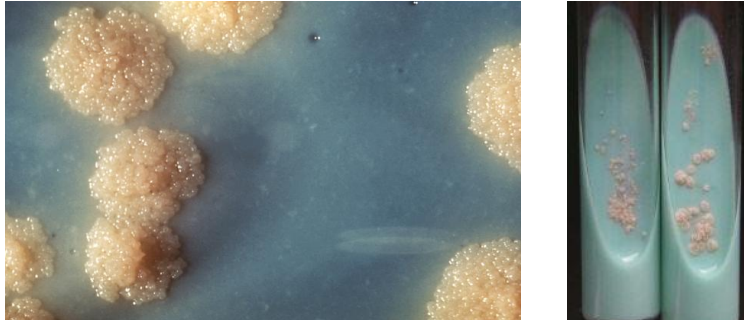


Рисунок 7.66 – Характер роста микобактерий туберкулеза на среде Левенштейна-Йенсена. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На средах с желчью микобактерии образуют сероватый маслянистый налет.

В жидких питательных средах на 7-10 день после посева появляется пленка, которая постепенно утолщается, становится морщинистой, приобретает желтоватый (кремовый) цвет. При этом среда остается прозрачной. При выращивании в жидкой питательной среде на стекле (**метод Прайса**) микобактерии туберкулеза образуют структуры, напоминающие жгуты, косы, веревки. Эти структуры называются корд-фактором (рисунок 7.67).



Рисунок 7.67 – Корд-фактор *M. tuberculosis* - палочки расположены в виде жгутов, рисунок. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Резистентность микобактерий.** Среди микробов, не образующих спор, микобактерии являются наиболее устойчивыми к действию неблагоприятных факторов окружающей среды. В высохшей мокроте больного микробные клетки сохраняют жизнеспособность и патогенность в течение 5-6 месяцев. При кипячении туберкулезные микобактерии погибают через 5-7 минут. На предметах больного сохраняются более 3 месяцев. В почве остаются жизнеспособными до 6 месяцев, в воде – до 15 месяцев, в навозе – 2 года. В уличной пыли микобактерии туберкулеза сохраняются в течение 10 дней. В сливочном масле микобактерии выживают до 240 дней, в сыре - до 200 дней. Солнечный свет вызывает гибель микобактерий через 1,5 часа, УФЛ – через 2-3 минуты. При пастеризации микобактерии погибают через 30 минут.

Микобактерии устойчивы к действию низких температур. Они достаточно устойчивы к действию обычных дезинфицирующих средств: 5% раствор фенола вызывает гибель туберкулезных палочек через 6 часов. Хлорсодержащие соединения (3-5% растворы хлорамина, 10-20% растворы хлорной извести), вызывают гибель возбудителя туберкулеза в течение 3-5 часов.



**Эпидемиология.** Основным **источником инфекции** при туберкулезе является больной человек. При туберкулезе легких в 50% случаев отмечается выделение возбудителя во внешнюю среду. Особое значение имеет прямой, длительный и тесный контакт здорового человека с больным. Основным **механизмом заражения** является аэрогенный, а **входными воротами** – органы дыхания. **Пути заражения** туберкулезом - воздушно-капельный и воздушно-пылевой (рисунок 7.68).

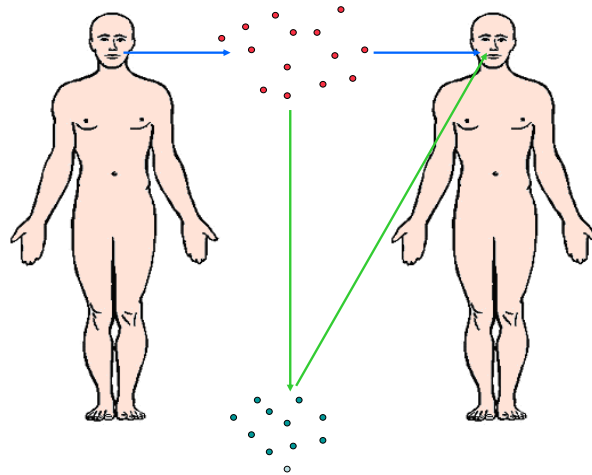


Рисунок 7.68 – Аэрогенный механизм заражения туберкулезом (синие стрелки – воздушно-капельный путь, зеленые стрелки – воздушно-пылевой путь).

При кашле, чихании, разговоре в выдыхаемом воздухе больного туберкулезом содержатся частицы диаметром около 10 мкм. Жидкость этих частиц в атмосферном воздухе испаряется, и содержащиеся микробы частицы длительное время могут находиться во взвешенном состоянии. Каждая частица может содержать от 3 до 10 клеток *M. tuberculosis*. Осевшие на почву микобактерии вместе с пылевыми частицами способны повторно подниматься в воздух, обуславливая воздушно-пылевой путь заражения. При аэрогенном инфицировании частицы размером более 5 мкм задерживаются в полости носа, а частицы меньшего размера (около 1 мкм) могут достигать альвеол.

Реже заражение человека туберкулезом происходит **алиментарным путем** - при употреблении молока и мяса от больных животных при недостаточной термической обработке. Большое количество липидов в составе клеточной стенки обуславливает кислотоустойчивость микобактерий и способствует преодолению ими кислого содержимого желудка. При алиментарном заражении для развития заболевания требуется значительно большее количество возбудителя, чем при аэрогенном инфицировании.

Иногда наблюдается заражение **контактно-бытовым путем** через поврежденные кожные покровы и слизистые оболочки при использовании предметов больного человека (одежды, посуды, книг и др.) или при уходе за больными животными. Описаны случаи заражения у хирургов, патологоанатомов, мясников. Редко возможно инфицирование через конъюнктиву глаз и плаценту.

Туберкулез распространен повсеместно. В соответствии с данными ВОЗ, около 2 млрд. людей инфицировано возбудителем туберкулеза. В настоящее время

ежегодно заболевает примерно 9 млн. человек во всем мире, из них 3 млн. человек умирает. Росту заболеваемости туберкулезом способствуют неблагоприятные социально-экономические факторы и широкое распространение штаммов с множественной устойчивостью к антибиотикам. Рост заболеваемости наблюдается при снижении уровня жизни населения, в лагерях беженцев, следственных изоляторах, тюрьмах. Однако в настоящее время нельзя четко установить зависимость заболеваемости туберкулезом от условий жизни людей.

В России смертность от туберкулеза (по данным за 2008 г.) составляет 18 человек на 100 тысяч жителей, то есть в год от туберкулеза умирает около 25000 человек.

#### Факторы патогенности микобактерий:

- **корд-фактор** – гликолипид клеточной стенки (эфир трегаллозы и миколовой кислоты), вызывающий повреждение клеточных мембран;
- **сульфатиды** (сульфолипиды) - серосодержащие поверхностные гликолипиды, усиливающие токсическое и антифагоцитарное действие корд-фактора, препятствующие слиянию фагосомы с лизосомой;
- **липоарабиноманнан** (LAM) – гетерополисахарид, подавляющий активацию Т-лимфоцитов и лейкоцитов, вызывающий секрецию макрофагами фактора некроза опухолей – ФНО (под действием ФНО развивается лихорадка, отмечается снижение веса) и ИЛ-10 (тормозит пролиферацию Т-клеток);
- **микозиды** – специфические воска, образующие защитный экран на поверхности клетки;
- **белки-эффекторы**, препятствующие слиянию фагосомы с лизосомами (ESAT-6 и CFP-10). Эти белки кодируются генами, находящимися в локусе вирулентности RD1 (Region of Difference 1). Белки-эффекторы транспортируются в окружающую среду с помощью системы секреции VII типа (T7SS).

Основные факторы патогенности микобактерий туберкулеза локализируются в клеточной стенке (рисунок 7.69).

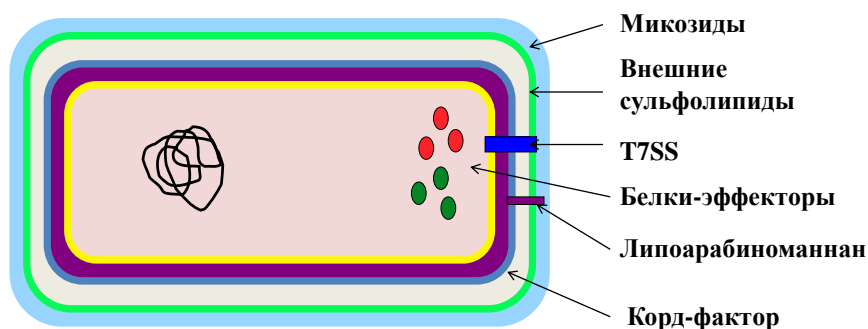


Рисунок 7.69 – Факторы патогенности микобактерий туберкулеза.

Возбудители туберкулеза не образуют экзотоксинов. Высокой токсичностью обладают продукты распада микобактерий.

Главным фактором патогенности микобактерий является **корд-фактор** (англ. *cord* - жгут, веревка) - гликолипид, располагающийся в клеточной стенке и способствующий склеиванию микробных клеток в виде жгутов или кос, в которых микобактерии располагаются параллельными цепочками. Авирулентные и условно-

патогенные микобактерии корд-фактора не образуют и растут беспорядочно. Особенно хорошо выявляется корд-фактор при микрокультивировании бактерий на стекле в жидкой питательной среде, то есть при использовании **метода микрокультур Прайса** (рисунок 7.70).

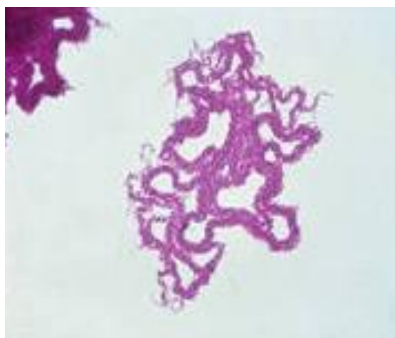


Рисунок 7.70 – Корд-фактор микобактерий туберкулеза. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При люминесцентной микроскопии корд-фактор проявляется в виде переплетающихся нитей, напоминающих мицелий грибов (рисунок 7.71).

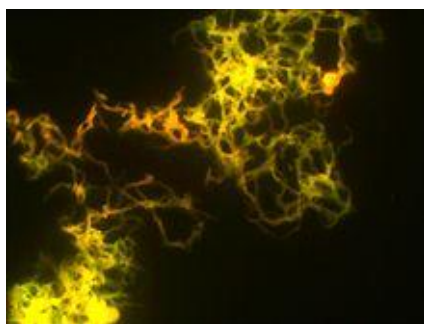


Рисунок 7.71 – Проявление корд-фактора при люминесцентной микроскопии. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Корд-фактор подавляет миграцию лейкоцитов, повреждает мембраны митохондрий, ингибирует образование фаголизосомы, способствует адгезии микробной клетки. Наличие корд-фактора приводит к тому, что фагоцитоз при туберкулезе носит незавершенный характер.

**Патогенез туберкулеза.** Развитие туберкулеза зависит от дозы возбудителя и длительности его поступления в организм, состояния врожденного и адаптивного иммунитета. В 85-95% случаев развивается туберкулез легких и внутригрудных лимфатических узлов при реализации аэрогенного механизма инфицирования. Неповрежденная слизистая оболочка верхних дыхательных путей является непроницаемой для микобактерий туберкулеза. Защите слизистой оболочки способствуют такие факторы как лизоцим слюны, секреторный иммуноглобулин А, мукоцилиарный аппарат (мерцательный эпителий и слизь, образуемая бокаловидными клетками). При воздействии на слизистую оболочку дыхательных путей повреждающих механических и химических факторов, при нарушениях мукоцилиарного аппарата в случаях острого и хронического воспаления верхних

дыхательных путей вероятность проникновения микобактерий в бронхиолы и альвеолы возрастает.

Попавшие в глубокие отделы легких микобактерии связываются с маннозным рецептором на поверхности альвеолярных макрофагов и фагоцитируются. Внутри макрофагов находящиеся в микобактериальных фагосомах микробные клетки с помощью T7SS и эффекторных белков препятствуют слиянию фагосомы с лизосомой (блокада лизосомально-фагосомального слияния). В результате этого фаголизосома не образуется, а лизосомальные ферменты не могут воздействовать на фагоцитированные микобактерии (рисунок 7.72).

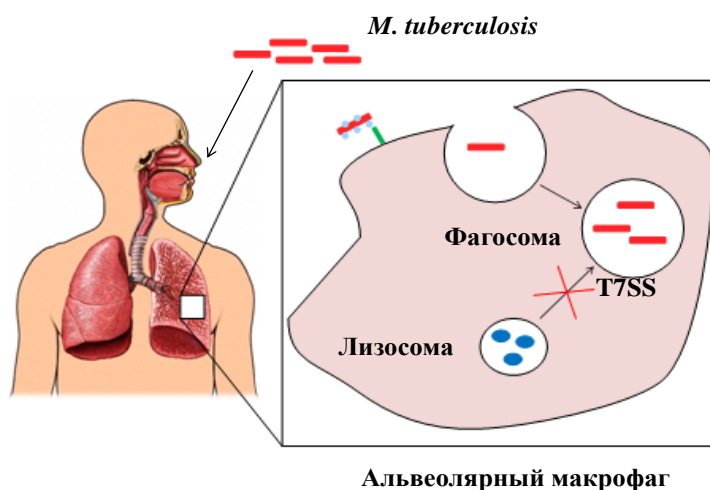


Рисунок 7.72 – Процесс инфицирования организма и фагоцитоз возбудителя туберкулеза.

В связи с этим фагоцитоз при туберкулезе является незавершенным (рисунок 7.73).

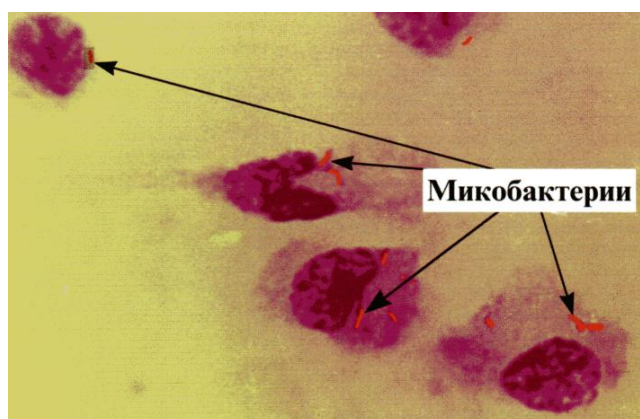


Рисунок 7.73 – Незавершенный фагоцитоз микобактерий, окраска по Цилю-Нельсену (Воробьев А.А., Быков А.С., 2003).

Располагающиеся внутриклеточно микобактерии постепенно размножаются. Макрофаги, фагоцитировавшие микобактерии, экспрессируют на своей поверхности антигены микобактерий и выделяют в межклеточное пространство интерлейкин-1, который активирует Т-лимфоциты. В свою очередь, сенсibilизированные Т-

лимфоциты выделяют хемокины, гамма-интерферон и интерлейкин-2, которые активируют миграцию макрофагов в очаг нахождения микобактерий.

В случае разрушения альвеолярных макрофагов при размножении микобактерий (завершенный фагоцитоз) высвобождающиеся микробные клетки захватываются другими фагоцитами.

В макрофагах микобактерии транспортируются в регионарные лимфатические узлы, длительное время сохраняясь в “дремлющем” (дормантном) состоянии. При этом происходит воспаление лимфатических путей (**лимфангоит**) и лимфатических узлов (**лимфаденит**). В месте нахождения фагоцитированного возбудителя образуется специфическая **гранулема** или первичный аффект.

Формирование гранулемы происходит следующим образом.

1. Попадание микобактерий в организм аэрогенным путем.
2. Поглощение бактерий макрофагами.
3. Формирование в макрофагах микобактериальных фагосом, внутри которых происходит размножение возбудителя.
4. Трансформация активированных макрофагов с находящимися внутри живыми микобактериями в эпителиоидные клетки. Гибель части макрофагов с образованием казеозных некротических масс.
5. Слияние эпителиоидных клеток друг с другом и образование гигантских клеток Пирогова-Лангханса.
6. Окружение очага снаружи лимфоидными клетками, в том числе Т-лимфоцитами.
7. Отграничение гранулемы от здоровых тканей пролиферирующими фибробластами.

Таким образом, формирование гранулемы представляет собой реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). ГЗТ возникает через 2-3 недели после инфицирования. Структура туберкулезной гранулемы представлена на рисунке 7.74.

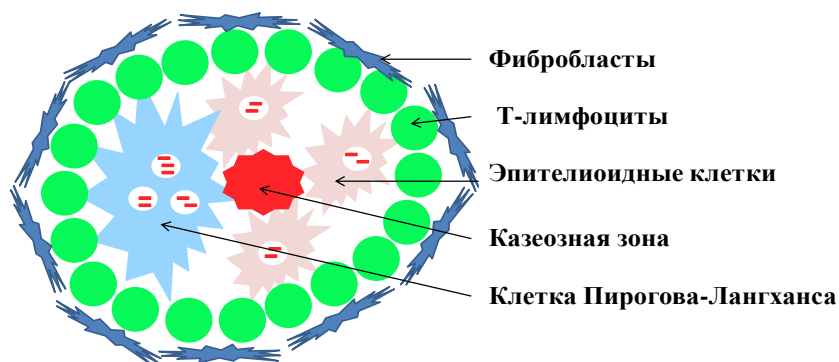


Рисунок 7.74 – Структура туберкулезной гранулемы.

С одной стороны, гранулемы препятствуют возникновению системной инфекции, с другой стороны, способствуют размножению микобактерий и изолируют их от факторов иммунной системы. При этом развивается хроническая (латентная) инфекция, которая может продолжаться десятилетиями. Снижение уровня иммунитета может привести к реактивации инфекции.

В последующем возможна транспортировка микобактерий в разные участки легкого, лимфатические узлы и другие органы (рисунок 7.75).

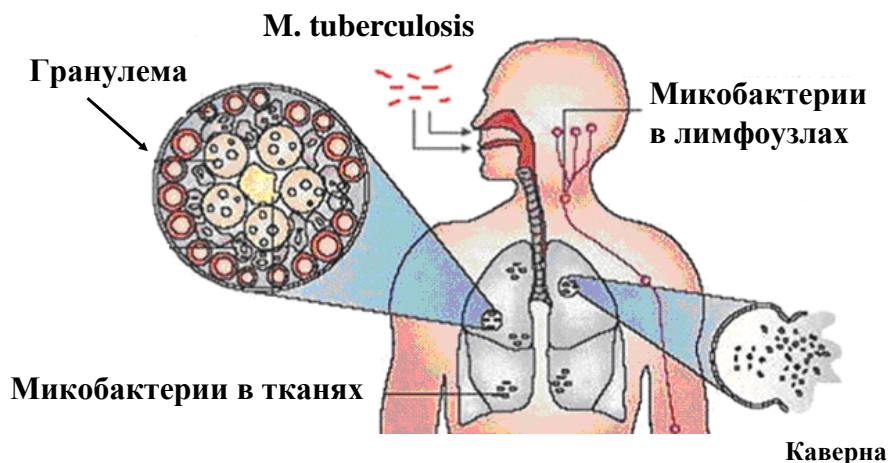


Рисунок 7.75 – Схема развития туберкулеза. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При гистологическом исследовании гранулема выглядит в виде очага, содержащего внутри некротизированные казеозные массы. В последующем гранулема уплотняется, и ее соединительнотканная оболочка пропитывается солями кальция. В результате этого формируется первичный туберкулезный очаг (рисунок 7.76).

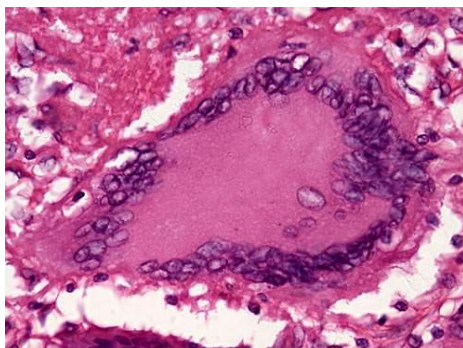


Рисунок 7.76 – Гистологический препарат гранулемы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При высокой резистентности организма гранулема замещается соединительной тканью и кальцифицируется. При прогрессировании заболевания казеозные массы под действием протеолитических ферментов подвергаются разжижению, в результате чего в легких образуются полости – каверны, а на слизистых оболочках и коже – язвы.

В развитии туберкулеза выделяют два периода. **Первый период** возникает в ответ на **первичное экзогенное заражение** ранее неинфицированных людей. Этот период может завершиться развитием **первичного туберкулеза** и **спонтанным излечиванием**. При первичном туберкулезе в зоне внедрения возбудитель захватывается макрофагами, в результате чего развивается гранулематозная реакция. Затем микобактерии преодолевают этот барьер, проникают в регионарные

лимфатические узлы, кровь и различные органы. Первичный туберкулез в результате экзогенного заражения развивается у 7-10% инфицированных лиц, остальные переносят первичное туберкулезное инфицирование без клинических проявления и спонтанно излечиваются. При спонтанном излечивании формируется обызвествленный первичный туберкулезный комплекс (“окаменевший” очаг воспаления, в котором длительное время сохраняется возбудитель в дремлющем или дормантном состоянии). **Дормантные** формы микобактерий характеризуются метаболически неактивным состоянием. При этом у людей формируется приобретенный иммунитет. Сохранение возбудителя в очагах персистенции не только поддерживает иммунитет, но одновременно создает риск эндогенного инфицирования.

**Второй период** связан с **вторичным экзогенным** или **эндогенным инфицированием** микобактериями, сохранившимися в первичном очаге. То есть вторичный туберкулез возникает в иммунном организме у ранее инфицированных людей. При этом развиваются разнообразные **вторичные формы туберкулеза**. Эндогенная реактивация микобактерий может наступить в течение любого срока после первичного туберкулеза (от нескольких недель до многих лет и десятков лет) в результате неблагоприятных социально-экономических условий, недостаточного питания, приема иммунодепрессантов, сопутствующих заболеваний. Вторичный туберкулез почти всегда начинается в верхушках легких и протекает хронически.

**Клиника. Инкубационный период** при туберкулезе длится от 3-8 недель до 1 года и более (описан инкубационный период длительностью 40 лет). Клинические проявления туберкулеза многообразны, поскольку микобактерии могут поражать любые органы (органы дыхания, кишечник, мочеполовые органы, кожу, суставы).

Чаще всего поражаются органы дыхания. Поэтому различают туберкулез легких и внелёгочный туберкулез. По степени поражения легких выделяют такие формы как милиарный туберкулез, очаговый (ограниченный) туберкулез, инфильтративный туберкулез, казеозная пневмония, кавернозный туберкулез, фиброзно-кавернозный туберкулез и др. (рисунок 7.77).

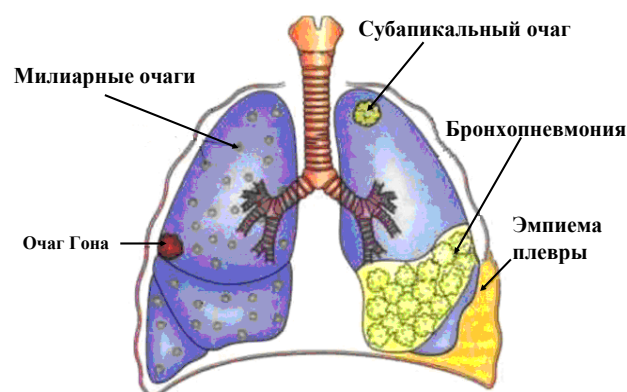


Рисунок 7.77 – Легочные проявления туберкулеза. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Очаг Гона** - это первичное поражение легких при туберкулезе. Обычно очаг Гона проходит, не вызывая заболевания, но у некоторых людей из очага Гона

возбудитель распространяется по лимфатическим сосудам, дыхательным путям и кровотоку по всему организму.

**Милиарный** (лат. *milium* – просо) туберкулез – это небольшой очаг творожистого некроза, представляющий группу некротизированных туберкулезных гранулем.

**Эмпиема** плевры – это воспаление плевральных листков с образованием гноя между ними.

**Внелёгочный туберкулез** встречается в любом органе. Различают следующие формы внелёгочного туберкулеза:

- туберкулез органов пищеварения (чаще поражаются дистальный отдел тонкого кишечника и слепая кишка);
- туберкулез мочеполовой системы (почек, мочевыводящих путей, половых органов);
- туберкулез центральной нервной системы и мозговых оболочек (туберкулезный менингит);
- туберкулез костей и суставов;
- туберкулез кожи;
- туберкулез глаз.

Туберкулез может быть **открытым** (больной выделяет возбудителя во внешнюю среду) и **закрытым** (больной не выделяет возбудителя в окружающую среду и не является заразным для окружающих).

**Признаками** туберкулеза являются быстрая утомляемость, слабость, потеря массы тела, длительная субфебрильная температура, обильное ночное потоотделение, кашель с мокротой с кровью, одышка (рисунок 7.78).



Рисунок 7.78 – Внешний вид больного туберкулезом. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Туберкулез кожи** проявляется следующими формами (рисунок 7.79):

- **люпоидный туберкулез кожи** (туберкулезная или обыкновенная волчанка) проявляется образованием на коже бугорка - люпомы, на месте которой после распада формируется язва и белый рубец;
- **скрофулодерма** – формирование в подкожной клетчатке узлов с их последующим размягчением, образованием свищей и грубых бахромчатых рубцов;



- **индуративный туберкулез кожи** – образование плотных узлов в подкожной клетчатке, которые в последующем вскрываются, оставляя втянутые рубцы;

- **папулонекротический туберкулез кожи** – образование плотных папул синюшного цвета в толще кожи с последующим некрозом;

- **лихеноидный туберкулез кожи** (лишай золотушных) – формирование на коже туловища мелких сгруппированных бугорков, покрытых легко снимаемыми корочками серого цвета.

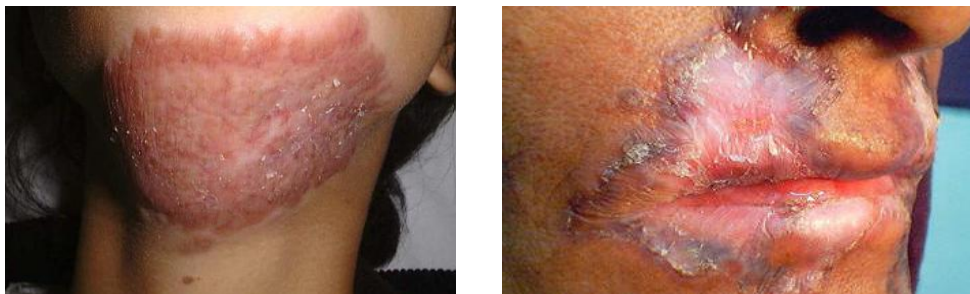


Рисунок 7.79 – Поражения при туберкулезе кожи. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При туберкулезе **костей и суставов** возникают поражения, характерные для артритов любой этиологии: истончение хрящей, возникновение шипов, сужение полостей суставов (рисунок 7.80).

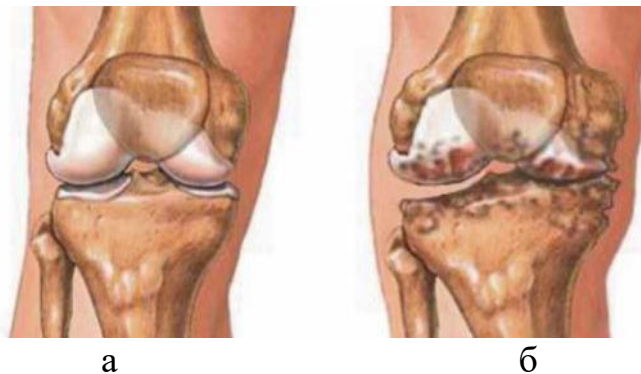


Рисунок 7.80 – Поражения при туберкулезе костей и суставов: а – здоровый коленный сустав, б – поражение хряща и костей при туберкулезе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Иммунитет** при туберкулезе имеет ряд особенностей. Он начинает формироваться через 4-8 недель после первичного инфицирования. Формируется как клеточный, так и гуморальный иммунитет.

**Приобретенный клеточный иммунитет** проявляется тем, что после первой встречи с возбудителем в организме формируется состояние повышенной чувствительности (сенсбилизация). Макрофаги, поглотившие микобактерии туберкулеза, экспрессируют на своей поверхности антигены микобактерий в виде пептидов и выделяют в межклеточное пространство интерлейкин-1, который активизирует Т-лимфоциты (CD4+). Благодаря этому организм приобретает способность быстро связывать новую дозу возбудителя и удалять ее из организма:

T-лимфоциты распознают клетки, инфицированные микобактериями, атакуют их и разрушают. Кроме того T-лимфоциты выделяют гамма-интерферон и интерлейкин-2, которые обуславливают миграцию макрофагов к месту локализации возбудителя. С помощью лизосомальных ферментов микобактерии разрушаются. Выделяемые макрофагами медиаторы активируют также В-лимфоциты, которые синтезируют опсонизирующие антитела, способствующие склеиванию и фагоцитированию бактерий.

**Гуморальный иммунитет** проявляется синтезом антител к антигенам микобактерий. Образуются циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), с помощью которых антигены элиминируются из организма.

Иммунитет при туберкулезе сохраняется до тех пор, пока в организме есть возбудитель. Такой иммунитет называют **нестерильным** или инфекционным. После освобождения организма от микобактерий иммунитет быстро исчезает.

**Диагностика туберкулеза.** Методы, используемые при диагностике туберкулеза, представлены на рисунке 7.81.

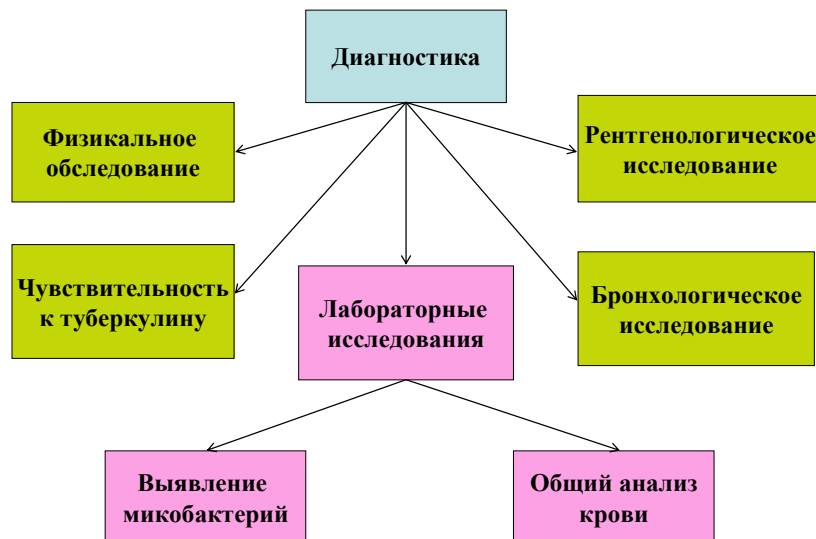


Рисунок 7.81 – Методы диагностики туберкулеза.

Для лабораторной диагностики туберкулеза применяют основные и дополнительные методы исследования.

**Основными методами** диагностики туберкулеза являются:

- бактериоскопический метод (световая и люминесцентная микроскопия);
- бактериологический (культуральный) метод.

**Дополнительными методами** диагностики туберкулеза являются:

- биологический метод;
- серологический метод;
- кожные аллергические пробы;
- полимеразная цепная реакция (ПЦР).

**Исследуемым материалом** в зависимости от локализации патологического процесса служат мокрота, аспират бронхов, отделяемое свищей, спинномозговая жидкость (СМЖ), моча, испражнения.

Для бактериоскопического исследования готовят мазки, которые окрашивают по Цилю-Нельсену или флюорохромом. В препаратах можно обнаружить единичные микобактерии, если в 1 мл мокроты содержится не менее  $10^5$ - $10^6$  бактериальных клеток. Эти методы просты и экономичны. Они применяются при обследовании следующих пациентов:

- лиц, имеющих симптомы туберкулеза (кашель с мокротой более 3 недель, боли в грудной клетке, кровохарканье, потеря массы тела);
- лиц, контактировавших с бациллярными больными (больными, выделяющими возбудителя туберкулеза во внешнюю среду);
- лиц, имеющих в легких рентгенологические изменения, подозрительные на туберкулез.

Нередко концентрация микобактерий в исследуемом материале невелика, поэтому для повышения вероятности их обнаружения используют **методы обогащения**: центрифугирование и флотацию.

**Метод центрифугирования** предусматривает обработку исследуемого материала щелочью с последующим центрифугированием. Препарат для микроскопирования готовят из осадка.

**Метод флотации** включает в себя обработку исследуемого материала смесью щелочи и ксилола или бензола. Пробу энергично встряхивают. Образующаяся пена выносит микобактерии на поверхность. Препарат для микроскопирования готовят из образующейся пены.

Количество кислотоустойчивых микобактерий (**КУМ**), которое выявляется при бактериоскопическом исследовании материала, характеризует степень эпидемической опасности больного и тяжесть заболевания. Поэтому при микроскопии обязательно проводят количественный учет результатов (таблица 7.3).

Таблица 7.3 – Градация результатов микроскопического исследования материала от больных туберкулезом

Результат исследования	Минимальное число полей зрения, обязательных для просмотра	Интерпретация результатов исследования
КУМ не обнаружены в 300 полях зрения	300	Отрицательный
1-2 КУМ в 300 полях зрения	300	Результат не оценивается
1-9 КУМ в 100 полях зрения	100	Положительный
10-99 КУМ в 100 полях зрения	100	Положительный
1-10 КУМ в 1 поле зрения	50	Положительный
Более 10 КУМ в 1 поле зрения	20	Положительный

Широкое распространение имеет метод люминесцентной микроскопии, при котором окраску препаратов производят с помощью люминесцентных красителей (аурамина, родамина). При люминесцентной микроскопии клетки возбудителя туберкулеза светятся оранжевым или ярко-красным светом на черном или темно-зеленом фоне.

**Культуральный метод** позволяет получить чистую культуру для определения ее вирулентности и чувствительности к лекарственным препаратам.

Этот метод широко применяется и для контроля эффективности проводимой терапии. Материал обрабатывают 6-12% раствором соляной или серной кислоты, отмывают физиологическим раствором, высевают на плотные питательные среды и выращивают в течение 2-12 недель. Вирулентность выделенной культуры определяют по наличию корд-фактора. Основным недостатком культурального метода - длительность получения результата.

В связи с этим применяют ускоренный метод выращивания (**по Прайсу**). Для этого материал наносят на предметное стекло, обрабатывают серной кислотой и отмывают физиологическим раствором. Стекло помещают в питательную среду с кровью. Выращивание продолжается в течение 3-4 дней при 37<sup>0</sup>С. После этого препарат окрашивают по Цилю-Нельсену и микроскопируют. При наличии возбудителя туберкулеза обнаруживаются красные жгуты, состоящие из отдельных клеток.

**Биологический метод диагностики туберкулеза** является наиболее чувствительным, так как он позволяет выявить от 1 до 5 микробных клеток в исследуемом материале. Для этого морским свинкам подкожно или внутрибрюшинно вводят исследуемый материал (1-2 мл), обработанный серной кислотой. Быстрое падение массы животного и увеличение паховых лимфоузлов свидетельствует о развитии туберкулеза. В пунктате из лимфоузлов обнаруживаются микобактерии. Через 1-2 месяца после заражения у животных развивается генерализованный туберкулез с летальным исходом.

Существуют **специальные системы лабораторной диагностики туберкулеза**:

- полуавтоматическая система ВАСТЕС 460 позволяет регистрировать уровень углекислого газа, меченого радиоактивным углеродом (срок исследования составляет 14 дней);

- автоматизированный комплекс ВАСТЕС MGIT 960 учитывает рост микобактерий в бульоне Миддлбука по растворенному кислороду;

- автоматизированная система МВ/ВасТ основана на колориметрическом детектировании углекислого газа.

**Кожные аллергические пробы** применяются для определения повышенной чувствительности организма к туберкулину в результате инфицирования возбудителями туберкулеза или специфической вакцинации. Кожные аллергические пробы проводят с помощью туберкулина – препарата, приготовленного из микобактерий.

**Старый туберкулин Коха** (АТК – Alt Tuberculin Koch) был впервые получен в 1880 г. Р. Кохом. Представляет собой фильтрат автоклавированной 5-6-недельной культуры микобактерий туберкулеза человеческого и бычьего типов, выращенной в мясо-пептонном бульоне с добавлением глицерина и сгущенной выпариванием при 70<sup>0</sup>С до 1/10 первоначального объема. Этот препарат содержит белки, полисахариды, липиды и нуклеиновые кислоты микобактерий, а также балластные вещества – компоненты питательной среды. АТК содержит в 1 мл около 100000 ТЕ (туберкулиновых единиц) или TU (tuberculin units). За международную туберкулиновую единицу принято считать такое количество туберкулина, которое у 80-90% спонтанно инфицированных лиц вызывает положительную реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

**Сухой очищенный туберкулин – PPD** (Purified Protein Derivative, очищенный белковый дериват, PPD-S получен в 1934 г. F. Seibert и S. Glenn из культур *M. tuberculosis* и *M. bovis*) и очищенный туберкулин М.А. Линниковой (PPD-L, ППД-Л получен в 1939 г. из культур *M. tuberculosis* и *M. bovis*). В 1952 г. ВОЗ утвердила PPD-S в качестве международного стандарта сухого очищенного туберкулина. PPD-S используется в большинстве европейских стран. PPD-L выпускают в двух формах: стандартный раствор и сухое вещество для разведения. Стандартный раствор, содержащий в 0,1 мл 2 ТЕ, применяют для массовой туберкулинодиагностики, а стандартные растворы, содержащие 5 ТЕ и 10 ТЕ в 0,1 мл, а также сухой препарат используют только в противотуберкулезных учреждениях. Преимуществом PPD перед АТК является более высокая специфичность и стерильность.

С иммунологической точки зрения туберкулин - это гаптен, не обладающий иммуногенностью, то есть при введении в организм он вызывает специфическую ответную реакцию гиперчувствительности замедленного типа.

В настоящее время в нашей стране выпускаются следующие формы ППД-Л.

1. Аллерген туберкулиновый очищенный жидкий в стандартном разведении (очищенный туберкулин в стандартном разведении). Является готовым к употреблению препаратом. Выпускается в ампулах по 3 мл. Содержит в 0,1 мл 2 ТЕ. Представляет собой прозрачную бесцветную жидкость, содержит твин-80 в качестве стабилизатора и фенол в качестве консерванта. Используется для проведения массовой и индивидуальной туберкулинодиагностики.

2. Аллерген туберкулезный очищенный сухой для кожного, подкожного и внутрикожного применения (сухой очищенный туберкулин). Выпускается в ампулах по 50000 ТЕ. Представляет собой порошок сероватого или кремового цвета, хорошо растворимый в прилагаемом растворителе – 0,25% изотоническом растворе хлорида натрия. Препарат используется для проведения индивидуальной туберкулинодиагностики.

Препараты туберкулина ППД-Л вводят в организм человека кожно, внутрикожно и подкожно в зависимости от вида туберкулиновой пробы.

При постановке кожной **пробы Пирке** на внутреннюю поверхность предплечья наносят каплю АТК (10000 ТЕ в 1 мл), через которую скарифицируют кожу. Через 48-72 часа проводят оценку местной реакции по величине инфильтрата (рисунок 7.82).

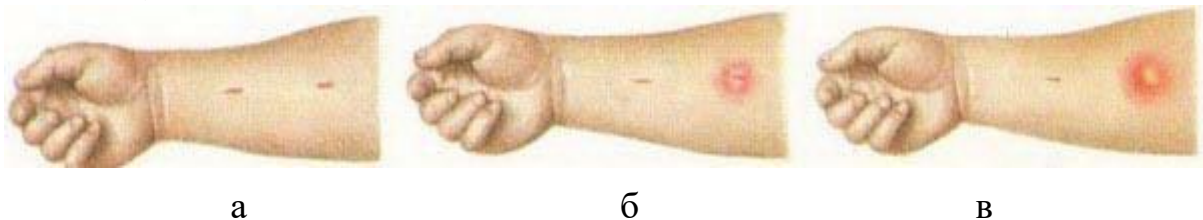


Рисунок 7.82 - Скарификационная кожная проба Пирке: а – отрицательная реакция, б – умеренно выраженная реакция, в – резко выраженная реакция.

Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В педиатрической практике в некоторых случаях используют градуированную пробу Пирке (кожную пробу Гринчара и Карпиловского -

ГКП). При постановке этой пробы на кожу внутренней поверхности предплечья или передней поверхности бедра наносят по одной капле растворов туберкулина разной концентрации (100%, 25%, 5% и 1%). В качестве контроля используют каплю 0,25% раствора карболовой кислоты в 0,95% растворе хлорида натрия. Скарификацию кожи проводят через нанесенные капли, начиная с контрольного раствора и заканчивая 100% туберкулином. Учет реакции осуществляют через 48-72 часа (рисунок 7.83).

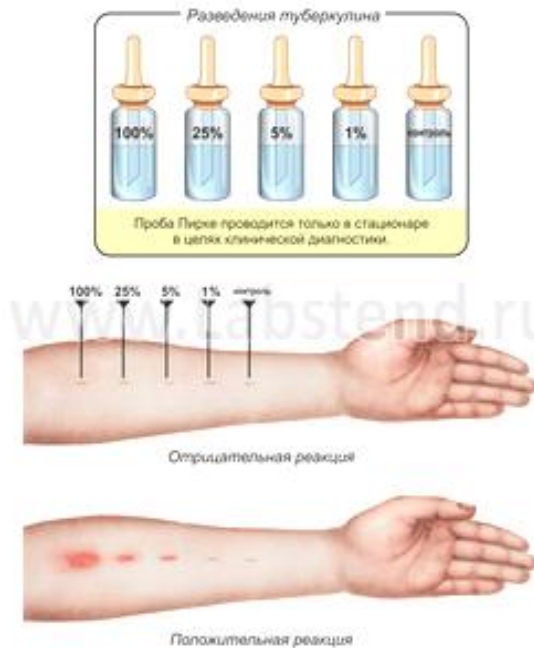


Рисунок 7.83 – Градуированная проба Пирке. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Различают следующие реакции пробы ГКП:

- анэргическая реакция – отсутствие ответа на все растворы туберкулина;
- неспецифическая реакция – небольшая гиперемия на месте аппликации 100% туберкулина;
- нормэргическая реакция – умеренная чувствительность на большие концентрации туберкулина и отсутствие реакции на 1% и 5% туберкулин;
- гиперэргическая реакция – на все концентрации туберкулина отмечается ответная реакция в виде инфильтратов, причем их размеры увеличиваются по мере возрастания концентрации туберкулина;
- уравнительная реакция – инфильтраты отмечаются на все концентрации туберкулина, но размеры инфильтратов во всех случаях примерно одинаковые;
- парадоксальная реакция – на большие концентрации отмечается меньшая интенсивность ответной реакции, чем на малые концентрации туберкулина.

В настоящее время в качестве диагностического метода в основном используется внутрикожная **проба Манту**. При постановке пробы Манту туберкулин вводят строго внутрикожно на внутреннюю поверхность средней трети предплечья до образования “пуговки”. Суть реакции Манту состоит в том, что вводимые фрагменты микобактерий как бы притягивают к себе из кровеносных сосудов лимфоциты, уже встречавшиеся с туберкулезными бактериями. Чем больше

в организме таких лимфоцитов, тем интенсивнее будет воспаление (положительная реакция). Результаты пробы учитывают через 48-72 часа по наличию **индурации** – очерченного или расплывчатого уплотнения тканей или образования папулы (рисунки 7.84 и 7.85).

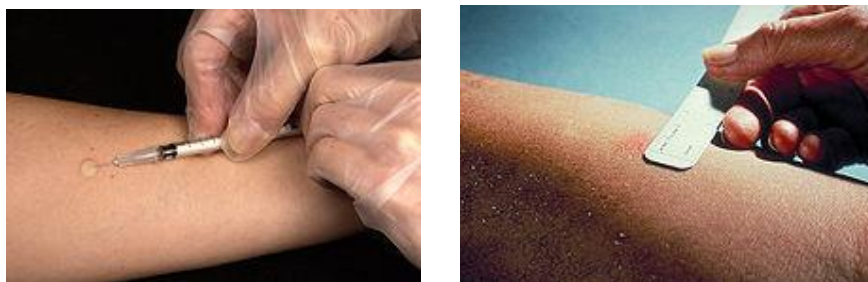


Рисунок 11.84 – Постановка внутрикожной пробы Манту и учет результатов.  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.



Рисунок 7.85 – Оценка пробы Манту. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Проба Манту оценивается следующим образом:

- **отрицательная** - наличие реакции от укола до 2 мм в диаметре.
- **сомнительная** - папула диаметром 2-4 мм или гиперемия.
- **положительная** - папула диаметром 5-17 мм у детей и подростков и 5-21 мм у взрослых.
- **гиперэргическая** - папула диаметром более 17 мм у детей и подростков и более 21 мм у взрослых.

Для постановки внутрикожной пробы туберкулин выпускается непосредственно в шприцах (рисунок 7.86).



Рисунок 7.86 – Готовый для использования туберкулин. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Проведение туберкулинодиагностики различается у вакцинированных и невакцинированных детей. Так, вакцинированным против туберкулеза детям туберкулинодиагностику проводят с 12-месячного возраста и до 18 лет внутрикожно 1 раз в год (проба Манту) независимо от результата предыдущих проб. Невакцинированным по медицинским показаниям против туберкулеза детям пробу Манту ставят с 6-месячного возраста 2 раза в год до получения ребенком вакцины БЦЖ-М. Ревакцинация детей против туберкулеза проводится только детям с отрицательной пробой Манту в 7 и 14 лет.

Туберкулинодиагностика применяется при массовых обследованиях населения на туберкулез (**массовая туберкулинодиагностика**) и для диагностики туберкулеза (**индивидуальная туберкулинодиагностика**) в клинической практике.

**Цели массовой туберкулинодиагностики:**

- выявление групп повышенного риска заболевания туберкулезом, к которым относятся дети и подростки (первично инфицированные микобактериями туберкулеза; инфицированные микобактериями туберкулеза более 1 года с гиперэргическими реакциями; инфицированные микобактериями туберкулеза более 1 года с увеличением инфильтрата на 6 мм и более, без гиперэргии; инфицированные микобактериями туберкулеза с неустановленным сроком инфицирования);

- отбор контингентов, подлежащих ревакцинации против туберкулеза;

- определение инфицированности и риска заражения населения с целью анализа эпидемиологической ситуации по туберкулезу.

При массовой туберкулинодиагностике применяют только пробу Манту с 2 туберкулиновыми единицами (ТЕ) очищенного туберкулина в стандартном разведении (готовая форма препарата).

У детей раннего возраста положительная реакция имеет большое диагностическое значение. Благодаря ежегодному наблюдению за туберкулиновыми пробами у детей старшего возраста и подростков удается установить время появившейся у них впервые положительной туберкулиновой реакции.

**Цели индивидуальной туберкулинодиагностики:**

- дифференциальная диагностика поствакцинальной и инфекционной аллергии к туберкулину;

- диагностика и дифференциальная диагностика туберкулеза и других заболеваний;

- определение “порога” индивидуальной чувствительности к туберкулину;

- определение активности туберкулезного процесса;

- оценка эффективности противотуберкулезного лечения.

При индивидуальной туберкулинодиагностике применяют пробу Манту с 2 ТЕ очищенного туберкулина в стандартном разведении, пробу Манту с различными дозами туберкулина, накожную градуированную пробу Пирке, пробу Коха и другие пробы.

У новорожденных туберкулиновая проба отрицательная. Туберкулиновая реакция становится положительной через 4-6 недель после инфицирования или вакцинации БЦЖ. После вакцинации положительные реакции на туберкулин



сохраняются в течение 3-7 лет. Следовательно, положительный результат нельзя рассматривать только как признак активного процесса. Положительная проба Манту указывает, что человек ранее имел контакт с возбудителем туберкулеза в результате инфицирования или вакцинации. Однако это не означает, что пациент болен туберкулезом. Люди с положительными туберкулиновыми пробами подвержены риску заболевания в результате активации первичного очага. При отрицательной реакции такой риск отсутствует, но существует опасность первичного инфицирования.

Впервые зарегистрированная у ребёнка положительная проба Манту (**“вираж туберкулиновой пробы”**), особенно в сочетании с признаками туберкулезной интоксикации, свидетельствует о первичном инфицировании микобактериями туберкулеза. Такие дети должны подвергаться клиническому обследованию.

В последние годы разработан новый способ диагностики туберкулеза – **Диаскинтест** (рисунок 7.87).



Рисунок 7.87 – Туберкулезный аллерген для постановки Диаскинтеста.  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При постановке этого теста внутрикожно вводят рекомбинантные белки, характерные исключительно для *M. tuberculosis*. Положительная проба Манту означает, что человек либо контактировал с возбудителем туберкулеза (*M. tuberculosis*), либо недавно получил прививку БЦЖ (*M. bovis*), либо его организм инфицирован непатогенными микобактериями. Диаскинтест дает положительный результат только в том случае, когда человек инфицирован *M. tuberculosis* (но не вакцинирован БЦЖ, то есть *M. bovis*)

**Серологические исследования** включают:

- выявление антигенов микобактерий и антител к ним с помощью РСК, РА, РПГА;
- выявление антител с помощью РНГА;
- ИФА;
- РИФ с моноклональными антителами.

Серологические методы не являются ведущими при диагностике туберкулеза.

В настоящее время разработан еще один новый способ диагностики туберкулеза, основанный на анализе крови - **ELISpot-Plus**. В сочетании с пробой

Манту этот тест позволяет диагностировать туберкулез за 48 часов с точностью до 99%. Единственный недостаток этого метода состоит в том, что он не позволяет определять активную и скрытую форму заболевания.

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР)** обладает высокой чувствительностью (1-10 микобактерий) и высокой специфичностью. Преимуществами этого метода является возможность работы с небольшим количеством материала и получение результатов анализа в течение одного рабочего дня. ПЦР применяется при внелегочных формах туберкулеза. Однако результаты ПЦР должны быть подтверждены другими методами.

**Лечение туберкулеза.** Для лечения туберкулеза применяют антибиотики и химиотерапевтические препараты, распределенные на 3 группы:

- **группа А** - наиболее эффективные препараты: изониазид (антиметаболит, аналог изоникотиновой кислоты, ингибирует синтез ферментов, участвующих в синтезе миколовых кислот), рифампицин (антибиотик);

- **группа В** - препараты средней эффективности: этамбутол (синтетический препарат, ингибирует ферменты, участвующие в синтезе клеточной стенки микобактерий), канамицин, стрептомицин, циклосерин (антибиотики);

- **группа С** - малые противотуберкулезные препараты (ПАСК и тибон).

**Международный противотуберкулезный Союз** классифицирует противотуберкулезные препараты следующим образом:

**1. Наиболее эффективные препараты:**

- синтетический препарат изониазид (ГИНК);
- антибиотик рифампицин.

**2. Препараты умеренной эффективности:**

- антибиотики: стрептомицин, канамицин, флоримицин (виомицин), циклосерин;
- синтетические препараты: этамбутол, этионамид, протионамид, пиразинамид (тизамид).

**3. Менее эффективные препараты:**

- синтетические препараты: ПАСК, тибон (тиоацетазон).

В некоторых странах выделяют следующие группы противотуберкулезных препаратов:

**1. Препараты первой линии** (препараты первого ряда), проявляющие максимальный эффект при минимальной токсичности – изониазид, рифампицин, стрептомицин, пиразинамид, этамбутол.

**2. Препараты второй линии** (препараты второго ряда), используемые при устойчивости возбудителя к препаратам первого ряда – этионамид, циклосерин, капреомицин, канамицин, офлоксацин, ципрофлоксацин, амикацин, протионамид.

**3. Альтернативные препараты** (резервные препараты) – рифабутин, клофазимид, кларитромицин, амоксициллин, фтивазид, флуренизид, тиацидазон.

**4. Комбинированные препараты** – изониазид с рифампицином; изониазид с этамбутолом; изониазид с пиразинамидом и рифампицином; изониазид с пиразинамидом, рифампицином и этамбутолом.

В настоящее время классификация противотуберкулезных препаратов основана на учете лекарственной резистентности *M. tuberculosis*. Эта классификация

(классификация ВОЗ, 1998 г.) распределяет противотуберкулезные препараты на 2 группы:

**1 группа** – основные препараты (препараты первого ряда): изониазид, рифампицин, пиразинамид, стрептомицин и этамбутол. Эти препараты используются для лечения больных с впервые выявленным туберкулезом легких, выделяющих лекарственно-чувствительные клетки возбудителя.

**2 группа** – резервные препараты или препараты второго ряда: протионамид, этионамид, рифабутин, канамицин, капреомицин, циклосерин, фторхинолоны (офлоксацин, ломефлоксацин), ПАСК. Эти препараты применяют для лечения больных с лекарственно-устойчивым туберкулезом легких, выделяющим возбудителя, резистентного к препаратам первого ряда.

Противотуберкулезные препараты действуют на разные мишени: компоненты клеточной стенки, синтез АТФ и белка в клетке (рисунок 7.88).

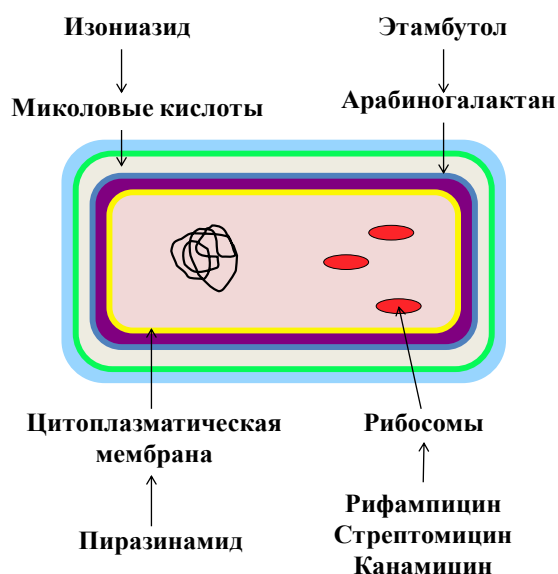


Рисунок 7.88 – Мишени действия противотуберкулезных препаратов.

Во время лечения очень быстро появляются штаммы микобактерий, резистентные к противотуберкулезным препаратам. Поэтому при лечении используют комбинации препаратов с разным механизмом действия, а также производят частую замену препаратов. Это замедляет появление лекарственноустойчивых форм микобактерий. В современных схемах лечения применяют поликомпонентную противотуберкулезную химиотерапию (одновременное использование 3-5 препаратов, то есть трех-пятикомпонентные схемы лечения).

Классической схемой лечения туберкулеза является **трехкомпонентная схема** (стрептомицин, изониазид, пара-аминосалициловая кислота), но в настоящее время эта схема практически не используется.

**Четырехкомпонентная схема** химиотерапии (рифабутин или рифампицин, стрептомицин или канамицин, изониазид или фтивазид, пиразинамид или этионамид) разработана в связи с увеличением частоты выделения микобактерий,

устойчивых к противотуберкулезным препаратам. Эта схема является общепринятой во многих странах мира.

В специализированных центрах лечения туберкулеза применяют также **пятикомпонентную схему** лечения. Эта схема предусматривает использование препаратов, указанных в четырехкомпонентной схеме, и фторхинолоновых производных.

Кроме противотуберкулезных препаратов больным туберкулезом назначают витамины, иммуностимуляторы, детоксикационную терапию, используют методы улучшения оксигенации легких, качественное и разнообразное питание, в некоторых случаях - хирургические методы лечения.

**Лекарственная устойчивость микобактерий.** В связи с широким использованием антибактериальных препаратов у микобактерий туберкулеза развивается лекарственная устойчивость. Различают первичную и приобретенную лекарственную устойчивость микобактерий. К микобактериям с **первичной устойчивостью** относятся штаммы, выделенные от пациентов, не получавших специфического лечения или получавших препараты в течение месяца или менее. Если устойчивый штамм выделяется у пациента на фоне противотуберкулезной терапии, проводимой в течение месяца и более, устойчивость расценивают как приобретенную. **Приобретенная лекарственная устойчивость** среди впервые выявленных больных является результатом неудачного лечения.

У возбудителя туберкулеза различают следующие **виды лекарственной устойчивости**:

- **монорезистентность** – устойчивость к одному из противотуберкулезных препаратов;

- **полирезистентность** – устойчивость к двум и более препаратам;

- **множественная лекарственная устойчивость (МЛУ)** – устойчивость к изониазиду и рифампицину одновременно, независимо от наличия устойчивости к другим препаратам;

- **суперустойчивость (XDR)** – множественная лекарственная устойчивость в сочетании с устойчивостью к фторхинолонам и одному из инъекционных препаратов (канамицин, амикацин, капреомицин);

- **перекрестная устойчивость** – возникновение устойчивости к одному препарату влечет за собой устойчивость к другим препаратам внутри одной группы.

Основным механизмом формирования лекарственной резистентности у возбудителя туберкулеза является **селекция мутантов** и их адаптация. Лекарственная резистентность *M. tuberculosis* может носить как хромосомный, так и плазмидный характер. Устойчивость к лекарственным препаратам у микобактерий также определяется IS-последовательностями.

В 1993 г. ВОЗ рекомендовала использовать для борьбы с туберкулезом стратегию **DOTS** (Directly Observed Treatment, Short-course) – контролируемое лечение короткими курсами. Основными принципами DOTS являются:

- бактериоскопическая диагностика заболевания;
- надежная поставка лекарств;
- контроль за лечением;
- регулярная оценка результатов.

**Профилактика туберкулеза** включает соблюдение правил гигиены, диспансеризацию с постановкой кожных проб и специфическую профилактику.

Для специфической профилактики применяют живую туберкулезную вакцину БЦЖ (рисунок 7.89).



Рисунок 7.89 – Вакцина туберкулезная БЦЖ.

Вакцина вводится новорожденным на 2-5 день жизни внутрикожно. На месте введения вакцины формируется инфильтрат с небольшим узелком в центре. Обратное развитие инфильтрата происходит в течение 3-5 месяцев. Ревакцинация – в 7 и 14 лет лицам с отрицательной реакцией Манту. Для ослабленных детей применяют вакцину БЦЖ-М (доза антигена уменьшена в 2 раза).

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Расскажите об истории изучения возбудителей туберкулеза.
2. Расскажите о таксономическом положении возбудителей туберкулеза.
3. Опишите морфологические и тинкториальные свойства микобактерий туберкулеза.
4. Расскажите о культуральных свойствах микобактерий туберкулеза.
5. Опишите резистентность микобактерий туберкулеза.
6. Охарактеризуйте факторы патогенности микобактерий туберкулеза.
7. Каким образом происходит заражение человека туберкулезом?
8. Расскажите о патогенезе туберкулеза.
9. Каковы клинические симптомы туберкулеза?
10. Как осуществляется лабораторная диагностика туберкулеза?
11. Как проводится туберкулинодиагностика?
12. Расскажите о принципах лечения туберкулеза.
13. Как проводится специфическая профилактика туберкулеза?

### Тренировочные тесты

1. *M. tuberculosis* открыт (один правильный ответ):
  - 1.1 Л. Пастером
  - 1.2 А. Кальметом
  - 1.3 Р. Кохом

- 1.4 К. Пирке
- 1.5 И.И. Мечниковым
2. Возбудители туберкулеза относятся к домену (один правильный ответ):
  - 2.1 бактерии
  - 2.2 грибы
  - 2.3 растения
  - 2.4 животные
  - 2.5 археи
3. Основным возбудителем туберкулеза человека является (один правильный ответ):
  - 3.1 *M. avium*
  - 3.2 *M. tuberculosis*
  - 3.3 *M. bovis*
  - 3.4 *M. africanum*
  - 3.5 *M. microti*
4. Отличительной особенностью микобактерий является (один правильный ответ):
  - 4.1 наличие оформленного ядра
  - 4.2 проникновение через неповрежденную кожу
  - 4.3 высокое содержание в клеточной стенке липидов
  - 4.4 образование экзотоксина
  - 4.5 синтез ферментов патогенности
5. Особенности микобактерий являются (несколько правильных ответов):
  - 5.1 высокая кислотоустойчивость
  - 5.2 способность к спорообразованию
  - 5.3 способность к синтезу эндотоксинов
  - 5.4 внутриклеточное выживание
  - 5.5 способность синтезировать токсин
6. Особенности микобактерий являются (несколько правильных ответов):
  - 6.1 подвижность
  - 6.2 устойчивость во внешней среде
  - 6.3 требовательность к питательным средам
  - 6.4 щелочеустойчивость
  - 6.5 проникновение в организм половым путем
7. Для окраски микобактерий используют метод (один правильный ответ):
  - 7.1 Бурри-Гинса
  - 7.2 Романовского-Гимзы
  - 7.3 Нейссера
  - 7.4 Циля-Нельсена
  - 7.5 Леффлера
8. Для культивирования микобактерий применяют среды (один правильный ответ):
  - 8.1 МПА

- 8.2 МПБ
- 8.3 Плоскирева
- 8.4 Эндо
- 8.5 Левенштейна-Йенсена

9. На среде Левенштейна-Йенсена микобактерии туберкулеза образуют колонии в виде (один правильный ответ):

- 9.1 битого стекла
- 9.2 кружевных платочков
- 9.3 цветной капусты
- 9.4 маргариток
- 9.5 ромашек

10. Факторами патогенности микобактерий являются (один правильный ответ):

- 10.1 эндотоксин
- 10.2 экзотоксин
- 10.3 липиды
- 10.4 ЛПС
- 10.5 плазмокоагулаза

11. Источником инфекции при туберкулезе являются (несколько правильных ответов):

- 11.1 бактерионосители
- 11.2 больной человек – бактериовыделитель
- 11.3 больное животное
- 11.4 предметы обихода
- 11.5 вода

12. Пути передачи туберкулеза (несколько правильных ответов):

- 12.1 контактный
- 12.2 воздушно-капельный
- 12.3 трансмиссивный
- 12.4 алиментарный
- 12.5 половой

13. У человека туберкулезом поражается чаще всего (один правильный ответ):

- 13.1 желудочно-кишечный тракт
- 13.2 мочеполовая система
- 13.3 органы дыхания
- 13.4 органы кроветворения
- 13.5 опорно-двигательный аппарат

14. Особенность иммунитета при туберкулезе (один правильный ответ):

- 14.1 врожденный
- 14.2 трансплацентарный
- 14.3 нестерильный

- 14.4 антитоксический
- 14.5 стерильный
15. Минимальное количество микобактерий туберкулеза в 1 мл мокроты, выявляемое прямой микроскопией (один правильный ответ):
- 15.1 более  $10^9$
- 15.2 не менее  $10^5$
- 15.3 5000-10000
- 15.4 20-100
- 15.5 1-10
16. Методы специфической профилактики туберкулеза (один правильный ответ):
- 16.1 экстренная профилактика антибиотиками
- 16.2 вакцинация
- 16.3 введение сыворотки
- 16.4 использование иммуноглобулина
- 16.5 флюорография
17. Для профилактики туберкулеза используют вакцину (один правильный ответ):
- 17.1 ТАВТе
- 17.2 СТИ
- 17.3 Гайского
- 17.4 БЦЖ
- 17.5 ВАН<sup>№19</sup>
18. Вакцина БЦЖ была получена (один правильный ответ):
- 18.1 Пирке
- 18.2 Кальметтом и Гереном
- 18.3 Манту
- 18.4 Пастером
- 18.5 Кохом
19. Вакцина БЦЖ представляет собой (один правильный ответ):
- 19.1 инактивированную вакцину
- 19.2 синтетическую вакцину
- 19.3 генно-инженерную вакцину
- 19.4 живую аттенуированную вакцину
- 19.5 химическую вакцину
20. Вакцина БЦЖ включает (один правильный ответ):
- 20.1 инактивированные клетки
- 20.2 живые клетки микобактерий бычьего типа
- 20.3 живые клетки микобактерий человеческого типа
- 20.4 продукты жизнедеятельности микобактерий
- 20.5 живые микобактерии птичьего типа
21. Проба Манту используется для (один правильный ответ):



- 21.1 определения эффективности терапии
  - 21.2 определения необходимости ревакцинации
  - 21.3 определения чувствительности к антибиотикам
  - 21.4 идентификации микобактерий
  - 21.5 определения титра специфических антител
22. PPD содержит (один правильный ответ):
- 22.1 убитые микобактерии бычьего типа
  - 22.2 живые микобактерии бычьего типа
  - 22.3 смесь фильтратов убитых нагреванием культур микобактерий человеческого и бычьего типов
  - 22.4 лиофилизированные микобактерии человеческого типа
  - 22.5 убитые микобактерии человеческого типа
23. Терапия туберкулеза предусматривает (несколько правильных ответов):
- 23.1 проведение кратковременных курсов монотерапии
  - 23.2 длительное применение одного препарата
  - 23.3 одновременное применение нескольких препаратов
  - 23.4 длительное применение препаратов
  - 23.5 периодическое определение чувствительности выделяемых культур к антибиотикам.

Правильные ответы: 1.3; 2.1; 3.2; 4.3; 5.1, 5.4; 6.2, 6.3, 6.4; 7.4; 8.5; 9.3; 10.3; 11.2, 11.3; 12.1, 12.2, 12.4; 13.3; 14.3; 15.2; 16.2; 17.4; 18.2; 19.4; 20.2; 21.2; 22.3; 23.3, 23.4, 23.5.

## 8. Спирохеты

Спирохеты представляют собой извитые (штопороподобные) тонкие микроорганизмы (греч. *spira* - спираль, виток, *chaite* - волос). Спирохеты относятся к типу (филуму) *Spirochaetes*, классу *Spirochaetia*, порядку *Spirochaetales*. В состав этого порядка входят семейства *Spirochaetaceae* (рода *Treponema* и *Spirochaeta*), семейство *Borreliaceae* (род *Borrelia*) и семейство *Leptospiraceae* (род *Leptospira*). К роду *Treponema* относится возбудитель сифилиса, к роду *Borrelia* – возбудители клещевых боррелиозов, к роду *Leptospira* - возбудитель лептоспироза.

Спирохеты по морфологическим и физиологическим признакам сильно отличаются от других микробов. Тело спирохет представлено цитоплазматическим (протоплазматическим) цилиндром, покрытым цитоплазматической мембраной и плотно прилегающей к ней клеточной стенкой, состоящей из пептидогликана (рисунок 8.1).

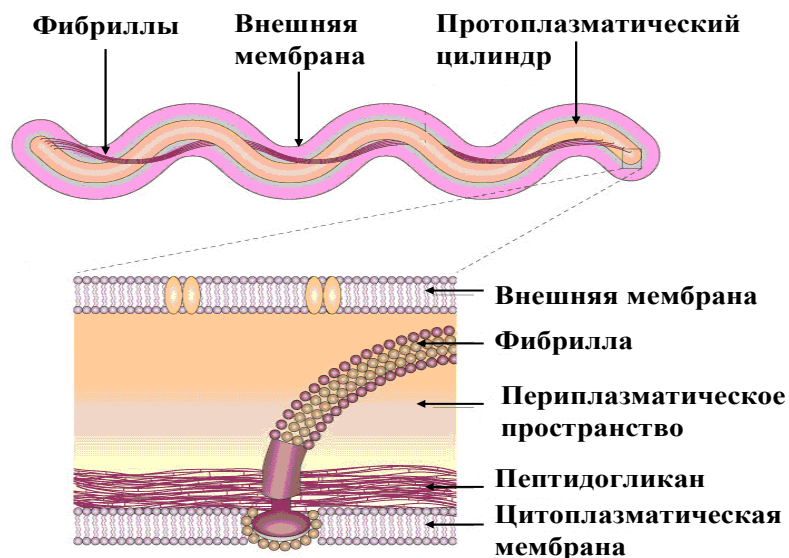


Рисунок 8.1 – Строение спирохет. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Цитоплазматический цилиндр штопорообразно навит на осевую (аксиальную) нить, состоящую из отдельных фибрилл. У разных видов спирохет разное количество фибрилл. **Фибриллы** состоят из белка флагеллина и являются двигательным аппаратом спирохет. Однако фибриллы спирохет имеют особенность. Они не выходят за пределы клетки. Один конец каждой фибриллы прикреплен к специальным тельцам (**блефаропластам**), расположенным на полюсах цилиндра, а другой конец фибрилл остается свободным. Из обоих концов клетки выходит одинаковое количество фибрилл. Общее число фибрилл на клетку варьирует от 2 до 100 и более в зависимости от вида спирохет. Фибриллы обеспечивают спирохетам 3 типа движения:

- поступательное движение (волнообразное или змеевидное перемещение);
- вращательное движение (вращение вокруг продольной оси);
- сгибательное движение (маятникообразное).

Снаружи цитоплазматический цилиндр и фибриллы покрыты тонкой и эластичной **внешней мембраной**, которая напоминает внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий, но не содержит ЛПС.

По Граму спирохеты окрашиваются отрицательно, но плохо воспринимают анилиновые красители. Дифференциальным методом окраски является метод Романовского-Гимзы: при этом спирохеты окрашиваются в фиолетово-красный цвет.

Спирохеты малоустойчивы во внешней среде.

## 8.1. Трепоне́мы

Род трепонем включает несколько видов. Среди трепонем имеются непатогенные представители нормального микробиоценоза ротовой полости (*T. denticola*, *T. macrodenticum*), условно-патогенные виды (*T. vincentii* – возбудитель язвенно-плёчатой некротической ангины Симановского-Плаута-Венсана в ассоциации с фузобактериями) и патогенные виды (*T. pallidum* – возбудитель сифилиса).

**Сифилис** (syphilis, lues, французская болезнь, итальянская болезнь, немецкая болезнь, любовная чума) - хроническое инфекционное заболевание человека, характеризующееся первичным аффектом с поражением слизистых оболочек и кожи в месте входных ворот инфекции, с последующими полиорганными поражениями (вовлечением в процесс внутренних органов, костей, нервной системы) и прогрессирующим течением (периоды активных проявлений чередуются с периодами латентности).

В России заболеваемость сифилисом остается на высоком уровне. Так, в 1991 г. заболеваемость сифилисом составляла 7,1 случая на 100 тысяч населения, в 1998 г. – 277,2 случая на 100 тысяч населения, в 2009 г. – 53,3 случая на 100 тысяч населения, в 2010 г. – 49,9 случая на 100 тысяч населения, в 2011 г. – 37,9 случая на 100 тысяч населения.

**Историческая справка.** Первое описание сифилиса представлено в поэме Д. Фракасторо “Сифилис, или о галльской болезни”, вышедшей в 1530 г. (рисунок 8.2).

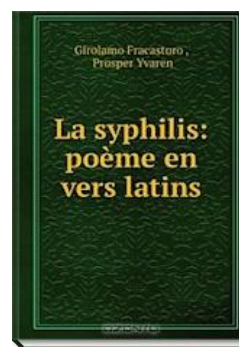


Рисунок 8.2 – Джироламо Фракасторо (Girolamo Fracastoro, 1478–1553 гг.) и его поэма о сифилисе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Он описал в стихотворной форме заболевание у пастуха по имени Сифилус, который разгневал богов Олимпа и был наказан ужасной болезнью. Все тело Сифилуса было поражено сыпью, бубонами и язвами.

Существует 3 основных гипотезы происхождения сифилиса: американская, европейская и африканская. Согласно американской гипотезе, в Европу сифилис занесли матросы с кораблей Колумба от аборигенов острова Гаити. К 1500 г. сифилис распространился уже по всей Европе, Северной Африке, Турции, Китаю и Индии. Доказательством этой гипотезы является установление родственной генетической связи возбудителя сифилиса с южноамериканскими трепонемами.

Согласно европейской гипотезе, описания клинических симптомов, напоминающих поражения при сифилисе, встречаются в работах Гиппократ, Галена, Авиценны и других ученых. В подтверждение этой гипотезы приводятся характерные для сифилиса поражения костей древних людей, проживавших в Европе.

Согласно африканской гипотезе, возбудители сифилиса, фрамбезии, пинты и беджеля (эндемического сифилиса) произошли от единого предка в период раннего неолита. Из Африки сифилис в последующем распространился в результате войн, вывоза рабов, торговых связей.

В России первые случаи сифилиса были отмечены в 1499 г. В 1763 г. в Санкт-Петербурге была открыта специализированная больница, первым заведующим которой был Д.С. Самойлович. В 1869 г. при Медико-хирургической академии в Санкт-Петербурге впервые открылись кафедры дерматологии и сифилидологии, что позволило повысить качество медицинской помощи населению.

Возбудитель сифилиса был открыт 3 марта 1905 г. немецкими учеными Ф. Шаудином и Э. Хоффманном (рисунок 8.3).



А



Б

Рисунок 8.3 – А - Фритц Шаудинн (Fritz Schaudinn, 1871–1906 гг.); Б – Эрих Хоффманн (Erich Hoffmann, 1868-1959 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Известно, что протозоолог Ф. Шаудин обнаружил возбудителя в поле зрения микроскопа в неокрашенных мазках, приготовленных венерологом Э. Хоффманном из папулы больной сифилисом женщины.

В 1906 г. немецкий ученый А. Вассерманн (рисунок 8.4) совместно с А. Нейссером и К. Бруком предложил серологическую реакцию для диагностики сифилиса (реакцию Вассерманна).



Рисунок 8.4 – Август Пауль фон Вассерманн (August Paul von Wassermann, 1866-1925 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1949 г. американские иммунологи Р.А. Нельсон (R.A. Nelson) и М.М. Майер (M.M. Mayer) предложили серологическую реакцию иммобилизации трепонем (РИБТ – реакция иммобилизации бледных трепонем, Nelson-Mayer test, ТПИ – *Treponema pallidum* immobilization test). В основе реакции лежит способность сыворотки крови больных сифилисом обездвиживать бледные трепонемы (сыворотка крови здоровых людей этой способностью не обладает). Эта реакция дает положительные результаты при всех трепанематозах, поэтому непригодна для дифференциальной диагностики заболеваний, вызванных разными трепонемами.

В 1909 г. немецкий врач основатель химиотерапии П. Эрлих (рисунок 8.5) предложил для лечения сифилиса первый противосифилитический препарат сальварсан (препарат “606”, “спасительный мышьяк”), а в 1912 г. – неосальварсан (препарат “914”).

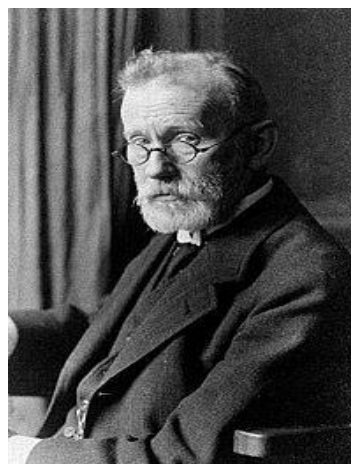


Рисунок 8.5 – Пауль Эрлих (Paul Ehrlich, 1854-1915 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

После открытия антибиотиков началась новая эра в лечении сифилиса. До настоящего времени антибиотикотерапия является наиболее эффективным методом лечения сифилиса.

**Таксономическое положение.** Возбудитель сифилиса (*Treponema pallidum*) относится к роду *Treponema*, семейству *Spirochaetaceae*, порядку *Spirochaetales*,

классу *Spirochaetia*, типу (филуму) *Spirochaetes*. Род *Treponema* включает патогенный для человека вид *T. pallidum* с 4 подвидами: *T. pallidum pallidum* – возбудитель сифилиса, *T. pallidum endemicum* – возбудитель беджеля (эндемического сифилиса, невенерического сифилиса детского возраста), *T. pallidum pertenue* – возбудитель фрамбезии (тропической гранулемы, невенерического сифилиса) и *T. carateum* – возбудитель пинты (карате).

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Трепонемы (греч. *trepo* – вращаться, *nema* – нить) представляют собой тонкие спиралевидные длинные микроорганизмы, имеющие 8-12 завитков. Длина клеток составляет 8-20 мкм, диаметр 0,25-0,35 мкм. Завитки расположены на равном расстоянии друг от друга (рисунок 8.6).



Рисунок 8.6 – Трепонема, сканирующая электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Трепонемы подвижны, их движения плавные, что является важным дифференциально-диагностическим признаком.

**Геном** *T. pallidum* представлен кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК.

Тело трепонем имеет характерную для спирохет форму и представляет собой цитоплазматический цилиндр, покрытый цитоплазматической мембраной и плотно прилегающим к ней слоем пептидогликана. Цитоплазматический цилиндр содержит цитоплазму, нуклеоид, рибосомы и мезосомы. Цилиндр штопорообразно навит на осевую (**аксиальную**) нить, состоящую из сплетения фибрилл. Один конец каждой фибриллы прикреплен к **блефаропластам**, расположенным на полюсах цилиндра и укрепленным в цитоплазматической мембране (рисунок 8.7).

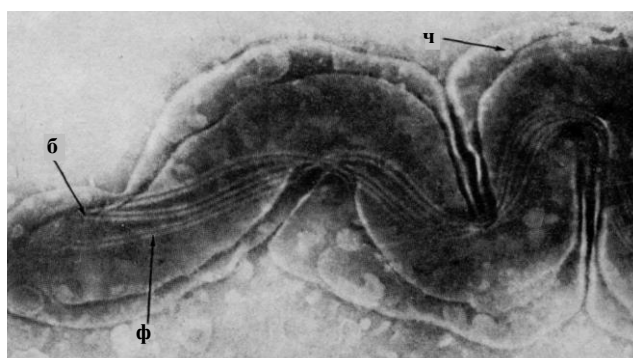


Рисунок 8.7 – Электронная фотография *T. pallidum*: б – блефаропласт; ф – фибриллы; ч – чехол (Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д., 1976).

Другой конец фибрилл остается свободным и заканчивается на противоположном конце цилиндра. Из обоих концов клетки выходит одинаковое количество фибрилл. У разных видов трепонем имеется по 3-10 фибрилл с каждой стороны, у *T. pallidum* с каждого конца отходит по 3 фибриллы. Таким образом, жгутики спирохет располагаются внутриклеточно. Схема строения трепонем представлена на рисунке 8.8.

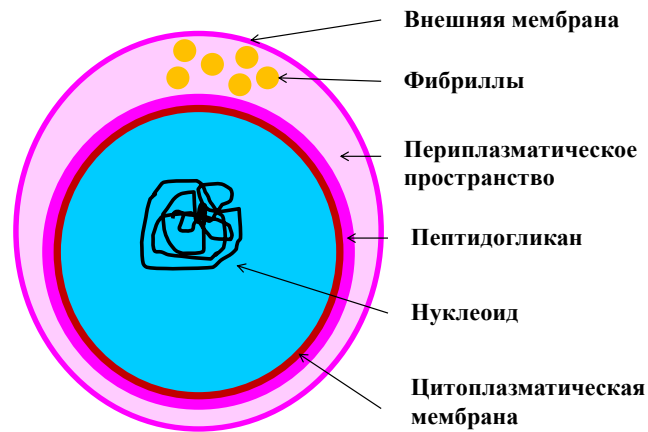


Рисунок 8.8 – Схема строения трепонем (поперечный разрез).

Бледная трепонема не образует спор и капсул. Однако в организме человека и некоторых экспериментальных животных возбудитель может синтезировать бесструктурное слизиобразное (капсулоподобное) вещество (**чехол**) мукополисахаридной природы.

Цикл развития бледной трепонемы составляет 30-33 часа. Размножение трепонем происходит путем поперечного деления (рисунок 8.9).

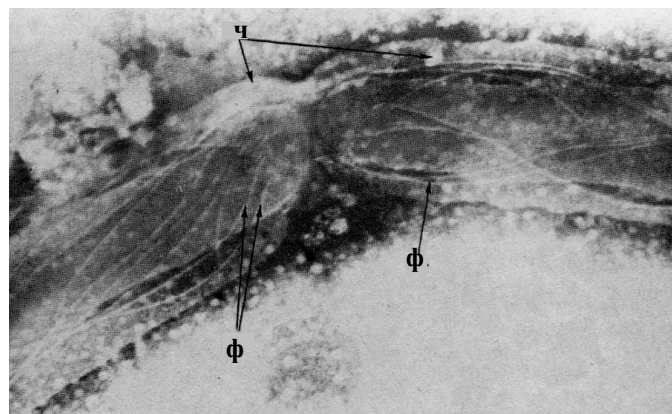


Рисунок 8.9 – Поперечное деление трепонем: ч – капсулоподобный чехол; ф – фибриллы. Видна поперечная перегородка (Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д., 1976).

Фибриллы обеспечивают спирохетам различные виды движения. В отличие от сапрофитных трепонем для возбудителя сифилиса характерны следующие виды движений:

- поступательное движение;
- вращательное движение (вращение вокруг продольной оси);

- сгибательное движение (маятникообразное);
- волнообразное (контрактивное).

По Граму трепонемы окрашиваются в розовый цвет (грамотрицательные), но очень слабо. Дифференциальным методом окраски является метод Романовского-Гимзы, при котором трепонемы окрашиваются в бледно-розовый цвет, в результате чего трепонемы называют “бледной спирохетой или бледной трепонемой” (рисунок 8.10).

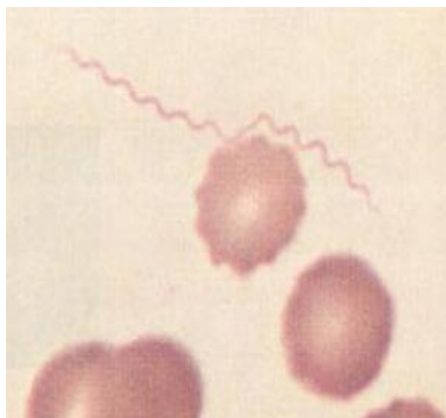


Рисунок 8.10 – Возбудитель сифилиса, окраска по методу Романовского-Гимзы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для окраски трепонем применяют также метод протравливания, метод импрегнации серебром по Морозову, метод флюоресцирующих антител (РИФ). Для визуализации трепонем в неокрашенном живом состоянии применяют метод темнопольной микроскопии (рисунок 8.11).

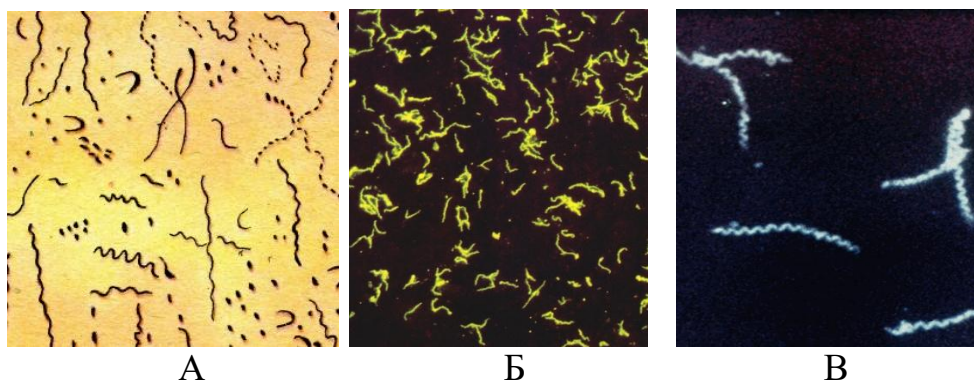


Рисунок 8.11 – Микроскопическая картина *T. pallidum*: А – серебрение по Морозову (Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д., 1976); Б – РИФ; В – темнопольная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При неблагоприятных условиях спирохеты способны формировать **цисты** покоя и L-формы. Образование цист происходит путем сворачивания нескольких трепонем в клубок, который покрывается общей муциноподобной оболочкой, защищающей бактерии от действия неблагоприятных факторов, в том числе лекарственных средств. В виде цист трепонемы могут существовать длительное время, не оказывая на организм патогенного влияния. Формирование цист обуславливает резистентность некоторых больных к противосифилитической



терапии. При благоприятных условиях происходит реверсия цист в исходную форму, то есть образование вегетативных форм (рисунок 8.12).

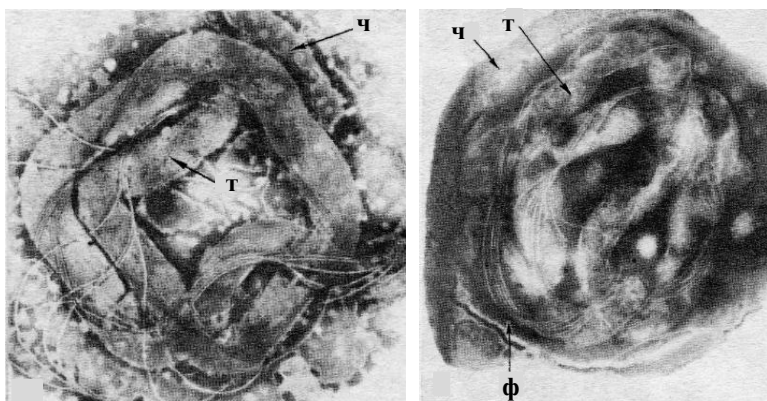


Рисунок 8.12 – Цисты трепонем, электронная микроскопия: ч – чехол, т – трепонемы, ф – фибриллы (Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д., 1976).

При неблагоприятных условиях в организме (в частности, под влиянием антибиотиков, сульфаниламидов) трепонемы способны образовывать L-формы (рисунок 8.13).

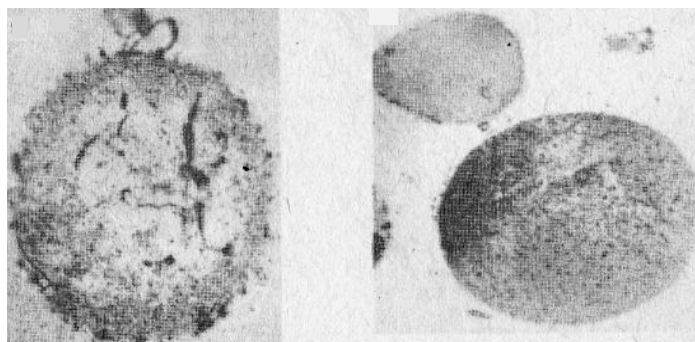


Рисунок 8.13 – L-формы *T. pallidum* (Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д., 1976).

**Культуральные свойства.** Возбудитель сифилиса является микроаэрофилом. Бледная трепонема плохо растет на питательных средах, поэтому культуральное исследование при диагностике сифилиса в лабораторной практике не применяется. Культивируемые на питательных средах спирохеты теряют патогенные свойства. Для получения культуры трепонем возбудитель сифилиса культивируется путем заражения кроликов. Размножение бледной трепонемы происходит в узком интервале температур – около 37°C.

**Биохимические свойства** трепонем изучены слабо. Некоторые штаммы разлагают глюкозу, галактозу, сахарозу, мальтозу и маннит с образованием кислоты (бродильный метаболизм); образуют индол и сероводород; разжижают желатину. Трепонемы не продуцируют каталазу, уреазу, оксидазу, не восстанавливают нитраты.

**Резистентность.** В окружающей среде трепонемы быстро погибают. При 60°C они инактивируются в течение 15 минут, при 100°C – моментально. При низкой температуре они сохраняются до 50 суток, при замораживании – до года.

Трепонема быстро погибает при воздействии дезинфицирующих веществ, чувствительна к антибиотикам (пенициллину, эритромицину, карбенициллину и др.). Во влажном отделяемом бледная трепонема живет до 12 и более часов. На предметах домашнего обихода трепонема сохраняет патогенные свойства до высыхания отделяемого. Длительное время (до 110 дней) сохраняются в тканях трупа. Заражение от трупа возможно в первые двое суток.

**Антигенная структура.** У возбудителя сифилиса определяются белковые, полисахаридные и липидные антигены. Наиболее известным является так называемый “**антиген Вассерманна**” или “**кардиолипидный антиген**”. Он содержится не только в составе трепонем, но и в сердечной мышце млекопитающих, поэтому экстракт липопротеидов из сердца быка используется в диагностических серологических реакциях. По своей химической структуре этот антиген представляет собой дифосфадилглицерин. Антитела к этому антигену образуются только у больных сифилисом, что используется при диагностике заболевания (реакция Вассерманна – реакция связывания комплемента).

**Антигены белковой природы** являются общим для патогенных и сапрофитных трепонем. Они термолабильные, разрушаются при 70-80<sup>0</sup>С.

**Антигенный комплекс белка с РНК** используется в реакции иммобилизации бледных трепонем (РИБТ или РИТ).

Антигены наружной мембраны возбудителя сифилиса, состоящие из фосфолипидов, называются **реагинами**.

**Факторы патогенности** бледной трепонемы:

- **белки внешней мембраны** Tromp1 и Tromp2 (Treponema pallidum rare outer membrane protein 1, 2 – редкие белки наружной мембраны), способствующие адгезии возбудителя на клетках хозяина;
- **гиалуронидаза**, облегчающая распространение возбудителя по тканям и периваскулярную инфильтрацию тканей;
- **ускользание от фагоцитоза** за счет образования на своей поверхности слоя фибронектина;
- **периплазматические жгутики** (фимбрии), обеспечивающие хемотаксис и способность внедряться в межклеточное пространство эндотелия;
- формирование **полимембранных фагосом**, обеспечение незавершенного фагоцитоза и длительное сохранение трепонем в организме.

Факторы патогенности бледной трепонемы представлены на рисунке 8.14.

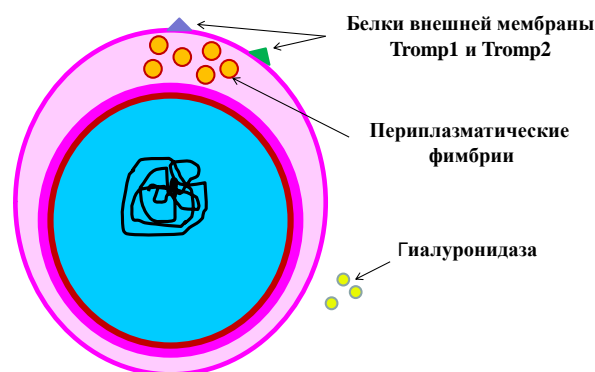


Рисунок 8.14 – Факторы патогенности возбудителя сифилиса.

**Эпидемиология и патогенез сифилиса. Источник инфекции** – больной сифилисом человек. Наибольшую опасность представляют больные с активными проявлениями сифилиса в первичном и вторичном периодах. Больные с поздними формами сифилитической инфекции мало контагиозны. В естественных условиях болеет только человек, животные не восприимчивы к данному заболеванию. В экспериментальных целях возможно заражение обезьян и кроликов. Заболевание у человека распространено повсеместно. По данным ВОЗ, ежегодно в мире заболевает сифилисом около 50 млн. человек.

**Механизм передачи** – контактный. **Основной путь передачи** – половой, реже – контактно-бытовой и трансплацентарный. Возбудитель не способен проникать через плаценту в первом триместре беременности, поэтому лечение матери в эти сроки препятствует инфицированию плода.

Проникновению возбудителя в организм препятствуют следующие естественные барьеры:

- неповрежденная кожа за счет продуктов потовых и сальных желез (молочной кислоты, жирных кислот);
- слизь половых путей за счет вязкости (препятствие продвижению возбудителя);
- бактерицидные компоненты организма (спермин, лизоцим, бактерицидные протеолитические ферменты);
- нормальная микробиота организма (например, палочки Дедерлейна во влагалище);
- фагоцитоз.

Существует возможность заражения медицинского персонала при выполнении своих профессиональных обязанностей: при осмотре больных, лечебных манипуляциях, при вскрытии трупов больных сифилисом. Кровь больных сифилисом наиболее заразна в инкубационном периоде, при первичном и свежем вторичном сифилисе. Большое количество бледных трепонем находится в слюне больных с локализацией очага в полости рта. При оказании стоматологической помощи таким пациентам возможно инфицирование стоматолога, особенно при наличии микротравм на коже рук.

**Патогенез.** Заражение сифилисом происходит через микротравмы кожи или слизистых оболочек половых путей, рта, прямой кишки. После проникновения в организм *T. pallidum* взаимодействует с фибронектином и другими клеточными рецепторами организма. После адгезии благодаря винтообразным движениям трепонемы входят в контакт с эндотелием сосудов и разрушают соединительную ткань вокруг сосудов, в результате чего стенки сосудов спадаются. Развивается тромбоз, эндопериартерииты, некроз и изъязвление тканей. В результате этого возникает первичный аффект в виде уплотненной папулы. Затем поверхность ее некротизируется с образованием эрозии или язвы с четкими границами. Бледная трепонема при этом находится в межэпителиальном пространстве, в инвагинациях клеток эндотелия, внутри лимфатических сосудов и лимфоузлов.

В последующем возбудитель мигрирует в лимфатические узлы, а затем в кровь. С током крови он диссеминирует по организму. Со временем развиваются иммунные реакции организма, препятствующие дальнейшему распространению возбудителя, но не обеспечивающие полной элиминации трепонем.

Схема патогенеза сифилиса представлена на рисунке 8.15.

Заражение		
Периоды болезни	Локализация возбудителя	Клинические проявления
Инкубационный	Размножение в месте входных ворот	Отсутствуют
Первичный сифилис	Депонирование в тканях вокруг кровеносных сосудов	Твердый шанкр (первичная сифилома)
Вторичный сифилис	В крови, органах и тканях	Пятнистый или папулезный сифилид
Третичный сифилис	В органах и тканях	Гуммозный или бугорковый сифилид

Рисунок 8.15 – Схема патогенеза сифилиса.

Течение сифилиса при отсутствии эффективного лечения характеризуется двумя особенностями:

- волнообразным течением (смена активных проявлений заболевания периодами скрыто протекающей инфекции);
- постепенным изменением характера поражения органов и тканей (по мере прогрессирования заболевания поражения принимают более тяжелый характер).

Сифилис протекает циклически, в несколько стадий (периодов). Однако последовательность стадий наблюдается не всегда. Периоды последовательно сменяют друг друга только при отсутствии специфической терапии.

**Клиническая картина сифилиса.** В соответствии с Международной классификацией болезней 10 пересмотра (МКБ-10) вместо стадий выделяют следующие клинические формы сифилиса:

- ранний сифилис (первичный сифилис, вторичный сифилис, ранний сифилис скрытый, ранний сифилис неуточненный);
- поздний сифилис (поздний сифилис скрытый, кардиоваскулярный сифилис, нейросифилис и другие формы сифилиса);
- врожденный сифилис (ранний врожденный сифилис, поздний врожденный сифилис и другие формы).

В повседневной практике традиционно течение сифилиса подразделяется на следующие периоды:

- инкубационный период;
- первичный сифилис;
- вторичный сифилис;
- третичный сифилис.

**Инкубационный период** в среднем длится 3-4 недели с момента заражения. Если в течение инкубационного периода применяются антибиотики, продолжительность инкубационного периода может увеличиваться до 3-4 месяцев. В течение инкубационного периода трепонемы преимущественно лимфогенным путем постепенно распространяются по организму, достигая региональных лимфатических

узлов. Уже в первые дни после заражения трепонемы в небольшом количестве проникают в кровь. Таким образом, к началу первичного сифилиса возбудитель распространяется по организму. Инкубационный период продолжается от момента проникновения возбудителя в организм до возникновения в месте входных ворот твердого шанкра.

**Первичный** сифилис начинается с появления на месте внедрения возбудителя первичной сифиломы (твёрдого шанкра, первичного аффекта, первичной эрозии, первичного склероза) – первого клинического признака сифилиса. Он возникает через 3-4 недели после заражения на месте внедрения бледной трепонемы. **Твердый шанкр** представляет собой неглубокую, с ровными краями, блюдцеобразную, практически безболезненную, некровоточащую, резко отграниченную от окружающих тканей язвочку. Основание и края язвочки имеет плотную хрящеподобную консистенцию, от чего и произошло название - твердый шанкр. Твёрдый шанкр может локализоваться на коже и слизистой оболочке половых органов, на красной кайме губ, реже - на слизистых оболочках щек, твердого и мягкого неба, на миндалинах и в других местах. Поэтому атипичная локализация твердого шанкра проявляется в виде шанкра - панариция (на пальцах рук), шанкра - амигдалита (в ротоглотке). Различные варианты твердого шанкра представлены на рисунке 8.16.



а

б

в

Рисунок 8.16 – Твердый шанкр на половом члене (а), шанкр-панариций (б) и шанкр – амигдалит (в). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В течение первичного сифилиса трепонемы в большом количестве поступают в кровь и распространяются по организму. Через 7-10 дней от начала болезни наблюдается увеличение лимфатических узлов (полилимфаденит). При этом развивается генерализованная **спирохетемия**. В результате генерализации процесса могут наблюдаться головная боль, слабость, бессонница. Со временем твёрдый шанкр бесследно исчезает. Продолжительность первичного сифилиса составляет 6-8 недель. Первичный сифилис продолжается до возникновения на коже и слизистых оболочках специфической сыпи.

Первичный сифилис подразделяется на 2 периода: серонегативный и серопозитивный. В серонегативной периоде (3-4 недели после появления шанкра) кардиолипидные тесты отрицательные. В серопозитивном периоде серологические реакции становятся положительными.

**Вторичный сифилис** - это фаза генерализованной инфекции с поражением кожи, внутренних органов и нервной системы. Трепонемы в большом количестве поступают в кровь и распространяются по организму. Вторичный сифилис

наступает через 6-8 недель после появления твердого шанкра или через 9-10 недель после заражения. Клинически вторичный сифилис проявляется беспорядочно расположенными высыпаниями (розеолами, папулами, пустулами) на коже и слизистых оболочках. Элементы высыпаний отличаются поверхностным расположением и исчезают без следа (рисунок 8.17).



Рисунок 8.17 – Высыпания на коже при вторичном сифилисе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Часто отмечается шелушение папул, причем в центре оно быстро прекращается, что приводит к образованию вокруг папул ободка периферического шелушения – так называемого “воротничка Биетта” (L.Th. Biett, французский дерматолог, 1781-1840 гг.). Локализация сифилитической сыпи на лбу в краевой зоне роста волос называется “коронай Венеры” (сифилитическим венцом, венцом Венеры). Наличие мелких белых (гипопигментированных) пятен на коже шеи и плеч называется ожерельем Венеры (сифилитической лейкодермой).

При вторичном сифилисе наблюдается увеличение различных групп лимфатических узлов (полилимфаденит), лихорадка, головная боль, боли в мышцах, суставах, слабость, бессонница. Значительно реже поражаются внутренние органы. Активные проявления сифилиса сменяются периодом скрытой, латентной инфекции, вслед за которым вновь возникает рецидив. При каждом новом рецидиве количество элементов высыпаний уменьшается, а длительность межрецидивных периодов увеличиваются. Общее состояние больных в этот период мало нарушено. Элементы высыпаний содержат большое количество жизнеспособных трепонем. Трепонемы обнаруживаются в большинстве органов и тканей, несмотря на наличие высоких концентраций противотрепонемных антител.

В полости рта вторичный сифилис характеризуется появлением розеол или папул, чаще всего они локализуются на миндалинах, небных дужках, мягком небе, реже – на слизистой оболочке щек, губ, языка, десен. При наличии высыпаний в ротовой полости субъективные ощущения отсутствуют.

Продолжительность вторичного сифилиса (без лечения) колеблется от 2 до 10 и более лет. Число рецидивов может быть 3-4 и более.

В некоторых случаях через 3-3,5 месяца после заражения развивается вторичный сифилис без проявлений первичного сифилиса (без формирования твердого шанкра) – так называемый **обезглавленный сифилис**. Такое развитие заболевания наблюдается в случае проникновения возбудителя непосредственно в кровь (в частности, у патологоанатомов, акушеров-гинекологов).

**Третичный сифилис** возникает не ранее 3-5 лет от момента заражения у больных, которые недостаточно или совсем не лечились (примерно у 30% нелеченых больных). Продолжительность третичного сифилиса составляет несколько лет. Третичный сифилис проявляется образованием бугорков (инфекционных гранул с характерным строением) или гумм. Этот период сифилиса характеризуется деструктивными изменениями в органах и тканях и тяжелыми функциональными расстройствами.

**Бугорок** имеет полушаровидную или плоскую форму, медно-красный цвет, плотную консистенцию, четкие границы. Бугорковые высыпания локализуются преимущественно на губах.

**Гумма** представляет собой узел величиной с грецкий орех, безболезненный, не спаянный с окружающей тканью. Гуммы формируются в коже (рисунок 8.18), костях, нервной ткани.



Рисунок 8.18 – Сифилитическая гумма. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Со временем центральная часть бугорка или гуммы некротизируется, образуется язва. Заживление гуммозной язвы продолжается в течение 3-4 месяцев и почти не сопровождается болезненными ощущениями. После заживления формируется глубокий втянутый рубец. Гуммы содержат небольшое количество трепонем, которые локализуются в глубине инфильтрата, поэтому больные в третичном периоде мало заразительны.

При третичном сифилисе в случае неадекватного лечения отмечаются многочисленные прогрессирующие деструктивные изменения различных органов и систем. В органах и тканях формируются гуммы, которые в последующем перерождаются в фиброзные рубцы (рисунок 8.19).



Рисунок 8.19 – Деструктивные изменения костной ткани при третичном сифилисе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

У части больных через 8-15 лет может развиваться **нейросифилис** – тяжелое поражение центральной нервной системы (сифилис мозга, спинная сухотка или прогрессирующий паралич).

У больной женщины в случае беременности плод инфицируется трансплацентарно. При этом развивается врожденный сифилис, приводящий часто к выкидышам во второй половине беременности или мертворождениям. В случае рождения жизнеспособного ребенка клинические симптомы заболевания проявляются сразу (**ранний врожденный сифилис**) или в возрасте 5-15 лет (**поздний врожденный сифилис**). Для раннего врожденного сифилиса характерны папулезно-розеолёзные высыпания, сифилитическая пузырчатка, поражения внутренних органов (печень, селезёнка) и нервной системы (менингиты, менингоэнцефалиты). Для позднего врожденного сифилиса характерны следующие симптомы: кератит, зубы Гетчинсона (верхние средние резцы имеют полулунную выемку по свободному краю), седловидный нос (рисунок 8.20), врожденная глухота, изменения большеберцовых костей (“саблевидные голени”), различные аномалии развития центральной нервной системы.

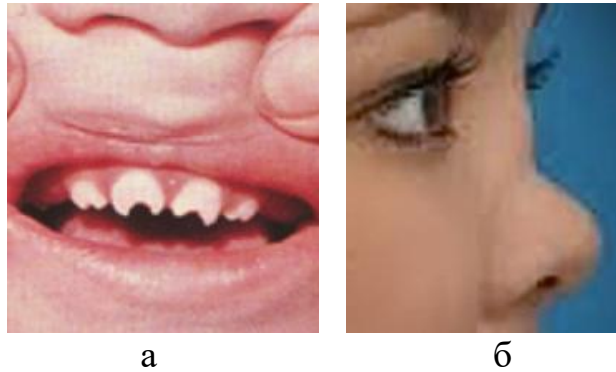


Рисунок 8.20 – Зубы Гетчинсона (а) и седловидный нос (б) при врожденном сифилисе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Эти изменения возникают при воздействии бледной трепонемы на ткани плода. Правильное лечение матери во время беременности предупреждает развитие врожденного сифилиса.

**Иммунитет** развивается через 10-14 дней после появления твердого шанкра и сохраняется до тех пор, пока в организме есть трепонемы (нестерильный инфекционный иммунитет). Максимальной активности иммунитет достигает во вторичном периоде. На второй неделе заболевания в организме вырабатываются IgM, а через 3-4 недели образуются IgG, которые сохраняются длительное время (годы и десятилетия).

Однако при сифилисе возможно развитие суперинфекции и реинфекции.

**Суперинфекция** – это новое заражение на фоне продолжающегося инфекционного процесса. Суперинфекция развивается:

- при повторном заражении в течение инкубационного периода и в первые 10-14 дней первичного периода, то есть пока не сформировался нестерильный иммунитет;

- у больных в позднем третичном периоде (незначительное количество трепонем в организме не в состоянии поддерживать на должном уровне иммунобиологическую реактивность организма);



- при недостаточном лечении, особенно в первичном периоде (недостаточное лечение препятствует формированию нестерильного иммунитета).

**Реинфекция** – это повторное заражение человека, ранее болевшего сифилисом, но излечившегося и утратившего инфекционный иммунитет.

**Диагностика сифилиса** регламентируется приказом Минздрава России от 26.03.2001 г. №87 “О совершенствовании серологической диагностики сифилиса”.

При диагностике сифилиса используются следующие методы:

- **прямые методы** - выявление возбудителя микроскопией в темном поле, заражением животных, молекулярно-биологическими методами детекции ДНК возбудителя;

- **непрямые серологические методы** - определение специфических антител.

Культуральные методы (посев материала на питательные среды и выделение чистой культуры возбудителя) при диагностике сифилиса не используются в связи с тем, что возбудитель практически не растет на питательных средах. Метод обнаружения возбудителя путем заражения кроликов в яичко (**RIT** – Rabbit infectivity test) в клинических лабораториях также не используется. В настоящее время биологический метод (заражение животных) применяется только в исследовательских учреждениях для оценки чувствительности других методов.

**Методами непосредственного выявления возбудителя** в исследуемом материале являются метод темнопольной микроскопии (обнаружение возбудителя) и полимеразная цепная реакция – ПЦР (установление наличия в биопробе ДНК возбудителя).

**Темнопольная микроскопия** служит основным методом прямой визуализации *T. pallidum*. Этот метод используется при манифестных клинических проявлениях заболевания. В качестве исследуемого материал используют отделяемое твердого шанкра, пунктат увеличенных лимфатических узлов, соскобы розеол, кровь, спинномозговую жидкость. Каплю исследуемого материала помещают на предметное стекло и накрывают покровным стеклом, на которое наносят иммерсионное масло. При микроскопии используют специальный темнопольный конденсор, объектив х40 и окуляр х10. В темном поле *T. pallidum* выглядит в виде тонкой серебристой спирали, совершающей плавные движения (рисунок 8.21).



Рисунок 8.21 – *T. pallidum*, темнопольная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В некоторых случаях требуется исследование **окрашенных препаратов**. Наиболее распространенными методами окраски являются импрегнация серебром по Морозову и окраска по Романовскому-Гимзе.

**ПЦР** является эффективным методом диагностики первичного и вторичного сифилиса: чувствительность метода составляет 70-90%, специфичность – 99%. Однако ПЦР в диагностике сифилиса в России имеет исследовательский статус.

**Серологические методы** диагностики сифилиса подразделяются на **нетрепонемные** (скрининговые) и **трепонемные** (диагностические) тесты.

Самой распространенной серологической реакцией на сифилис является реакция Вассермана (РВ, RW). Для ее проведения берут венозную кровь, получают сыворотку и прогреванием инактивируют в ней комплемент. Затем одну часть сыворотки обрабатывают трепонемным антигеном (реакция связывания комплемента с трепонемным антигеном – **РСКт**), а другую часть сыворотки обрабатывают кардиолипиновым антигеном (реакция связывания комплемента с кардиолипиновым антигеном – **РСКк**).

Сущность **реакции связывания комплемента (РСК)** состоит в том, что противотрепонемные антитела сыворотки крови больного человека связываются с антигеном (трепонемным или кардиолипиновым). Для визуализации образовавшегося комплекса используют комплемент и гемолитическую систему (смесь эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, то есть сыворотки крови кроликов, иммунизированной эритроцитами барана). В случае образования комплекса антитела с антигеном комплемент присоединится к этому комплексу, и эритроциты выпадут в осадок (положительная реакция). При отсутствии антител комплемент соединится с гемолитической системой и вызовет гемолиз эритроцитов (отрицательная реакция). Результат реакции оценивают по степени гемолиза:

- полная или значительная задержка гемолиза - положительная реакция (++++, +++);
- частичная задержка гемолиза - слабоположительная реакция (++);
- незначительная задержка гемолиза - сомнительная реакция (+);
- полный гемолиз - отрицательная реакция (-).

Возможные результаты РСК представлены на рисунке 8.22.

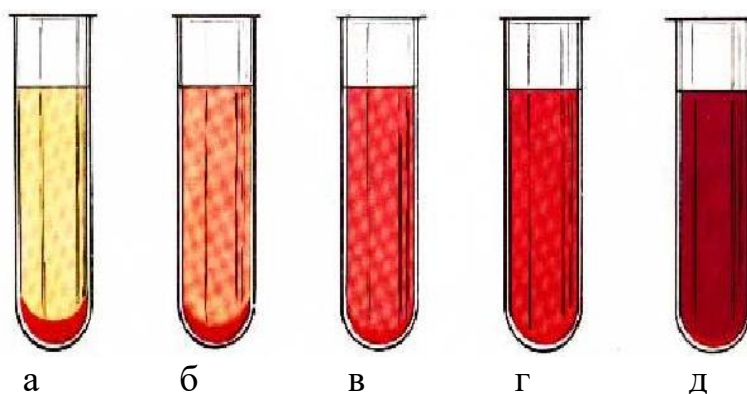


Рисунок 8.22 – Реакция Вассермана: а – полная задержка гемолиза (++++); б – выраженная задержка гемолиза (+++); в – частичная задержка гемолиза (++); г – слабая задержка гемолиза (+); д – полный гемолиз (“лаковая кровь”). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При постановке РСК с трепонемным антигеном (РСКт) используется озвученный ультразвуком антиген, полученный из нескольких штаммов бледной трепонемы. При постановке РСК с кардиолипидным антигеном (РСКк) применяют антиген, представляющий собой высокоочищенный спиртовой экстракт из мышц бычьего сердца (рисунок 8.23).



Рисунок 8.23 – Кардиолипидный антиген для РСК. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В нашей стране **реакция Вассермана** входила в состав комплекса стандартных серологических реакций на сифилис, однако в последние годы практически **не используется**. За рубежом эта реакция в клинической лабораторной практике не применяется.

**Нетрепонемные тесты** направлены на выявление антител к липидам разрушенных мембран трепонем или тканей хозяина. Для постановки этих реакций используют только кардиолипидный антиген. Комплексы антигена с антителами (если таковые имеются) выпадают в осадок. Эти тесты не всегда являются специфичными в отношении сифилиса, но они в большинстве случаев позволяют установить предварительный диагноз. К нетрепонемным тестам относятся:

- реакция Вассермана, реакция связывания комплемента с кардиолипидным антигеном - РСКк;
- TRUST (Toluidin Red Unheated Serum Test) - тест с толуидиновым красным и непрогретой сывороткой;
- USR (Unheated Serum Reagins) – тест определения активных реагинов плазмы;
- VDRL (Venereal Disease Research Laboratory - лаборатория изучения венерических заболеваний – лаборатория разработчик метода) – микрофлокуляционный тест;
- RPR (Rapid Plasma Reagin) – тест быстрых плазменных реагинов или быстрый плазмареагиновый тест (отечественный аналог - микрореакция преципитации, МРП).

**TRUST** представляет собой макрофлокуляционный нетрепонемный тест на картонных карточках. Антиген для данного теста сорбирован на мелкодисперсной суспензии красителя толуидинового красного. Реакция проводится с плазмой или сывороткой крови.

**USR** относится к группе микрофлокуляционных тестов. Он отличается от VDRL модификацией антигена: в него добавлены холинхлорид и ЭДТА. USR-тест ставится как с непрогретой сывороткой, так и с плазмой. Учет результатов теста проводится под микроскопом.

**VDRL** относится к группе микрофлокуляционных тестов. Исследуемая сыворотка и антиген смешиваются в лунках стеклянной пластинки. Образующиеся комплексы “кардиолипиновый антиген – антитело” выявляются в виде мелких хлопьев. Набор для проведения данного теста представлен на рисунке 8.24.



Рисунок 8.24 – Набор для проведения VDRL-теста. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**RPR-тест** осуществляется либо на пластиковых планшетах, либо на картонных карточках с неглубокими лунками (рисунок 8.25).

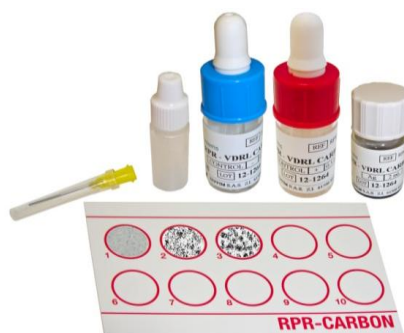


Рисунок 8.25 – Набор для проведения RPR-теста. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Каплю исследуемой плазмы или сыворотки крови смешивают в лунке с каплей стандартного кардиолипинового антигена, сорбированного на визуализирующем агенте - частичках угля (RPR-антиген). Затем планшету вращают на орбитальном ротаторе для равномерного перемещения реагентов. При взаимодействии антител и антигенов происходит склеивание мелких частичек угля и образование агрегатов. Результаты RPR-теста:

- положительный - при образовании средних и больших агрегатов;
- слабо положительный – при появлении редких небольших агрегатов;
- отрицательный - ровная серая поверхность без видимых агрегатов.

Автоматизированной модификацией RPR-теста является автоматизированный реагиновый тест (ART – Automated Reagin Test).

Отечественным аналогом RPR-теста является **LUES-тест** производства “Диагностические системы”.

**МРП.** В основе МРП лежит образование преципитата в виде хлопьев белого цвета при добавлении кардиолипинового антигена к плазме или сыворотке крови больного сифилисом. Результаты реакции могут быть положительными (++++, +++, ++) или отрицательными. Для реакции микропреципитации выпускается кардиолипиновый антиген АКРЕМИТ - раствор трех высокоочищенных липидов (кардиолипина, лецитина и холестерина) в этиловом спирте.

При положительном нетрепонемном тесте диагноз “сифилис” должен быть обязательно подтвержден трепонемным тестом.

**Трепонемные тесты** предполагают использование специфических антигенов трепонем. Они применяются для подтверждения диагноза, являются более специфичными и чувствительными. К ним относятся:

- реакция пассивной гемагглютинации (РПГА, ТРНА - *Treponema pallidum* haemagglutination assay);
- реакция иммобилизации бледных трепонем (РИБТ или РИТ, ТРІ - *Treponema pallidum* immobilization test);
- реакция иммунофлюоресценции (РИФ, ФТА - Fluorescent treponemal antibody);
- иммуноферментный анализ (ИФА);
- иммуноблот.

**РПГА** основана на склеивании эритроцитов (гемагглютинации), соединенных с антигеном *T. pallidum*, при добавлении к ним антител сыворотки крови больных сифилисом.

Результаты реакции оцениваются следующим образом:

- кольцо из агглютинированных эритроцитов в виде “зонтика” – положительный результат (++++, +++, ++);
- неплотное кольцо, эритроциты образуют рыхлый осадок на дне лунки – сомнительный результат ( $\pm$ , +);
- отсутствие агглютинации, эритроциты располагаются на дне лунки в виде “пуговики” – отрицательный результат (-).

Для проведения РПГА выпускаются коммерческие наборы (рисунок 8.26).



Рисунок 8.26 – Наборы для диагностики сифилиса с помощью РПГА. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**РИТ (РИБТ, реакция Нельсона-Майера)** основана на феномене обездвиживания живых трепонем (трепонемы штамма Никольса, полученные после заражения кроликов в яичко) антитрепонемными антителами, присутствующими в исследуемой сыворотке, и комплементом. Для этого к прогретой сыворотке крови добавляют трепонемы и при микроскопии учитывают количество подвижных и неподвижных трепонем. Результаты реакции:

- иммобилизация трепонем более 50% - ++++;
- иммобилизация трепонем 31-50% - +++;
- иммобилизация трепонем 21-30% - ++;
- иммобилизация трепонем до 20% - отрицательный результат.

В связи с тем, что при постановке этой реакции используются живые патогенные трепонемы, постановка реакции трудоемка и требует наличия вивария, в большинстве стран РИБТ используется не для диагностических целей, а в научно-исследовательской работе.

**РИФ** используется для ранней диагностики сифилиса. Эта реакция дает положительные результаты к концу первой недели с момента инфицирования. Для постановки этой реакции на предметное стекло наносят взвесь живых патогенных бледных трепонем штамма Никольс (из яичка инфицированных кроликов), высушивают и фиксируют ацетоном. На фиксированный препарат наносят исследуемую сыворотку и после экспозиции промывают. Затем препарат обрабатывают меченой флюорохромом сывороткой против иммуноглобулинов человека. При наличии в сыворотке крови больного антитрепонемных антител происходит образование комплекса из фиксированного на стекле возбудителя, антител исследуемой сыворотки и флуоресцирующего компонента (сыворотка против иммуноглобулинов, меченая флюорохромом). При исследовании в люминесцентном микроскопе обнаруживаются светящиеся трепонемы (рисунок 8.27).

Результаты теста определяются по интенсивности свечения:

- желто-зеленое яркое свечение - ++++;
- зеленое свечение - +++;
- бледно-зеленое свечение - ++;
- еле заметное свечение - +;
- отсутствие свечения – отрицательный результат.

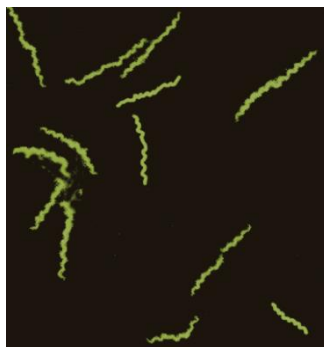


Рисунок 8.27 – Реакция иммунофлюоресценции. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На практике используется несколько модификаций реакции иммунофлюоресценции: РИФ-200 (FTA-200), РИФ-абс (FTA-abs; FTA-abs double staining; FTA-abs-IgM; РИФ-абс-IgM; 19S-IgM-FTA-abs), РИФц (реакция иммунофлюоресценции с цельной кровью).

**ИФА** (или ELISA - Enzymelinked immunosorbent assay) позволяет определять наличие антител разных классов (IgM, IgG) в одной пробе. Этот метод пригоден для ранней диагностики врожденного и приобретенного сифилиса. Принцип метода заключается в выявлении сорбированных в лунках пластикового планшета антигенов возбудителя сифилиса с помощью антител сыворотки крови больного, конъюгата (антиглобулиновые антитела, меченые ферментом) и субстрата (вещество, изменяющее окраску под влиянием фермента). Для сенсibilизации лунок планшетов используют антигены следующих видов:

- лизатные антигены (получают путем разрушения бледных трепонем ультразвуком);
- пептидные антигены (получают в результате химического синтеза);
- рекомбинантные антигены (получают с помощью методов генной инженерии).

Результаты ИФА оцениваются визуально по 4-балльной системе или инструментально по измерению показателей оптической плотности с помощью специальных ридеров. В настоящее время Минздравом России рекомендованы к применению несколько иммуноферментных тест-систем отечественного производства (ЗАО “Вектор-Бест”, НПО “Диагностические системы”, ТОО “ЭКОлаб”, ГП “Аллерген”, ТОО НИИ “Аквапаст” и др.).

**Иммуноблот** (Western Blot) является самым современным методом диагностики сифилиса. Принцип метода заключается в том, что сыворотку крови пациента наносят на нитроцеллюлозную мембрану, содержащую антигены *T. pallidum*, разделенные с помощью электрофореза. В настоящее время используют нейлоновые мембраны с пластиковой основой, на которую наносят антигены *T. pallidum*, полученные генно-инженерными способами (рекомбинантный вариант иммуноблота). При наличии антител классов IgM и IgG, на мембране проявляются полосы. Интерпретация результатов производится по положению полос и их интенсивности окрашивания.

В настоящее время в диагностику сифилиса активно внедряется **иммунохроматографический анализ**, позволяющий определять антитела к антигенам *T. pallidum*, иммобилизованным на мембране (тест-полоске). Этот тест позволяет провести диагностику сифилиса в домашних условиях (рисунок 8.28).



Рисунок 8.28 – Набор “Иммуно Хром-анти ТР-Экспресс” для экспресс-диагностики сифилиса. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Скринингу** на сифилис подвергаются:

- беременные женщины;
- доноры крови и органов для трансплантации;
- работники питания, образования, здравоохранения;
- военнослужащие;
- лица, отбывающие наказание в местах лишения свободы;
- лица, поступающие на стационарное лечение;
- больные, готовящиеся к хирургическому вмешательству.

**Диагностика на сифилис** (подтверждение сифилиса) проводится:

- лицам, имеющим клинические симптомы сифилиса;
- лицам с любыми генитальными язвами;
- половым партнерам больных сифилисом;
- детям, родившимся от матерей, больных сифилисом;
- для подтверждения диагноза сифилиса.

**Лечение.** Основным методом лечения сифилиса является антибиотикотерапия. Применяют антибиотики пенициллинового ряда. Можно использовать эритромицин, цефалоспорины. Наряду с антибиотиками используются висмутсодержащие препараты. Чем раньше начато лечение, тем лучше результаты.

**Профилактика** сифилиса заключается в раннем выявлении и лечении источников инфекции, половой гигиене, тестировании донорской крови. Специфических средств профилактики сифилиса не разработано.

### **Вопросы для контроля усвоения материала**

1. Строение и тинкториальные свойства трепонем.
2. Культуральные и биохимические особенности бледной трепонемы.
3. Факторы патогенности бледной трепонемы и патогенез сифилиса.
4. Эпидемиология сифилиса.
5. Клинические проявления сифилиса.
6. Методы лабораторной диагностики сифилиса.
7. Принципы лечения и профилактики сифилиса.

### **Тренировочные тесты**

1. Возбудитель сифилиса открыли (один правильный ответ):
  - 1.1 Л. Пастер
  - 1.2 Р. Кох
  - 1.3 Ф. Шаудинн и Э. Хоффманн
  - 1.4 Л.С. Ценковский
  - 1.5 А. Нейссер
  
2. Возбудитель сифилиса относится к семейству (один правильный ответ):
  - 2.1 *Rickettsiaceae*
  - 2.2 *Spirochaetaceae*
  - 2.3 *Spirillaceae*
  - 2.4 *Vibrionaceae*



## 2.5 *Enterobacteriaceae*

3. Возбудитель сифилиса относится к роду (один правильный ответ):

- 3.1 *Vibrio*
- 3.2 *Salmonella*
- 3.3 *Escherichia*
- 3.4 *Brucella*
- 3.5 *Treponema*

4. Возбудитель сифилиса (один правильный ответ):

- 4.1 *V. cholerae*
- 4.2 *F. tularensis*
- 4.3 *T. pallidum*
- 4.4 *B. anthracis*
- 4.5 *Y. pestis*

5. Возбудитель сифилиса (один правильный ответ):

- 5.1 *Treponema denticola*
- 5.2 *Treponema vincentii*
- 5.3 *Treponema pallidum*
- 5.4 *Treponema carateum*
- 5.5 *Treponema bryantii*

6. Возбудитель сифилиса представляет собой (один правильный ответ):

- 6.1 грамположительную палочку
- 6.2 спирохету
- 6.3 грамотрицательный кокк
- 6.4 грамположительный кокк
- 6.5 спорообразующую палочку

7. Для трепонем характерно (несколько правильных ответов):

- 7.1 образование спор
- 7.2 наличие фибрилл
- 7.3 окраска по Граму в фиолетовый цвет
- 7.4 наличие нескольких плазмид
- 7.5 наличие блефаропластов

8. Для трепонем характерно (несколько правильных ответов):

- 8.1 наличие равномерно расположенных завитков
- 8.2 количество завитков 8-12
- 8.3 количество завитков 1
- 8.4 возможность образования L-форм
- 8.5 внутриклеточное расположение в организме

9. Бледная трепонема (несколько правильных ответов):

- 9.1 образует споры

- 9.2 образует цисты покоя
- 9.3 неподвижная
- 9.4 грамположительная
- 9.5 имеет 8-12 завитков

10. Факторами патогенности трепонем являются (несколько правильных ответов):

- 10.1 редкие белки наружной мембраны
- 10.2 экзотоксины
- 10.3 устойчивость к солям
- 10.4 устойчивость к антибиотикам
- 10.5 фибриллы

11. Основной путь заражения человека сифилисом (один правильный ответ):

- 11.1 пищевой
- 11.2 водный
- 11.3 половой
- 11.4 инъекционный
- 11.5 трансмиссивный

12. Пути передачи при сифилисе (несколько правильных ответов):

- 12.1 трансмиссивный
- 12.2 алиментарный
- 12.3 половой
- 12.4 воздушно-капельный
- 12.5 трансплацентарный

13. Источник заражения человека сифилисом (один правильный ответ):

- 13.1 пищевые продукты
- 13.2 вода
- 13.3 больной сифилисом человек
- 13.4 животные
- 13.5 почва

14. В диагностике сифилиса используется реакция (один правильный ответ):

- 14.1 Манту
- 14.2 Пирке
- 14.3 Вассерманна
- 14.4 Райта
- 14.5 Асколи

15. Диагноз первичного сифилиса подтверждают с помощью (один правильный ответ):

- 15.1 реакции Манту
- 15.2 реакции Видаля
- 15.3 микроскопии в тёмном поле
- 15.4 микроскопии окрашенных по Граму мазков

## 15.5 реакции преципитации

16. Для сифилиса характерно (один правильный ответ):

- 16.1 высокая устойчивость возбудителя к окружающей среде
- 16.2 передача возбудителя половым путем
- 16.3 формирование стойкого иммунитета
- 16.4 передача возбудителя алиментарным путем
- 16.5 передача возбудителя воздушно-капельным путем

17. Для вторичного сифилиса характерно (один правильный ответ):

- 17.1 наличие карбункула
- 17.2 образование твердого шанкра
- 17.3 поражение центральной нервной системы
- 17.4 генерализованный характер инфекции
- 17.5 формирование стойкого иммунитета

18. Образование твердого шанкра при сифилисе характерно для (один правильный ответ):

- 18.1 инкубационного периода
- 18.2 первичного сифилиса
- 18.3 вторичного сифилиса
- 18.4 третичного сифилиса
- 18.5 нейросифилиса

19. Появление высыпаний в виде папулы, везикулы и пустулы при сифилисе характерно для (один правильный ответ):

- 19.1 инкубационного периода
- 19.2 первичного сифилиса
- 19.3 вторичного сифилиса
- 19.4 третичного сифилиса
- 19.5 нейросифилиса

20. Формирование гумм при сифилисе характерно для (один правильный ответ):

- 20.1 инкубационного периода
- 20.2 первичного сифилиса
- 20.3 вторичного сифилиса
- 20.4 третичного сифилиса
- 20.5 продромального периода

21. Проявление сифилиса в форме прогрессивного паралича характерно для (один правильный ответ):

- 21.1 инкубационного периода
- 21.2 первичного сифилиса
- 21.3 вторичного сифилиса
- 21.4 продромального периода
- 21.5 нейросифилиса

22. Проявление сифилиса в форме спинной сухотки характерно для (один правильный ответ):

- 22.1 инкубационного периода
- 22.2 первичного сифилиса
- 22.3 вторичного сифилиса
- 22.4 нейросифилиса
- 22.5 периода реконвалесценции

23. Диагностика вторичного и третичного сифилиса включает (один правильный ответ):

- 23.1 выявление ГЧЗТ
- 23.2 выявление антител
- 23.3 выделение чистой культуры
- 23.4 обнаружение возбудителя
- 23.5 не проводится

24. Диагностика первичного сифилиса включает (один правильный ответ):

- 24.1 выделение чистой культуры
- 24.2 биопробу на кроликах
- 24.3 темнопольную микроскопию отделяемого шанкра
- 24.4 выявление антител
- 24.5 обнаружение возбудителя в крови

25. В диагностике сифилиса используются (несколько правильных ответов):

- 25.1 реакция кольцепреципитации
- 25.2 микрореакция преципитации
- 25.3 реакция иммобилизации трепонем
- 25.4 окраска по Цилю-Нельсену
- 25.5 окраска по Бурри-Гинсу

26. Специфическая профилактика сифилиса проводится с помощью (один правильный ответ):

- 26.1 живой вакцины
- 26.2 убитой вакцины
- 26.3 не разработана
- 26.4 химической вакцины
- 26.5 антибиотиков

Правильные ответы: 1.3; 2.2; 3.5; 4.3; 5.3; 6.2; 7.2, 7.5; 8.1, 8.2, 8.4; 9.2, 9.5; 10.1, 10.5; 11.3; 12.3, 12.5; 13.3; 14.3; 15.3; 16.2; 17.4; 18.2; 19.3; 20.4; 21.5; 22.4; 23.2; 24.3; 25.2, 25.3; 26.3.

## 8.2. Боррелии

**Таксономическое положение боррелий.** Род *Borrelia* относится к типу (филуму) *Spirochaetes*, классу *Spirochaetia*, порядку *Spirochaetales*, семейству *Borreliaceae*. Боррелии названы в честь французского бактериолога А. Борреля (рисунок 8.29).



Рисунок 8.29 - Амедей Боррель (Amedee Borrel, 1867-1936 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Род *Borrelia* объединяет более 30 видов. Представители этого рода вызывают у человека различные заболевания: эпидемический (вшиный) возвратный тиф, аргасовые клещевые боррелиозы – АКБ (например, эндемический возвратный тиф), иксодовые клещевые боррелиозы - ИКБ (заболевания группы болезни Лайма). Эти инфекционные болезни имеют трансмиссивный механизм передачи возбудителей (переносчики - клещи и вши). Патогенными для человека являются *B. burgdorferi*, *B. garini*, *B. afzelii*, *B. recurrentis*, *B. duttonii*, *B. persica* и другие виды боррелий.

Род *Borrelia* подразделяется на две подгруппы:

- возбудители эпидемической и эндемической возвратных лихорадок (*B. recurrentis*, *B. duttonii*, *B. hispanica*, *B. crocidurae*, *B. merionesi* и др.);
- возбудители иксодовых клещевых боррелиозов - представители комплекса *B. burgdorferi sensu lato* (то есть в широком смысле), в который включены более 10 видов боррелий, в том числе патогенные для человека виды *B. burgdorferi sensu stricto* (то есть в узком смысле, непосредственно боррелия Бургдорфера), *B. garinii* и *B. afzelii* (таблица 8.1).

Таблица 8.1 – Боррелии, патогенные для человека

Вид боррелий	Переносчик	Вызываемое у человека заболевание
<i>B. recurrentis</i>	Платяные, головные вши	Эпидемический возвратный тиф
<i>B. duttonii</i>	Клещи рода <i>Ornithodoros</i>	Эндемический возвратный тиф
<i>B. hispanica</i>		
<i>B. crocidurae</i>		
<i>B. merionesi</i>		
<i>B. microti</i>		
<i>B. dipodilli</i>		
<i>B. persica</i>		
<i>B. caucasica</i>		
<i>B. latyschewii</i>		

<i>B. hermsii</i>		
<i>B. turicatae</i>		
<i>B. parkeri</i>		
<i>B. mazzottii</i>		
<i>B. venezuelensis</i>		
<i>B. burgdorferi</i>	Клещи рода <i>Ixodes</i>	Иксодовые клещевые боррелиозы
<i>B. garinii</i>		
<i>B. afzelii</i>		

**Морфологические и тинкториальные свойства боррелий.** Боррелии представляют собой извитые подвижные аспорогенные бактерии длиной 2-30 мкм и шириной 0,2-0,6 мкм. По форме они напоминают спираль, имеющую от 3 до 10 крупных завитков (рисунок 8.30).

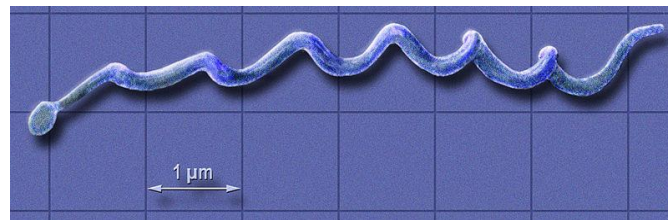


Рисунок 8.30 – Внешний вид боррелий. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При электронной микроскопии на поверхности боррелий выявляется непостоянный мукоидный S-слой. Основным структурным элементом клетки боррелий является **протоплазматический цилиндр**, который представляет собой цитоплазму, окруженную цитоплазматической мембраной и пептидогликановым слоем. Вокруг протоплазматического цилиндра закручено 15-20 осевых (аксиальных) **фибрилл** (эндофлагелл, жгутиков), объединенных в периплазматическую нить и являющихся двигательным аппаратом клетки. Для боррелий характерно сгибательно-поступательное и вращательно-поступательное движение. Протоплазматический цилиндр и осевые фибриллы покрыты **внешней мембраной** (оболочкой). На рисунке 8.31 представлена схема строения клетки боррелий.

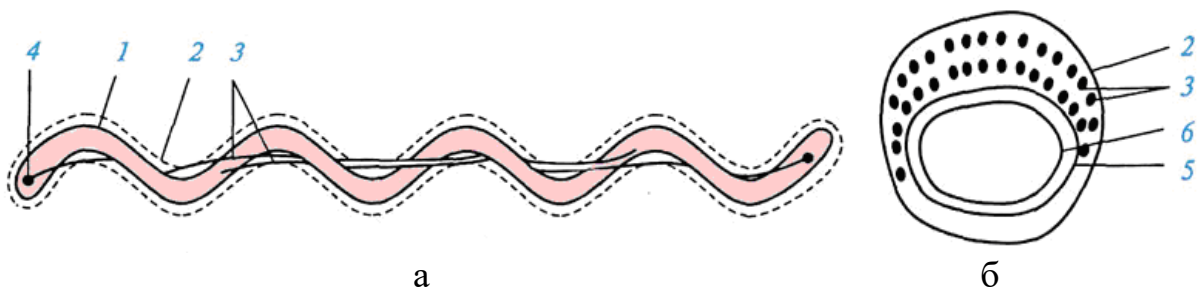


Рисунок 8.31 – Схема строения клетки боррелий: а - продольный разрез; б - поперечный разрез; 1 – протоплазматический цилиндр, 2 – наружная (внешняя) мембрана, 3 – аксиальные фибриллы, 4 – место прикрепления аксиальных фибрилл, 5 – пептидогликановый слой клеточной стенки, 6 – цитоплазматическая мембрана.

Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Один конец каждой фибриллы закреплен с помощью крюка (блефаропласта) в цитоплазматической мембране вблизи полюса протоплазматического цилиндра, а другой конец остается свободным. Пространство между цитоплазматической мембраной и внешней оболочкой, в котором располагаются фибриллы, называется **периплазматическим пространством** или эндофлагеллярным комплексом.

В цитоплазме протоплазматического цилиндра располагается нуклеоид боррелий, который включает **линейную хромосому** небольших размеров и несколько циркулярных и линейных **плазмид** (микрохромосомы). Отдельные изоляты одного и того же вида боррелий отличаются друг от друга как по количеству, так и по размерам плазмид. Плазмиды обнаруживаются преимущественно при первичном выделении штаммов. При последующих пересевах количество плазмид уменьшается. Плазмиды детерминируют факторы патогенности боррелий. Уменьшение числа плазмид или их полная утрата приводит к снижению патогенности возбудителя и изменению антигенного профиля.

Боррелии хорошо воспринимают анилиновые красители, по Граму окрашиваются отрицательно, по Романовскому-Гимзе - в сине-фиолетовый цвет (рисунок 8.32).



Рисунок 8.32 – Микроскопическая картина боррелий, окраска по Романовскому-Гимзе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** Боррелии очень требовательны к условиям выращивания и культивируются только на сложных питательных средах, содержащих сыворотку крови, асцитическую жидкость, тканевые экстракты, аминокислоты, витамины и другие факторы роста. Боррелии – микроаэрофилы. Оптимальными условиями культивирования является температура 28-35°C и атмосфера углекислого газа (5-10%). Боррелии возможно культивировать в желточных мешках куриных эмбрионов. Высокие требования к условиям культивирования объясняются недостатком у боррелий генов, кодирующих ферменты цикла трикарбонных кислот, синтез аминокислот, кофакторов и других соединений.

**Устойчивость к факторам внешней среды.** Боррелии чувствительны к высушиванию и нагреванию. Во внешней среде неустойчивы. При температуре 45-48°C погибают в течение 30 минут. Устойчивы к низким температурам (минус 70-90°C) и замораживанию.

## Эпидемический возвратный тиф

**Эпидемический возвратный тиф** (вшивый возвратный тиф, возвратная лихорадка, возвратный спирохетоз) – острое инфекционное заболевание, вызываемое боррелиями и характеризующееся острым началом, общей интоксикацией и приступообразной лихорадкой (полициклическое течение – периоды лихорадки чередуются с периодами апиреksии – отсутствия температуры). Заболевание относится к группе антропонозных инфекций.

**Историческая справка.** Эпидемический возвратный тиф впервые был описан под названием “пятидневная лихорадка с возвратами”.

В 1808 г. немецкий врач О. Обермейер (рисунок 8.33) открыл возбудителя болезни и отнес его к группе спирохет (спирохета Обермейера).



Рисунок 8.33 – Отто Обермейер (Otto Obermeier, 1843 – 1873 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

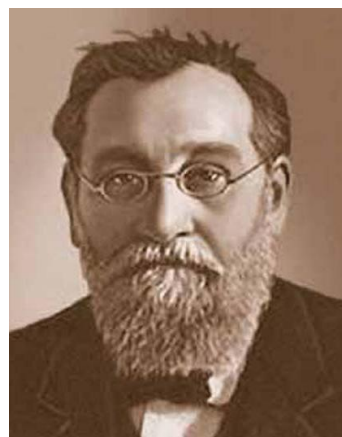
Этиологическая роль спирохет при эпидемическом возвратном тифе была доказана в опытах самозаражения Г.Н. Минхом в 1874 г., О.О. Мочутковским в 1875 г. и И.И. Мечниковым в 1881 г. (рисунок 8.34).



А



Б



В

Рисунок 8.34 – А - Григорий Николаевич Минх (1836-1896 гг.); Б - Осип Осипович Мочутковский (1845-1903 гг.); В - Илья Ильич Мечников (1845-1916 гг.).

Заимствовано из Интернет-ресурсов.



**Морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства.** Возбудителем эпидемического возвратного тифа является *B. recurrentis*, имеющая извитое спиралевидное тело длиной 20-40 мкм. Клетки возбудителя образуют 3-12 крупных неравномерных завитков. Концы клеток заострены. Бактерии подвижные за счет наличия 7-30 периплазматических жгутиков на каждом конце. Спор и капсул не образуют. Грамотрицательные, по Романовскому-Гимзе окрашиваются в сине-фиолетовый цвет (рисунок 8.35).

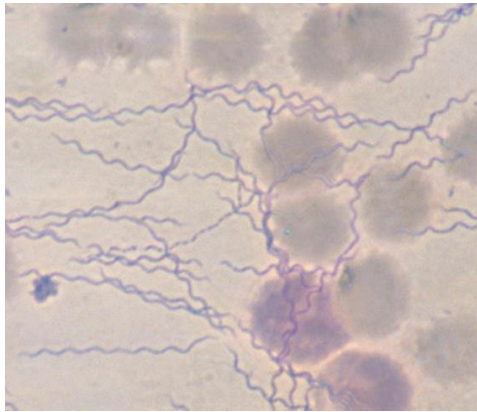


Рисунок 8.35 - *B. recurrentis*, окраска по Романовскому-Гимзе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Культивируют возбудителя эпидемического возвратного тифа в анаэробных условиях на питательных средах с добавлением асцитической жидкости или сыворотки крови (среды Клиглера-Робертсона, Аристовского-Гельцера, Келли и др.) залитых тонким слоем вазелинового масла. Рост проявляется на 4-7 день. Но при культивировании на питательных средах боррелии утрачивают патогенность.

*B. recurrentis* утилизирует глюкозу с образованием газа.

**Антигенная структура.** Поверхностные белковые антигены являются общими для всех боррелий. Они чрезвычайно вариабельны в результате внутригеномных рекомбинаций. Имеются также вариантоспецифические антигены. Для *B. recurrentis* характерна высокая антигенная изменчивость: каждое новое поколение боррелий отличается структурой поверхностных антигенов, что обуславливает волнообразное течение заболевания.

**Факторами патогенности** *B. recurrentis* являются эндотоксин, белки наружной мембраны, адгезины и высокая подвижность возбудителя.

**Резистентность.** Во внешней среде *B. recurrentis* малоустойчива, чувствительна к нагреванию (при 50<sup>0</sup>С остаются жизнеспособными в течение 20-30 минут), УФО, антибиотикам (пенициллинового ряда, тетрациклину, левомицетину).

**Эпидемиология.** **Источником** инфекции при эпидемическом возвратном тифе служит **больной человек** в стадии лихорадки, в периферической крови которого находятся боррелии. Эпидемический возвратный тиф относится к группе **антропонозных** инфекций. **Переносчиками** являются вши рода *Pediculus* (платяная, головная и лобковая), которые становятся наиболее заразными с 6 по 28 день после кровососания (рисунок 8.36).

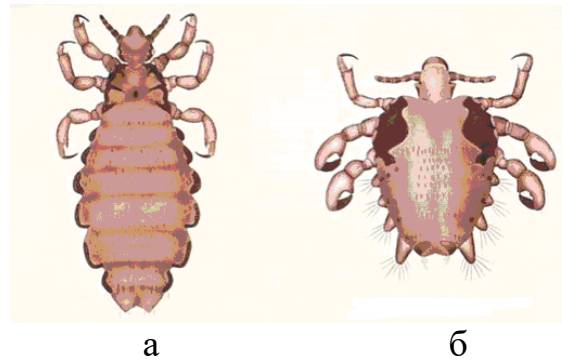


Рисунок 8.36 – Головная (а) и платяная (б) вши. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При кровососании заражаются все виды вшей, паразитирующих на человеке, однако роль лобковых вшей в передаче возвратного тифа ничтожна. Основная роль в передаче этой инфекции принадлежит головным и особенно платяным вшам (рисунок 8.37).



Рисунок 8.37 – Головная вошь (а) и ее ротовой аппарат (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При кровососании возбудитель проникает в желудок вши. Через 6-24 часа боррелии исчезают из просвета кишечника вшей. Большая часть их разрушается, а отдельные боррелии попадают в полость тела вшей (в гемолимфу), где они активно размножаются. С 5 дня после кровососания вошь становится заразной. К 6-7 дню с момента сосания крови спирохеты распространяются по всему телу вши, свободными остаются кишечник и слюнные железы. Боррелии сохраняются в гемолимфе вши в течение 19-25 дней. С гибелью вши отмирают и боррелии.

С испражнениями вшей боррелии во внешнюю среду не выделяются. Трансовариально (через яйца вшей) передача боррелий не происходит.

Человек заражается эпидемическим возвратным тифом **при втирании гемолимфы** раздавленных вшей в кожу при расчесывании места укуса или трении одежды (**контаминативное заражение**). Сам по себе укус инфицированной вши не опасен. Заболевание отмечается при скученности населения, в антисанитарных условиях, что встречается во время социальных бедствий, войн. На территории РФ в настоящее время эпидемический возвратный тиф не регистрируется. Случаи болезни сохраняются в некоторых странах Азии, Африки, Южной Америки.

**Патогенез.** После втирания человеком гемолимфы раздавленной вши в ранку (место укуса) боррелии поглощаются фагоцитами, внутри которых они размножаются. Эта фаза соответствует инкубационному периоду болезни. К окончанию инкубационного периода микробные клетки в большом количестве поступают в кровь (**спирохетемия**). В крови во время лихорадки содержится

большое количество возбудителя, а в период апиреksии интенсивность спирохетемии очень низкая. Гибель бактерий сопровождается высвобождением эндотоксинов, вызывающих лихорадку, головную боль, озноб, различные неврологические симптомы. Гибель возбудителя происходит в капиллярах внутренних органов. Лихорадочный период завершается образованием антител против боррелий первой генерации. Продолжительность лихорадочного периода – 7-10 дней. На каждое новое поколение возбудителя развивается лихорадочная реакция.

В результате действия антител основная часть возбудителя из кровотока удаляется. Клинически это выражается наступлением ремиссии. Продолжительность периода нормализации температуры составляет 4-10 дней. Но часть боррелий меняет антигенные свойства и становится устойчивой к антителам, образовавшимся во время первого приступа. Эти микробные клетки сохраняются в организме, размножаются, проникают в кровяное русло и вызывают новый приступ лихорадки. Антитела, образовавшиеся против второй генерации возбудителя, нейтрализуют значительную часть микробных клеток, но не полностью. Устойчивые возбудители, вновь изменившие антигенную специфичность, размножаются и обуславливают новый рецидив болезни. Всего наблюдается 5-10 лихорадочных волн, что и послужило названием болезни (**возвратный тиф**). Выздоровление наступает при образовании значительного пула разных по специфичности клонов антител к антигенным детерминантам возбудителя. После этого вновь образующиеся расы возбудителя уже не могут противостоять накопившимся антителам, и болезнь завершается.

**Клиника.** Инкубационный период составляет 3-14 дней. Болезнь может протекать в легкой, средней тяжести и тяжелой формах. Заболевание начинается внезапно, с озноба и повышения температуры тела до 39-40°C. Больного беспокоят сильные головные и мышечные боли, бессонница. Особенно сильные боли отмечаются в икроножных мышцах, по ходу нервов и в области суставов. Аппетит отсутствует, бывают тошнота и рвота. В первые дни болезни возникают боли в левом подреберье, обусловленные увеличением селезенки. У многих больных одновременно увеличивается печень. Первый приступ продолжается чаще всего 5-8 дней. Затем следует безлихорадочный период продолжительностью 7-14 дней, вслед за которым возникают новые приступы лихорадки (рисунок 8.38).

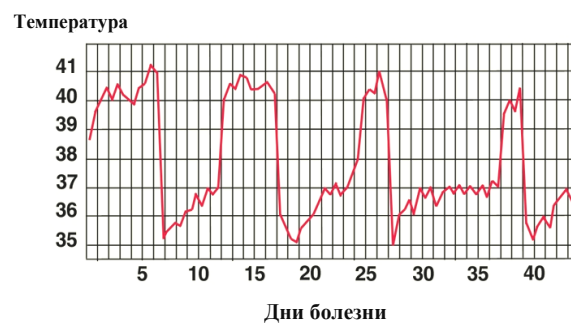


Рисунок 8.38 - Температурная кривая при эпидемическом возвратном тифе.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

Во время лихорадочного периода наблюдаются покраснение лица, инъекция склер. К концу приступа отмечается желтушность кожных покровов. В течение болезни отмечается несколько лихорадочных приступов. Каждый последующий приступ короче предыдущего, а период апиреksии, наоборот, продолжительнее. В безлихорадочном периоде болевые симптомы снижаются. Летальность при эпидемическом возвратном тифе составляет не более 1%.

**Иммунитет** к эпидемическому возвратному тифу гуморальный, непродолжительный.

**Диагностика** заболевания основывается на эпидемиологическом анализе, клинической картине и данных лабораторных исследований. Основным методом лабораторной диагностики является **бактериоскопический метод** – исследование на наличие возбудителя крови, взятой на высоте лихорадки. Приготовленный мазок окрашивают по Романовскому-Гимзе. Для обнаружения боррелий используют также микроскопию висячей капли крови в темном поле, микроскопию препаратов крови, окрашенных по методу Бурри (тушь) или серебрением по Морозову. При микроскопии висячей капли в темном поле и при окраске тушь по Бурри возбудитель обнаруживается в виде серебристых извитых нитей.

В качестве вспомогательных методов используют **серологические реакции** – реакцию непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ), иммуноферментный анализ (ИФА), а также полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

**Биопробу** проводят для дифференциальной диагностики возбудителей эпидемического (вшивого) возвратного тифа и эндемического (клещевого) возвратного тифа: боррелии клещевого возвратного тифа вызывают заболевание у морских свинок, а возбудитель вшивого возвратного тифа вызывает заболевание у белых мышей и крыс.

**Лечение и профилактика.** Больные подлежат госпитализации с обязательной санитарной обработкой и дезинсекцией одежды. В качестве основных лечебных препаратов используют антибиотики тетрациклинового ряда, эритромицин, левомицетин, пенициллин, ампициллин, цефалоспорины.

Специфическая профилактика при эпидемическом возвратном тифе не проводится. Неспецифическая профилактика заключается в своевременном проведении противоэпидемических мероприятий (борьба с переносчиками, госпитализация больных, дезинфекционная обработка вещей больных, наблюдение за контактировавшими лицами).

### Эндемический возвратный тиф

**Эндемический возвратный тиф** (клещевой возвратный тиф, аргасовый клещевой боррелиоз) – острое зоонозное природно-очаговое заболевание, протекающее в виде приступов лихорадки, чередующихся с периодами нормализации температуры. Заболевание встречается в отдельных субтропических и тропических зонах.

**Историческая справка.** В 1857 г. шотландский доктор Д. Ливингстон (рисунок 8.39) в Южной Африке описал лихорадочные заболевания людей, возникающие после укуса клещей.



Рисунок 8.39 - Давид Ливингстон (David Livingstone, 1813 – 1873 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1912 г. в мазках крови больных солдат русской армии в Иране Евгений Петрович Джунковский (1867 – 1953 гг.) обнаружил новый вид возбудителя и описал его под названием *Spirochaeta persica*. С 1927 г. под руководством Е.Н. Павловского (рисунок 8.40) проводились широкие исследования по изучению этиологии и эпидемиологии эндемического возвратного тифа.



Рисунок 8.40 – Евгений Никанорович Павловский (1884-1965 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Возбудителями эндемического возвратного тифа** являются более 20 видов боррелий, среди которых наиболее часто вызывают заболевание *B. duttoni* (африканский вид боррелий) и *B. persica* (азиатский вид боррелий).

Возбудители эндемического возвратного тифа имеют штопорообразный вид с 12 и более завитками (рисунок 8.41).

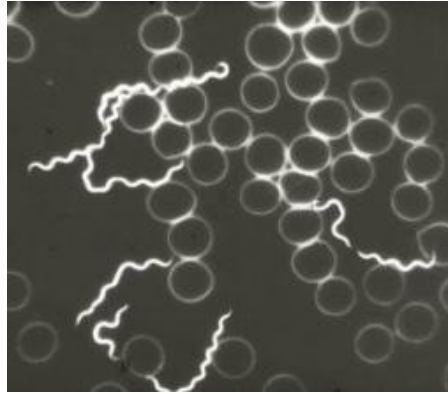


Рисунок 8.41 - *B. duttoni*, темнопольная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Культивирование возбудителей возможно в организме клещей, морских свинок, кроликов, белых мышей и на искусственных питательных средах (среды Аристовского-Гельтцера, Клигlera-Робертсона, Келли и др.).

**Эпидемиология.** Резервуаром возбудителя в природе (бессимптомными носителями) являются грызуны, а также аргасовые клещи. У клещей отмечается трансфазовая и трансвариальная передача возбудителя на протяжении 5-6 поколений. Человеку боррелии передаются во время укуса со слюной инфицированных клещей семейства *Argasidae*. Аргасовые клещи насасываются кровью в течение 3-30 минут. Основными переносчиками являются *Ornithodoros papillares* - поселковый клещ и *Argas persicus* - персидский клещ (рисунок 8.42).



а

б

Рисунок 8.42 - Клещи *Ornithodoros papillares* (а) и *Argas persicus* (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Эти клещи распространены в зонах жаркого климата: в пустынях, предгорных районах и горах, где они обитают в норах диких животных, гнездах птиц, пещерах, под камнями. В природных очагах происходит циркуляция боррелий между клещами и дикими млекопитающими, птицами и рептилиями. В антропоургических очагах в цепь циркуляции возбудителя включаются человек и домашние животные. При отсутствии прокормителей клещи способны длительное время голодать, при этом в их организме боррелии сохраняются в течение всего времени голодания.

Эндемический возвратный тиф встречается в основном в летний период года у приезжих лиц, так как местное население переносит заболевание в раннем возрасте, приобретая устойчивость к последующему заражению. Чаще заболевают геологи, туристы, охотники. Очаги инфекции известны в Казахстане, Киргизии, на

Северном Кавказе, на юге Украины, распространены во многих странах Южной Европы, Азии, Африки и Америки.

**Патогенез.** Во время кровососания вместе со слюной клеща возбудитель попадают в ранку, откуда с током крови разносится по всему организму. Во внутренних органах возбудитель интенсивно размножается и спустя некоторое время попадает в кровеносное русло. В крови возбудитель разрушается, что сопровождается выходом пирогенных веществ, обуславливающих приступы лихорадки. На каждую генерацию возбудителя вырабатываются антитела. Смена антигенных вариантов приводит к новому циклу развития возбудителя. Такие периоды повторяются несколько раз.

**Клиника.** Инкубационный период составляет 6-12 дней. В продромальный период отмечаются незначительная головная боль, чувство разбитости, слабости. На месте укуса клеща всегда отмечается первичный аффект в виде точечного кровоизлияния (багровое пятно) и мелкого темно-вишневого узелка, окруженного геморрагическим ободком (рисунок 8.43).



Рисунок 8.43– Место укуса клеща при эндемическом возвратном тифе.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В месте укуса отмечается сильный зуд, сохраняющийся в течение 10-20 дней. Выделяют легкие, средней тяжести и тяжелые формы болезни. Заболевание чаще всего начинается внезапно и протекает с чередованием приступов лихорадки и апирексии. Во время приступа температура тела повышается до 39-40°C. Отмечаются озноб, головные и мышечные боли, бессонница, исчезает аппетит. Больные проявляют беспокойство, иногда бредят. Лицо гиперемировано, с желтушным оттенком. Первый приступ длится от нескольких часов до 2-6 дней и заканчивается критическим падением температуры и сильным потоотделением. Через 1-8 дней развивается второй приступ длительностью от 4-8 часов до 4-8 суток. За ним следуют дальнейшие приступы, количество которых достигает 8-10 и более. Продолжительность повторных приступов постепенно сокращается, а безлихорадочные интервалы между ними удлиняются. Болезнь длится 1-2 месяца и более. Эндемический возвратный тиф заканчивается полным выздоровлением.

**Иммунитет.** В эндемических очагах коренное население обладает иммунитетом к возбудителю, циркулирующему на данной территории.

**Диагностика.** При диагностике эндемического возвратного тифа учитывают данные эпидемиологического анамнеза (пребывание больного в эндемическом очаге) и обнаружение следов укуса клеща. Лабораторная диагностика включает **бактериоскопическое исследование** крови, взятой во время приступа. Мазки для

микроскопии окрашивают по Романовскому-Гимзе. **Биологический метод** диагностики состоит в заражении морских свинок кровью больного. При положительном результате через 5-7 дней в крови животных в большом количестве обнаруживаются боррелии. Из **серологических методов** применяют реакцию непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) и иммуноферментный анализ (ИФА).

При дифференциальной диагностике эпидемического возвратного тифа и эндемического возвратного тифа учитывают несколько признаков (таблица 8.2).

Таблица 8.2 – Дифференциальные признаки эпидемического и эндемического возвратных тифов

Признаки	Эпидемический возвратный тиф	Эндемический возвратный тиф
Переносчики	Вши	Клещи
Места распространения	Повсеместно	В зонах обитания клещей
Характер распространения	Эпидемический	Спорадический
Резервуар возбудителя в природе	Человек	Животные, птицы, клещи
Число приступов лихорадки	1-5	8-10 и более
Длительность одного приступа	5-8 дней	4-8 дней
Лабораторные животные для биопробы	Белые мыши, крысы	Морские свинки

**Лечение** проводится с помощью тетрациклиновых препаратов, пенициллина, левомицетина, цефалоспорины. Антибиотики применяют до стойкого снижения температуры.

**Профилактика.** В очагах эндемического возвратного тифа проводится комплекс мероприятий по борьбе с клещами и грызунами, принимаются меры по защите людей от нападения и присасывания клещей. Для этих целей используют различные акарициды (Карбофос, Дихлофос) и репелленты (ДЭТА, Дифтоллар, Редет, Пермет).

### Иксодовый клещевой боррелиоз

**Иксодовый клещевой боррелиоз** - это хроническое трансмиссивное природно-очаговое зоонозное инфекционное заболевание человека, вызываемое боррелиями и передающееся иксодовыми клещами.

**Историческая справка.** В 1909 г. шведский дерматолог А. Афцелиус (рисунок 8.44) на заседании Стокгольмского дерматологического общества сообщил о мигрирующей эритеме, возникшей у женщины после укуса клеща. В 1910 г. он опубликовал работу, в которой дал первое описание клинических проявлений мигрирующей эритемы. Заслуга А. Афцелиуса состоит в том, что он первым обратил внимание на связь кожных проявлений с укусами клещей.



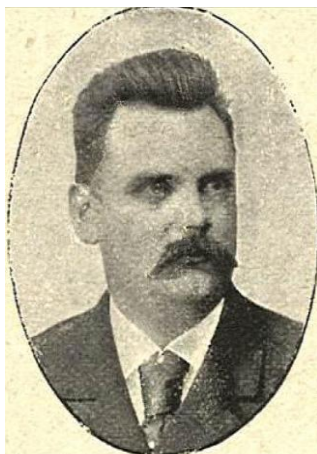


Рисунок 8.44 – Арвид Афцелиус (Arvid Afzelius, 1857-1923 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В 1913 г. австрийский врач Б. Липшютц (B. Lipschutz, 1878-1931 гг.) также описал клинические проявления, возникающие на коже в месте укуса клеща. Характерным симптомом этого поражения является появление на месте присасывания иксодового клеща кольцевидной эритемы, которая постепенно увеличивается в диаметре и распространяется эксцентрически. Эритему, возникающую на месте укуса клеща, стали называть хронической мигрирующей эритемой или эритемой Афцелиуса-Липшютца.

В последующие годы врачи наблюдали больных не только с эритемой на месте присасывания клещей, но и с развитием у них менингита, пареза лицевых мышц и радикулита. Высказывалось мнение об инфекционной природе этого заболевания, но выделить возбудителя длительное время не удавалось.

В 70-х годах XX века в городе Лайм (Old Lyme), штат Коннектикут, США (рисунок 8.45), у детей были зарегистрированы случаи юношеского ревматоидного артрита.

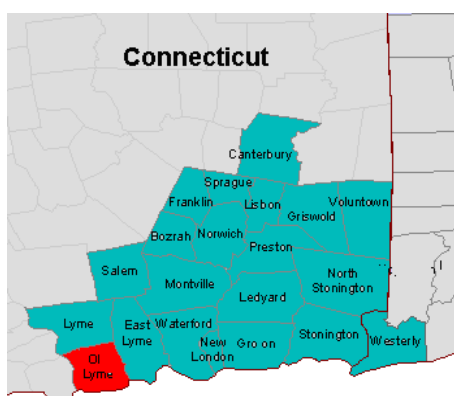


Рисунок 8.45 – США, штат Коннектикут, г. Лайм. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для установления причин этого заболевания в г. Лайм был направлен врач-ревматолог А. Смир. В 1975 г. он опубликовал работу, в которой сообщил, что болезнь возникает после укуса клещей и сопровождается мигрирующей кольцевой

эритемой. В 1977 г. было установлено, что основными переносчиками возбудителя болезни являются иксодовые клещи. По названию городка заболевание было названо болезнью Лайма (клещевой лихорадкой). В 1982 г. микробиолог В. Бургдорфер выделил из содержимого кишечника взрослых клещей *Ixodes scapularis* возбудителя этой болезни – спирохету (рисунок 8.46).



А

Б

Рисунок 8.46 – А - Аллен Стийр (Allen Caruthers Steere); Б - Вилли Бургдорфер (Willy Burgdorfer, 1925-2014 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В октябре 1984 г. эти спирохеты были идентифицированы как боррелии. Возбудитель болезни Лайма получил официальное название *Borrelia burgdorferi*.

Иксодовый клещевой боррелиоз распространен на всех континентах кроме Антарктиды. В нашей стране это заболевание впервые было выявлено в 1985 г., а в 1991 г. включено в официальный государственный перечень заболеваний, регистрируемых на территории России. В нашей стране многие регионы (Ленинградская, Тверская, Ярославская, Костромская, Калининградская области, Пермский край, Уральский, Западносибирский и Дальневосточный регионы) считаются эндемическими по иксодовым клещевым боррелиозам.

Существенный вклад в изучение этого заболевания внесли российские ученые Э.И. Коренберг, В.Н. Крючечников, Н.Б. Горелова, О.М. Лесняк, Ю.В. Лобзин и др.

**Возбудителями** иксодового клещевого боррелиоза являются боррелии нескольких геновидов (геномных групп), различающихся по нуклеотидным последовательностям. Основными патогенными для человека являются виды *B. burgdorferi*, *B. garini*, *B. afzelii*. В США возбудителем клещевого боррелиоза является *B. burgdorferi*, на территории России преимущественно распространены *B. garini* и *B. afzelii* (рисунок 8.47)



Рисунок 8.47 – Распространенность основных видов боррелий. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В Российской Федерации количество заболевших клещевыми боррелиозами ежегодно колеблется от 7 до 9 тысяч человек. В последние годы зарегистрированы микст-инфекции, переносимые клещами *Ixodes ricinus*, у которых в организме одновременно присутствуют боррелии, бабезии, эрлихии, риккетсии и другие возбудители болезней человека.

Изучение генетических особенностей боррелий показало, что *B. burgdorferi* имеет 9 кольцевых и 12 линейных плазмид. Некоторые из этих плазмид обуславливают синтез различных липопротеинов и поринов. Предполагается, что присутствие в клетке множества плазмид обеспечивает инвазию и выживаемость возбудителя в организме хозяина.

**Антигенная структура возбудителей.** У возбудителей иксодового клещевого боррелиоза выделяют следующие антигены:

- белковый антиген фибриллярного аппарата или жгутиковый антиген (p41);
- белковый антиген цитоплазматического цилиндра (p93);
- поверхностные липидмодифицированные интегральные белки наружной мембраны (osp A, B, C, D, E, F).

Протективными свойствами обладают антитела к антигенам osp (outer surface protein - англ.) A, B, C, D, E, F. Синтез этих антигенов детерминируется плазмидами. У отдельных геновидов боррелий поверхностные белки вариабельны. Например, у *B. garinii* выявляется 13 вариантов по ospC-белку и 7 вариантов по ospA-белку, у *B. afzelii* обнаруживается 8 вариантов по ospC-белку и 2 варианта по ospA-белку. В процессе жизненного цикла боррелии также могут изменять свой антигенный профиль. В частности, в организме клещей и в организме человека на ранних стадиях заболевания преобладают одни антигены (ospC), а на поздних стадиях заболевания человека – другие антигены (ospA), что зависит от окружающей температуры (рисунок 8.48).

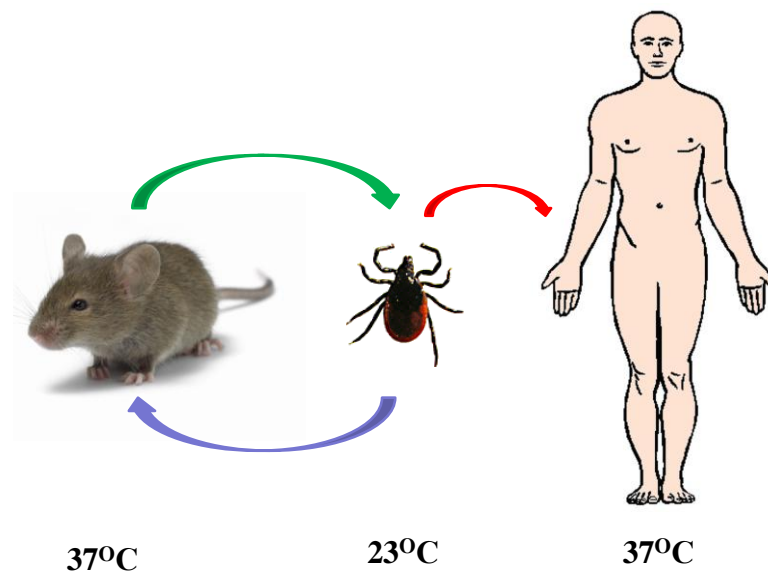


Рисунок 8.48 – Влияние окружающей температуры на антигенную структуру боррелий в течение жизненного цикла.

### **Факторы патогенности боррелий.**

#### **Факторы адгезии:**

- коллагенсвязывающий белок;
- белок, связывающий урокиназу;
- липидмодифицированные белки наружной мембраны.

#### **Факторы инвазии:**

- поверхностные структуры;
- подвижность.

#### **Токсинообразование:**

- эндотоксин.

#### **Факторы агрессии:**

- ospA-протеин;
- белок теплового шока (по структуре и молекулярной массе идентичен человеческому белку теплового шока, синтезируется при 37°C).

**Эпидемиология.** Клещевой боррелиоз относится к природно-очаговым зоонозным инфекциям. **Прокормителями и резервуаром клещей** в природных очагах являются более 200 видов животных и более 100 видов птиц. На территориях с развитым животноводством прокормителями клещей могут быть и домашние животные (крупный и мелкий рогатый скот). Половозрелые клещи питаются преимущественно на крупных животных, а нимфы и личинки – на мелких животных. В организме животных происходит размножение возбудителя. Основным резервуаром боррелий в природе являются мелкие млекопитающие, главным образом лесные белолапчатые мыши (рисунок 8.49), белохвостые олени, собаки, овцы, птицы, крупный рогатый скот (рисунок 8.50).



Рисунок 8.49 – Основной резервуар боррелий в природе - белолопчатые лесные мыши. Заимствовано из Интернет-ресурсов.



Рисунок 8.50 – Прокормители клещей. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Заболевание передается человеку через укусы клещей рода *Ixodes*. Для Европы и Азии наиболее важное эпидемическое значение имеют клещи *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus*, для США – *Ixodes scapularis* (рисунок 8.51).



Рисунок 8.51 – Переносчики возбудителей иксодового клещевого боррелиоза. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На территории Российской Федерации в центральных и восточных районах наиболее распространены клещи *Ixodes persulcatus*, а в западных регионах - *Ixodes ricinus* (рисунок 8.52).

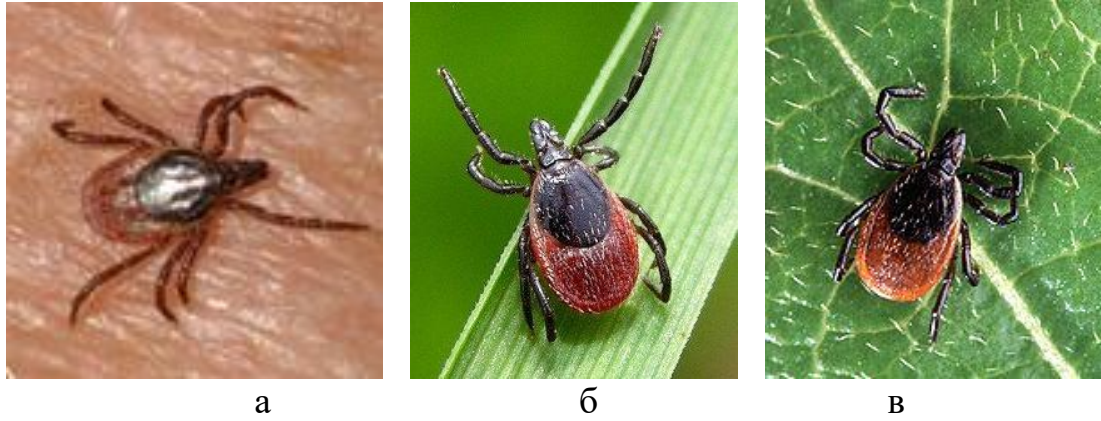


Рисунок 8.52 – Переносчики боррелий - клещи *Ixodes ricinus* (а), *Ixodes persulcatus* (б) и *Ixodes scapularis* (в). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

У клещей отмечается трансфазовая (по ходу метаморфоза) и трансовариальная (от инфицированной самки через оплодотворенное яйцо следующему поколению) передача боррелий.

Самка иксодовых клещей насыщается кровью от животного-прокормителя в течение 7-12 дней. При этом тело самки увеличивается в несколько раз (рисунок 8.53).



Рисунок 8.53 – Самка иксодового клеща до и после кровососания. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Затем самка клеща в течение 1-2 недель откладывает несколько тысяч яиц (часть из них является инфицированной) и погибает. Через 15-30 дней из яиц появляются личинки, которые напозают на мелких животных, птиц и питаются на них в течение 4-5 дней. Затем личинки в верхнем слое почвы линяют и становятся нимфами, которые питаются кровью как на мелких, так и на крупных животных. Нимфы превращаются в имаго (половозрелую особь). На любой фазе своего развития клещи могут быть инфицированы как в результате сосания крови зараженных животных, так и в результате трансфазовой передачи боррелий (рисунок 8.54).

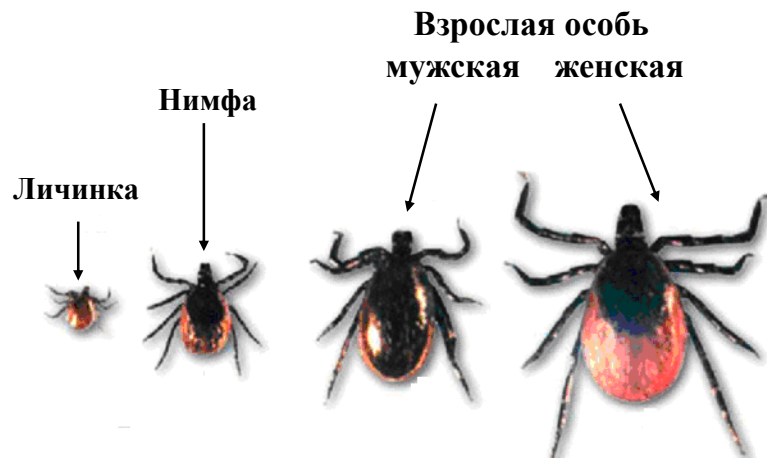


Рисунок 8.54 – Фазы развития иксодовых клещей. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В теле взрослого клеща или нимфы возбудитель прикрепляется с помощью белка *ospA* к клеткам эпителия кишечника.

На теле человека клещи чаще всего прикрепляются к коже волосистой части головы, шеи, в подмышечной и паховой областях, в области пупка, промежности, под лопатками, по ходу позвоночника (где одежда не очень плотно прилегает к телу) при нахождении человека в лесу. Клещи могут быть занесены в жилище с букетами цветов, вениками, домашними животными, а затем перейти на человека. При попадании на кожу человека клещи хелицерами (передними придатками) закрепляются на месте кровососания и проталкивают хоботок вглубь кожи. Хоботок имеет направленные назад зубчики, с помощью которых клещ плотно удерживается на коже человека и животных (рисунок 8.55).

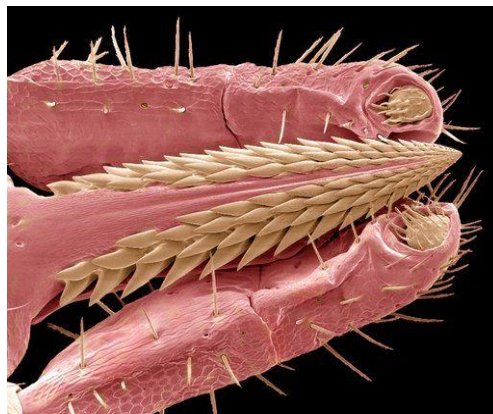


Рисунок 8.55 – Хоботок клеща с зубчиками. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При этом клещи принимают перпендикулярное положение по отношению к поверхности кожи. Погружение хоботка в кожу сопровождается у клеща обильным выделением слюны. Слюна клещей вызывает обезболивание места укуса и лизис тканей, а также предотвращает свертывание крови. Кроме того, слюна обволакивает кожу вокруг входного отверстия и хоботок в виде цилиндрического футляра. Эта

слюна через несколько минут застывает, образуя цементный футляр, в результате чего клещ прочно удерживается на коже (рисунок 8.56).

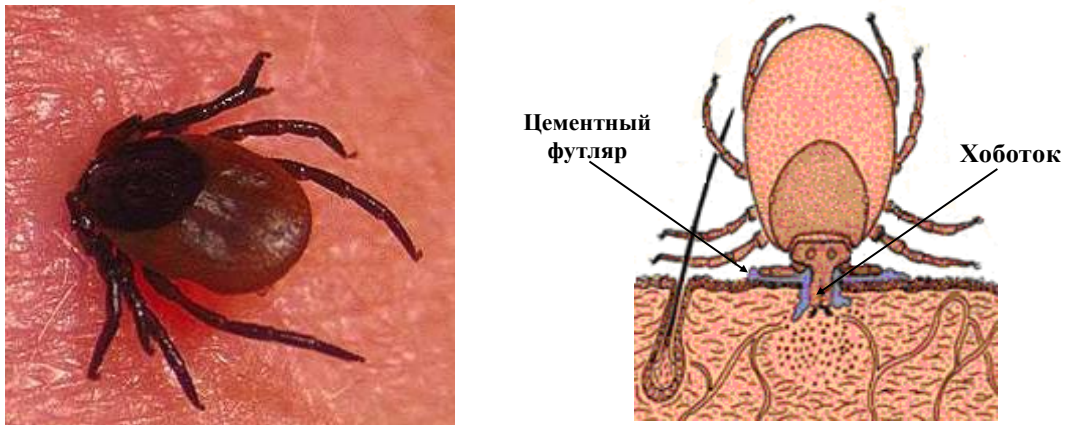


Рисунок 8.56 – Положение клеща при кровососании. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При попадании в кишечник клеща крови млекопитающих под действием компонентов крови и температуры хозяина происходит экспрессия генов, кодирующих белок *ospC*. Замена в наружной мембране белка *ospA* на белок *ospC* приводит к проникновению возбудителя через стенку кишечника клеща и перемещению его в слюнные железы, откуда он попадает в организм человека.

Ощущение человеком чувства жжения и зуда в месте присасывания клеща возникает через 6-12 часов. Процесс кровососания может продолжаться несколько дней. На месте укуса можно обнаружить первичный аффект в виде воспаленного болезненного инфильтрата диаметром 3-5 мм, который сохраняется в течение 2-3 недель.

Заболевание распространяется в весенне-летний период (май-сентябрь), соответствующий наибольшей активности клещей. В последние годы все чаще укусы клещей отмечаются в ранние сроки (март-апрель). Восприимчивость людей высокая. От человека человеку заболевание не передается.

**Патогенез.** Иксодовый клещевой боррелиоз является хронической инфекцией с поражением кожи, сердечной и нервной систем, суставов. Возбудитель проникает в организм человека при укусе со слюной клеща. Патогенез развития клещевого боррелиоза включает стадию локальной инфекции и стадию диссеминации и органных поражений.

В **стадии локальной инфекции** возбудитель в месте укуса подвергается фагоцитозу, что приводит к развитию первичной воспалительной реакции с участием цитокинов (интерлейкинов, фактора некроза опухолей и др.). На коже в месте укуса развивается мигрирующая (блуждающая, то есть распространяющаяся во все стороны) кольцевидная эритема. В процессе фагоцитоза происходит гибель боррелий и развитие иммунных реакций на антигены возбудителя: вырабатываются антитела классов IgM и IgG на антиген фибрилл p41 и белок *ospC*.

В **стадии диссеминации и органных поражений** возбудитель с током крови распространяется по организму в различные органы и ткани (сердце, ЦНС, суставы). Возбудитель способен проникать через гематоэнцефалический барьер.



Генерализация процесса сопровождается увеличением количества антител к конкретным антигенам боррелий. По мере прогрессирования заболевания спектр антител к антигенам микробной клетки расширяется. Длительная выработка антител способствует образованию циркулирующих иммунных комплексов, которые откладываются в сосудах и тканях. Накопление иммунных комплексов в синовиальной оболочке суставов, дерме, почках, миокарде приводит к воспалительным и дистрофическим изменениям в этих органах. Погибая, боррелии выделяют эндотоксин, который способствует развитию патологических реакций. Кроме этого, по мере прогрессирования заболевания формируется клеточный иммунный ответ. Развитие аутоиммунных реакций и внутриклеточная персистенция возбудителя способствуют хроническому течению инфекции.

**Клиника. Инкубационный период** продолжается от 3 до 32 дней после укуса клеща. На месте укуса образуется красная папула (рисунок 8.57).



Рисунок 8.57 - След от укуса клеща. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В течение клещевого боррелиоза выделяют ранний период (I стадия) и поздний период (II и III стадии). Во время **первой стадии (локальная инфекция)** на месте присасывания клеща отмечается след от укуса, а затем развивается мигрирующая кольцевидная эритема (рисунок 8.58).



Рисунок 8.58 – Мигрирующая эритема при иксодовом клещевом боррелиозе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Края эритемы интенсивно красные и слегка приподнимаются над неповрежденной кожей в виде кольца. Эритема обычно овальная или круглая, диаметром 10-20 см. У некоторых больных наряду с первичным поражением в течение нескольких дней появляются множественные кольцевидные высыпания -

вторичные эритемы, которые могут возникать на других участках кожи, не связанных с местом укуса.

У больных отмечается повышение температуры тела, недомогание, головная боль, слабость, утомляемость и лимфаденит. У некоторых больных эритема отсутствует. В таких случаях первая стадия болезни сопровождается только лихорадкой и общеинфекционными симптомами (головная боль, озноб, мышечные боли, общая слабость). Первая стадия заболевания длится в течение 3-30 дней. Исходом этой стадии болезни может быть выздоровление (особенно при адекватной антибактериальной терапии) или переход в поздний период.

В течение **второй стадии (стадия диссеминации)** развиваются поражения центральной нервной системы и сердца, которые наступают на 4-5 неделе заболевания и протекают в течение одного или нескольких месяцев. Эта стадия обусловлена распространением возбудителя с током крови и лимфы по организму. Неврологические симптомы проявляются в виде менингита, менингоэнцефалита, невритов. Симптомами поражения сердечно-сосудистой системы являются сердцебиение, одышка, сжимающие боли за грудиной, головокружение.

В **третьей стадии (хроническая форма)** через 6 недель и более от начала заболевания развиваются **артриты крупных суставов** (хронический артрит), **поражения кожи** (хронический атрофический акродерматит - ХААД, атрофия кожи идиопатическая прогрессирующая Пospelова, эритромелия Пика). Поражения суставов и кожи при иксодовом клещевом боррелиозе представлены на рисунке 8.59.

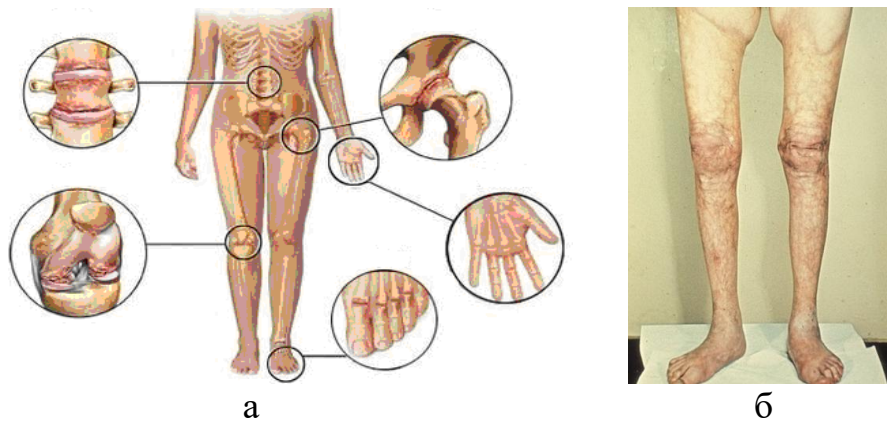


Рисунок 8.59 – Поражение суставов (а) и кожи (б - хронический атрофический акродерматит) при иксодовом клещевом боррелиозе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Кроме поражений суставов и кожи в третью стадию болезни развиваются и **хронические неврологические синдромы**, в частности, синдром Баннварта или лимфоцитарный менингоорадикулоневрит (корешковые боли, периферические парезы и симптомы менингита).

По течению выделяют острую (продолжительность болезни до 3 месяцев), подострую (продолжительность болезни от 3 до 6 месяцев) и хроническую (продолжительность болезни более 6 месяцев) формы болезни. Хроническая форма может характеризоваться как непрерывным, так и рецидивирующим течением.

По клиническим признакам при остром и подостром течении выделяют эритемную форму (в случае развития эритемы на месте укуса клеща) и безэритемную форму (без возникновения эритемы). Каждая из этих форм может протекать с симптомами поражения нервной системы, суставов, сердца.

Клиническая классификация иксодового клещевого боррелиоза (Лобзин Ю.В. и др., 1996 г.) включает следующие проявления:

- форма болезни: латентная, манифестная;
- течение болезни: острое (до 3 месяцев), подострое (от 3 до 6 месяцев), хроническое (более 6 месяцев);
- клинические признаки: острое и подострое течение – эритемная и безэритемные формы с преимущественным поражением нервной системы, сердца, суставов; хроническое течение – непрерывное и рецидивирующее течение с преимущественным поражением нервной системы, сердца, суставов, кожи;
- тяжесть заболевания: легкое, средней тяжести, тяжелое.

**Иммунитет** при иксодовом клещевом боррелиозе гуморальный, видоспецифический. Он вырабатывается в основном к антигенам клеточной стенки боррелий. Возможны повторные заражения через 5-7 лет.

**Диагностика** клещевого боррелиоза основывается на данных эпидемиологического анамнеза, клинической картине заболевания и результатах лабораторных исследований. В первую очередь учитывают пребывание больного в эндемичных по клещевому боррелиозу районах и факт присасывания клеща. Для лабораторной диагностики используются бактериоскопический, культуральный, серологический методы и ПЦР в зависимости от стадии заболевания. Материалом для исследования служат биоптаты кожи, синовиальная жидкость, ликвор, сыворотка крови.

На 1 стадии заболевания проводится **бактериоскопическое исследование** биоптатов кожи из краевой зоны эритемы и биологических жидкостей для обнаружения возбудителя. Однако количество микробных клеток в тканях и жидкостях организма незначительное (рисунок 8.60).

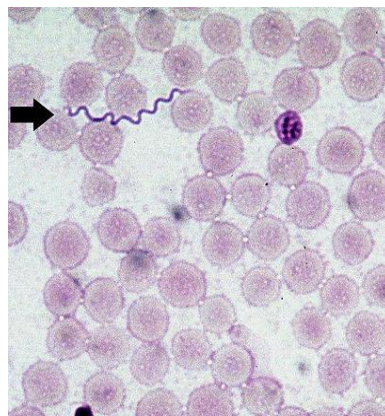


Рисунок 8.60 – Боррелии в крови больного. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При исследовании гистологических препаратов применяют импрегнацию серебром (окраска по Левадити). В таких препаратах боррелии окрашиваются в

бархатно-черный цвет. Метод **темнопольной микроскопии** применяют для определения инфицированности клещей боррелиями. Однако микроскопические методы не позволяют определять видовую принадлежность боррелий и их патогенные свойства.

**Культуральные методы** применяют для выделения возбудителя из любого инфицированного материала. Жидкие образцы предварительно концентрируют методом центрифугирования. Однако техника выращивания боррелий трудоемкая и длительная, поэтому культуральный метод имеет низкую диагностическую ценность.

Чаще всего используют **серологические методы** диагностики (реакцию непрямой иммунофлуоресценции - РНИФ, иммуноферментный анализ - ИФА, иммуноблоттинг), а также метод ПЦР. На ранних стадиях инфицирования выявляют антитела на белок ospC. На 2 стадии заболевания выявляют IgM, а затем нарастание титра IgG в сыворотке крови.

Наиболее распространенным методом диагностики иксодового клещевого боррелиоза является **РНИФ** с корпускулярным антигеном из боррелий. При проведении этой реакции специфические антитела исследуемой сыворотки связываются с антигеном боррелий, а сформированный комплекс выявляют с помощью меченных флюорохромом сывороток против глобулинов человека. Зеленая флюоресценция большинства микробных клеток рассматривается как положительный результат.

**ИФА** проводится с использованием сывороток против глобулинов (анти-антител), меченных ферментом (щелочной фосфатазой или пероксидазой). Ферментную метку при этом методе обнаруживают по цветной реакции.

**Метод иммуноблоттинга** позволяет выявлять специфические антитела к определенным белкам боррелий, которые предварительно разделены с помощью электрофореза.

**ПЦР** обладает высокой чувствительностью, так как она позволяет установить наличие возбудителя на 7-14 день после укуса.

**Лечение** иксодового клещевого боррелиоза проводится антибиотиками и патогенетическими средствами. Пострадавшим от укуса назначают превентивное лечение тетрациклином, доксициклином (вибрамицином), амоксициллином. При этом риск возникновения заболевания уменьшается до 80%. Использование антибиотиков на ранних стадиях заболевания значительно снижает вероятность развития осложнений. При выявлении у больных признаков поражения нервной системы, сердца, суставов назначают пенициллин, ампициллин, цефотаксим, цефтриаксон, антибиотики пенициллинового ряда пролонгированного действия (экстенциллин). Наряду с антибиотикотерапией применяют патогенетическое лечение: дезинтоксикационные растворы, дегидратационные средства, общеукрепляющие и противовоспалительные препараты, физиотерапевтическое лечение.

Переболевшие подлежат врачебному наблюдению в течение года с постановкой реакции непрямой иммунофлуоресценции каждые 3 месяца. По результатам врачебного наблюдения делается вывод о выздоровлении или переходе инфекции в хроническую форму.

**Профилактика. Специфическая профилактика** иксодового клещевого боррелиоза в нашей стране не проводится. В России применяется экстренная антибиотикопрофилактика иксодового клещевого боррелиоза – назначение антибиотиков в инкубационном периоде заболевания. Экстренная профилактика проводится строго индивидуально – в тех случаях, когда установлена инфицированность клеща боррелиями. Для экстренной профилактики применяют пенициллины, тетрациклины, макролиды.

В США и некоторых странах Европы разработаны и лицензированы рекомбинантные вакцины против иксодового клещевого боррелиоза.

**Неспецифическая профилактика** предусматривает соблюдение мер предосторожности в эндемичных очагах, использование защитной одежды, проведение санитарно-просветительной работы и борьбу с клещами.

Наиболее эффективной профилактической мерой является использование защитного костюма и сапог при работе в лесу. Защитный костюм состоит из куртки, брюк, капюшона с москитной сеткой. Куртка имеет защитные складки на груди, рукавах и спине, а также плотно прилегающие манжеты (рисунок 8.61).



Рисунок 8.61 – Защитный костюм. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Обычную одежду на время посещения леса надевают таким образом, чтобы затруднить проникновение клещей на кожу: куртку заправляют в брюки, брюки – в сапоги, рукава и ворот куртки плотно застегивают.

Для борьбы с клещами используют репеллентные, акарицидные и инсектицидно-репеллентные средства. **Репеллентные средства** отпугивают клещей. К ним относятся средства, содержащие диэтилтолуамид (“Бибан”, “ДЭТА-ПРОФ”, “ДЭФИ-Тайга” и др.). **Акарицидные средства** убивают клещей. В качестве активного вещества такие препараты содержат альфаметрин, обладающий нервно-паралитическим действием на клещей. К акарицидным средствам относятся “Рефтамид Таежный”, “Претикс”, “Пикник-Антиклещ” и др. **Инсектицидно-репеллентные средства** содержат 2 действующих вещества – диэтилтолуамид и

альфаметрин: “Москитол-антиклещ”, “Фумитокс-антиклещ”, “Таран-антиклещ” и др. (рисунок 8.62).



Рисунок 8.62 – Инсектицидно-репеллентные средства. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для борьбы с клещами территорию парков, скверов и других посещаемых лесопарковых зон обрабатывают акарицидными средствами “Таран”, “Акаритокс”, “Альфатрин” и др. (рисунок 8.63).



Рисунок 8.63 – Обработка территории акарицидными средствами. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В случае присасывания клеща его аккуратно удаляют с помощью пинцета, ручки-лассо или другими специальными приспособлениями (рисунок 8.64).



Рисунок 8.64 – Удаление присосавшегося клеща. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Инфицированность клещей боррелиями проверяется с помощью метода темнопольной микроскопии или полимеразной цепной реакции.

Санитарно-просветительная работа направлена на формирование у людей четкого представления о способах заражения, тяжести течения заболевания, последствиях болезни, правил поведения в природных очагах клещевого боррелиоза. Следует помнить, что одновременно с клещевым боррелиозом иксодовые клещи могут передавать возбудителей клещевого энцефалита, моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиоза и других заболеваний.

### **Вопросы для контроля усвоения материала**

1. Расскажите о строении боррелий.
2. Опишите культуральные свойства боррелий.
3. Охарактеризуйте возбудителя эпидемического возвратного тифа.
4. Опишите патогенез и клиническую картину эпидемического возвратного тифа.
5. Расскажите о методах диагностики, профилактики и лечения эпидемического возвратного тифа.
6. Охарактеризуйте возбудителя эндемического возвратного тифа.
7. Опишите патогенез и клиническую картину эндемического возвратного тифа.
8. Расскажите о методах диагностики, профилактики и лечения эндемического возвратного тифа.
9. Охарактеризуйте возбудителей клещевого боррелиоза.
10. Опишите патогенез и клиническую картину клещевого боррелиоза.
11. Расскажите о методах диагностики, профилактики и лечения боррелиоза.

### **Тренировочные тесты**

1. Боррелии имеют форму (один правильный ответ):
  - 1.1 тонких спиралевидных бактерий с крупными неравномерными завитками
  - 1.2 толстых коротких палочек
  - 1.3 диплококков
  - 1.4 кокков, расположенных цепочкой
  - 1.5 изогнутых палочек
2. Боррелии являются (один правильный ответ):
  - 2.1 грамположительными
  - 2.2 грамотрицательными
  - 2.3 стрептококками
  - 2.4 стафилококками
  - 2.5 диплококками
3. Боррелии культивируют в условиях (один правильный ответ):
  - 3.1 аэробных

- 3.2 анаэробных
  - 3.3 повышенной температуры (более 40<sup>0</sup>С)
  - 3.4 углекислого газа
  - 3.5 азота
4. Для окрашивания боррелий используют методы (несколько правильных ответов):
- 4.1 Бури
  - 4.2 Здродовского
  - 4.3 Ожешко
  - 4.4 Морозова
  - 4.5 Романовского-Гимзы
5. Боррелии вызывают (один правильный ответ):
- 5.1 брюшной тиф
  - 5.2 бруцеллез
  - 5.3 сыпной тиф
  - 5.4 клещевой боррелиоз
  - 5.5 кандидоз
6. Боррелии не вызывают (несколько правильных ответов):
- 6.1 сальмонеллез
  - 6.2 лептоспироз
  - 6.3 клещевой боррелиоз
  - 6.4 эпидемический возвратный тиф
  - 6.5 Ку-лихорадку
7. Возбудителя эпидемического возвратного тифа открыл (один правильный ответ):
- 7.1 Г.Н. Минх
  - 7.2 О. Обермейер
  - 7.3 И.И. Мечников
  - 7.4 Р. Кох
  - 7.5 Л. Пастер
8. Возбудитель эпидемического возвратного тифа (несколько правильных ответов):
- 8.1 имеет 3-10 неравномерных завитков
  - 8.2 по Романовскому-Гимзе окрашивается в сине-фиолетовый цвет
  - 8.3 кислотоустойчивый
  - 8.4 грамотрицательный
  - 8.5 спорообразующий
9. При эпидемическом возвратном тифе заражение происходит (один правильный ответ):
- 9.1 при укусе клещами
  - 9.2 при укусе вшами
  - 9.3 при раздавливании вшей и втирании гемолимфы
  - 9.4 при раздавливании клещей и втирании гемолимфы



## 9.5 при контакте с больным животным

10. Источником инфекции при эпидемическом возвратном тифе является (один правильный ответ):

- 10.1 больное животное
- 10.2 больной человек
- 10.3 бактерионоситель
- 10.4 аргасовые клещи
- 10.5 иксодовые клещи

11. Переносчиками эпидемического возвратного тифа являются (несколько правильных ответов):

- 11.1 аргасовые клещи
- 11.2 иксодовые клещи
- 11.3 блохи
- 11.4 головная вошь
- 11.5 платяная вошь

12. Путь заражения эпидемическим возвратным тифом (один правильный ответ):

- 12.1 половой
- 12.2 контактно-бытовой
- 12.3 трансмиссивный
- 12.4 трансплацентарный
- 12.5 воздушно-капельный

13. Для дифференциации эпидемического возвратного тифа от эндемического возвратного тифа используют метод (один правильный ответ):

- 13.1 серологический
- 13.2 биологический
- 13.3 бактериологический
- 13.4 бактериоскопический
- 13.5 молекулярно-генетический

14. После перенесенного эпидемического возвратного тифа формируется иммунитет (несколько правильных ответов):

- 14.1 нестойкий
- 14.2 непродолжительный
- 14.3 напряженный
- 14.4 длительный
- 14.5 пожизненный

15. Для эндемического возвратного тифа характерно (несколько правильных ответов):

- 15.1 природная очаговость
- 15.2 резервуар возбудителя – грызуны
- 15.3 передача клещами

15.4 передача от человека человеку

15.5 передача вшами

16. Природный резервуар возбудителя эндемического возвратного тифа (несколько правильных ответов):

16.1 вши

16.2 грызуны

16.3 аргасовые клещи

16.4 иксодовые клещи

16.5 блохи

17. Переносчики возбудителя эндемического возвратного тифа (один правильный ответ):

17.1 аргасовые клещи

17.2 иксодовые клещи

17.3 вши

17.4 блохи

17.5 комары

18. При эндемическом возвратном тифе заражение происходит (один правильный ответ):

18.1 при укусе клещами

18.2 при укусе вшами

18.3 при раздавливании вшей и втирании гемолимфы

18.4 при раздавливании клещей и втирании гемолимфы

18.5 при контакте с больным животным

19. Основной метод диагностики эндемического возвратного тифа (один правильный ответ):

19.1 микроскопический

19.2 бактериологический

19.3 кожно-аллергический

19.4 серологический

19.5 биологический

20. Какой материал используют при диагностике эндемического возвратного тифа (один правильный ответ):

20.1 гной

20.2 кровь

20.3 мокрота

20.4 носоглоточная слизь

20.5 моча

21. Возбудителя боррелиоза из организма клещей первым выделил (один правильный ответ):

21.1 Г.Н. Минх

21.2 О. Обермейер

- 21.3 И.И. Мечников
- 21.4 В. Бургдорфер
- 21.5 Л. Пастер

22. Возбудителем болезни Лайма является (один правильный ответ):

- 22.1 *B. reccurentis*
- 22.2 *B.burgdorferi*
- 22.3 *B. persica*
- 22.4 *B.caucasica*
- 22.5 *B.parkeri*

23. Основные возбудители иксодового клещевого боррелиоза в России (один правильный ответ):

- 23.1 *B. burgdorferi, B. Garini*
- 23.2 *B. afzelii, B. garini*
- 23.3 *B. recurrentis, B. afzelii*
- 23.4 *B. latyschewii, B. burgdorferi*
- 23.5 *B. latyschewii, B. garini*

24. Возбудители иксодового клещевого боррелиоза (несколько правильных ответов):

- 24.1 имеют 3-10 неравномерных завитков
- 24.2 по Романовскому-Гимзе окрашиваются в сине-фиолетовый цвет
- 24.3 кислотоустойчивые
- 24.4 грамтрицательные
- 24.5 спорообразующие

25. Переносчиками боррелиоза являются (один правильный ответ):

- 25.1 блохи
- 25.2 вши
- 25.3 мухи цеце
- 25.4 иксодовые клещи
- 25.5 аргасовые клещи

26. На первом этапе развития иксодового клещевого боррелиоза клиническим признаком является (один правильный ответ):

- 26.1 миокардит
- 26.2 мигрирующая эритема
- 26.3 лихорадка
- 26.4 артрит
- 26.5 менингит

27. К особенностям патогенеза иксодового клещевого боррелиоза относится (несколько правильных ответов):

- 27.1 гуммозное воспаление
- 27.2 цикличность развития
- 27.3 гематогенная диссеминация

- 27.4 развитие иммунодефицита  
27.5 хронизация процесса
28. Основным методом диагностики иксодового клещевого боррелиоза является (один правильный ответ):
- 28.1 бактериологический
  - 28.2 биологический
  - 28.3 серологический
  - 28.4 бактериоскопический
  - 28.5 аллергический
29. При серологической диагностике иксодового клещевого боррелиоза определяют (один правильный ответ):
- 29.1 циркулирующие иммунные комплексы
  - 29.2 гиперчувствительность замедленного типа
  - 29.3 гиперчувствительность немедленного типа
  - 29.4 нарастание титра IgM и IgG в динамике
  - 29.5 антигенную структуру клеток
30. Для профилактики иксодового клещевого боррелиоза в России применяют (несколько правильных ответов):
- 30.1 ношение защитной одежды
  - 30.2 живые вакцины
  - 30.3 репелленты
  - 30.4 акарициды
  - 30.5 убитые вакцины

Правильные ответы: 1.1; 2.2; 3.2; 4.4, 4.5; 5.4; 6.1, 6.2, 6.5; 7.2; 8.1, 8.2, 8.4; 9.3; 10.2; 11.4, 11.5; 12.3; 13.2; 14.1, 14.2; 15.1, 15.2, 15.3; 16.2, 16.3; 17.1; 18.1; 19.1; 20.2; 21.4; 22.2; 23.2; 24.1, 24.2, 24.4; 25.4; 26.2; 27.2, 27.3, 27.5; 28.3; 29.4; 30.1, 30.3, 30.4.

## 9. S-образные бактерии

S-образные бактерии объединяют кампилобактерии и хеликобактерии. Они относятся к типу (филуму) *Proteobacteria*, классу *Epsilonproteobacteria*, порядку *Campylobacterales*. Этот порядок объединяет 2 семейства: семейство *Campylobacteraceae* и семейство *Helicobacteraceae*. В свою очередь, семейство *Campylobacteraceae* включает 3 рода: *Campylobacter*, *Arcobacter* и *Sulfurospirillum*. К семейству *Helicobacteraceae* относится 6 родов: *Flexispira*, *Helicobacter*, *Sulfuricurvum*, *Sulfromonas*, *Thiovulum* и *Wolinella*. Основное клиническое значение имеют представители родов *Campylobacter* и *Helicobacter*.

### 9.1. Кампилобактерии

Кампилобактерии относятся к возбудителям зоонозных бактериальных инфекций с фекально-оральным механизмом передачи и преимущественным поражением пищеварительного тракта. **Кампилобактериоз** – это острая кишечная инфекция, при которой поражается преимущественно тонкий кишечник. В последующем возможна генерализация процесса с развитием септицемии и поражением различных органов и систем.

Кампилобактерии были выделены в начале XX века как возбудители инфекционных заболеваний крупного рогатого скота, овец и свиней. Впервые возбудитель выделен из тканей абортированных плодов овец и крупного рогатого скота в 1909-1913 г. Дж. Мак-Фадрианом, С. Штокманом и Т. Смитом. Бактерии были отнесены к вибрионам, а болезнь получила название вибриоз. От людей кампилобактерии были впервые выделены из крови беременных женщин в 1947 г. Р. Винцентом (Vinzent R.) с соавторами.

**Таксономическое положение.** Кампилобактерии относятся к типу (филуму) *Proteobacteria*, классу *Epsilonproteobacteria*, порядку *Campylobacterales*, семейству *Campylobacteraceae*, роду *Campylobacter* (греч. *campylos* - кривой, изогнутый), который включает в себя более 30 видов. Основными патогенными для человека видами являются:

- *C. jejuni* (40 сероваров);
- *C. fetus*;
- *C. coli*;
- *C. lari*.

*C. fetus* чаще поражает ослабленных людей с развитием гематогенно-диссеминированных форм заболевания.

По температурному оптимуму кампилобактерии подразделяются на термофильные и мезофильные. **Термофильные кампилобактерии** имеют температурный оптимум роста 42-44°C. Они образуют группу *C. jejuni*, включающую виды *C. jejuni*, *C. coli* и *C. lari*. **Мезофильные (нетермофильные) кампилобактерии** имеют температурный оптимум 25-37°C. К ним относится *C.*

*fetus* и ряд условно-патогенных видов (*C. faecalis*, *C. fetus*, *C. concisus*, *C. sputorum*, *C. fennelliae*, *C. cinaedi*, *C. hyointestinalis*), обитающих в ротовой полости, толстом кишечнике и мочеполовой системе теплокровных.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Кампилобактерии представляют собой извитые (штопорообразные) бактерии длиной 0,5-5 мкм и толщиной 0,2-0,9 мкм, имеющие характерную спирально изогнутую S-образную форму. Концы бактериальных клеток заостренные (рисунок 9.1).

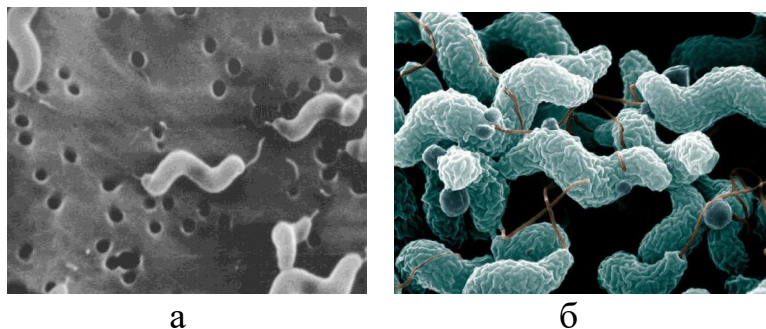


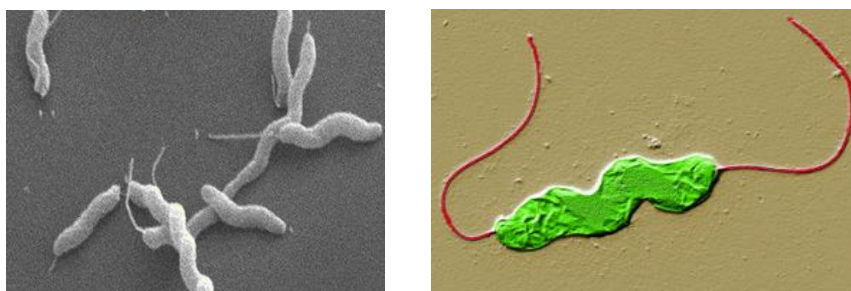
Рисунок 9.1 - Морфология кампилобактерий: а – сканирующая электронная микроскопия; б – компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В препаратах, приготовленных из патологического материала и культур с питательных сред, возбудитель имеет вид изогнутой палочки в виде штопора, запятой, летящей чайки, буквы V, спирали, изогнутой вокруг длинной оси, с одним или несколькими завитками (рисунок 9.2).



Рисунок 9.2 - Кампилобактерии в мазке из патологического материала. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

При культивировании в течение 2-3 суток образуются кокковидные или нитевидные формы. Для кампилобактерий характерны быстрые штопорообразные движения. Подвижность обусловлена наличием 1 или 2 жгутиков, расположенных на полюсах клетки (рисунок 9.3).



а

б

Рисунок 9.3 - Жгутики кампилобактерий: а – сканирующая электронная микроскопия; б – компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Спор и капсул кампилобактерии не образуют. Анилиновые красители воспринимают с трудом. Обычно эти бактерии окрашивают карболовым фуксином Циля, азуром-эозином, кристаллическим фиолетовым. Хорошо окрашиваются по Романовскому-Гимзе. По Граму кампилобактерии окрашиваются в розовый цвет - грамотрицательные (рисунок 9.4).

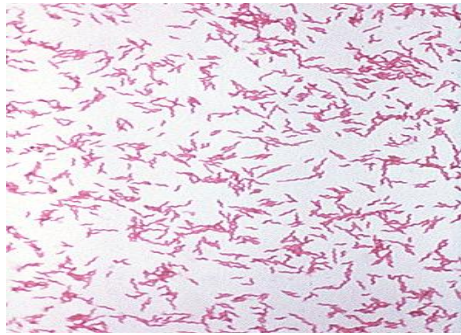


Рисунок 9.4 - Чистая культура кампилобактерий, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные и биохимические свойства.** Кампилобактерии являются **капнофилами** (хорошо развиваются в присутствии углекислого газа) и **микроаэрофилами** (лучше растут при сниженной концентрации кислорода). Оптимальной газовой средой служит смесь из 5-7% кислорода, 83-85% азота и 10% углекислого газа. Оптимальная величина рН питательных сред - 7,0-7,2. Время выращивания составляет не менее 24-48 часов.

Кампилобактерии требовательны к питательным средам. Растут на средах с добавлением глицерина, крови, гемина, гидролизата белков, аминокислот, ростовых факторов и солей. Для выращивания кампилобактерий используются следующие питательные среды:

- мясо-пептонный печеночный агар (МППА);
- полужидкий печеночно-желатиновый агар (ПЖА);
- железо-эритритный кровяной агар (ЖЭКА);
- сафранино-железо-новобиоциновая среда (СЖН);
- среда Китта-Тароцци без масла;
- кампилобакагар;
- селективная питательная среда для выделения термофильных кампилобактерий (ПСТК-среда);
- кровяной агар (КА);
- шоколадный агар (ША);
- среда Бутцлера.

Обязательное условие - наличие в среде 7-10% эритроцитов и антибиотиков (ванкомицина, амфотерицина В и др.), подавляющих рост сопутствующих микроорганизмов.

На плотных средах кампилобактерии через 24-48 часов образуют нежный мелкоросинчатый серовато-белый налет или отдельные серо-голубоватые или серовато-жемчужные мелкие блестящие слизистые расплзающиеся или выпуклые колонии (рисунок 9.5).

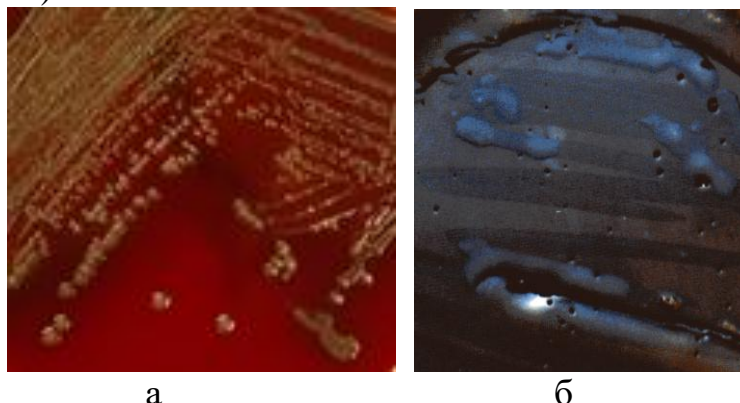


Рисунок 9.5 - Рост кампилобактерий на плотных питательных средах: а - кровяной агар; б – шоколадный агар. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На полужидком печеночно-желатиновом агаре через 2-7 суток отмечается рост около самой поверхности среды в виде серовато-голубоватого диска толщиной от 1 до 4 мм. В жидких питательных средах кампилобактерии образуют гомогенное помутнение и осадок.

Биохимические и ферментативные свойства выражены слабо: кампилобактерии не ферментируют углеводы, не образуют индола и аммиака, образуют сероводород, не разжижают желатина, не свертывают молоко, дают положительную реакцию на каталазу, гемолитической активностью не обладают.

Способность к гидролизу гиппурата натрия является основным признаком, позволяющим дифференцировать *C. jejuni* и *C. coli*. Биохимические признаки используются для установления видовой принадлежности кампилобактерий (таблица 9.1).

Таблица 1 – Дифференциально-диагностические признаки некоторых кампилобактерий

Вид	Оксидаза	Каталаза	Рост при		Гидролиз гиппурата натрия	Восстановление нитратов	Образование сероводорода	Подвижность
			250С	420С				
<i>C. jejuni</i>	+	+	-	+	+	+	-	+
<i>C. coli</i>	+	+	-	+	-	+	±	+
<i>C. lari</i>	+	±	-	+	-	+	+	±

**Геном** кампилобактерий представлен кольцевой молекулой ДНК, некоторые штаммы могут содержать плазмиды.

**Антигенная структура.** Кампилобактерии имеют термостабильный соматический **О-антиген** и термолабильный жгутиковый **Н-антиген**. О-антиген находится во внешней мембране и входит в состав липополисахарида. По О-



антигену кампилобактерии подразделяются на 60 сероваров, а по H-антигену – на 50 серотипов.

**Резистентность** кампилобактерий невысокая. При нагревании кампилобактерии быстро инактивируются, при комнатной температуре сохраняются до 2 недель, в воде - до 3 недель, а в замороженных тушах животных - несколько месяцев. В водопроводной воде при 20<sup>o</sup>C кампилобактерии выживают в течение 12-24 часов, при 37<sup>o</sup>C – 6-12 часов, в сточной воде – до 10 суток. В сыром молоке сохраняется в течение 5-14 суток, при 25<sup>o</sup>C возбудитель погибает через 3 дня. В продуктах при 4<sup>o</sup>C они сохраняются до 7 суток. В почве, помете птиц, навозе животных, фекалиях кампилобактерии сохраняются до 30 суток. Длительно сохраняются в водной среде при низких температурах. При нагревании до 60<sup>o</sup>C они погибают через 15 минут, при пастеризации (71-77<sup>o</sup>C) - в течение 15 секунд. Кипячение и хлорирование воды полностью уничтожают возбудителя.

Кампилобактерии устойчивы к сульфаниламидным препаратам, слабо устойчивы к пенициллину, но чувствительны ко многим другим антибиотикам (эритромицину, левомицетину, стрептомицину, канамицину, тетрациклинам, гентамицину и ципрофлоксацину).

**Факторы патогенности кампилобактерий.** К факторам патогенности кампилобактерий относятся следующие компоненты:

1. **Жгутики**, обуславливающие подвижность бактерий и способность к проникновению через слой слизи и перемещению вдоль эпителия.

2. **Адгезины**, обеспечивающие адгезию возбудителя на эпителиальных клетках и колонизацию слизистой оболочки кишечника.

3. **Муциназа**, способствующая проникновению бактерий через слой слизи, покрывающий эпителий кишечника.

4. **Энтеротоксины** (термолабильный и термостабильный). Термолабильный холероподобный энтеротоксин является разновидностью экзотоксина. Термостабильный энтеротоксин высвобождается после гибели бактерий и вызывает общую интоксикацию организма. Энтеротоксины нарушают водно-солевой обмен путем образования цАМФ.

5. **Эндотоксин** кампилобактерий подобно эндотоксинам других грамотрицательных бактерий вызывает развитие токсикоза, обладает пирогенным действием.

6. Дизентериеподобный **цитотоксин** высвобождается после гибели бактерий и вызывает гибель эпителиальных клеток.

7. **Система секреции 4 типа (T4SS)**. Она участвует в инвазии возбудителя, транспортируя эффекторные белки внутрь эпителиальных клеток.

**Патогенез.** В патогенезе заболевания основная роль принадлежит адгезии и инвазии микроба, а также способности кампилобактерий размножаться в присутствии желчи. Благодаря наличию жгутиков, кампилобактерии проникают через слизь, движутся вдоль эпителия тонкой кишки и прикрепляются к эпителиальным клеткам.

После адгезии бактерии колонизируют верхние отделы тонкой кишки. Затем кампилобактерии проникают через эпителиальные клетки в составе фагосомоподобных вакуолей и через межклеточные пространства в подслизистый слой (инвазия). Термостабильный энтеротоксин и дизентериеподобный цитотоксин

вызывают гибель эпителиальных клеток и оказывают общее токсическое действие на организм. Продукция цитокинов обуславливает развитие воспаления. Схема патогенеза кампилобактериоза представлена на рисунке 9.6.

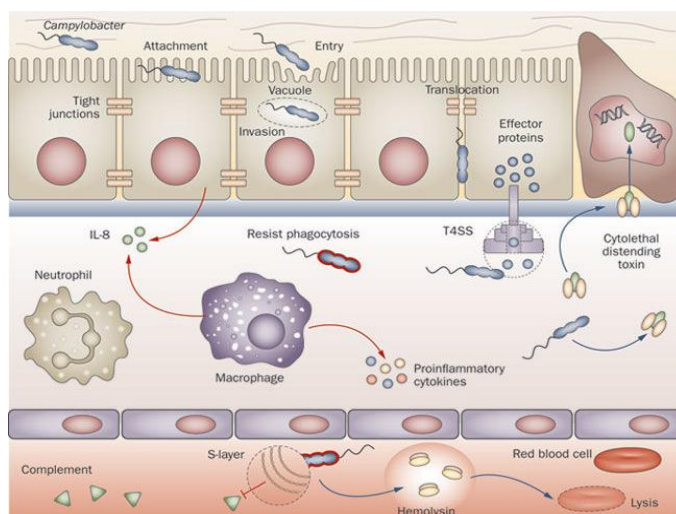


Рисунок 9.6 – Патогенез кампилобактериоза. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

В результате этого развиваются воспаление, отек слизистой оболочки, появляются язвы, которые сливаются и образуют крупные изъязвления (рисунок 9.7).

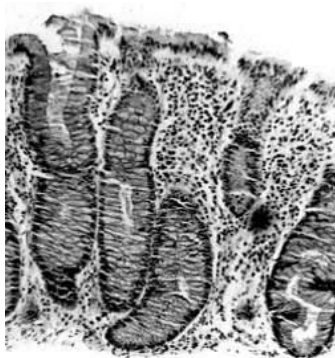


Рисунок 9.7 – Изъязвления в слизистой оболочке кишечника при кампилобактериозе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Эрозии слизистой оболочки кишечника клинически проявляются наличием в стуле больного крови и слизи.

Проникновение бактерий в кровь приводит к развитию бактериемии с последующим гематогенным обсеменением органов и тканей.

**Эпидемиология.** По данным ВОЗ, кампилобактериоз является наиболее распространенным заболеванием в структуре кишечных инфекций. На его долю приходится от 3 до 80% ОКИ. В России за 2005-2007 годы официально ежегодно регистрировалось всего 394-398 случаев кампилобактериоза, что связано с недостаточной диагностикой этой инфекции. Кампилобактериоз в РФ составляет 6,5-12,2% от общего числа острых кишечных заболеваний.

Кампилобактериоз относится к группе зооантропонозных инфекций. Основным **источником инфекции** и **природным резервуаром** кампилобактерий являются птицы, сельскохозяйственные животные (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи), редко - человек (больной или бактерионоситель). В последние годы основным источником кампилобактерий является промышленная птица. *C. jejuni* поражает широкий круг животных и птиц, *C. coli* чаще выделяется от свиней, а *C. fetus* в основном поражает крупный и мелкий рогатый скот. Инфицированные животные часто являются носителями кампилобактерий без клинических проявлений инфекции. Такое носительство приводит к последующей контаминации мяса возбудителем из содержимого кишечника. Животные-носители инфицируют кампилобактериями воду и почву, которые становятся резервуаром инфекции. Контаминация молока кампилобактериями происходит в его результате фекального загрязнения или при кампилобактериозном мастите коров. Загрязнение продуктов питания кампилобактериями происходит в результате неудовлетворительного состояния гигиены на производстве, при недостаточной термической обработке мясных и молочных продуктов.

**Механизм заражения** человека кампилобактериозом - фекально-оральный, **пути заражения** – пищевой, водный, контактно-бытовой, **факторы передачи** – пищевые продукты, вода (рисунок 9.8).

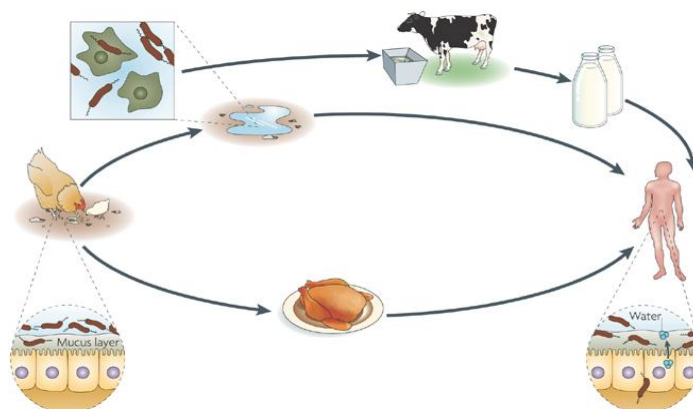


Рисунок 9.8 – Схема эпидемиологии и патогенеза кампилобактериоза. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Наиболее часто заболевание возникает при использовании инфицированного мяса, при употреблении воды из случайных источников и сырого молока. Инфицирующая доза составляет около  $10^2$ - $10^8$  бактерий. Случаи заболевания регистрируются в течение всего года, чаще в летне-осенние месяцы. В большей степени кампилобактериозу подвержены дети в возрасте от 1 года до 3-5 лет, а также подростки. Заболеваемость кампилобактериозом регистрируется в виде спорадических случаев или эпидемических очагов. Отмечаются профессиональные заболевания лиц, ухаживающих за больными животными. Естественная восприимчивость людей высокая. В 1% случаев наблюдается бактерионосительство.

Кампилобактериоз по своей распространенности не уступает сальмонеллезам, достигая 12-15% от общего числа острых кишечных инфекций. Заболевания регистрируются повсеместно. Нередко кампилобактериоз возникает после поездки в

другие страны (этиологический фактор “диареи путешественников”). Наиболее высокая заболеваемость кампилобактериозом отмечается в странах Африки, Латинской Америки, Юго-Восточной Азии. Наблюдаются как спорадические, так и групповые случаи заболевания.

**Клиника.** Кампилобактериоз – острое инфекционное заболевание, характеризующееся синдромом общей интоксикации, поражением желудочно-кишечного тракта и возможностью генерализации патологического процесса. **Инкубационный период** продолжается до 6 дней (чаще 1-2 дня). По клиническому течению выделяют следующие формы кампилобактериоза:

- гастроинтестинальная форма;
- генерализованная (септическая) форма;
- хроническая форма;
- субклиническая форма.

Чаще всего наблюдается **гастроинтестинальная (желудочно-кишечная) форма**. Она встречается как у детей первого года жизни, так и у взрослых в виде спорадических случаев или вспышек. Для гастроинтестинальной формы характерно острое начало, лихорадка, общая интоксикация и синдром гастроэнтерита: тошнота, рвота, диарея, боли в эпигастральной области, сухость кожи и слизистых оболочек (рисунок 9.9).



Рисунок 9.9 – Локализация патологического процесса и клинические симптомы кампилобактериоза.

**Генерализованная (септическая) форма** чаще наблюдается у детей первых месяцев жизни, реже у ослабленных взрослых. При этом отмечаются выраженная лихорадка, диарея, увеличение печени, обезвоживание, истощение, снижение массы тела, анемия. Заболевание протекает в виде сепсиса с множественными поражениями различных органов (пневмония, перитонит, менингит, абсцессы внутренних органов).

**Хроническая форма** кампилобактериоза является первично-хронической, то есть с самого начала принимает вялое хроническое течение (без острой фазы болезни). Больные жалуются на слабость, плохой аппетит, раздражительность, нарушение сна, снижение массы тела. На этом фоне у больных появляются тошнота, рвота, диарея.

**Субклиническая (бессимптомная) форма** кампилобактериоза выявляется обычно в очаге при обследовании здоровых людей. Характеризуется постоянным

выделением возбудителя из испражнений и нарастанием титра специфических антител в сыворотке крови.

**Микробиологическая диагностика** кампилобактериоза осуществляется в соответствии с Методическими указаниями №01/15702-8-34 от 26.12.2008 г. Определение бактерий рода *Campylobacter* в пищевых продуктах и в кормах для животных осуществляется в соответствии с МУК 4.2.2321-08 и ГОСТ Р ИСО 10272-1-2010.

При диагностике кампилобактериоза применяют бактериоскопический, культуральный и серологический методы. Исследуемым материалом служат фекалии, мазки и смывы из прямой кишки, кровь, вода, молоко и другие подозрительные пищевые продукты. Пробы транспортируют в среде с консервантом (тиогликолевый бульон, щелочная пептонная вода) при температуре 4°C.

**Бактериоскопический метод** предусматривает микроскопию мазков, окрашенных раствором фуксина или кристаллического фиолетового в течение 10-30 секунд. Однако бактериоскопический метод обладает низкой чувствительностью. Этот метод может быть достоверным при наличии в исследуемом материале микробных клеток не менее  $10^5$  КОЕ/мл.

**Культуральный метод** основан на выделении чистой культуры возбудителя. Исследуемый материал доставляют в лабораторию в короткие сроки, используя транспортные среды (тиогликолевая среда, мясопептонный бульон, среда Эймса и др.). Вначале исследуемый материал высевают на обогатительные среды (пептонную воду, тиогликолевую среду), а затем проводят пересев на плотные селективные питательные среды (кровяной эритроцит агар, угольный эритроцит агар, кампилобакагар).

Для дифференциации вида кампилобактерий посевы инкубируют при различных температурах в атмосфере азота, углекислого газа и кислорода в соотношении 85:10:5. Микроаэрофильные условия лучше всего достигаются при использовании коммерческих анаэроостатов с химическими газогенерирующими пакетами (рисунок 9.10).



Рисунок 9.10 – Анаэроостаты с газогенерирующими пакетами.

Для идентификации выделенных культур используют следующие тесты: подвижность, образование уреазы, сероводорода, оксидазы и каталазы, гидролиз гипсурата натрия, способность к росту при разных температурах, редукция нитратов и нитритов, чувствительность к налидиксовой кислоте.

Подвижность бактерий выявляют фазово-контрастной или темнопольной микроскопией раздавленной капли.

Гидролиз гиппурата характерен для *C. jejuni*. Этот признак выявляют после 2-часового инкубирования исследуемой культуры в 1%-ном растворе гиппурата натрия и последующего добавления к суспензии нингидринового реактива. Появление темно-фиолетового окрашивания свидетельствует о выделении *C. jejuni* (рисунок 9.11).



Рисунок 9.11 - Гидролиз гиппурата. Стрелкой указан положительный результат. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Идентификация культур рода *Campylobacter* по 12 тестам возможна с помощью системы API Campy французской фирмы bio Merieux (рисунок 9.12).



Рисунок 9.12 – Системы API для идентификации бактерий. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Образование уреазы, сероводорода, оксидазы и каталазы, восстановление нитратов, гидролиз гиппурата натрия и другие признаки с помощью этой системы выявляются по изменению цвета среды после 24-часового инкубирования.

Первичная идентификация культур возможна с помощью латексной агглютинации. Для этой цели применяют коммерческие наборы (например, *Campylobacter test kit* фирмы OXOID). Этот метод основан на взаимодействии латексных частиц на тест-слайде с поверхностными антигенами кампилобактерий и образовании агглютината.

**Серологическая диагностика** при кампилобактериозе проводится в случаях отсутствия выделения возбудителя, при эпидемиологических исследованиях и с

целью изучения патогенеза заболевания. Для серологической диагностики используют РА, РНГА, РСК.

Методами экспресс-диагностики служат РИФ со специфическими люминесцентными сыворотками, ИФА и ПЦР. В частности, тест-системы на кампилобактериоз в режиме реального времени для медицинских и ветеринарных целей выпускают несколько коммерческих организаций (рисунок 9.13).



Рисунок 9.13 – Тест-система ПЦР на кампилобактериоз в режиме реального времени. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для выявления кампилобактерий в пищевых продуктах фирма Merck (Германия) выпускает экспресс-тест Singlepath-Campylobacter, представляющий собой иммунохроматографический тест на основе меченных золотом антител (рисунок 9.14).



Рисунок 9.14 - Экспресс-тест Singlepath-Campylobacter для обнаружения кампилобактерий в пищевых продуктах. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Исследуемый материал вносится в круглую лунку, где антиген адсорбируется подложкой и часть его взаимодействует с мечеными антителами. Комплекс “антиген+антитело” мигрирует в тестовую зону (Т), где связывается с антителами к этому комплексу. В результате взаимодействия образуется четкая красная полоса. Оставшаяся часть образца мигрирует далее в контрольную зону (С), где образует четкую красную полосу, указывающую на специфичность теста.

Для установления клинического диагноза достаточно определить родовую принадлежность выделенной культуры, а при эпидемиологическом анализе заболевания требуется видовая и внутривидовая идентификация возбудителя.

**Иммунитет.** После заболевания развивается видо- и типоспецифический иммунитет, который не защищает от повторного заражения возбудителем другого серотипа или биовара.

**Лечение.** В большинстве случаев заболевание заканчивается спонтанным излечением, поэтому химиотерапия не проводится. Антибиотики применяют при угрозе развития тяжелых осложнений. С этой целью используют макролиды (эритромицин, макропен, азитромицин и др.), тетрациклины, хинолоны (ципрофлоксацин). Для лечения кампилобактериоза применяют регидрационные средства, сорбенты, пробиотики, пребиотики, ферменты.

**Профилактика.** Профилактика кампилобактериоза среди людей проводится в соответствии с СП 3.1.7.2816-10. Средств специфической профилактики кампилобактериоза не разработано. Осуществляют комплекс санитарно-ветеринарных, санитарно-гигиенических и противоэпидемических мероприятий (ликвидация инфекции среди животных, соблюдение санитарно-гигиенических норм забоя животных, защита продуктов от загрязнения, соблюдение правил транспортировки, хранения и реализации пищевых продуктов, тщательная термическая обработка мясных продуктов, соблюдение правил личной гигиены).

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Расскажите об истории открытия кампилобактерий.
2. Расскажите о таксономии кампилобактерий.
3. Морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства кампилобактерий.
4. Охарактеризуйте антигенную структуру кампилобактерий.
5. Расскажите о резистентности кампилобактерий.
6. Факторы патогенности кампилобактерий и патогенез заболевания.
7. Опишите клинические формы и симптомы кампилобактериоза.
8. Каковы принципы лечения кампилобактериоза.
9. В чем заключается профилактика кампилобактериоза.

### Тренировочные тесты

1. Кампилобактерии, наиболее часто вызывающие заболевание у человека, относятся к виду (один правильный ответ):
  - 1.1 *C. coli*
  - 1.2 *C. fetus*
  - 1.3 *C. anaedi*
  - 1.4 *C. jejuni*
  - 1.5 *C. hyointestinalis*
2. Микроорганизмы рода *Campylobacter* являются (несколько правильных ответов):
  - 2.1 анаэробными грамотрицательными палочками
  - 2.2 микроаэрофильными грамотрицательными палочками
  - 2.3 S-образными бактериями
  - 2.4 грамположительными кокками
  - 2.5 спорообразующими палочками
3. Кампилобактерии хорошо растут на (несколько правильных ответов):



- 3.1 МПА
  - 3.2 кровяном агаре
  - 3.3 мясо-пептонном печеночном агаре
  - 3.4 среде Эндо
  - 3.5 МПБ
4. Кампилобактеры являются (несколько правильных ответов):
- 4.1 микроаэрофилами
  - 4.2 анаэробами
  - 4.3 факультативными анаэробами
  - 4.4 облигатными аэробами
  - 4.5 капнофилами
5. К факторам патогенности кампилобактерий относится (несколько правильных ответов):
- 5.1 экзотоксин
  - 5.2 жгутики
  - 5.3 адгезины
  - 5.4 энтеротоксины
  - 5.5 капсула
6. Основным природным резервуаром кампилобактерий является (несколько правильных ответов):
- 6.1 дикие животные
  - 6.2 домашние животные
  - 6.3 птицы
  - 6.4 человек
  - 6.5 членистоногие
7. Температура, оптимальная для культивирования кампилобактерий (один правильный ответ):
- 7.1 10<sup>0</sup>С
  - 7.2 15<sup>0</sup>С
  - 7.3 20<sup>0</sup>С
  - 7.4 42<sup>0</sup>С
  - 7.5 50<sup>0</sup>С
8. Основным методом диагностики кампилобактериоза является (один правильный ответ):
- 8.1 молекулярно-генетический
  - 8.2 культуральный
  - 8.3 серологический
  - 8.4 биологический
  - 8.5 бактериоскопический

9. Для выделения чистой культуры кампилобактеров применяют (несколько правильных ответов):

- 9.1 посев на селективные питательные среды
- 9.2 посев с использованием фильтров
- 9.3 посев в МПБ
- 9.4 посев в селенитовый бульон
- 9.5 посев на висмут-сульфитный агар

10. Основной тест, позволяющий дифференцировать *C. jejuni* от других видов кампилобактерий (один правильный ответ):

- 10.1 продукция нитратредуктазы
- 10.2 гидролиз гиппурата
- 10.3 температурный тест
- 10.4 продукция эндотоксина
- 10.5 синтез каталазы

11. При диагностике кампилобактериоза используют (несколько правильных ответов):

- 11.1 фекалии
- 11.2 кровь
- 11.3 воду
- 11.4 пищевые продукты
- 11.5 мочу

12. Для лечения кампилобактериоза используют (один правильный ответ):

- 12.1 сыворотку реконвалесцентов
- 12.2 противовирусные препараты
- 12.3 антибиотики
- 12.4 иммуноглобулин
- 12.5 сыворотку животных

13. Для профилактики кампилобактериоза используют (несколько правильных ответов):

- 13.1 живые вакцины
- 13.2 убитые вакцины
- 13.3 иммуноглобулины
- 13.4 защиту продуктов от инфицирования
- 13.5 термическую обработку продуктов

Правильные ответы: 1.4; 2.2, 2.3; 3.2, 3.3; 4.1, 4.5; 5.2, 5.3, 5.4; 6.1, 6.2, 6.3; 7.4; 8.2; 9.1, 9.2; 10.2; 11.1, 11.2, 11.3, 11.4; 12.3; 13.4, 13.5.

## 9.2. Хеликобактерии

**Хеликобактериоз** - это инфекционное заболевание, при котором поражается желудок или двенадцатиперстная кишка в виде язвенного дефекта в слизистой оболочке. Однако очень часто у лиц, инфицированных *Helicobacter pylori*, не обнаруживается никаких симптомов заболевания.

Впервые спиралевидные бактерии в желудке собак обнаружил в 1874 г. G. Böttcher, а в желудке человека в 1906 г. W. Kreinitz. Однако эти наблюдения длительное время оставались неподтвержденными. В период с 1979 по 1981 гг. австралийский патологоанатом Д.Р. Уоррен, изучая биопсийный материал пациентов с признаками гастрита, описал спиралевидные бактерии, похожие на *Campylobacter jejuni*. Он назвал их кампилобактер-подобными организмами (CLO - Campylobacter-like organism). В 1982 г. австралийские врачи гастроэнтеролог Б.Д. Маршалл и патоморфолог Д.Р. Уоррен (рисунок 9.15) сообщили о выделении этой спиралевидной бактерии при язвенной болезни желудка.



А

Б

Рисунок 9.15 – А - Барри Джеймс Маршалл (Barry James Marshall, род. в 1951 г.); Б – Джон Робин Уоррен (John Robin Warren, род. в 1937 г).

В 1984 г. путем самозаражения Б. Маршалл установил роль этого микроба в патологии человека. Микроб получил название *Campylobacter pylori*. В 1989 г. бактерия была окончательно идентифицирована и получила название *Helicobacter pylori*. В 2005 г. за открытие *H. pylori* и установление ее роли при гастрите и язвенной болезни желудка Б.Д. Маршалл и Д.Р. Уоррен были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине.

**Таксономическое положение.** Хеликобактерии относятся к типу (филуму) *Proteobacteria*, классу *Epsilonproteobacteria*, порядку *Campylobacterales*, семейству *Helicobacteraceae*, роду *Helicobacter*. В настоящее время описано более 30 видов хеликобактерий. Для человека патогенными являются *H. pylori*, *H. heilmannii*, *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. rappini*, вызывающие гастриты, энтериты, септицемии.

Основное значение в патологии человека имеет вид *H. pylori* – этиологический агент гастрита, язвы желудка и 12-перстной кишки. *H. pylori* преимущественно выделяется из пилорической части желудка (привратника), отсюда и название микроба (лат. *helix* - спираль, *pyloris* - привратник). Виды рода *Helicobacter* являются единственными известными на сегодняшний день микроорганизмами, способными длительное время выживать и размножаться в кислом содержимом желудка. Многие виды хеликобактерий обитают в ротовой полости, желудке, различных отделах кишечника человека и животных.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Хеликобактерии представляют собой мелкие палочки S-образной формы. Микроб подвижный (лофотрих) - на одном из полюсов он имеет от 1 до 6 жгутиков с колбовидными утолщениями на концах. Спор и капсул не образует (рисунок 9.16).

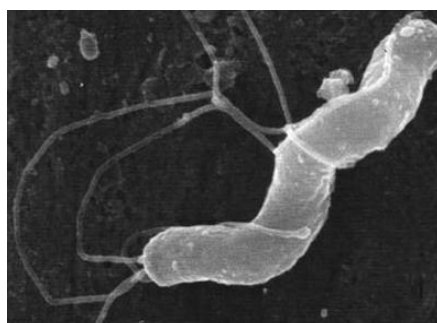


Рисунок 9.16 – Хеликобактерии, сканирующая электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Хеликобактерии по Граму окрашиваются в красный цвет (грамотрицательные). В мазках бактерии располагаются попарно, образуя форму запятой или “летающей ласточки” (рисунок 9.17).

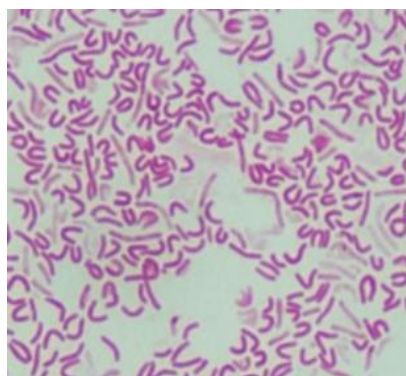


Рисунок 9.17 – Хеликобактерии, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Бактериальная клетка окружена слоем геля (гликокаликсом), представляющим собой гликопротеиновый полианионный гель, состоящий на 99% из воды. Он служит своеобразным барьером, защищающим клетку. Кроме того, гликокаликс выполняет функцию депо для уреазы – фермента, защищающего микробную клетку от кислого содержимого желудка.

Стареющие бактериальные клетки утрачивают спиралевидную форму и переходят в кокковую (тип 1). Переход в кокковую форму возможен также при действии неблагоприятных факторов внешней среды: повышенной температуры, антибиотиков (тип 2). Кокковые формы типа 2 способны сохраняться во внешней среде и трансформироваться в исходные спиралевидные клетки при проникновении в желудок.

**Культуральные и биохимические свойства.** Хеликобактерии являются микроаэрофилами, растут в атмосфере, содержащей 5-10% кислорода. Оптимальная температура роста 37°C, pH – 5,5-8,5. Хеликобактерии требовательны к питательным средам, хорошо растут на сложных средах с добавлением сыворотки крови, крахмала, активированного угля, гидролизата белков. Для подавления роста посторонних микроорганизмов в среды добавляют антибиотики. Для выращивания хеликобактерий используют следующие среды:

- сердечно-мозговой агар;
- железо-эритритный кровяной агар (ЖЭКА);
- мясо-пептонный печеночный агар (МППА);
- сафранино-железо-новобиоциновую среду (СЖН).

Однако хеликобактерии растут медленно - колонии появляются на 3-5 день после посева. Колонии бесцветные, блестящие, выпуклые, диаметром 1-2 мм, окружены зоной слабого гемолиза на агаре с эритроцитами лошади (рисунок 9.18).



Рисунок 9.18 – Рост хеликобактерий на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На средах, содержащих триметил-тетразолиум-хлорид, формируются пигментированные рубиново-красные колонии. При скученном расположении колоний рубиново-красный пигмент распространяется за пределы колоний в виде паутины (рисунок 9.19).

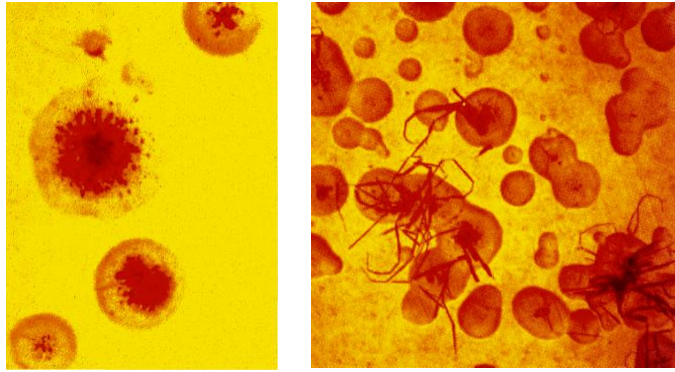


Рисунок 9.19 – Рост хеликобактерий на агаре с триметил-тетразолиум-хлоридом.  
Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Хеликобактер продуцирует уреазу, является оксидаза- и каталаза-положительным. Не ферментирует углеводы.

**Геном** хеликобактера представлен кольцевой двуцепочечной молекулой ДНК.

**Антигенная структура.** Хеликобактер имеет О- и Н-антигены.

**Факторы патогенности хеликобактерий:**

#### 1. Структурные компоненты клетки:

- спиралевидная форма клетки, гладкая поверхность (так называемая “гель-динамическая” или эластичная морфология) и наличие жгутиков позволяют возбудителю проникать под слой слизи и колонизировать клетки эпителия. Жгутики способствуют также агрегации бактерий на поверхности эпителия;

- липополисахарид, способствующий прикреплению возбудителя к клеткам эпителия и стимулирующий секрецию пепсиногена, что приводит к образованию избытка пепсина – одного из факторов риска в развитии язвенной болезни;

- системы секреции III и IV типа (Т3SS, Т4SS), “инъекционные системы” - пилеподобные структуры, способствующие введению внутрь эукариотической клетки белков - эффекторов;

- адгезины – белки поверхности микробной клетки, выполняющие функцию прикрепления к остаткам сиаловых кислот, гликолипидам, фосфолипидам, ламинину, коллагену, холестеролу клеток хозяина. В частности, белок адгезии BabA (blood-group associated binding adhesion) связывается с одним из групповых антигенов крови Le(b), присутствующим на поверхности клеток эпителия желудка.

#### 2. Экзоферменты:

- фермент адаптации – уреазы вызывает расщепление мочевины с образованием аммиака, нейтрализующего соляную кислоту желудка. Уреазы *H. pylori* располагается не только в цитоплазме бактерии, но и на поверхности микробной клетки;

- протеаза, фосфолипаза, муциназа вызывают деполимеризацию и растворение защитного слизистого геля на поверхности эпителия и повреждение слизистой оболочки.

3. **Экзотоксины** - цитотоксины, повреждающие слизистую оболочку. Основными цитотоксинами являются CagA (цитотоксин, ассоциированный с геном *cagA*) и VacA (вакуолизирующий цитотоксин). Штаммы, имеющие эти маркеры вирулентности, относятся к штаммам первого типа, которые ассоциированы с

повышенным ulcerогенным действием. Штаммы второго типа не имеют этих факторов.

Синтез VacA детерминирован геном *vacA*. Этот цитотоксин стимулирует вакуолизацию цитоплазмы эукариотических клеток и способствует проникновению возбудителя в цитоплазму эпителиоцитов.

Цитотоксин CagA является эффектором, поступающим в цитоплазму эпителиоцитов с помощью систем секреции и вызывающим ремоделирование актина, ингибирование роста клеток и апоптоз.

В геноме *H. pylori* выявлено 62 гена, связанных с патогенностью возбудителя. Более 40 генов сконцентрированы в “островке патогенности”. Экспрессия генов патогенности в значительной степени зависит от окружающей микросреды. Ген *cagA* кодирует белок CagA, который транспортируется внутрь клетки с помощью системы секреции IV типа. В клетке белок CagA подвергается фосфорилированию клеточными тирозиновыми протеинкиназами и нарушает функционирование клеточного цитоскелета. Гены *flg*, *flh* и *flp* отвечают за наличие жгутиков и хемотаксис. Гены *ureA* и *amiE* отвечают за синтез уреазы и продукцию аммиака.

Факторы патогенности хеликобактерий представлены на рисунке 9.20.

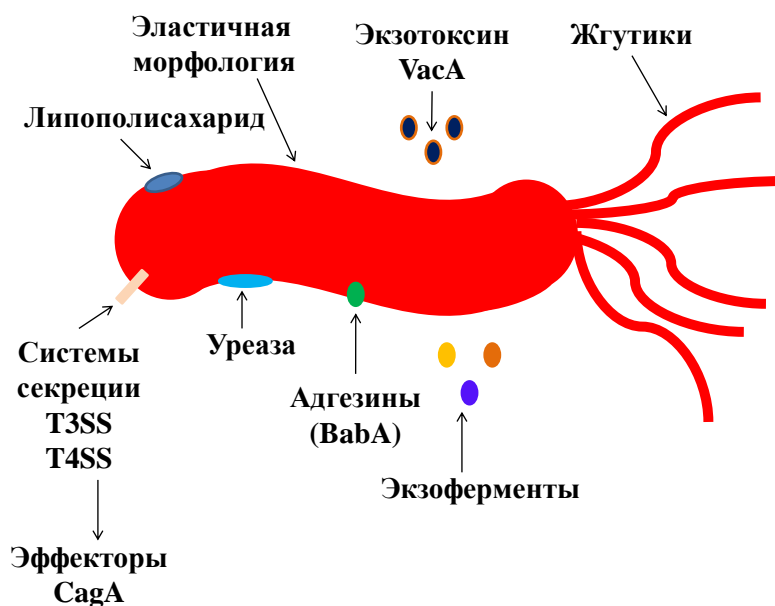


Рисунок 9.20 – Факторы патогенности хеликобактерий.

**Резистентность** хеликобактерий во внешней среде невысокая. Они чувствительны к физическим и химическим факторам (нагреванию и дезинфектантам), однако устойчивы к целому ряду антибиотиков.

**Эпидемиология. Источник инфекции** – инфицированный человек (больной или бактерионоситель). Кроме этого, возбудитель обнаруживается у кошек, свиней, обезьян. **Механизмы передачи** фекально-оральный и орально-оральный через предметы личной гигиены. **Пути передачи** – водный, алиментарный, контактно-бытовой. Редкий путь – через недостаточно продезинфицированные эндоскопы и щипцы для биопсии (ятрогенный, искусственный путь). Инфицирование *H. pylori* обычно происходит в детском возрасте. Возбудитель персистирует в организме в течение длительного времени. Заболевание проявляется у взрослых. В различных

регионах мира инфицированность взрослого населения *H. pylori* варьирует от 40% до 90%.

### Патогенез развития язвенной болезни.

1. Попадание возбудителя в желудок и быстрое его продвижение при помощи жгутиков сквозь слой слизи к эпителию. Адгезия возбудителя на эпителиальных клетках слизистой оболочки с помощью белка BabA. Внутри клеток *H. pylori* не проникает. Возбудитель обитает преимущественно в толще слизистого геля или между слизью и апикальной поверхностью эпителия.

2. Продуцирование возбудителем уреазы, муциназы и каталазы, с помощью которых разрушается слизь, мочевина разлагается до аммиака и углекислого газа, происходит нейтрализация соляной кислоты. Это приводит к защелачиванию среды вокруг бактерий и обеспечивает их выживание. Активность уреазы регулируется уникальными мембранными каналами, открывающимися при низком значении pH и закрывающимися при нейтральном значении pH. Защелачивание среды обуславливает повышение секреции гастрина, соляной кислоты и пепсина.

3. Размножение возбудителя и синтез бактериями токсинов и фосфолипаз, которые разрушают слизистый гель и клеточные мембраны, вызывают гибель эпителиальных клеток. Особое значение имеет вакуолизирующий цитотоксин VacA, приводящий к образованию в клетке вакуолей и ее гибели. Белок CagA индуцирует воспаление путем стимуляции продукции интерлейкина-8 эпителиальными клетками. Разрушение защитного слоя слизистого геля приводит к доступу к эпителиальным клеткам соляной кислоты и пепсина, которые вызывают химический ожог, воспаление и изъязвление слизистой оболочки.

4. Разрушение слизистого слоя приводит к тому, что эпителиоциты становятся уязвимыми для соляной кислоты. Повреждающие факторы бактерий, соляная кислота, избыток пепсина приводят к возникновению язвенного поражения.

Патогенез развития язвы представлен на рисунке 9.21.

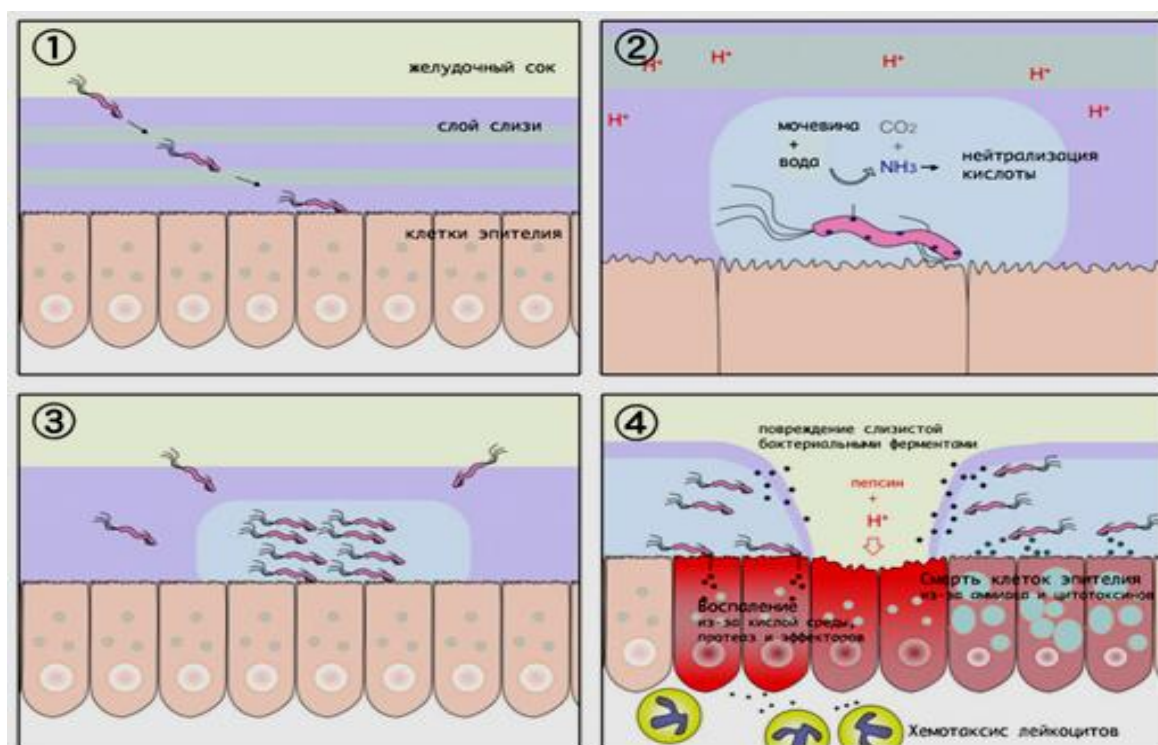




Рисунок 9.21 – Патогенез развития язвы желудка. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Хеликобактерии обнаруживаются у лиц, страдающих следующими заболеваниями:

- язвенная болезнь (пептическая язва);
- гастрит;
- неязвенная диспепсия;
- рак желудка.

При язвенной болезни желудка инфицированность *H. pylori* приближается к 85%, при дуоденальных язвах инфицированность достигает 90-100%. Наличие возбудителя на слизистой оболочке желудка установлено с помощью электронной микроскопии биоптата (рисунок 9.22).

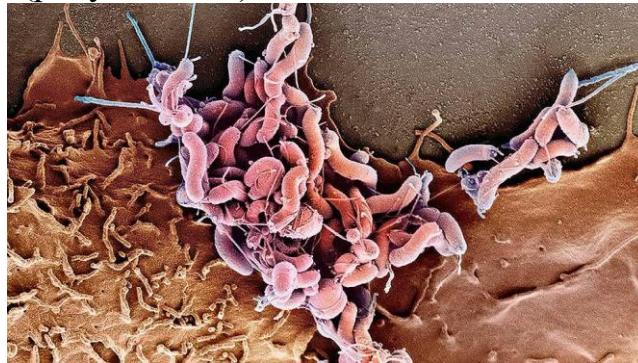


Рисунок 9.22 – Электронная микрофотография *H. pylori* (розовый цвет) на клетках эпителия желудка (коричневый цвет) человека (фото Socusgumsaglikli).

Хеликобактерии иногда все же могут проникать внутрь эпителиоцитов, что способствует хронизации инфекции и снижает эффективность терапии.

**Иммунитет.** Антигены *H. pylori* обладают низкой иммуногенностью в связи с частичной гомологией О-цепей липополисахарида возбудителя с антигенами организма хозяина.

**Диагностика.** Для диагностики хеликобактерной инфекции применяются как инвазивные, так и неинвазивные методы. При инвазивных методах исследуемым материалом является биоптат пораженной ткани желудка, который отбирают при эндоскопическом обследовании. К **инвазивным методам** относятся:

- культуральный метод;
- гистологический (цитологический) метод;
- быстрый уреазный тест;
- ПЦР (выявление *H. pylori* в биоптате).

К **неинвазивным методам** относятся:

- серологический метод (ИФА);
- ПЦР (выявление *H. pylori* в кале);
- уреазный дыхательный тест.

**Культуральный метод** используется в отдельных случаях (например, для выбора антибиотиков при устойчивости возбудителя к стандартному лечению). Посев материала осуществляют на плотные питательные среды, содержащие кровь

или сыворотку крови. Посевы инкубируют при 37°C в атмосфере углекислого газа и азота в течение 3-5 суток.

**Гистологический метод** считается “золотым стандартом” диагностики *H. pylori*. Для этого препараты окрашивают толуидиновым синим, карболовым фуксином, по Романовскому-Гимзе, гематоксилином и эозином, с помощью серебросодержащих красителей. При использовании препаратов серебра наблюдаются черные бактериальные клетки на фоне желтой эпителиальной ткани (рисунок 9.23).

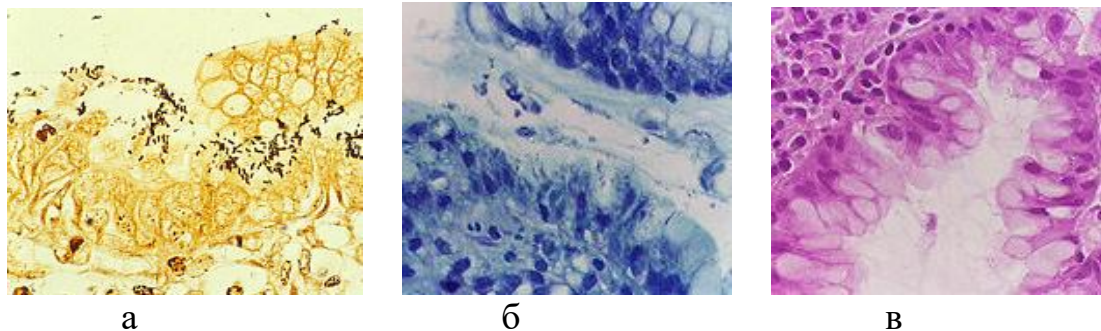


Рисунок 9.23 – Гистологический препарат слизистой оболочки желудка: а - окраска серебром б – окраска по Романовскому-Гимзе, в – окраска гематоксилин-эозином. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Гистологический метод диагностики был использован Б. Маршаллом для доказательства этиологической роли возбудителя в опыте самозаражения (рисунок 9.24).

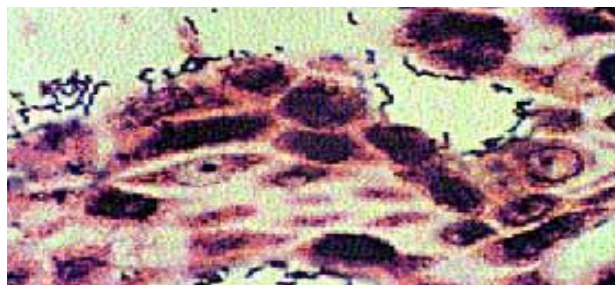


Рисунок 9.24 - Биоптат слизистой оболочки антрального отдела желудка Б. Маршалла после самозаражения. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Уреазный тест** основан на способности *H. pylori* продуцировать фермент уреазу, который разрушает мочевину до углекислого газа и аммиака. Образующийся аммиак защелачивает среду и изменяет окраску индикатора. Уреазный тест проводится в двух модификациях: уреазная проба с биоптатом и уреазный дыхательный тест.

**Уреазная проба с биоптатом** слизистой оболочки (быстрый уреазный тест, СЛО-тест, Campylobacter-like organism test) является простым и надежным методом предварительного выявления возбудителя. Для этого биоптат помещается в среду, содержащую мочевину и индикатор феноловый красный. Положительный результат проявляется изменением окраски среды с желтой на красную в результате расщепления мочевины уреазой возбудителя и защелачивания среды образующимся аммиаком (рисунок 9.25).

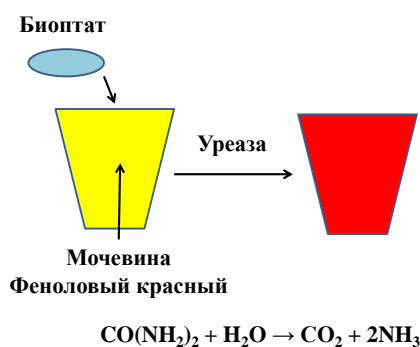


Рисунок 9.25 – Уреазная проба с биоптатом.

Для выявления *H. pylori* в биоптате выпускаются специальные индикаторные бумажные тесты (рисунок 9.26).



Рисунок 9.26 – Индикаторная бумага для выявления *H. pylori* в биоптате.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

**Уреазный дыхательный тест** на хеликобактер выполняется в различных вариантах. “Золотым стандартом”, по данным Европейской гастроэнтерологической ассоциации, является  $^{13}\text{C}$ -уреазный дыхательный тест (мочевинный дыхательный тест). Чувствительность и специфичность этого метода приближается к 100%. При этом первую порцию выдыхаемого воздуха пациент сдает натошак в одноразовый герметичный пакет (рисунок 9.27).



Рисунок 9.27 – Сбор выдыхаемого воздуха для анализа. Займствовано из Интернет-ресурсов.

Затем он выпивает яблочный или апельсиновый сок с карбамидом и через 30 минут сдает вторую пробу воздуха во второй пакет. Результат теста оценивается по возрастанию во второй пробе концентрации углекислого газа в результате расщепления мочевины на аммиак и углекислый газ –  $^{13}\text{CO}_2$ , который всасывается в кровь, а затем выделяется через легкие (рисунок 9.28).

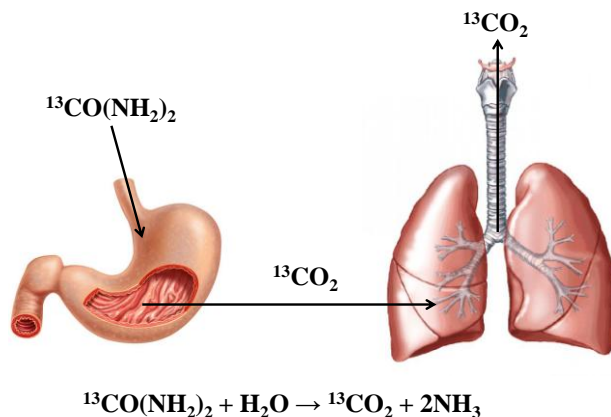


Рисунок 9.28 – Уреазный дыхательный тест.

**ПЦР** основана на выявлении в исследуемом материале фрагментов генома (в частности, генов уреазы - ure A, ure B, ure C). Положительный результат свидетельствует о наличии возбудителя, отрицательный результат - об отсутствии.

**ИФА** позволяет выявлять антитела к *H. pylori* (IgM, IgG). Наличие IgM свидетельствует о раннем периоде инфицирования, а IgG свидетельствуют либо о присутствии хеликобактерной инфекции, либо об излеченности инфекции. Для экспрессного выявления всех изотипов антител к *H. pylori* (IgG, IgM, IgA) в сыворотке, плазме или цельной крови выпускаются специальные наборы реактивов (рисунок 9.29).

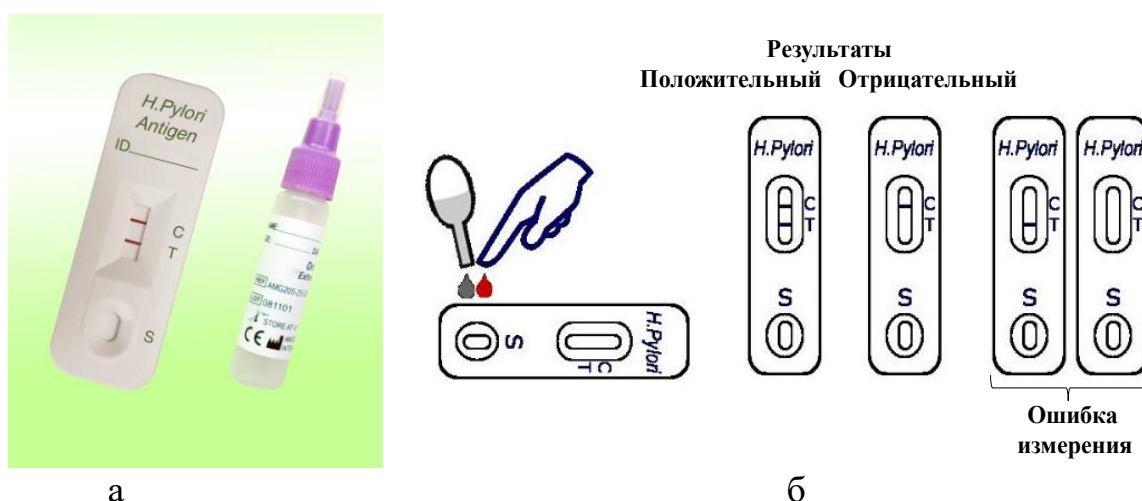


Рисунок 9.29 – Набор реактивов для выявления антител к *H. pylori* иммунохроматографическим экспресс-методом (а) и схема оценки результатов (б).  
Займствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

Ни один из указанных методов диагностики не является полностью достоверным. В частности, результаты биопсийных методов зависят от места взятия биоптата, а тесты на наличие антител имеют чувствительность 76-84%.

**Лечение.** При хеликобактерной инфекции используются антибиотики (метронидазол, кларитромицин, макролиды, гентамицин, канамицин, карбенициллин и др.), препараты висмута, эубиотики для коррекции дисбактериоза. Так как возбудитель заключен в гликокаликс, он трудно поддается действию антимикробных препаратов.

Базисная терапия заключается в эффективном уничтожении (полной эрадикации) хеликобактерной инфекции. Однако после успешной эрадикации *H. pylori* через 3 года вновь заражаются этим возбудителем около 32% пациентов, через 5 лет – 82-87%, через 7 лет – около 90%.

Для выработки оптимальных подходов к диагностике и лечению хеликобактерной инфекции в 1987 г. была создана Европейская группа по изучению *Helicobacter pylori* (*European Helicobacter Study Group – EHS*), которая периодически публикует рекомендации, называемые Маастрихтскими консенсусами или “Маастрихтами”. В 2012 г. были опубликованы рекомендации “Маастрихт-IV”.

**Профилактика.** Средства специфической профилактики не разработаны.

Неспецифические профилактические меры включают строгое соблюдение санитарно-гигиенических норм и правил личной гигиены.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Расскажите об истории открытия хеликобактерий.
2. Таксономическое положение хеликобактерий.
3. Морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические свойства хеликобактерий.
4. Охарактеризуйте антигенную структуру хеликобактерий.
5. Расскажите о резистентности хеликобактерий.
6. Факторы патогенности хеликобактерий и патогенез заболевания.
7. Опишите клинические проявления хеликобактерной инфекции.
8. Особенности диагностики хеликобактерной инфекции.
9. Каковы принципы лечения хеликобактериоза.
10. В чем заключается профилактика хеликобактериоза.

### Тренировочные тесты

1. Кто первым выделил *Helicobacter pylori* при язвенной болезни (один правильный ответ)?
  - 1.1 И.И. Мечников
  - 1.2 Б.Д. Маршалл и Д.Р. Уоррен
  - 1.3 С. Штокманн
  - 1.4 Л. Пастер
  - 1.5 Р. Кох
2. Форма кампилобактерий (один правильный ответ):

- 2.1 диплококк
  - 2.2 стрептококк
  - 2.3 S-образная палочка
  - 2.4 диплобацилла
  - 2.5 стафилококк
3. Характерно для кампилобактерий (несколько правильных ответов):
- 3.1 наличие жгутиков
  - 3.2 образование спор
  - 3.3 выраженная капсула
  - 3.4 розовая окраска по Граму
  - 3.5 требовательные к питательным средам
4. Факторами патогенности хеликобактерий являются (несколько правильных ответов):
- 4.1 капсула
  - 4.2 цитотоксины
  - 4.3 уреазы
  - 4.4 лецитиназа
  - 4.5 плазмокоагулаза
5. Источник инфекции при хеликобактериозе (один правильный ответ):
- 5.1 больные животные
  - 5.2 животные – бактерионосители
  - 5.3 инфицированный человек
  - 5.4 сельскохозяйственная птица
  - 5.5 дикие животные
6. Механизм передачи *H. pylori* (несколько правильных ответов):
- 6.1 аэрогенный
  - 6.2 орально-оральный
  - 6.3 фекально-оральный
  - 6.4 ингаляционный
  - 6.5 трансплацентарный
7. Пути передачи *H. pylori* (несколько правильных ответов):
- 7.1 воздушно-пылевой
  - 7.2 воздушно-капельный
  - 7.3 водный
  - 7.4 алиментарный
  - 7.5 искусственный
8. *H. pylori* является этиологическим агентом (несколько правильных ответов):
- 8.1 пневмонии
  - 8.2 гастрита
  - 8.3 язвенной болезни желудка

- 8.4 рака желудка
- 8.5 брюшного тифа

9. Методы диагностики кампилобактериоза (несколько правильных ответов):

- 9.1 темнопольная микроскопия
- 9.2 гистологический
- 9.3 уреазный тест
- 9.4 рентгенологический
- 9.5 ПЦР

10. Специфическая профилактика *H. pylori*-инфекции (один правильный ответ):

- 10.1 проводится с помощью живой вакцины
- 10.2 не разработана
- 10.3 проводится по эпидпоказаниям
- 10.4 определена календарем профилактических прививок
- 10.5 осуществляется только взрослым

Правильные ответы: 1.2; 2.3; 3.1, 3.4, 3.5; 4.2, 4.3; 5.3; 6.2, 6.3; 7.3, 7.4, 7.5; 8.2, 8.3, 8.4; 9.2, 9.3, 9.5; 10.2.

## 10. Риккетсии

Риккетсии занимают промежуточное положение между вирусами и бактериями. Как и вирусы, риккетсии являются внутриклеточными паразитами. На питательных средах риккетсии не культивируются. Подобно бактериям, они содержат 2 вида нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), имеют многослойную клеточную оболочку и цитоплазматические включения, обладают специфическими антигенными свойствами. Наука, занимающаяся изучением риккетсий, называется **риккетсиологией**.

Патогенные риккетсии вызывают заболевания, называемые риккетсиозами. **Риккетсиозы** - это группа трансмиссивных заболеваний, протекающих с лихорадкой (39,5-40<sup>0</sup>С), сыпью и головной болью. Эти микроорганизмы названы риккетсиями в 1916 г. в честь американского исследователя Х.Т. Риккетса (рисунок 10.1), открывшего возбудителя лихорадки Скалистых гор.



Рисунок 10.1 – Ховард Тейлор Риккетс (Howard Taylor Ricketts, 1871 – 1910 гг.).  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В 1910 г. Х.Т. Риккетс опубликовал результаты изучения ранее неизвестного заболевания, выявляемого в небольшом районе Скалистых гор в штате Монтана (США). Он установил, что заражение людей происходит в результате присасывания иксодовых клещей рода *Dermacentor*. В крови больных людей, инфицированных морских свинок и в яйцах клещей были обнаружены овоидные и палочковидные бактерии. В последующем Х.Т. Риккетс принял участие в расшифровке этиологии еще одного неизвестного заболевания, возникшего в Мексике. Он установил наличие в крови больных и в фекалиях вшей бактерий, сходных с возбудителем пятнистой лихорадки Скалистых гор. Это заболевание называли сыпным тифом. Во время работы Х.Т. Риккетс заразился сыпным тифом и умер от него.

В 1913 г. чешский естествоиспытатель С. Провачек (рисунок 10.2) обнаружил возбудителя сыпного тифа в клетках человека и клетках желудка вшей-переносчиков. Он также трагически погиб, заразившись сыпным тифом.



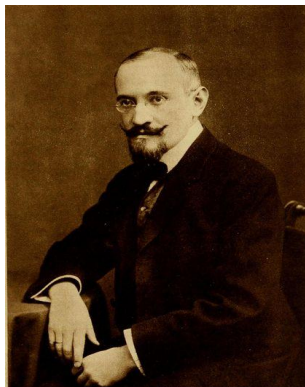


Рисунок 10.2 – Станислав Провачек (Stanislaus Josef Mathias von Prowazek, 1875 – 1915 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В честь Х.Т. Риккетса бразильский ученый Э. Роша Лима (рисунок 10.3) в 1916 г. предложил именовать всю группу этих микроорганизмов риккетсиями. Позднее в честь С. Провачека возбудителя сыпного тифа стали именовать риккетсией Провачека.



Рисунок 10.3 – Энрике Роша Лима (Henrique da Rocha Lima, 1879 – 1956 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В последующие годы были выделены и изучены возбудители других риккетсиозов человека и животных. Существенный вклад в развитие учения о риккетсиях и риккетсиозах внесли российские ученые П.Ф. Здродовский и И.В. Тарасевич (рисунок 10.4).



А



Б

Рисунок 10.4 – А - Павел Феликсович Здродовский (1890 – 1976 гг.); Б – Ирина Владимировна Тарасевич (род в 1928 г.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

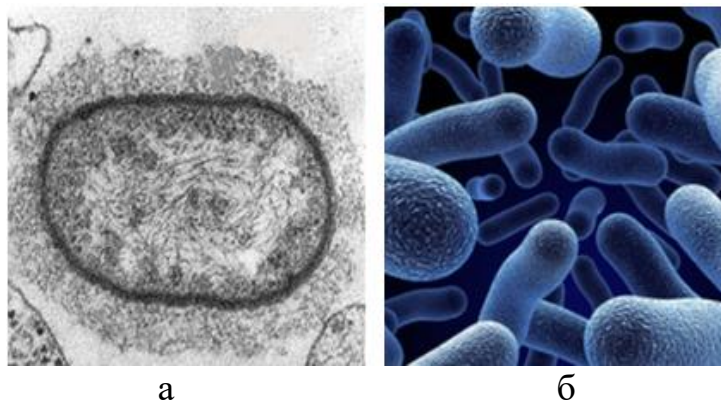
**Таксономическое положение.** Риккетсии относятся к типу *Proteobacteria*, классу *Alphaproteobacteria*, порядку *Rickettsiales*, который включает 2 семейства: семейство *Rickettsiaceae* и семейство *Anaplasmataceae*. Семейство *Rickettsiaceae* включает роды *Rickettsia* и *Orientia*. Семейство *Anaplasmataceae* включает роды *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Neorickettsia* и *Wolbachia*.

Род *Rickettsia* в настоящее время объединяет более 25 видов. По генетическим особенностям виды распределяются на 3 группы:

- группа клещевой пятнистой лихорадки включает 4 подгруппы: *R. rickettsii*, *R. massiliae*, *R. akari*, *R. helvetica*;
- группа сыпного тифа включает одну подгруппу *R. prowazekii*;
- предковая группа включает одну подгруппу *R. canadensis*.

Патогенные для человека виды риккетсий входят в состав **риккетсий группы сыпного тифа** (*Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia typhi*) и **риккетсий группы клещевых риккетсиозов** (*Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia australis*, *Rickettsia acari*, *Rickettsia sibirica* и др.). Болезни группы сыпного тифа передаются вшами и блохами, а болезни группы клещевых риккетсиозов передаются клещами.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Риккетсии представляют собой мелкие (0,8 – 2,0 мкм в длину, 0,3 – 0,6 мкм в диаметре) грамотрицательные короткие палочки. Они способны образовывать кокковидные или нитевидные (до 40 мкм) формы. Размножение риккетсий происходит поперечным бинарным делением. Риккетсии обладают трехслойной клеточной оболочкой (по 25-30 А каждый слой) и трехслойной цитоплазматической мембраной толщиной 75-80 А. Между клеточной оболочкой и цитоплазматической мембраной располагается тонкий пептидогликановый слой, что типично для грамотрицательных бактерий. В состав клеточных стенок риккетсий входят мурамовая и глюкуроновая кислоты, липополисахарид, липопротеин, белки rOmpB и rOmpA. В составе цитоплазматической мембраны присутствует большое количество ненасыщенных жирных кислот. Риккетсии не образуют спор, жгутиков не имеют, на поверхности некоторых видов риккетсий (возбудителей сыпного тифа и лихорадки цуцугамуши) имеются пили или фимбрии. Подвижность риккетсий в настоящее время связывают со способностью формировать внутри инфицированной клетки актиновые хвосты. Клетки риккетсий окружены слизистым слоем или микрокапсулой толщиной 100-150 А (рисунок 10.5).



а

б

Рисунок 10.5 – Риккетсии: а – электронная микрофотография; б – компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Из-за высокого содержания в клеточной стенке липидов риккетсии плохо окрашиваются обычными анилиновыми красителями, поэтому для окраски риккетсий используют методы Романовского-Гимзы, Здродовского, Маккиавелло, Гименеса (Gimenez), Циля-Нельсена.

Окраска **по Романовскому-Гимзе** предусматривает использование красителя, состоящего из азура, эозина и метиленового синего. При окраске по Романовскому-Гимзе цитоплазма клеток приобретает голубой цвет, ядра клеток – фиолетовый цвет, а расположенные в цитоплазме клеток риккетсии окрашиваются в розово-красный цвет.

Окраска **по Здродовскому** предусматривает использование вначале карболового фуксина, затем метиленового синего. При окраске по методу Здродовского риккетсии также окрашиваются в ярко-красный цвет, цитоплазма эукариотической клетки – в голубой цвет, а ядро эукариотической клетки – в синий цвет (рисунок 10.6).

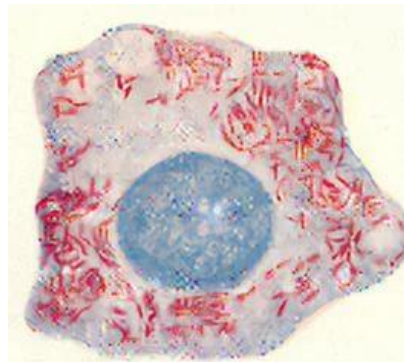


Рисунок 10.6 - *Rickettsia typhi*, окраска по Здродовскому (П.Ф. Здродовский, Е.М. Голиневич, 1972 г.).

**Геном** риккетсий представлен кольцевой молекулой ДНК.

Жизненный цикл риккетсий состоит из смены двух форм (вегетативной и покоящейся) и включает следующие стадии (рисунок 10.7):

- адсорбция риккетсий на клеточной мембране;
- проникновение риккетсий в клетку путем эндоцитоза;
- выход риккетсий в цитоплазму клетки, переход в вегетативную форму и размножение путем бинарного деления;
- переход риккетсий в покоящуюся форму, дегенерация клетки-хозяина;
- выход риккетсий из клетки в результате лизиса клетки, путем почкования или переход в соседние клетки с помощью актинового хвоста.

В вегетативной форме риккетсии представляют собой палочковидные клетки, способные к бинарному делению. Покоящиеся формы обладают повышенной резистентностью, являются сферическими, имеют утолщенную клеточную стенку и уплотненную цитоплазму.

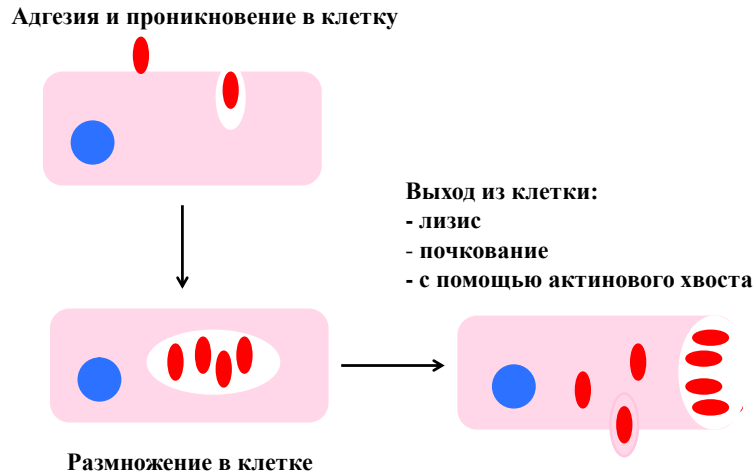


Рисунок 10.7 – Жизненный цикл риккетсий.

**Культуральные и биохимические особенности риккетсий.** Риккетсии являются облигатными внутриклеточными паразитами. Они не способны к росту на питательных средах, а размножаются в клетках живых организмов (рисунок 10.8).

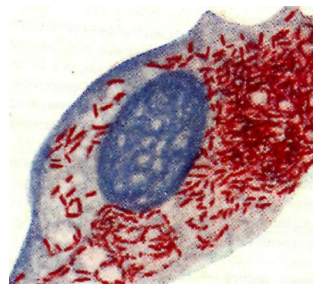


Рисунок 10.8 - Риккетсии в цитоплазме инфицированной клетки. Окраска карболовым фуксином и метиленовой синькой. Риккетсии окрашены в красный цвет (Воробьев А.А. и др., 2003 г.).

Риккетсии не обладают ферментами, необходимыми для гликолиза, но способны осуществлять окислительное фосфорилирование с помощью цикла трикарбоновых кислот, а также напрямую получать АТФ из клетки-хозяина (два типа использования риккетсиями АТФ). При размножении в клетке риккетсии получают АТФ от клетки-хозяина, в этом случае ингибируется цитратсинтаза - ключевой фермент цикла Кребса. При выходе риккетсий из клетки в условиях недостатка АТФ усиливается активность цитратсинтазы, что ведет к активации цикла Кребса.

Риккетсии обладают ограниченными возможностями синтеза аминокислот, нуклеотидов и липидов. Их считают ауксотрофами по никотинамидадениндинуклеотиду (НАД).

Оптимальная температура культивирования риккетсий  $32-35^{\circ}\text{C}$ , при температуре свыше  $40^{\circ}\text{C}$  рост риккетсий прекращается. По типу дыхания риккетсии являются аэробами. Не утилизируют глюкозу. Энергетически зависимы от клетки-хозяина.

Для выращивания риккетсий используют развивающиеся куриные эмбрионы (в желточном мешке), клеточные культуры (фибробласты белых мышей, клетки эндотелия человека, макрофаги собак и др.), организм членистоногих переносчиков (платяные вши человека, иксодовые клещи) или лабораторных животных (морские свинки, хомячки). Риккетсии группы сыпного тифа хорошо растут в 7-суточных РКЭ при  $36,5^{\circ}\text{C}$ , а возбудители клещевых риккетсиозов в 4-5-суточных РКЭ при  $32-34^{\circ}\text{C}$  при заражении в желточный мешок.

Большинство риккетсий размножается в цитоплазме инфицированных клеток, а некоторые - в цитоплазме и ядре клеток (рисунок 10.9).

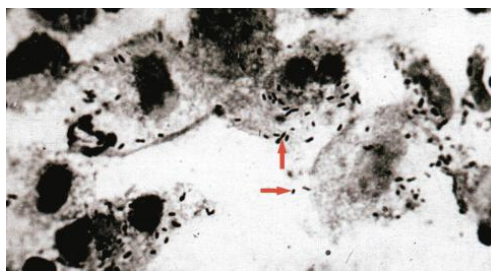


Рисунок 10.9 – Фазово-контрастная микроскопия внутриклеточно расположенных риккетсий. Риккетсии указаны красными стрелками (А.А. Воробьев, А.С. Быков, 2003).

Способность разных видов риккетсий размножаться в цитоплазме или ядре клеток используется в качестве дифференциально-диагностического признака. В цитоплазме и ядре эукариотических клеток риккетсии размножаются свободно, без образования вакуоли. Этим они отличаются от кокциелл, анаплазм и хламидий, для которых обязательным является формирование фагосом внутри инфицированной клетки.

Основатель Пермской школы микробиологии А.В. Пшеничнов (рисунок 10.10) для культивирования риккетсий вне организма хозяина разработал среду КЖМ (кровь – желток – молоко). Он также предложил оригинальный метод заражения кровососущих насекомых на эпидермомембранах.



Рисунок 10.10 – Алексей Васильевич Пшеничнов (1900 – 1975 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Антигенная структура риккетсий.** Основными антигенами риккетсий являются:

- термостабильный группоспецифический липополисахаридный комплекс клеточной стенки, отличающийся у риккетсий групп клещевых пятнистых лихорадок и сыпного тифа;

- протективные поверхностные белки *rOmpA* и *rOmpB*, различающиеся у разных видов риккетсий по антигенным детерминантам.

Э. Вейль и А. Феликс (1916 г.) установили сходство антигенов риккетсий с антигенами неподвижных (ОХ-) штаммов *Proteus vulgaris*. Поэтому сыворотка крови больных риккетсиозами способна перекрёстно агглютинировать штаммы ОХ<sub>19</sub>, ОХ<sub>2</sub>, и ОХ<sub>к</sub> *P. vulgaris*. Эта способность используется для дифференцировки различных видов риккетсий (**реакция Вейля-Феликса**).

**Резистентность.** Большинство видов риккетсий обладает низкой устойчивостью во внешней среде. Повышение температуры до 50-70<sup>0</sup>С губительно действует на риккетсии. При 50<sup>0</sup>С они погибают через 10 минут, при 80<sup>0</sup>С – в течение 1 минуты, при 100<sup>0</sup>С – мгновенно. Риккетсии Провачека в течение длительного времени (до 230 дней) сохраняются в экскрементах платяных вшей при комнатной температуре. Риккетсии остаются жизнеспособными при температуре минус 20-70<sup>0</sup>С.

Риккетсии неустойчивы к действию дезинфектантов (3-5% растворы фенола, 2% раствор хлорамина, 10% раствор перекиси водорода убивают риккетсии в течение 5 минут), быстро погибают под действием спирта, эфира, хлороформа.

Риккетсии чувствительны к антибиотикам тетрациклинового ряда (тетрациклину, доксициклину), хлорамфениколу, рифампицину, фторхинолонам, но резистентны к сульфаниламидам.

**Экология риккетсий.** Представители рода *Rickettsia* размножаются в цитоплазме или ядре эукариотических клеток. **Хозяином и переносчиком** риккетсий являются кровососущие **членистоногие** (клещи, вши, блохи), их теплокровными **прокормителями – грызуны, млекопитающие и птицы**. Распространение риккетсий среди людей происходит кровососущими членистоногими (вшами, блохами, клещами), которые выделяют возбудителя с фекалиями (вши, блохи) или с секретом слюнных желез (клещи).

**У членистоногих** риккетсии вызывают либо смертельную, либо бессимптомную инфекцию. У них бактерии обитают в стенке кишечника. При разрушении эпителия кишечника риккетсии проникают в просвет кишечника и с фекалиями выделяются наружу. Из стенки кишечника риккетсии также могут проникать в репродуктивные органы и передаваться потомству трансвариально.

**У грызунов** носительство риккетсий не сопровождается признаками заболевания, поэтому риккетсиозы у них протекают бессимптомно, в латентной (скрытой) форме.

**У человека** риккетсии вызывают лихорадочные заболевания с поражением мелких кровеносных сосудов и высыпаниями на коже. Риккетсиозы подразделяются на **антропонозы** (риккетсии циркулируют между человеком и его эктопаразитами - вшами) и **зоонозы** (риккетсии циркулируют между животными, их эктопаразитами - клещами, блохами и человеком).

Среди риккетсиозов для России эпидемиологическое значение имеют эпидемический сыпной тиф, болезнь Брилля-Цинссера (рецидивная форма эпидемического сыпного тифа), клещевой сыпной тиф Северной Азии и Астраханская пятнистая лихорадка.

**Факторы патогенности риккетсий.** Патогенные риккетсии образуют **токсические вещества белковой природы**, входящие в состав микробной клетки. Они термолабильные и не устойчивы к действию формалина.

**Микрокапсула** обуславливает механизм “реактивации” риккетсий, то есть восстановления вирулентности штаммов.

**Фосфолипаза** риккетсий воздействует на клеточные мембраны и обеспечивает проникновение бактерий внутрь клетки, а также высвобождение возбудителя из фагосомы в цитоплазму.

К факторам патогенности риккетсий относят **гемолизин**, вызывающий лизис эритроцитов различных животных.

**Пили** выполняют функцию адгезии на клетках.

**ЛПС** клеточной стенки риккетсий обладает свойствами эндотоксина.

**Адгезины** риккетсий *rOmpA* (Rickettsial Outer Membrane Protein) у возбудителей клещевых риккетсиозов и *rOmpB* у риккетсий группы сыпного тифа участвуют во взаимодействии бактерий с клетками млекопитающих. В частности белок *rOmpB* участвует в процессе “поглощения” риккетсий эукариотическими клетками (рисунок 10.11).

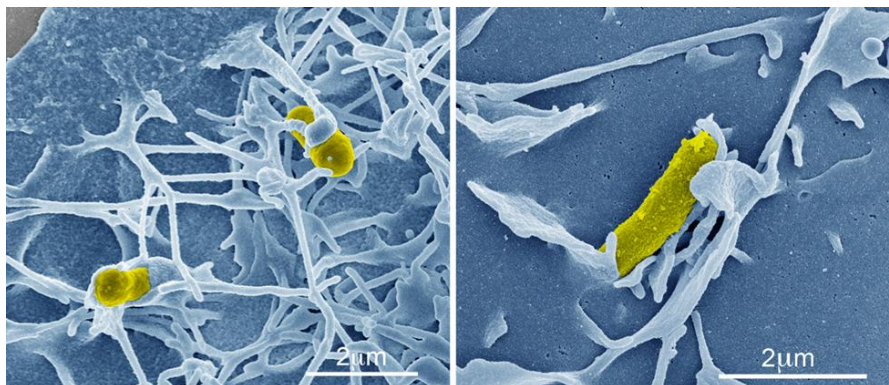
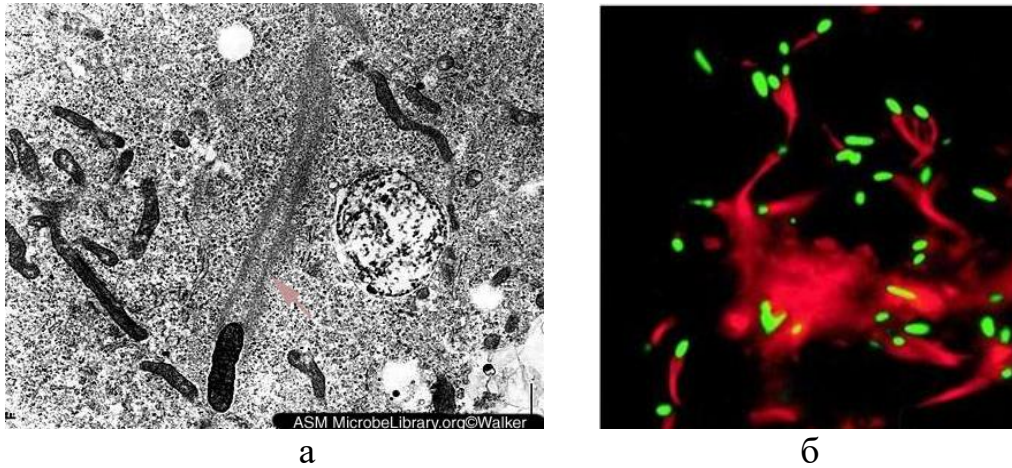


Рисунок 10.11 – Инвазия риккетсий эукариотическими клетками, обусловленная белком *rOmpB*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В инфицированных клетках риккетсии вызывают образование **актиновых хвостов** (пропеллеров), способствующих перемещению возбудителя в цитоплазме клетки хозяина. Для передвижения риккетсия использует реакцию полимеризации актина клетки-хозяина. Бактерия запускает процесс полимеризации актина на одном из своих концов, что приводит к образованию у нее полимерного хвоста, за счет которого происходит перемещение риккетсии (рисунок 10.12).



а

б

Рисунок 10.12 – Полимеризация актина: а – электронная микроскопия (хвост указан красной стрелкой); б - флюоресцентная окраска риккетсий: зеленые - клетки риккетсий, красные - хвосты актина. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Кроме того, полимеризация эукариотического актина приводит к формированию на поверхности клетки-мишени мембранного выступа, который поглощается рядом расположенной клеткой. Таким способом происходит заражение новой эукариотической клетки без выхода возбудителя во внеклеточную среду.

**Патогенез риккетсиозов.** С помощью пилей и поверхностных белков-адгезинов риккетсии прикрепляются к клетке-мишени и с помощью фосфолипазы разрыхляют внешнюю мембрану клетки. Через дефекты клеточной стенки риккетсии проникают внутрь клетки, где формируется фагосома. С помощью фосфолипазы риккетсии покидают фагосому и размножаются в цитоплазме клетки. В результате нескольких циклов деления (один цикл продолжается 8-14 часов) в пораженной клетке образуется популяция возбудителя численностью до 1000 бактерий. Переполненная риккетсиями клетка лопается, риккетсии выходят из клетки, попадают в лимфу, а затем в кровь и распространяются по всему организму, поражая новые клетки-мишени. Некоторые риккетсии выходят из клетки путем почкования, другие перемещаются в соседние клетки с помощью актинового хвоста (рисунок 10.13).

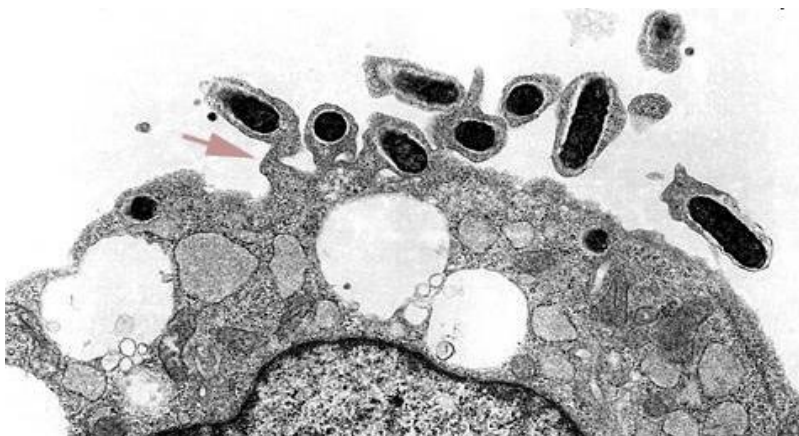


Рисунок 10.13 - Продвижение риккетсии с помощью актинового хвоста (хвост указан красной стрелкой). Заимствовано из Интернет-ресурсов.



После проникновения риккетсий в организм при укусе членистоногого или путем заноса инфицированных фекалий в место укуса или ранку возбудитель размножается в эпителиальных клетках с формированием первичного аффекта. Затем риккетсии распространяются лимфогенно, что сопровождается развитием лимфангоита и лимфаденита.

Дальнейшее гематогенное распространение риккетсий приводит к поражению эндотелиальных клеток капилляров. Размножение риккетсий в эндотелии капилляров вызывает развитие эндovasкулитов с образованием периваскулярных инфильтратов. Поражение может распространиться на всю толщу сосудистой стенки с развитием некроза и закупоркой сосудов (тромбоваскулиты). В некоторых случаях пораженные клетки содержат риккетсии в виде телец включений (например, клетки Музера).

По мере диссеминации возбудителя поражение сосудов принимает генерализованный характер: на коже появляется пятнисто-папулезная сыпь, а в сосудах отмечается диссеминированный тромбоз. Поражение эндотелия активизирует свертывающую систему крови с развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома).

Согласно международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10), различают следующие риккетсиозы:

- **A75 Сыпной тиф** (эпидемический вшивый тиф, вызываемый *R. prowazekii*; рецидивирующий тиф или болезнь Брилля-Цинссера; тиф, вызываемый *R. typhi*; тиф, вызываемый *Orientia tsutsugamushi*; неуточненный сыпной тиф);

- **A77 Пятнистая лихорадка или клещевые риккетсиозы** (пятнистая лихорадка Скалистых гор и лихорадка Сан-Пауло, вызываемые *R. rickettsii*; африканский, индийский, кенийский клещевые тифы, марсельская лихорадка, астраханская пятнистая лихорадка и др., вызываемые *R. conorii*; североазиатская клещевая лихорадка и сибирский клещевой тиф, вызываемые *R. sibirica*);

- **A78 Лихорадка Ку** (инфекции, вызываемые *C. burnetii*; лихорадка “девятой мили”; квадрилатеральная лихорадка);

- **A79 Другие риккетсиозы** (окопная лихорадка, осповидный риккетсиоз, вызываемый *R. akari*; другие уточненные и неуточненные риккетсиозы).

**Микробиологическая диагностика риккетсиозов.** При диагностике риккетсиозов используют специализированные методы – риккетсиологические. Исследуемым материалом служит кровь больного. Выделение возбудителя при риккетсиозах проводится путем заражения в желточный мешок развивающихся куриных эмбрионов, клеточных культур или лабораторных животных. Распространенной является **проба Музера-Нейла** (внутрибрюшинное заражение морских свинок). У павших животных отмечают геморрагический некроз различных тканей. В некоторых случаях внутрибрюшинно заражают белых мышей, у которых риккетсии обнаруживаются в клетках перитонеальной жидкости.

Микроскопическому исследованию подвергают препараты, окрашенные по Романовскому-Гимзе или Здродовскому. Используют также иммунофлюоресцентный метод - РИФ (рисунок 10.14).

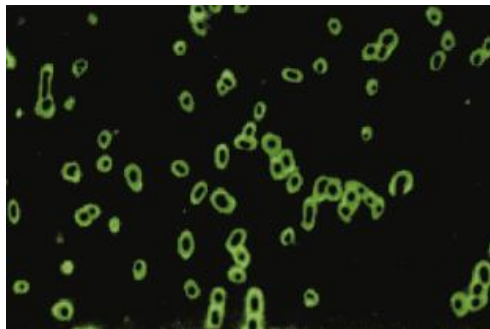


Рисунок 10.14 – Препарат риккетсий, окрашенный иммунофлюоресцентным методом – РИФ. (А.А. Воробьев, А.С. Быков, 2003).

Серологическая диагностика проводится с использованием РСК, РПГА, реакции агглютинации риккетсий (РАР), ИФА, иммуноблоттинга. Реакцию Вейля-Феликса с диагностикумом из антигенов *R. mirabilis* для обнаружения риккетсиозных антител в настоящее время используют редко из-за ее слабой чувствительности.

**Специфическая профилактика риккетсиозов** осуществляется при некоторых риккетсиозах (сыпной тиф, пятнистая лихорадка Скалистых гор) с помощью убитых и живых вакцин.

### Эпидемический сыпной тиф

**Эпидемический сыпной тиф** (вшивый, голодный, тюремный, военный тиф, лагерная лихорадка, классический сыпной тиф) является острым **антропонозным** заболеванием с трансмиссивным механизмом распространения возбудителя.

Инфекционную природу эпидемического сыпного тифа (заразительность крови больного) доказал О.О. Мочутковский (рисунок 10.15) в опыте самозаражения.



Рисунок 10.15 – Осип Осипович Мочутковский (1845-1903 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Он ввел в разрез кожи предплечья кровь больного сыпным тифом. Заболевание наступило на 18 день после заражения и протекало в тяжелой форме.

**Возбудитель** - *R. prowazekii* открыт С. Провачеком в 1915 г. Риккетсии Провачека представляют собой короткие палочки (рисунок 10.16).

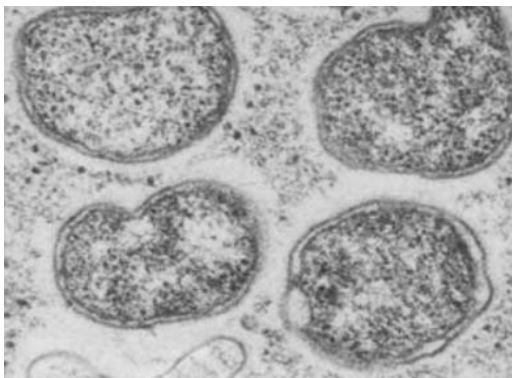


Рисунок 10.16 - *R. prowazekii*, электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Иногда встречаются нитевидные формы. Облигатный внутриклеточный паразит (рисунок 10.17).

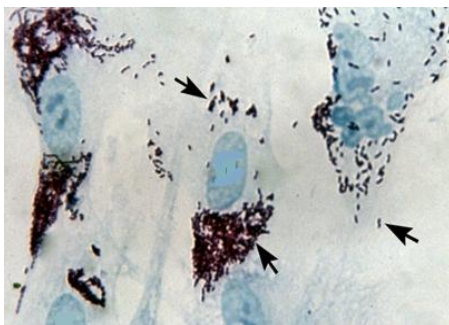


Рисунок 10.17 – Внутриклеточно расположенные *R. prowazekii* (указаны стрелками). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В организме человека *R. prowazekii* размножается в эндотелии кровеносных сосудов (рисунок 10.18).

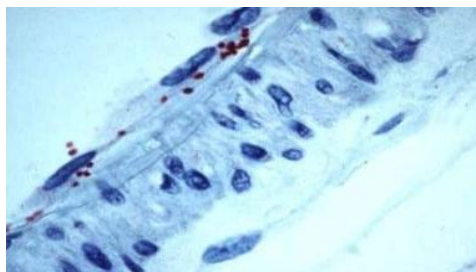


Рисунок 10.18 - *R. prowazekii* в эндотелии кровеносных сосудов (цитоплазма голубая, ядро синее, риккетсии красные). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Микроорганизмы обнаруживают в мазках, окрашенных по Здродовскому или Романовскому-Гимзе, а также под электронным микроскопом. *R. prowazekii* имеет типичное для риккетсий строение (рисунок 10.19).

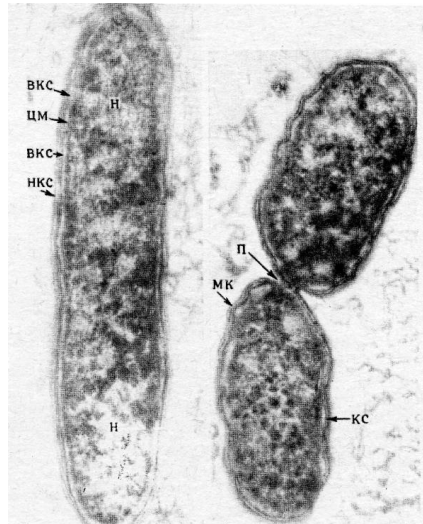


Рисунок 10.19 - Риккетсия Провачека в культуре ткани: вкс – внутренний слой клеточной стенки; нкс – наружный слой клеточной стенки; цм – цитоплазматическая мембрана, н – нуклеоид, мк – микрокапсула, кс – клеточная стенка, п – перетяжка (А.А. Авакян, Л.Н. Кац, И.Б. Павлова, 1972)

Возбудитель эпидемического сыпного тифа культивируют в желточном мешке развивающегося куриного эмбриона или в культуре клеток. *R. prowazekii* хорошо размножается в организме платяных вшей.

**Эпидемиология.** Резервуаром и источником инфекции служит больной человек. Наибольшее распространение заболевания отмечается во время войн, социальных и природных потрясений, при скученном проживании больших групп людей и высокой завшивленности населения.

**Переносчиком** является платяная вошь (*Pediculus humanus corporis*, нательная, бельевая), реже – головная (*Pediculus humanus capitis*) вошь (рисунок 10.20).



а

б

Рисунок 10.20 – Головная (а) и платяная (б) вошь. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Роль вшей в передаче сыпного тифа впервые установил Н.Ф. Гамалея в 1909 г. (рисунок 10.21).



Рисунок 10.21 – Николай Федорович Гамалея (1859 – 1949 гг.). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Вошь инфицируется при сосании крови больного. Она становится заразной через 5-6 дней после кровососания и сохраняет возбудителя на протяжении всей своей жизни. Риккетсии проникают в эпителий кишечника вши, где и размножаются. После накопления возбудителя клетки кишечника разрушаются и риккетсии попадают в фекалии вши. При каждом очередном кровососании вши опорожняют кишечник, и риккетсии попадают на кожные покровы. Во внешнюю среду риккетсии попадают не только с фекалиями вши, но и при раздавливании вши. Расчесывая место укуса, человек втирает риккетсии в ранку. В слюнных железах и слюне вшей риккетсии отсутствуют.

**Механизм заражения** человека – трансмиссивный.

**Ворота инфекции** – мелкие повреждения кожи (расчес, ссадина, царапина, в том числе ранка от укуса вши).

**Заражение** человека происходит при втирании риккетсий из фекалий или раздавленной вши в ранку от расчесов, в ссадину, в царапину. Возбудитель эпидемического сыпного тифа длительно сохраняется в высохших фекалиях инфицированных вшей. Заражение человека путем вдыхания аэрозоля из высохших фекалий инфицированных вшей представляет собой чрезвычайно редкое, но возможное событие. Больной человек не выделяет риккетсии с биологическими жидкостями.

Эпидемии сыпного тифа чаще всего развивались во время войны, природных катастроф, голода и других потрясений. В России в период войны 1918-1920 гг. сыпным тифом переболело около 20 млн. человек. С целью просвещения населения выпускались агитационные плакаты (рисунок 10.22).

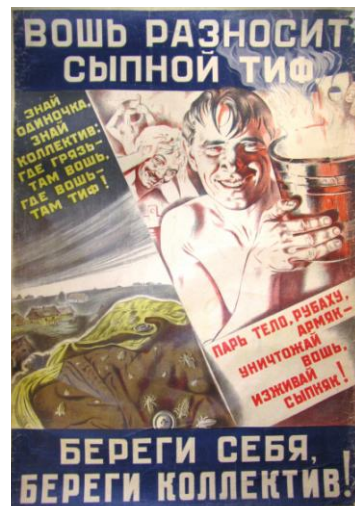


Рисунок 10.22 – Агитационный плакат времен гражданской войны. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В настоящее время в России эпидемический сыпной тиф практически ликвидирован (регистрируются единичные случаи).

**Патогенез эпидемического сыпного тифа.** Попав через мелкие повреждения кожи в организм человека, риккетсии уже через 5-15 минут проникают в лимфатические сосуды. С током лимфы они направляются в регионарные лимфатические узлы, где размножаются (**первичное размножение**) в макрофагах. Этот период соответствует инкубационному периоду заболевания.

Затем происходит массивный выброс риккетсий в кровоток (**первичная риккетсемия**), гибель части риккетсий, высвобождение эндотоксина и развитие острого заболевания. Находясь в кровяном русле, риккетсии проникают в эндотелий сосудов и размножаются (**вторичное размножение**). После этого эндотелиальные клетки разрушаются, риккетсии высвобождаются (**вторичная риккетсемия**) и поражают новые эндотелиальные клетки (рисунок 10.23).

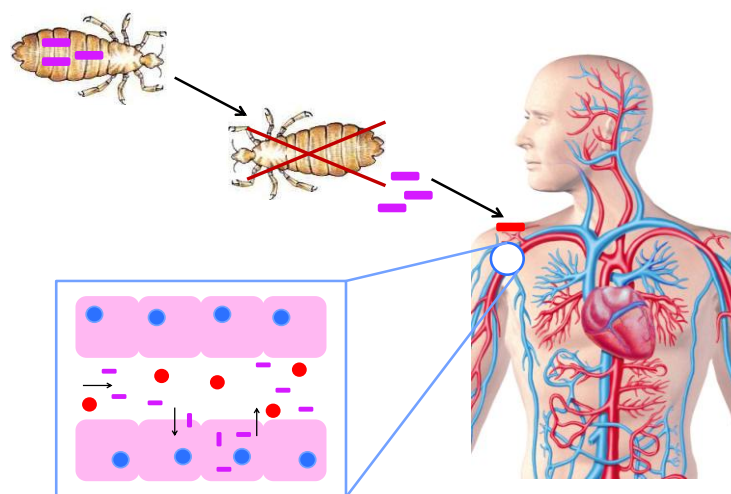


Рисунок 10.23 – Схема патогенеза эпидемического сыпного тифа.

После гибели эндотелия вокруг пораженных сосудов возникает клеточная пролиферация и скопление клеток с формированием специфической сыпнотифозной

гранулемы (узелков Попова-Давыдовского). Особенно много таких узелков в коже, надпочечниках, миокарде, центральной нервной системе.

Человек является заразным последние 2-3 дня инкубационного периода, весь лихорадочный период (16-17 дней) и 2-3 дня после нормализации температуры. При отсутствии педикулеза больной не опасен для окружающих.

**Клиника.** Инкубационный период при эпидемическом сыпном тифе в среднем составляет 10-14 дней. Сыпной тиф протекает циклически:

- начальный период – первые 4-5 дней (от повышения температуры до появления сыпи);
- период разгара – 4-8 дней (от появления сыпи до прекращения лихорадки);
- период выздоровления – со дня нормализации температуры до исчезновения всех клинических симптомов.

Начало заболевания острое, клинические проявления обусловлены генерализованным поражением эндотелиальных клеток кровеносных сосудов. В результате этого формируется розеолезная и петехиальная сыпь на кожных покровах (рисунок 10.24).



Рисунок 10.24 – Сыпь при эпидемическом сыпном тифе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Болезнь протекает тяжело, с высокой температурой, симптомами поражения сердечно-сосудистой и нервной систем (падение артериального давления, бред, психоз и т. д.). Летальность без лечения составляла от 20% до 80%.

**Иммунитет** после заболевания развивается напряженный, длительный, но возможны рецидивы болезни (болезнь Брилля-Цинссера).

**Диагностика** осуществляется на основании анализа клинико-эпидемиологических данных и результатов серологических методов исследования. Выделение возбудителя не проводят из-за сложности культивирования риккетсий. При необходимости выделение возбудителя проводят только в специализированных риккетсиологических лабораториях. Основными методами диагностики являются серологические (РСК, РНГА, ИФА и др.). При использовании РСК диагностически значимым считают титр 1:160. Положительный результат в РНГА получают с 3-5 дня болезни, диагностически значимым является титр 1:1000. С помощью ИФА определяют специфические IgM и IgG.

Для выявления ДНК возбудителя используют ПЦР.

**Лечение** осуществляется антибиотиками тетрациклинового ряда. Возбудитель чувствителен также к левомицетину, рифампицину и

фторхинолоновым препаратам. В патогенетическую терапию включают дезинтоксикационные и седативные средства, сердечные гликозиды, диуретики. Для предотвращения образования тромбов применяют антикоагулянты.

**Профилактика** эпидемического сыпного тифа включает комплекс мер, направленных на борьбу с педикулезом, госпитализацию и лечение больных. В очаге инфекции проводят санитарную обработку больных, камерную дезинфекцию постельных принадлежностей, одежды и белья.

Для специфической профилактики разработана живая комбинированная сыпнотифозная вакцина из штамма Е и растворимого антигена (ЖКСВ-Е), а также химическая сыпнотифозная вакцина, содержащая поверхностный антиген риккетсий Провачека. Прививки осуществляются по эпидпоказаниям.

### Болезнь Брилля-Цинссера

**Болезнь Брилля-Цинссера** (рецидивный, повторный, спорадический сыпной тиф) получила свое название по фамилии нью-йоркского врача Н. Брилля (N.E. Brill), описавшего в 1910 г. разновидность риккетсиоза, вызванного *R. prowazekii*. Впоследствии этот же риккетсиоз изучил Х. Цинссер (H. Zinsser). Заболевание представляет собой рецидив эпидемического сыпного тифа, развивающийся спустя 3 года - 60 лет после ранее перенесенного заболевания. Риккетсии после первичного заболевания сохраняются в лимфоузлах, печени, легких (эндоцитобиоз).

Больные с болезнью Брилля-Цинссера могут служить источником внутрисемейных и нозокомиальных вспышек эпидемического сыпного тифа. Заболевание встречается среди людей на территориях, на которых ранее отмечались эпидемии сыпного тифа. При этом завшивленность отсутствует. В России ежегодно регистрируются отдельные случаи этого заболевания среди лиц старших возрастных категорий, перенесших эпидемический сыпной тиф в годы Великой Отечественной войны и первые послевоенные годы.

**Клинически** болезнь Брилля-Цинссера протекает как эпидемический сыпной тиф легкой и средней степени тяжести с формированием розеолезной и петехиальной сыпи (рисунок 10.25).



Рисунок 10.25 – Сыпь при болезни Брилля-Цинссера. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Микробиологическая диагностика.** До появления сыпи диагностика болезни Брилля-Цинссера затруднена. Диагноз устанавливается на основании



клинико-эпидемиологических данных с учетом анамнеза больного. Для подтверждения диагноза проводится серологическое исследование со специфическим антигеном.

**Лечение** осуществляется с помощью антибиотиков тетрациклиновой группы. Прогноз благоприятен даже в отсутствии лечения антибиотиками, летальность не превышает 1%.

**Профилактика.** Меры профилактики те же, что и при эпидемическом сыпном тифе. Специфическая профилактика не разработана.

### Эндемический сыпной тиф

**Эндемический сыпной тиф** (мышинный тиф, крысиный риккетсиоз, блошинный риккетсиоз, маньчжурский эндемический тиф, корабельный тиф) представляет собой острое зоонозное инфекционное заболевание, проявляющееся циклическим течением, лихорадкой, артралгиями и пятнисто-папулезной сыпью.

**Возбудитель** эндемического сыпного тифа выделил в 1917 г. M.N. Neil. В 1928 г. американский микробиолог Н. Моосер обнаружил возбудителя (риккетсии Музера) в виде скоплений в клетках яичек самцов морских свинок, зараженных кровью больных мексиканским тифом “табардилло”. Он не только выделил возбудителя заболевания, но и установил источник инфекции (крысы и мыши) и обнаружил переносчиков (блохи).

Возбудителем эндемического сыпного тифа является *R. typhi* или риккетсия Музера - *R. mooseri* (рисунок 10.26).



Рисунок 10.26 – *R. typhi*, электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Возбудитель эндемического сыпного тифа в 3 раза мельче риккетсий Провачека, реже образует нитевидные и палочковидные формы. *R. typhi* имеет термостабильный антиген, общий с антигеном риккетсий Провачека, и термолабильный антиген, специфичный для этого возбудителя.

Заболевание распространено практически повсеместно, но чаще всего в портовых городах. Основными эндемичными районами является побережье Северной и Южной Америки, Юго-Восточной Азии, Австралии, Индии. В Европе болезнь регистрируется в виде завозных случаев в бассейнах Средиземного, Черного и Каспийского морей, в Закавказье. Болезнь носит спорадический характер.

**Устойчивость.** Возбудитель хорошо сохраняется в условиях внешней среды. В высохших фекалиях блох риккетсии остаются жизнеспособными до 40 дней. При низких температурах возбудитель сохраняется длительно. Риккетсии эндемического сыпного тифа чувствительны к традиционным дезинфектантам.

**Эпидемиология.** Резервуаром возбудителя и источником инфекции являются грызуны – серые и черные крысы и домашние мыши (рисунок 10.27).



Рисунок 10.27 – Резервуар и источник *R. typhi*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Грызуны заражаются контактным путем, при поедании пищи, загрязненной экскрементами больных животных, а также через инфицированных крысиных и мышинных блох. У грызунов инфекция может продолжаться длительное время и бессимптомно. В организме крыс риккетсии персистируют около 16,5 месяцев, а у мышей - более 3 месяцев.

**Переносчиками** возбудителя эндемического сыпного тифа являются крысиные блохи *Xenopsylla cheopsis* и *Ceratophyllus fasciatus* (рисунок 10.28). Инфицирование возможно также при укусе человека крысиным клещом *Bdelonyssus bacoti*.



Рисунок 10.28 – Блохи – переносчики эндемического сыпного тифа. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Заражение людей происходит при втирании фекалий инфицированных переносчиков в поврежденную кожу. В редких случаях заражение человека возможно при попадании риккетсий из высохших фекалий блох на слизистые оболочки глаз, полости рта, верхних дыхательных путей. Через укус зараженных блох возбудитель не передается. Болезнь регистрируется чаще всего среди лиц,

контактирующих с грызунами (работников пищевых предприятий, складов и др.). От человека к человеку болезнь не передается.

**Клиника.** Продолжительность инкубационного периода составляет 5-15 суток. В большинстве случаев заболевание начинается остро с головной боли, озноба, болей в суставах, лихорадки. Температура тела в течение 1-2 дней достигает 39-40<sup>o</sup>C. Продолжительность лихорадки составляет 10-13 дней. На 3-9 день болезни появляется обильная сыпь на кожных покровах всего тела, в том числе на ладонях и подошвах. Сначала появляются красные розеолы до 3-5 мм в диаметре, которые через 2-3 дня превращаются в папулы. Лихорадочный период продолжается около 14 дней. Рецидивы и повторные заболевания не отмечены. Летальность при отсутствии лечения составляет не более 5-10%.

Патологический процесс в кровеносных сосудах выражен значительно меньше, чем при эпидемическом сыпном тифе.

После выздоровления развивается стойкий иммунитет к повторному заражению.

**Диагностика.** При проведении микробиологической диагностики применяют общие подходы выделения и идентификации риккетсии. *R. typhi* размножаются только в цитоплазме заражённых клеток.

Диагностика основывается в основном на серологических реакциях: РСК, РНГА, ИФА с использованием антигенов *R. typhi*.

Для точной диагностики самцам морских свинок внутрибрюшинно вводят 3-5 мл крови больного. Через 4-8 дней у животных развивается “скротальный феномен” (периорхит с кровянисто-гнойным экссудатом в полостях яичка). В мазках, приготовленных с пораженных оболочек, при окраске карболовым фуксином и синькой видны “клетки Музера” - клетки мезотелия голубого цвета с красно-рубиновыми скоплениями риккетсий (рисунок 10.29).

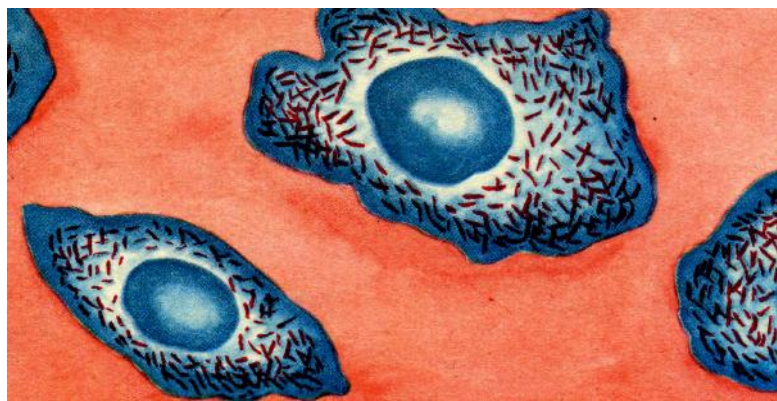


Рисунок 10.29 - Риккетсия Музера в цитоплазме мезотелиальных клеток влагалищной оболочки морской свинки. Окраска карболфуксином с дополнительной окраской метиленовым синим (Н.С. Мотавкина, В.Д. Артемкин, 1976).

**Лечение.** В качестве лечебных препаратов используют антибиотики тетрациклинового ряда, левомицетин.

**Профилактика** включает в себя борьбу с грызунами (дератизацию), предупреждение их завоза прибывающими судами, защиту пищевых продуктов от

загрязнения экскрементами грызунов. По эпидемическим показаниям проводят вакцинацию убитой вакциной.

### Клещевой сыпной тиф Северной Азии

**Клещевой сыпной тиф Северной Азии** (североазиатский клещевой риккетсиоз, клещевой сыпной тиф Азии, клещевой риккетсиоз Сибири) - природно-очаговый трансмиссивный риккетсиоз группы клещевых пятнистых лихорадок. Североазиатский клещевой сыпной тиф является наиболее распространенным риккетсиозом в России.

Впервые болезнь выявлена в России в 1934-1935 гг. на Дальнем Востоке военным врачом Е.И. Миллем. Заболевание было описано под названием клещевая пятнистая лихорадка Приморья. В 1936 г. О.С. Коршунова выделила возбудитель из крови больного. В последующем этот возбудитель был идентифицирован в качестве самостоятельного вида риккетсий.

**Таксономическое положение.** Возбудителем североазиатского клещевого риккетсиоза является *R. sibirica* - представитель рода *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae*. Он относится к риккетсиям группы клещевых пятнистых лихорадок. В настоящее время выделяют 3 подвида *R. sibirica*: *R. sibirica subsp. sibirica*, *R. sibirica subsp. VJ-90* и *R. sibirica subsp. mongolotimoniae*. На территории России выявляются первые два подвида, причем подвид *R. sibirica subsp. VJ-90* встречается в основном на Дальнем Востоке.

**Морфологические, культуральные и антигенные свойства.** Возбудитель североазиатского клещевого риккетсиоза имеет типичную для риккетсий структуру (рисунок 10.30).



Рисунок 10.30 - *R. sibirica* (А.А. Воробьев, А.С. Быков, 2003 г.).

*R. sibirica* имеет общие антигены с другими риккетсиями группы клещевых пятнистых лихорадок. В инфицированных клетках возбудитель размножается в цитоплазме и ядре (рисунок 10.31).

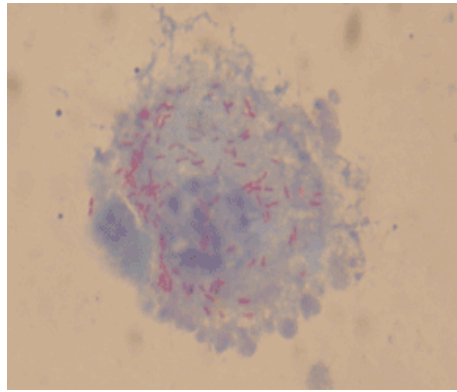


Рисунок 10.31 - *R. sibirica* в цитоплазме и ядре клеток. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Возбудитель североазиатского клещевого риккетсиоза хорошо культивируется в организме клещей, хуже - в перевиваемых клеточных культурах и желточных мешках РКЭ. Гемолитическая активность выражена слабо. При окраске по Здродовскому риккетсия окрашивается в красный цвет (рисунок 10.32).

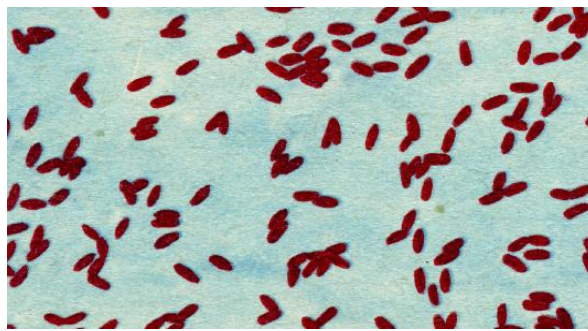


Рисунок 10.32 - *R. sibirica* из тканевой культуры, окраска по Здродовскому (Н.С. Мотавкина, В.Д. Артемкин, 1976).

К действию факторов внешней среды возбудитель неустойчив, быстро инактивируется при высокой температуре и под влиянием широко используемых дезинфектантов.

**Эпидемиология.** Североазиатский клещевой риккетсиоз является природно-очаговым заболеванием. **Природные очаги** этого заболевания распространены в Сибири и на Дальнем Востоке России (Красноярский, Алтайский, Хабаровский, Приморский края; Амурская область, Тыва, Хакассия), в Казахстане, Монголии и Китае. Более 80% заболеваний отмечается в Алтайском и Красноярском краях. **Резервуар** возбудителя в природе – клещи и различные мелкие грызуны. **Переносчиками** *R. sibirica* являются клещи (рисунок 10.33) в основном родов *Dermacentor* (*D. nuttalli*, *D. sitvarum*, *D. marginatus*, *D. reticulates*) и *Haemophysalis* (*H. concinna*). В отсутствие переносчика болезнь не является контагиозной. У клещей возможна трансвариальная передача возбудителя.



Рисунок 10.33 – Переносчики *R. sibirica*: а - *D. reticulatus*; б - *H. concinna*.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

**Механизм передачи** возбудителя – трансмиссивный. Возбудитель поступает в организм человека с инфицированной слюной в месте присасывания клеща на всех стадиях его развития. Для этого заболевания выражена сезонность (март – сентябрь). Ежегодно в России регистрируется более 2000 случаев заболеваний людей среднеазиатским клещевым риккетсиозом.

**Клиника.** Инкубационный период составляет 3-7 дней. Заболевание проявляется первичным аффектом в месте присасывания клеща, розеолезно-папулезной генерализованной сыпью, лихорадкой, недомоганием, ознобом, головной болью, регионарным лимфаденитом. Особенно характерна триада признаков: первичный аффект на месте укуса клеща, сыпь и лихорадка (рисунок 10.34).

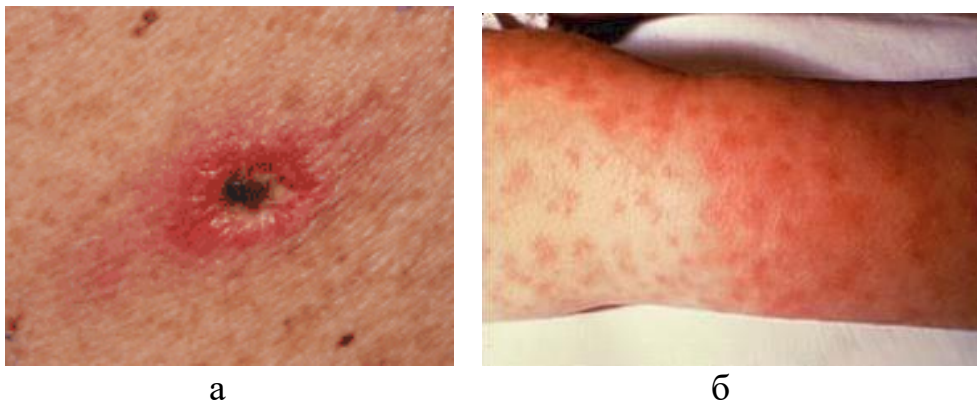


Рисунок 10.34 – Первичный аффект (а) и сыпь (б) при североазиатском клещевом риккетсиозе. Займствовано из Интернет-ресурсов.

Заболевание продолжается от 7 до 12 дней. Осложнения редки. Рецидивы болезни не описаны.

**Диагностика** североазиатского клещевого риккетсиоза основывается на клинической картине заболевания, эпидемиологических данных и лабораторных исследованиях сыворотки крови больного со специфическим групповым антигеном возбудителя (РСК, РНГА, РИФ). Для выделения *R. sibirica* проводят заражение культур клеток, куриных эмбрионов и морских свинок. *R. sibirica* размножается в цитоплазме и ядрах заражённых клеток.

**Лечение** проводится с помощью антибиотиков тетрациклиновой группы.

**Профилактика.** Средств специфической профилактики не разработано. Неспецифическая профилактика предусматривает проведение противоклещевых мероприятий (использование защитной одежды, репеллентов), информирование населения об опасности заболевания на эндемичных территориях. Экстренная профилактика осуществляется с помощью доксицилина.

### Астраханская пятнистая лихорадка

**Астраханская пятнистая лихорадка** (астраханская риккетсиозная лихорадка) представляет собой заболевание, передающееся клещами рода *Rhipicephalus pumilio*. Заболевание характеризуется доброкачественным течением, наличием первичного аффекта, лихорадкой и пятнисто-папулезной сыпью. Астраханская пятнистая лихорадка является вариантом марсельской лихорадки.

**Возбудителем** астраханской пятнистой лихорадки является *R. conorii* var. *caspii*, входящая в так называемый *conorii*-complex. По морфологическим и тинкториальным свойствам возбудитель не отличается от других риккетсий, вызывающих пятнистые лихорадки. Размножается в цитоплазме клеток. Культивируется в культуре клеток, желточном мешке РКЭ, в организме золотистых хомячков.

**Эпидемиология.** Эндемичным районом является Астраханская область. Важным фактором в очагах астраханской пятнистой лихорадки является высокая пораженность собак клещом *Rhipicephalus pumilio* (рисунок 10.35).



Рисунок 10.35 – Клещ *Rhipicephalus pumilio*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

С собак клещ переползает на человека. Клещи сохраняют возбудителя пожизненно и передают их трансвариально. Человек заражается при присасывании клеща. Заболеваемость отмечается с апреля по октябрь, пик заболеваемости приходится на июль – август.

**Патогенез.** В месте присасывания клеща возбудитель размножается. Формируется первичный аффект – некроз эпидермиса, микроабсцесс сосочкового слоя кожи. Затем возбудитель проникает в регионарные лимфатические узлы, размножается и попадает в кровь (риккетсемия). При проникновении риккетсий в кровеносные сосуды развивается острый васкулит генерализованного характера, тромбоваскулит.

**Клиника.** Инкубационный период составляет от 2 дней до 1 месяца. Начало заболевания острое, проявляется лихорадкой. Первый признак заболевания –

первичный аффект в месте присасывания клеща (на нижних конечностях, туловище): вначале - розовое пятно размером 5-15 мм, затем – эрозия и образование темно-коричневой корочки. Глубоких некротических изменений в коже не наблюдается. В последующем развивается папулезно-розеолезная сыпь (на туловище, верхних и нижних конечностях).

**Диагностика.** Для специфической диагностики используют РНИФ со специфическим антигеном возбудителя.

**Лечение** включает применение антибиотиков тетрациклинового ряда.

**Профилактика.** Средств специфической профилактики не разработано. Для неспецифической профилактики важное значение имеет отлов бродячих собак.

### Марсельская лихорадка

**Марсельская лихорадка** (средиземноморская лихорадка, прыщевидная лихорадка, болезнь Кардуччи-Олмера) – риккетсиоз из группы клещевых пятнистых лихорадок.

**Возбудитель** марсельской лихорадки - *R. conorii* (рисунок 10.36) открыт Э. Брумтом в 1932 г. и назван в честь А. Конора, описавшего совместно с А. Брюшем это заболевание в 1910 г. в Тунисе под названием “тунисская пятнистая лихорадка”.

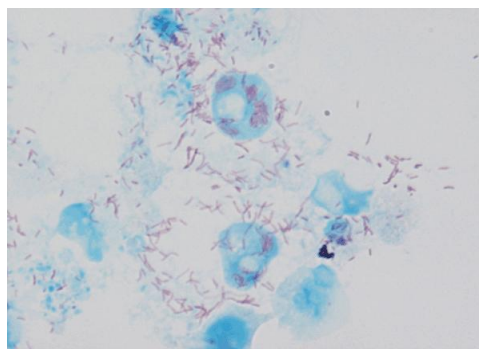


Рисунок 10.36 - *R. conorii* в культуре клеток Vero. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Эпидемиология.** **Резервуар** возбудителя в природе - многие виды домашних и диких животных (собаки, шакалы, ежи, грызуны). **Источник** инфекции при марсельской лихорадке - собаки и собачий клещ. У клеща возможна трансвариальная передача возбудителя. **Сезонность** марсельской лихорадки отмечается в мае-октябре. Пик заболеваний приходится на июль-август. Заболеваемость носит спорадический характер.

**Механизм передачи** – трансмиссивный. **Переносчиками** марсельской лихорадки являются иксодовые клещи преимущественно *Rhipicephalus sanguineus* и *Haemophysalis leachi* (рисунок 10.37). В организме клещей возбудитель сохраняется до 1,5 лет.



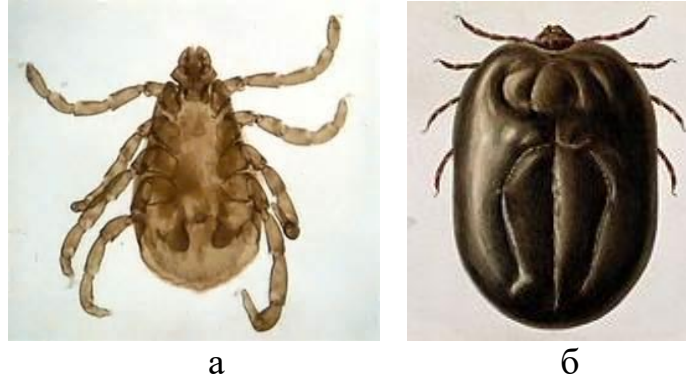


Рисунок 10.37 - *Rhipicephalus sanguineus* (а) и *Haemophysalis leachi* (б) – переносчики марсельской лихорадки. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Человеку возбудитель передаётся при присасывании клеща. Собачий клещ редко нападает на человека, поэтому заболеваемость носит спорадический характер.

Марсельская лихорадка является природно-очаговым заболеванием. Очаги располагаются преимущественно в Средиземноморском регионе, в бассейнах Черного и Каспийского морей. В России регистрируется в Астраханской и Волгоградской областях, Калмыкии.

**Клиника.** Инкубационный период продолжается 5-7 суток. Заболевание начинается остро с озноба, подъёма температуры до 39-40<sup>0</sup>С и сопровождается миалгиями, артралгиями и головной болью. Для марсельской лихорадки характерно появление первичного аффекта в виде черного пятна (красноватый инфильтрат, покрытый черной корочкой) в месте присасывания клеща (рисунок 10.38).



Рисунок 10.38 – Первичный аффект (“черное пятно”) при марсельской лихорадке. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На 3-4 сутки появляется розеолезно-папулезная сыпь по всему телу. Длительность лихорадки составляет 10-14 суток. Течение заболевания доброкачественное, без рецидивов.

**Диагностика.** Для лабораторной диагностики марсельской лихорадки используются микробиологические, биологические и серологические методы (РСК, РНИФ, ИФА).

В течение всей болезни возбудитель циркулирует в крови, его можно обнаружить в месте первичного аффекта и в кожных высыпаниях. Для выделения *R. conorii* используют культуры клеток, развивающиеся куриные эмбрионы и морских свинок. *R. conorii* размножается в ядрах клеток (рисунок 10.39).

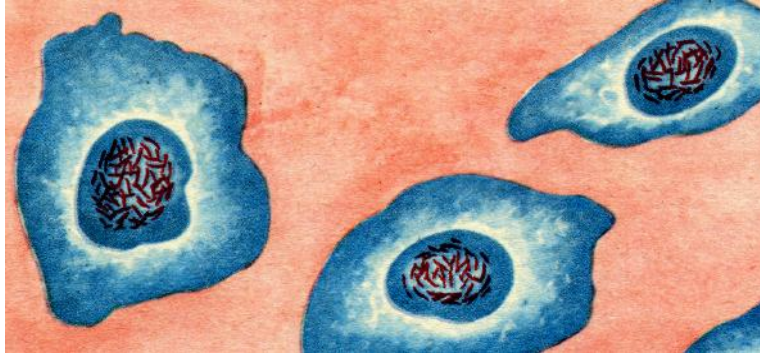


Рисунок 10.39 - *R. conorii* в ядрах мезотелиальных клеток морской свинки. Окраска карболфуксином и метиленовым синим (Н.С. Мотавкина, В.Д. Артемкин, 1976).

Гибель эмбрионов наблюдают на 4-5-е сутки. Внутривнутрибрюшинное заражение самцов морских свинок вызывает развитие периорхита.

**Лечение** проводится с помощью антибиотиков (тетрациклины, макролиды).

**Профилактика** заболевания в эндемичных очагах предусматривает периодическую обработку домашних собак, дезинсекцию дворов, проведение санитарно-просветительной работы.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение риккетсий.
2. Морфологические и тинкториальные особенности риккетсий.
3. Культуральные и биохимические свойства риккетсий.
4. Факторы патогенности риккетсий и патогенез риккетсиозов.
5. Эпидемический сыпной тиф и болезнь Брилля-Цинссера.
6. Эндемический сыпной тиф.
7. Североазиатский клещевой риккетсиоз.
8. Марсельская лихорадка.
9. Диагностика риккетсиозов.
10. Лечение и профилактика риккетсиозов.

### Тренировочные тесты

1. Возбудителем эпидемического сыпного тифа является (один правильный ответ):
  - 1.1 *R. prowazekii*
  - 1.2 *R. typhi*
  - 1.3 *R. sibirica*
  - 1.4 *R. conorii*
  - 1.5 *R. rickettsii*
  
2. Возбудителем болезни Брилля-Цинссера является (один правильный ответ):
  - 2.1 *R. prowazekii*
  - 2.2 *R. typhi*
  - 2.3 *R. sibirica*
  - 2.4 *R. conorii*

2.5 *R. rickettsii*

3. Возбудителем эндемического сыпного тифа является (один правильный ответ):

3.1 *R. prowazekii*

3.2 *R. typhi*

3.3 *R. sibirica*

3.4 *R. conorii*

3.5 *R. rickettsii*

4. Возбудителем североазиатского клещевого риккетсиоза является (один правильный ответ):

4.1 *R. prowazekii*

4.2 *R. typhi*

4.3 *R. sibirica*

4.4 *R. conorii*

4.5 *R. rickettsii*

5. Возбудителем марсельской лихорадки является (один правильный ответ):

5.1 *R. prowazekii*

5.2 *R. typhi*

5.3 *R. sibirica*

5.4 *R. conorii*

5.5 *R. rickettsii*

6. Для риккетсий характерно (один правильный ответ):

6.1 грамположительные палочки

6.2 грамотрицательные короткие палочки

6.3 грамотрицательные диплококки

6.4 подвижные грамположительные палочки

6.5 спорообразующие палочки

7. *R. prowazekii* вызывает (несколько правильных ответов):

7.1 астраханскую лихорадку

7.2 болезнь Брилля-Цинссера

7.3 эндемический сыпной тиф

7.4 североазиатский риккетсиоз

7.5 эпидемический сыпной тиф

8. *R. typhi* вызывает (один правильный ответ):

8.1 астраханскую лихорадку

8.2 болезнь Брилля-Цинссера

8.3 эндемический сыпной тиф

8.4 североазиатский риккетсиоз

8.5 эпидемический сыпной тиф

9. *R. sibirica* вызывает (один правильный ответ):

- 9.1 марсельскую лихорадку
  - 9.2 болезнь Брилля-Цинссера
  - 9.3 эндемический сыпной тиф
  - 9.4 североазиатский риккетсиоз
  - 9.5 эпидемический сыпной тиф
10. *R. conorii* вызывает (один правильный ответ):
- 10.1 марсельскую лихорадку
  - 10.2 болезнь Брилля-Цинссера
  - 10.3 эндемический сыпной тиф
  - 10.4 североазиатский риккетсиоз
  - 10.5 эпидемический сыпной тиф
11. Платяные вши являются переносчиками (один правильный ответ):
- 11.1 марсельской лихорадки
  - 11.2 лихорадки Скалистых гор
  - 11.3 эндемический сыпной тиф
  - 11.4 североазиатский риккетсиоз
  - 11.5 эпидемический сыпной тиф
12. Для риккетсий характерно (несколько правильных ответов):
- 12.1 рост на питательных средах
  - 12.2 размножение путем деления
  - 12.3 дизъюнктивный способ репродукции
  - 12.4 размножение внутри фагосом
  - 12.5 размножение в цитоплазме и ядре клеток
13. Риккетсиозным антропонозом является (один правильный ответ):
- 13.1 марсельская лихорадка
  - 13.2 эпидемический сыпной тиф
  - 13.3 астраханская лихорадка
  - 13.4 североазиатский риккетсиоз
  - 13.5 лихорадка Скалистых гор
14. Основная категория клеток, поражаемых при риккетсиозах (один правильный ответ):
- 14.1 Т-лимфоциты
  - 14.2 В-лимфоциты
  - 14.3 эритроциты
  - 14.4 эндотелиоциты
  - 14.5 остеоциты
15. Клиническое проявление рецидива эпидемического сыпного тифа (один правильный ответ):
- 15.1 Ку-лихорадка
  - 15.2 болезнь Брилля-Цинссера

- 15.3 трахома
- 15.4 микоплазмоз
- 15.5 эндемический сыпной тиф

16. Риккетсии группы пятнистых лихорадок (несколько правильных ответов):

- 16.1 *Rickettsia rickettsii*,
- 16.2 *Rickettsia prowazekii*
- 16.3 *Rickettsia typhi*
- 16.4 *Rickettsia conorii*
- 16.5 *Rickettsia sibirica*

17. Риккетсии группы сыпного тифа (несколько правильных ответов):

- 17.1 *Rickettsia rickettsii*,
- 17.2 *Rickettsia prowazekii*
- 17.3 *Rickettsia typhi*
- 17.4 *Rickettsia conorii*
- 17.5 *Rickettsia sibirica*

Правильные ответы: 1.1; 2.1; 3.2; 4.3; 5.4; 6.2; 7.2, 7.5; 8.3; 9.4; 10.1; 11.5; 12.2, 12.5; 13.2; 14.4; 15.2; 16.1, 16.4, 16.5; 17.2, 17.3.

## 11. Хламидии

Хламидии представляют собой облигатные внутриклеточные бактерии, способные вызывать у человека, животных и птиц заболевания, известные под общим названием “хламидиозы”.

Первые случаи хламидиоза попугаев (“попугайной болезни”) описал в 1876 г. немецкий ученый Т. Jurgensen. В 1879 г. швейцарский ученый J. Ritter установил связь между болезнью попугаев и пневмонией человека. Болезнь получила название пситтакоз (лат. *psittacus* – попугай). Со временем было установлено, что заражение человека возможно не только от попугаев, но и от других птиц, поэтому болезнь стали называть орнитозом (греч. *ornis, ornithos* – птица).

Впервые хламидии открыли в 1907 г. чешский естествоиспытатель С. Провачек (рисунок 11.1) и немецкий бактериолог Людвиг Гальберштедтер (L. Halberstadter, 1876-1949 г.).



Рисунок 11.1 – Станислав Провачек (Stanislaus Josef Mathias von Prowazek, 1875 – 1915 гг.).

Они обнаружили цитоплазматические включения с множеством мельчайших частиц в клетках конъюнктивы орангутанга, экспериментально зараженного материалом из соскоба конъюнктивы больного трахомой человека. Эти включения были названы “*Chlamidozoon trachomatis*” (греч. *chlamydos* – плащ, покров, оболочка вокруг скопления микробных частиц). Оболочка (мантия) вокруг потомства микробных клеток формируется инфицированной клеткой. Позднее аналогичные цитоплазматические включения были обнаружены в клетках конъюнктивы новорожденных и клетках цервикального канала матерей, инфицированных хламидиями.

В 1930 г. С. Бедсон (S. Bedson) выделил возбудителя орнитоза из крови и органов птиц, описал цикл развития возбудителя.

В 1935 г. японский бактериолог Й. Миягава выделил возбудителя венерической лимфогранулемы.

В 1957 г. в Китае от больных трахомой людей была выделена культура хламидий.

В настоящее время установлено, что хламидии способны поражать человека и животных разных видов. При этом один и тот же возбудитель может вызывать как острую, так и латентную инфекции с длительным носительством (персистенцией).

**Таксономическое положение хламидий.** Хламидии относятся к типу (филуму) *Chlamydiae*, классу *Chlamydia*, порядку *Chlamydiales*, семейству *Chlamydiaceae*, роду *Chlamydia*. Род *Chlamydia* включает более 10 видов. Патогенными для человека являются виды *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* и *C. psittaci*.

*C. trachomatis* является исключительно паразитом человека и подразделяется на 18 сероваров, которые объединены в 2 биовара: биовар трахома и биовар лимфогранулема венерум или LGW. Серовары А-С (А, В, Ва, С) *C. trachomatis* вызывают трахому, серовары D-K (D, E, F, G, H, I, J, K) – генитальные инфекции, передающиеся половым путем (урогенитальный хламидиоз), серовары L1-L3 (L1, L2, L3) передаются половым путем и поражают лимфатическую ткань, вызывая венерическую лимфогранулему.

*C. pneumoniae* вызывает заболевания как у человека, так и у животных. Этот вид объединяет 4 биовара. Биовар TWAR отвечает за респираторные инфекции человека.

*C. psittaci* вызывает различные заболевания у человека, животных и птиц, включает 13 сероваров. Основными хозяевами этого вида являются птицы. У человека этот возбудитель вызывает пситтакоз.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Хламидии представляют собой мелкие грамтрицательные бактерии шаровидной или овоидной формы. Спор и капсул не образуют, жгутиков не имеют. Хламидии существуют в двух формах (рисунок 11.2):

- ЭТ - элементарные тельца;
- РТ - ретикулярные (сетчатые) тельца.

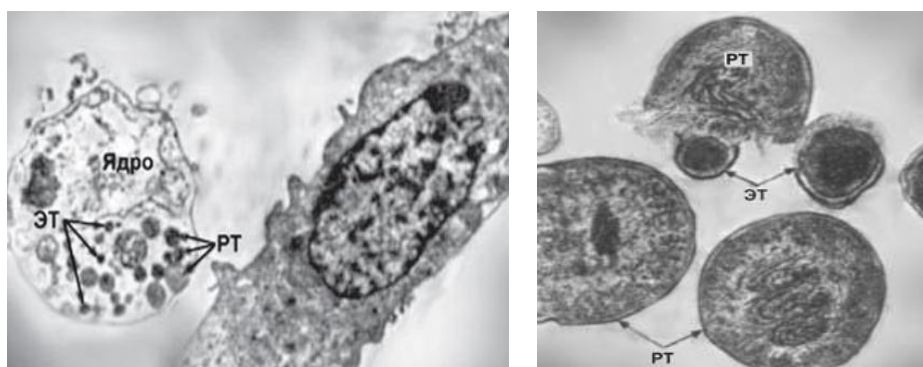


Рисунок 11.2 – Элементарные (ЭТ) и ретикулярные (РТ) тельца хламидий.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

**Элементарные тельца** являются внеклеточной (покоящейся) формой хламидий. Они представляют собой мелкие сферические образования размером 0,2-0,4 мкм с толстой клеточной стенкой, окрашиваются по Романовскому-Гимзе в красный (розовый) цвет, метаболически не активны, не способны к делению, не чувствительны к антибиотикам. Элементарные тельца способны к адгезии на эпителиальных клетках с помощью хламидийных мембранных протеинов (МOMP –

Major Outer Membrane Protein, POMPs – Polymorphic Membrane Protein). После проникновения путем эндоцитоза внутрь эукариотической клетки элементарные тельца внутри вакуоли трансформируются в ретикулярные тельца.

**Ретикулярные (сетчатые) тельца** являются внутриклеточной (вегетативной) формой хламидий. Они крупнее элементарных телец в несколько раз, их размер достигает 0,8-1,5 мкм, они имеют тонкую клеточную стенку, окрашиваются по Романовскому-Гимзе в голубой или фиолетовый цвет, метаболически активны, способны к бинарному делению, чувствительны к антибиотикам. Ретикулярные тельца находятся в тесном контакте с мембраной вакуоли благодаря системе секреции III типа. Внутри клеток делящиеся ретикулярные тельца формируют **околоядерные скопления** - тельца включений (рисунок 11.3).

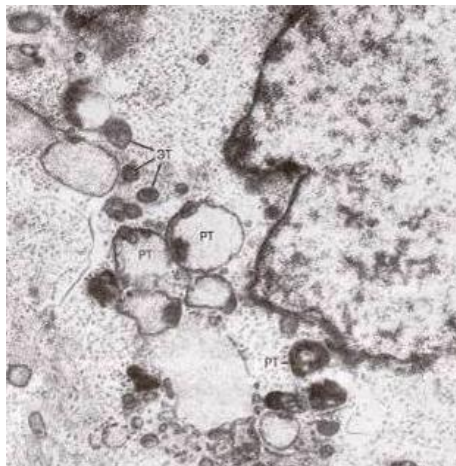


Рисунок 11.3 – Ретикулярные (РТ) и элементарные (ЭТ) тельца хламидий в эпителиальных клетках канала шейки матки. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Тельца включений располагаются в вакуолях и окутаны оболочкой (мантией), отчего и происходит название хламидий.

В последнее время выделяют еще одну форму хламидий – так называемые **аберрантные тельца** или латентную форму. Эти тельца представляют собой внутриклеточную неразмножающуюся (некультивируемую) форму, отвечающую за персистенцию возбудителя. Они лишены МОР и секретируют в большом количестве стрессовые протеины (Chsp60 – heat shock protein spesifique des chlamidiae, белки теплового шока массой 60 кД).

Клеточная стенка хламидий имеет особенности, она состоит из внутренней цитоплазматической мембраны и внешней мембраны, разделенных периплазматическим пространством (рисунок 11.4).



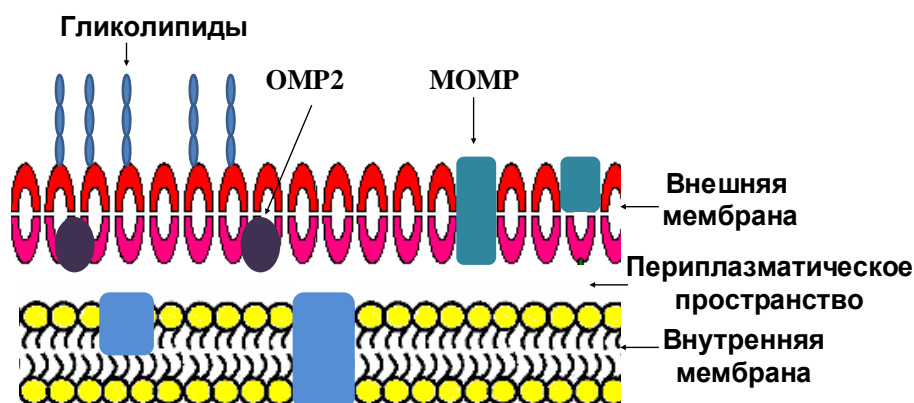


Рисунок 11.4 – Строение клеточной стенки хламидий.

Каждая мембрана клеточной стенки двойная. В отличие от других грамотрицательных бактерий, клеточная стенка хламидий не имеет пептидогликанового слоя. В состав клеточной стенки входят пептиды и гликолипиды (аналоги липополисахаридов клеточной стенки грамотрицательных бактерий). Основными белками клеточной стенки хламидий являются белки внешней мембраны OMP2 (Outer membrane protein) и MOMP (Major outer membrane protein). Белок OMP2 обнаруживается у ЭТ. Он участвует в процессах прикрепления ЭТ к эукариотическим клеткам. Белок MOMP обнаруживается как у ЭТ, так и у РТ. Этот белок выполняет функции как адгезина, так и порина.

**Геном** хламидий имеет небольшой размер. Он состоит из нуклеоида (бактериальной хромосомы) и плазмид. Большинство штаммов рода *Chlamydia* имеют плазмиду рСТ. Плазмиды хламидий несут “гены адаптации”, многие из которых представляют транспозоны.

Схематическое изображение клетки хламидий можно представить следующим образом (рисунок 11.5).

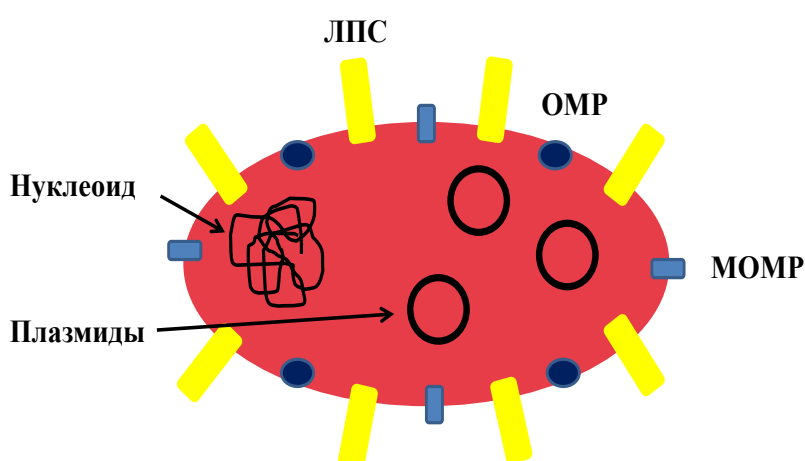


Рисунок 11.5 – Схематическое изображение клетки хламидий.

При окраске по Граму хламидии приобретают красный цвет. Основным методом окраски хламидий является метод Романовского-Гимзы (рисунок 11.6).

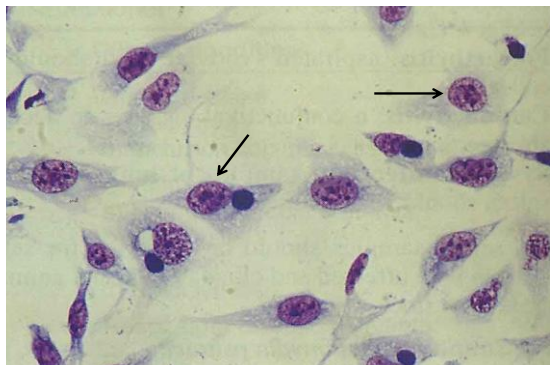


Рисунок 11.6 – Включения внутриклеточно расположенных хламидий (указаны стрелками), окраска по Романовскому-Гимзе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культивирование хламидий.** Хламидии не растут на питательных средах. Они являются облигатными внутриклеточными энергетическими паразитами. По способности синтезировать АТФ хламидии являются метаболически неактивными и для своей жизнедеятельности используют внешние источники энергии. Элементарные тельца используют в качестве источника энергии глюкоза-6-фосфат, высвобождающийся из разрушенных клеток, а ретикулярные тельца используют АТФ клетки-хозяина.

Хламидии культивируют в желточном мешке развивающихся куриных эмбрионов и в культуре клеток HeLa, McCoу (рисунок 11.7).

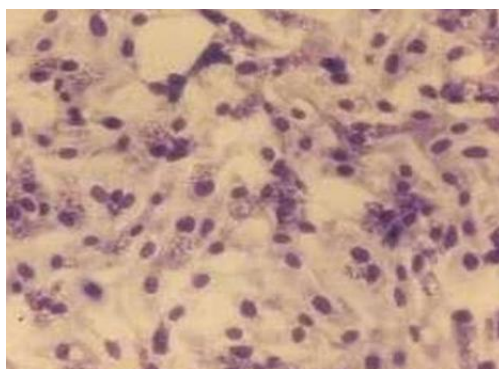


Рисунок 11.7 – Однослойная культура клеток после инкубирования хламидий. Цитоплазма инфицированных клеток выглядит гранулированной. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Репродукция хламидий** в организме в цитоплазме эпителиальных клеток протекает в несколько стадий. Вначале элементарные тельца прикрепляются к клеточной мембране цилиндрического или переходного эпителия (рисунок 11.8) и индуцируют у эпителиоцитов эндоцитоз. Элементарные тельца хламидий побуждают к эндоцитозу клетки (в частности, эпителиоциты), не способные в обычных условиях к активному фагоцитозу.

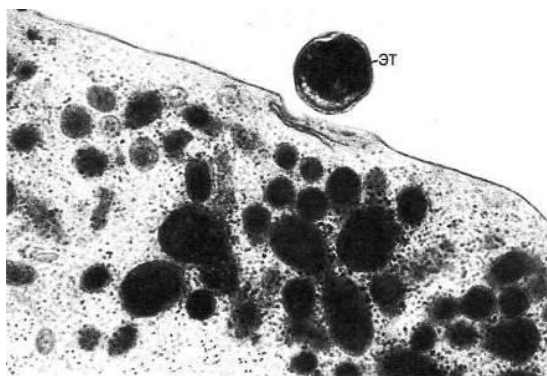


Рисунок 11.8 - Адсорбция ЭТ на мембране эукариотической клетки. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

После проникновения в клетку хламидии подавляют процесс слияния фагосомы с лизосомами. Образуется **эндоцитарная вакуоль** из мембраны клетки хозяина. Внутри эндоцитарной вакуоли элементарные тельца дифференцируются в ретикулярные тельца (через 6-8 часов после проникновения). При этом элементарное тельце увеличивается в размерах, восстанавливает метаболическую активность и приобретает способность к делению (рисунок 11.9).

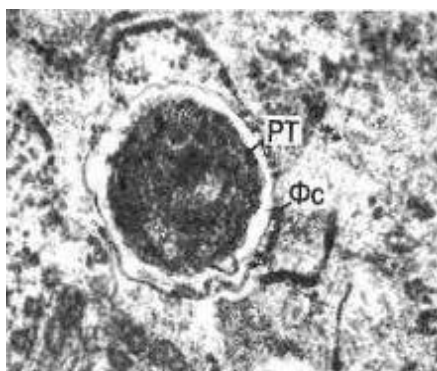


Рисунок 11.9 - РТ в эндоцитарной вакуоли - фагосоме (Фс). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Размножение РТ происходит путем бинарного деления (рисунок 11.10) в течение 18-24 часов после инфицирования.

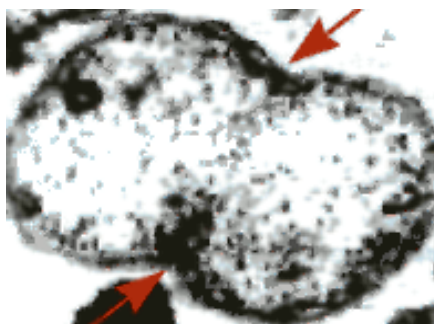


Рисунок 11.10 - Бинарное деление хламидий (А.А. Воробьев, А.С. Быков, 2003 г.).

В результате нескольких циклов бинарного деления в вакуоли образуется микроколония хламидий (тельца включений Провачека, “хламидийные включения”, мембраноограниченная зона - МОЗ), насчитывающая до 500 бактериальных клеток. Такая микроколония видна при световой микроскопии после специальной окраски (рисунок 11.11).

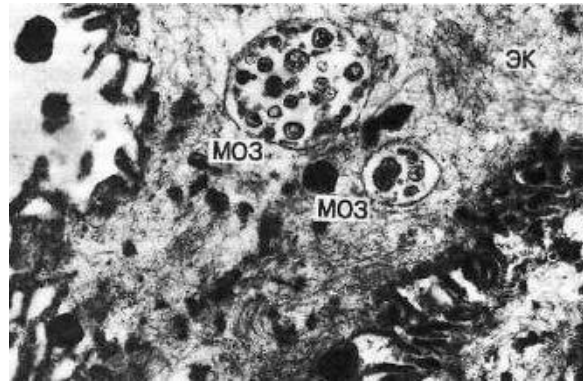


Рисунок 11.11 - Мембраноограниченные зоны с хламидиями. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Остановка процесса деления хламидий на этой стадии ведет к формированию aberrantных форм хламидий и персистенции хламидийной инфекции.

После размножения ретикулярные тельца дифференцируются в элементарные тельца, которые высвобождаются из зараженной клетки и поражают соседние клетки. Таким образом, жизненный цикл хламидий включает следующие стадии:

- адсорбция ЭТ на чувствительной клетке
- проникновение ЭТ в клетку путем эндоцитоза (7-10 часов);
- превращение (реорганизация) ЭТ в РТ (в течение 6-8 часов после инфицирования);
- размножение (деление) РТ (18-24 часа после инфицирования), в некоторых случаях - образование aberrantных форм хламидий;
- дифференцировка ретикулярных телец в элементарные тельца (36-42 часа после инфицирования);
- выход элементарных телец из клетки (48-72 часа после инфицирования), гибель клетки.

Полный жизненный цикл хламидий составляет 48-72 часа. Выход элементарных телец из клетки может происходить либо в результате разрыва клеточной мембраны (в этом случае клетка погибает), либо путем экзоцитоза (в этом случае зараженная клетка сохраняет жизнеспособность, а инфекция приобретает хроническое течение). Освободившиеся элементарные тельца инфицируют соседние интактные клетки, и цикл репродукции повторяется (рисунок 11.12).

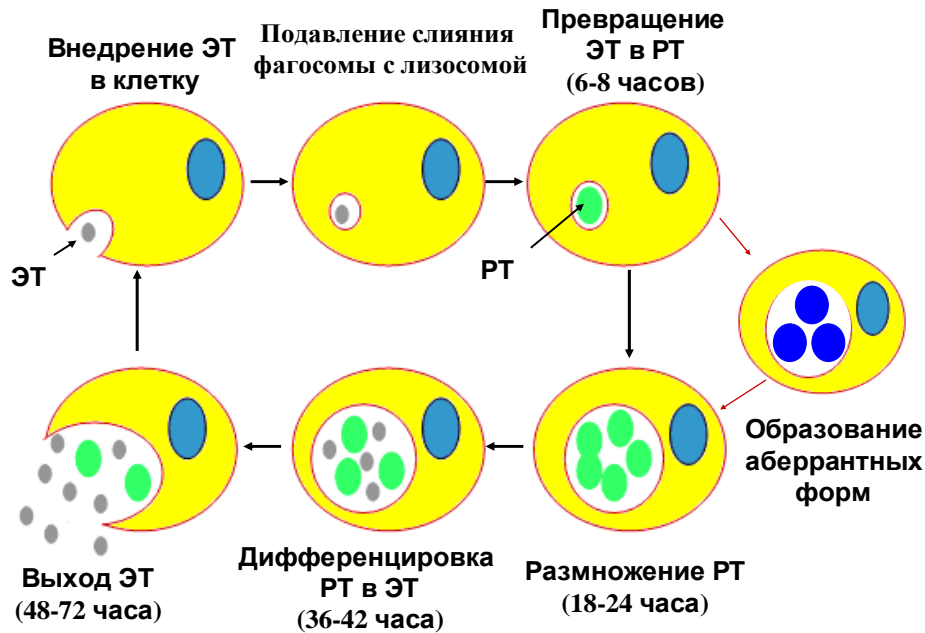


Рисунок 11.12 – Жизненный цикл хламидий.

**Антигенная структура хламидий.** Хламидии обладают родоспецифическими, видоспецифическими и типоспецифическими антигенами. **Родоспецифический антиген** представляет собой поверхностный ЛПС клеточной стенки, термостабильный. Он является общим для всех видов хламидий. Этот антиген используется при диагностике заболеваний иммунофлюоресцентными методами со специфическими антителами.

**Видоспецифические антигены** представляют собой белки клеточной стенки, термолабильные. У разных видов хламидий они различные.

**Типоспецифические антигены** также являются белками. Они различны у разных сероваров хламидий. По их наличию у *C. trachomatis* выделяют 15 сероваров (возбудители трахомы – серовары А, В, Ва, С; возбудители урогенитального хламидиоза – серовары D, E, F, G, H, I, J, K; возбудитель венерической лимфогранулемы – серовары L1, L2, L3); у *C. psittaci* выделяют 13 сероваров; у *C. pneumoniae* выделяют 4 серовара (TWAR, AR, KA, CWL).

Белки MOMP и OMP2 содержат родо-, видо- и типоспецифические эпитопы, что обуславливает возможность появления перекрестных реакций.

**Резистентность хламидий.** Хламидии чувствительны к действию ультрафиолетового излучения, повышенной температуре, высушиванию. При температуре 37°C хламидии теряют инфекционность в течение 24-36 часов, при температуре 70°C - через 10-15 минут. Хламидии высокочувствительны к 70% этанолу, 0,5% фенолу, 2% лизолу, 2% хлорамину.

Специфическое строение клеточной стенки хламидий (отсутствие пептидогликанового слоя) обуславливает их резистентность к бета-лактамам (пенициллинам и цефалоспорином).

**Факторами патогенности хламидий** являются следующие компоненты клеток и особенности их жизнедеятельности.

**Эндотоксин хламидий** – липополисахарид (ЛПС) клеточной стенки, выделяющийся при разрушении хламидий.

**Экзотоксины** – термолабильные субстанции, блокирующие дегрануляцию макрофагов после фагоцитоза (незавершенный фагоцитоз).

**Способность элементарных тельц** длительное время сохраняться в межклеточном пространстве нефагоцитированными. С этим связана сложность антибиотикотерапии хламидиозов, так как элементарные тельца, находясь во внеклеточном состоянии, остаются не чувствительными к антибиотикам.

**Способность хламидий к персистенции** в результате трансформации в aberrantную (дормантную) форму.

**Система секреции 3 типа**, препятствующая слиянию фагосомы с лизосомой клетки хозяина.

**Патогенез.** Хламидии обладают эпителиотропностью, поэтому поражают эпителий различных органов. Массовое размножение хламидий в эпителиальных клетках приводит к разрушению слоя эпителия и образованию язв, которые заживают с формированием рубцов и спаек. После гибели большого количества эпителиальных клеток возбудитель может попадать в кровь, паренхиматозные органы и фиксироваться в лимфоидной ткани.

У многих больных инфекционный процесс приобретает первично латентный характер.

Хламидии способны проникать в полость матки и маточные трубы, прикрепляясь к сперматозоидам (рисунок 11.13).

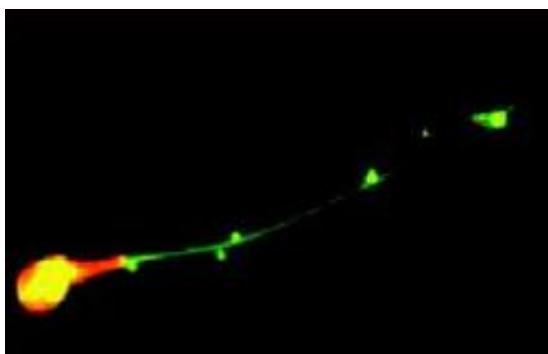


Рисунок 11.13 – Элементарные тельца хламидий (ярко-зеленые) в сперме человека. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

*C. trachomatis* вызывает у человека трахому и паратрахому (серотипы А, В, Ва, С), урогенитальный хламидиоз, пневмонию новорожденных (серотипы D, Е, F, G, H, I, J, K), венерическую лимфогранулему (серотипы L1, L2, L3).

*C. pneumoniae* вызывает у человека заболевания верхних дыхательных путей (ОРЗ) и легких (бронхопневмонию).

*C. psittaci* является у человека возбудителем пситтакоза (орнитоза).

**Диагностика хламидиозов.** При диагностике хламидиозов чаще всего используют цитоскопические методы, иммуноморфологические методы, методы иммуноферментного анализа и метод полимеразной цепной реакции.

Материалом для исследования служат выделения и соскобы из уретры у мужчин, из уретры и цервикального канала у женщин при урогенитальном хламидиозе, соскобы с конъюнктивы у больных трахомой, мокрота при хламидийной пневмонии и другие выделения.

**Цитоскопические методы** направлены на обнаружение цитоплазматических включений. Исследуемый материал наносят на предметное стекло, высушивают, фиксируют и окрашивают. Наиболее распространенный метод окраски – по Романовскому-Гимзе. При этом цитоплазма клеток окрашивается в голубой цвет, ядра клеток – в фиолетово-синий цвет, а цитоплазматические включения хламидий определяются в виде темно-синих (на стадии элементарных телец) или розовых (на стадии ретикулярных телец) микроколоний.

**Иммуноморфологические методы** направлены на обнаружение антигенных субстанций хламидий в исследуемом материале. При этом антитела диагностической антихламидийной сыворотки соединены с какой-либо меткой – люминесцирующей (ФИТЦ-антитела) или ферментной (энзим-меченые антитела). К иммуноморфологическим методам в первую очередь относятся метод прямой иммунофлюоресценции и метод непрямой иммунофлюоресценции.

**Метод прямой иммунофлюоресценции** (ПИФ-метод) предусматривает прямое выявление антигенов хламидий. Исследуемый материал обрабатывают люминесцирующей сывороткой, содержащей ФИТЦ-меченые моноклональные антитела. При люминесцентной микроскопии включения хламидий определяются в виде зеленой или желто-зеленой флюоресценции на коричнево-оранжевом фоне цитоплазмы клеток. Включения могут иметь зернистую или гомогенную структуру. Для проведения этого метода различные фирмы выпускают диагностические наборы (рисунок 11.14).



Рисунок 11.14 – Диагностический набор для выявления хламидийных антигенов методом прямой иммунофлюоресценции. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В частности, при использовании ХламиСлайда готовят мазок-отпечаток, высушивают и фиксируют его. На приготовленный мазок наносят препарат “ХламиСлайд” с ФИТЦ-мечеными хламидийными антителами и после экспозиции микроскопируют с помощью люминесцентного микроскопа. Результат считается положительным, если в мазке регистрируется ярко-зеленое свечение телец хламидий, расположенных внеклеточно или внутриклеточно. Эпителиальные клетки окрашиваются в оранжево-красный цвет. При отрицательном результате специфическое свечение отсутствует (рисунок 11.15).

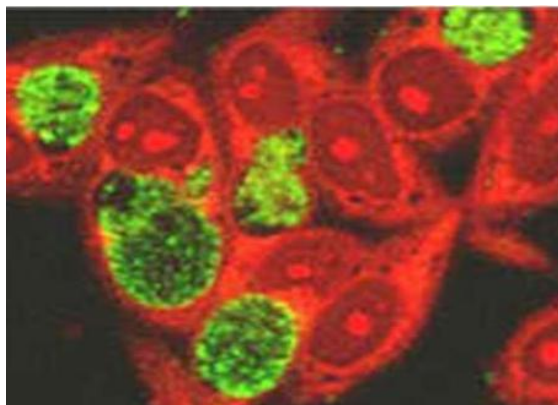


Рисунок 11.15 – *C. trachomatis* в пораженных клетках. ПИФ-метод. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Реагенты одних фирм представляют собой ФИТЦ-меченые моноклональные антитела к основному белку наружной мембраны хламидий (МOMP), а реагенты других фирм - моноклональные антитела к ЛПС хламидий. В России также выпускаются диагностические наборы, содержащие моноклональные антитела к ЛПС хламидий и моноклональные антитела к белковым антигенам хламидий.

**Метод непрямой иммунофлюоресценции** предусматривает обработку препаратов из клинических проб вначале антихламидийными антителами, а затем соответствующей антительной сывороткой. Антитела второй сыворотки конъюгируют с ФИТЦ.

**Метод иммуноферментного анализа (ИФА)** предназначен в основном для определения противохламидийных антител разных классов в сыворотке крови пациентов. Для этого используют тест-системы, в которых твердая фаза покрыта антигенами хламидий. Визуально положительные пробы приобретают желто-оранжевое окрашивание. Интенсивность окраски пропорциональна количеству антигена. Точный результат исследования определяют с помощью спектрофотометра. Для проведения ИФА используются тест-системы как отечественных, так и зарубежных производителей (рисунок 11.16).



Рисунок 11.16 – Тест-системы для ИФА на хламидиоз. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Некоторые производители предлагают ИФА-тест-системы для определения хламидийного антигена в исследуемом материале.



В ИФА и ПИФ-тестах в качестве антигена используется фрагмент липополисахаридного антигена, структура которого одинакова у всех видов семейства *Chlamydiaceae*. Поэтому применение указанных тестов не позволяет устанавливать вид хламидий, вызвавших заболевание. Видовая идентификация хламидий возможна только при использовании методов, основанных на обнаружении генома возбудителя (ПЦР).

**Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)** является предпочтительным в диагностике хламидийной инфекции. Метод основан на выделении специфической последовательности ДНК возбудителя в исследуемом материале. В разных тест-системах в качестве детектируемых используют нуклеотидную последовательность видоспецифической криптической плазмиды, последовательность генов, детерминирующих синтез главного белка клеточной мембраны хламидий, рибосомальные гены.

**Выделение хламидий в культуре клеток** (культуральный метод) является “золотым стандартом” в диагностике хламидиозов. Он позволяет определять не только наличие возбудителя, но и его чувствительность к антибиотикам. Однако этот метод является дорогим, трудоемким и используется в основном в научных исследованиях и для сравнительной оценки специфичности и чувствительности других методов диагностики хламидиозов.

Для использования в “домашних условиях” рекомендуются **Экспресс-тесты** или **Мини-тесты** (рисунок 11.17). Однако точность этих тестов не превышает 20%.



Рисунок 11.17 – Мини-тесты для диагностики хламидиоза. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Лечение хламидиозов.** При лечении хламидийной инфекции применяют 3 основных группы антибиотиков: тетрациклины (тетрациклин, доксициклин), макролиды (эритромицин, азитромицин, спиромицин, рокситромицин, кларитромицин, джозамицин, мидекамицин) и фторхинолоны (офлоксацин). Сульфаниламиды, пенициллины и цефалоспорины обладают низкой активностью и могут способствовать персистенции возбудителя.

## Трахома

**Трахома** (греч. *trachys* - шероховатый, неровный) - хроническое заболевание, характеризующееся поражением конъюнктивы и роговицы глаз, приводящее к

слепоте. При трахоме поверхность конъюнктивы выглядит бугристой в результате гранулематозного воспаления (рисунок 11.18).



Рисунок 11.18 – Проявления трахомы. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Источник инфекции** – больной человек. **Механизм передачи** – контактный. **Путь передачи** – контактно-бытовой, через предметы общего пользования (в частности, полотенца). Заболевание является эндемичным для стран Азии, Африки, Центральной и Южной Америки. В России встречаются завозные случаи трахомы.

**Клиника.** В месте входных ворот инфекции развивается фолликулярный кератоконъюнктивит, при котором в субэпителиальной ткани глаза появляются лимфоидные фолликулы (трахоматозные гранулемы). Внешне конъюнктура больного глаза усеяна тесно прилегающими друг к другу зернышками. В течение нескольких лет заболевание прогрессирует и заканчивается образованием рубцовой ткани на месте поражения.

**Иммунитет** после перенесенного заболевания не развивается.

**Диагностика** заключается в исследовании соскоба с конъюнктивы. Полученный материал окрашивают по Романовскому-Гимзе. При микроскопическом исследовании около ядра клетки обнаруживают цитоплазматические включения фиолетового цвета - тельца Гальберштедтера-Провачека (рисунок 11.19).

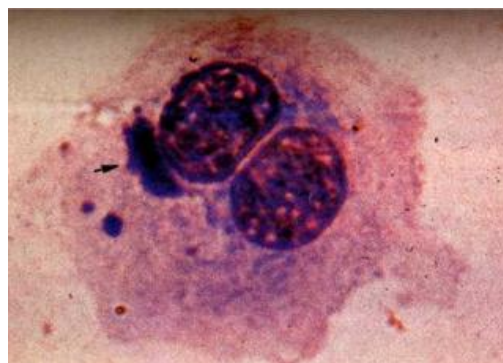


Рисунок 11.19 - Цитоплазматические включения - тельца Гальберштедтера-Провачека при трахоме (указано стрелкой). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Лечение.** Антибиотики (тетрациклин), иммуностимуляторы (интерферон). **Специфическая профилактика** не разработана.

## Урогенитальный хламидиоз

**Урогенитальный хламидиоз** (негонококковый уретрит) – острое или хроническое инфекционное заболевание, передающееся половым путем, которое характеризуется поражением мочеполового тракта, малосимптомным течением и развитием бесплодия.

**Источник инфекции** - больной человек (в том числе при бессимптомном течении). **Механизм заражения** – контактный. **Пути передачи** – половой, контактно-бытовой (через различные предметы гигиены - мочалки, белье и т. д.). Возможно заражение ребенка от больной матери при прохождении через родовые пути, а также трансплацентарная передача возбудителя в процессе внутриутробного развития. **Входные ворота** инфекции - слизистые оболочки мочеполовых органов. Встречаются случаи попадания возбудителя на слизистую оболочку глаз при купании, в результате чего развивается хламидийный конъюнктивит (“хламидиоз бассейнов”).

**Патогенез и клиника.** Инкубационный период при урогенитальном хламидиозе составляет 3-30 дней. Первичная инфекция характеризуется поражением клеток цилиндрического эпителия. В результате этого развивается серозно-гнойное воспаление, которое проявляется зудом, выделениями, болью при мочеиспускании. Затем развивается восходящая инфекция. У многих больных отмечается бессимптомное течение заболевания.

У женщин урогенитальный хламидиоз клинически проявляется цервицитом, уретритом, эндометритом, сальпингитом. Отмечаются такие симптомы как слизистые или слизисто-гнойные выделения из влагалища, зуд и жжение, боли внизу живота. В 70-80% случаев хламидийная инфекция у женщин протекает бессимптомно.

У мужчин первично инфицируется уретра. Клинически урогенитальный хламидиоз у мужчин проявляется скудными стекловидными выделениями из мочеиспускательного канала, зудом, жжением при мочеиспускании (рисунок 11.20).



а

б

Рисунок 11.20 – Внешний вид выделений при урогенитальном хламидиозе у мужчин из уретры (а) и у женщин из цервикального канала (б). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Урогенитальный хламидиоз опасен такими **осложнениями** как воспалительные заболевания органов малого таза, внематочная беременность, бесплодие, стриктура уретры, спаечная болезнь кишечника, перитонит, орхоэпидидимит. Одним из тяжелых осложнений урогенитального хламидиоза

является **болезнь Рейтера** (уретроокулосиноввиальный синдром, болезнь Фиссенжи-Леруа-Рейтера – Fiessinger-Leroy-Reiter). Это заболевание наблюдается у больных хламидиозом в 2-4 % случаев. Болезнь Рейтера характеризуется триадой признаков: хроническим уретритом, хроническим артритом и хроническим конъюнктивитом. Заболевание развивается у людей молодого возраста, преимущественно у мужчин (рисунок 11.21).

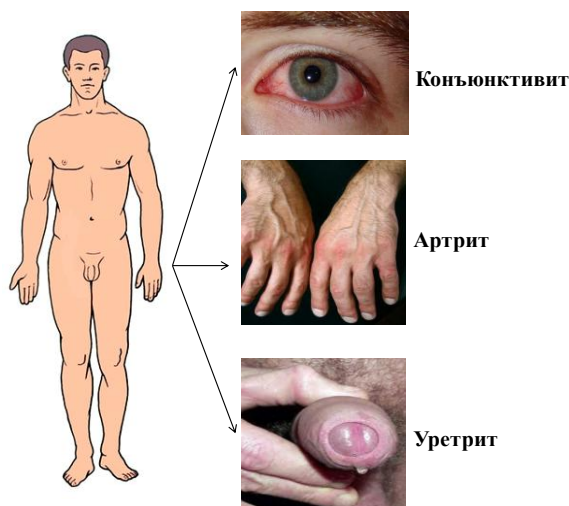


Рисунок 11.21 – Симптомы болезни Рейтера. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

**Диагностика урогенитального хламидиоза.** При диагностике урогенитального хламидиоза используют микроскопический, серологический, культуральный и молекулярно-биологический методы. Материалом для исследования служит соскоб со слизистых оболочек уретры или шейки матки или выделения из половых органов.

При микроскопии мазка, окрашенного по Романовскому-Гимзе, выявляют внутриклеточные включения, расположенные над ядром эпителиальных клеток - так называемая шапка Мономаха (рисунок 11.22).



Рисунок 11.22 – Внутриклеточное включение хламидий.

При использовании **люминесцентной микроскопии** мазки обрабатывают люминесцирующей иммунной сывороткой, содержащей меченные флюорохромом антитела к хламидиям. При микроскопии в УФ-лучах в цитоплазме зараженных

клеток наблюдаются внутриклеточные включения ярко-зеленого цвета (рисунок 11.23).

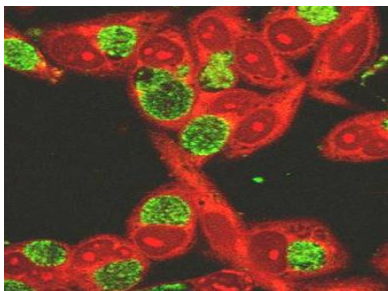


Рисунок 11.23 - Хламидии в эндоцервикальных клетках, люминесцентная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральный метод** диагностики предусматривает заражение клеточных культур MacCoу, HeLa или куриных эмбрионов в желточный мешок. При наличии цитопатического эффекта клеточные культуры и мазки-отпечатки из оболочек желточного мешка подвергают микроскопическому исследованию (окраска по Романовскому-Гимзе или РИФ).

**Серологический метод.** Для выявления антител к *C. trachomatis* в сыворотке крови используют иммуноферментный анализ. Выявление антител класса IgM может служить доказательством недавнего инфицирования. При хронической инфекции в сыворотке крови обнаруживаются антитела класса IgG.

**Молекулярно-биологический метод - ПЦР.** Материалом для исследования служит соскоб эпителия уретры или шейки матки. С помощью ПЦР определяют наличие в исследуемом материале ДНК хламидий. Чувствительность и специфичность ПЦР составляет около 100%.

**Лечение урогенитального хламидиоза** - антибиотики (тетрациклины, макролиды, хинолоны). Продолжительность курса лечения – не менее 7 дней. Через 3-4 недели после окончания курса лечения обязательно проводят повторный анализ на наличие возбудителя.

**Профилактика урогенитального хламидиоза.** Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика – соблюдение правил личной гигиены.

### Хламидиозная респираторная инфекция

*C. pneumoniae* вызывает острые и хронические инфекции верхних дыхательных путей и бронхопневмонию. В 1965 г. на Тайване от ребенка с трахомой был выделен атипичный штамм хламидий. В 1983 г. аналогичный штамм был выделен в США от больного с фарингитом. Поэтому некоторое время *C. pneumoniae* была известна как возбудитель тайваньской острой респираторной инфекции – TWAR (TW – Taiwan, AR – acute respiratory).

**Эпидемиология. Источник инфекции** - больной человек, в том числе с бессимптомной инфекцией. **Механизм инфицирования** – аэрогенный. **Путь заражения** - воздушно-капельный. Заболевание распространено повсеместно.

**Патогенез.** Хламидии попадают в легкие через верхние дыхательные пути. Возбудитель обладает тропизмом к эпителию дыхательных путей. Элементарные тельца имеют копьевидную форму. Заостренным концом они прикрепляются к эпителиальным клеткам и внедряются в них. Возбудитель размножается в клетках и вызывает их гибель.

**Клиника.** Начало заболевания вялое. Симптомы - повышение температуры, синусит. Возможно бессимптомное течение заболевания.

**Диагностика.** Основной метод диагностики - обнаружение специфических антител.

**Лечение.** Антибиотики (тетрациклины, макролиды).

**Профилактика** - неспецифическая.

## Пситтакоз

*C. psittaci* является возбудителем орнитоза (пситтакоза) – острого инфекционного заболевания, которое характеризуется поражением легких, нервной системы и паренхиматозных органов.

Заболевание описано в 1876 г. Ф. Юргенсенем под названием пситтакоз или “попугайная болезнь” (лат. *psittacus* – попугай). В 1930 г. С. Бедсоном возбудитель был выделен от больных людей. Позднее возбудитель был выделен от других видов птиц, и заболевание получило название орнитоз (греч. *ornis* – птица).

**Эпидемиология.** **Источник** инфекции и резервуар – дикие и домашние птицы, крупный и мелкий рогатый скот. Во внешней среде возбудитель сохраняется 2-3 недели. **Механизм** заражения – аэрогенный, редко – фекально-оральный. **Пути передачи** возбудителя – воздушно-капельный и воздушно-пылевой, редко – алиментарный (употребление мяса птицы, недостаточно проваренного). Заболевание часто носит профессиональный характер (на птицефабриках, животноводческих фермах, мясокомбинатах). Механизм заражения человека орнитозом представлен на рисунке 11.24.

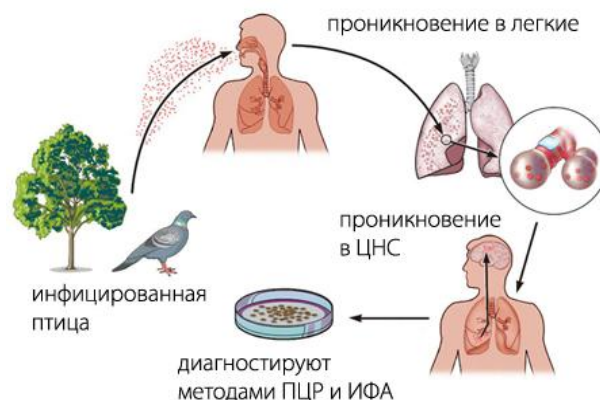


Рисунок 11.24 - Механизм заражения человека орнитозом. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Больные орнитозом люди опасности для окружающих не представляют.

**Патогенез.** Возбудитель орнитоза обладает эпителиотропностью. Попадая в верхние дыхательные пути, он проникает в клетки эпителия, размножается и разрушает клетки. Возникает воспаление. После этого хламидии проникают в кровь (**бактериемия**), разносятся по организму, поражают паренхиматозные органы (печень, селезенка), центральную нервную и сердечно-сосудистую системы.

**Клиника.** Инкубационный период – 6-10 дней. Начало заболевания острое: наблюдается повышение температуры тела, интоксикация. Развивается пневмония с геморрагическими проявлениями. Продолжительность заболевания около месяца. Возможно развитие хронической формы.

**Диагностика.** Материал для исследования – кровь, мокрота. Методы исследования: биологический (культивирование в желточном мешке куриного эмбриона, в культуре клеток, в организме белых мышей), серологический (РСК, РПГА, ИФА), внутрикожная аллергическая проба.

**Лечение.** Антибиотики (тетрациклины, макролиды).

**Профилактика** – неспецифическая (борьба с орнитозом птиц, регулирование численности голубей, ограничение контакта с ними).

### Венерическая лимфогранулема

**Венерическая лимфогранулема** (четвертая венерическая болезнь, паховая лимфогранулема, болезнь Никла-Фавра) - заболевание, передающееся половым путем, которое характеризуется поражением половых органов и регионарных лимфоузлов. Возбудители венерической лимфогранулемы (*C. trachomatis* серовары L1-L3) отличаются особой инвазивностью и способностью поражать лимфатическую систему.

**Эпидемиология.** **Источник инфекции** – больной человек. **Механизм заражения** – контактный. **Путь передачи** – половой. Встречается преимущественно в странах с тропическим и субтропическим климатом (Юго-Восточная Азия, Центральная и Южная Америка). Чаще встречается у мужчин.

**Патогенез и клиника.** Входные ворота – слизистые оболочки половых органов. Возбудитель обладает эпителиотропностью и лимфотропностью. После инкубационного периода (3-30 дней) появляются признаки поражения наружных половых органов – папулы, эрозии, язвочки. Затем возбудитель проникает в регионарные лимфоузлы и размножается в них, что приводит к формированию плотных опухолевидных образований – бубонов. Чаще всего поражаются паховые лимфоузлы (рисунок 11.25).

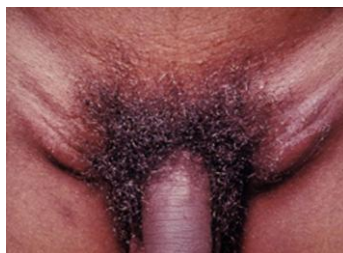


Рисунок 11.25 – Клинические проявления венерической лимфогранулемы.  
Займствовано из Интернет-ресурсов.

В последующем бубоны вскрываются и образуются долго незаживающие фистулы.

**Иммунитет.** После перенесенного заболевания развивается стойкий иммунитет.

**Диагностика.** Материал для исследования – гной из бубонов, биоптат пораженных лимфоузлов, сыворотка крови. Проводят бактериоскопическое, биологическое (заражение культур клеток, куриных эмбрионов), серологическое (РСК) исследования и аллергические пробы (внутрикожная проба – реакция Фрея).

**Профилактика** неспецифическая.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение хламидий.
2. Морфологические свойства хламидий.
3. Особенности культивирования и размножения хламидий.
4. Антигенная структура хламидий.
5. Заболевания, вызываемые у человека хламидиями.
6. Диагностика хламидиозов.
7. Профилактика и лечение хламидиозов.

### Тренировочные тесты

1. Хламидии представляют собой (один правильный ответ):
  - 1.1 грамположительные палочки
  - 1.2 грамположительные кокки
  - 1.3 вирусы
  - 1.4 грамотрицательные бактерии
  - 1.5 простейшие
2. Репродукция хламидий происходит (несколько правильных ответов):
  - 2.1 во внешней среде
  - 2.2 в цитоплазме эпителиальных клеток
  - 2.3 на питательных средах
  - 2.4 в куриных эмбрионах
  - 2.5 в культуре клеток
3. Для культивирования хламидий используют (несколько правильных ответов):
  - 3.1 жидкие питательные среды
  - 3.2 плотные питательные среды
  - 3.3 культуру клеток
  - 3.4 желточный мешок куриных эмбрионов
  - 3.5 организм членистоногих
4. Патогенными для человека хламидиями являются (несколько правильных ответов):
  - 4.1 *C. suis*



- 4.2 *C. trachomatis*
- 4.3 *C. pneumoniae*
- 4.4 *C. psittaci*
- 4.5 *C. pecorum*

5. Хламидии – возбудители зоонозных инфекций (один правильный ответ):

- 5.1 *C. trachomatis* серотипы А-С
- 5.2 *C. pneumoniae*
- 5.3 *C. psittaci*
- 5.4 *C. trachomatis* серотипы D-K
- 5.5 *C. trachomatis* серотипы L1-L3

6. В процессе жизненного цикла хламидии могут формировать (несколько правильных ответов):

- 6.1 споры
- 6.2 ретикулярные тельца
- 6.3 элементарные тельца
- 6.4 аберрантные формы
- 6.5 цисты покоя

7. Инфекционность хламидий обеспечивают (один правильный ответ):

- 7.1 ретикулярные тельца
- 7.2 элементарные тельца
- 7.3 аберрантные формы
- 7.4 инициальные тельца
- 7.5 тельца Бабеша-Негри

8. Для хламидий характерны следующие антигены (несколько правильных ответов):

- 8.1 родоспецифические
- 8.2 К-антигены
- 8.3 типоспецифические
- 8.4 видоспецифические
- 8.5 Н-антигены

9. Какую особенность клеток отражает термин “хламидия” (один правильный ответ):

- 9.1 наличие капсулы
- 9.2 наличие оболочки вокруг внутриклеточной микроколонии
- 9.3 особенности элементарных телец
- 9.4 особенности ретикулярных телец
- 9.5 особенности аберрантных форм

10. Особенности репродукции хламидий являются (несколько правильных ответов):

- 10.1 деление фрагментацией
- 10.2 бинарное деление

- 10.3 зависимость от энергетического метаболизма клеток
- 10.4 деление почкованием
- 10.5 смена фаз: элементарное тельце – ретикулярное тельце

11. В лабораторной диагностике хламидиозов используют (несколько правильных ответов):

- 11.1 выделение чистой культуры хламидий
- 11.2 ПЦР
- 11.3 ИФА
- 11.4 окраску по Романовскому-Гимзе
- 11.5 темнопольную микроскопию

12. Для обнаружения хламидий внутри клеток используют (несколько правильных ответов):

- 12.1 темнопольную микроскопию
- 12.2 окраску по Граму
- 12.3 иммунофлюоресцентный метод
- 12.4 окраску по Романовскому-Гимзе
- 12.5 импрегнацию серебром

13. Для хламидий характерно (один правильный ответ):

- 13.1 спорообразование
- 13.2 капсулообразование
- 13.3 облигатный внутриклеточный паразитизм
- 13.4 подвижность
- 13.5 тропность к нервной ткани

14. Для хламидий характерно (один правильный ответ):

- 14.1 наличие капсулы
- 14.2 отсутствие пептидогликана
- 14.3 образование спор
- 14.4 отсутствие цитоплазматической мембраны
- 14.5 наличие жгутиков

15. Для хламидий характерно (несколько правильных ответов):

- 15.1 устойчивость к тетрациклинам
- 15.2 устойчивость к пенициллинам
- 15.3 облигатный внутриклеточный паразитизм
- 15.4 размножение на мембранах клетки
- 15.5 размножение в цитоплазме клеток

16. Для элементарных телец хламидий характерно (несколько правильных ответов):

- 16.1 толстая клеточная стенка
- 16.2 тонкая клеточная стенка
- 16.3 метаболическая активность
- 16.4 метаболическая инертность

16.5 способность к делению

17. Для ретикулярных телец хламидий характерно (несколько правильных ответов):

- 17.1 тонкая клеточная стенка
- 17.2 метаболическая активность
- 17.3 метаболическая инертность
- 17.4 способность к бинарному делению
- 17.5 толстая клеточная стенка

18. Для хламидийной инфекции характерно (несколько правильных ответов):

- 18.1 наличие напряженного пожизненного иммунитета
- 18.2 возможность персистенции возбудителя
- 18.3 наличие специфической профилактики
- 18.4 возможность бессимптомного течения
- 18.5 полиорганность поражения

19. Трахому вызывают (один правильный ответ):

- 19.1 серовары А-С *C. trachomatis*
- 19.2 серовары D-К *C. trachomatis*
- 19.3 серовары L1, L2, L2a и L3 *C. trachomatis*
- 19.4 *C. pneumoniae*
- 19.5 *C. psittaci*

20. Урогенитальный хламидиоз вызывают (один правильный ответ):

- 20.1 серовары А-С *C. trachomatis*
- 20.2 серовары D-К *C. trachomatis*
- 20.3 серовары L1, L2, L2a и L3 *C. trachomatis*
- 20.4 *C. pneumoniae*
- 2-5 *C. psittaci*

21. Венерическую лимфогранулему вызывают (один правильный ответ):

- 21.1 серовары А-С *C. trachomatis*
- 21.2 серовары D-К *C. trachomatis*
- 21.3 серовары L1, L2, L2a и L3 *C. trachomatis*
- 21.4 *C. pneumoniae*
- 21.5 *C. psittaci*

Правильные ответы: 1.4; 2.2, 2.4, 2.5; 3.3, 3.4; 4.2, 4.3, 4.4; 5.3; 6.2, 6.3, 6.4; 7.2; 8.1, 8.3, 8.4; 9.2; 10.2, 10.3, 10.5; 11.2, 11.3, 11.4; 12.3, 12.4; 13.3; 14.2; 15.2, 15.3, 15.5; 16.1, 16.4; 17.1, 17.2, 17.4; 18.2, 18.4; 19.1; 20.2; 21.3.

## 12. Микоплазмы

**Общая характеристика микоплазм.** Микоплазмы представляют собой бактерии, не имеющие клеточной стенки. Они были описаны при изучении плевропневмонии у коров, поэтому первоначально получили обозначение PPLO – pleuropneumonia-like organisms, плевропневмониеподобные микроорганизмы. Микоплазмы паразитируют на человеке, животных, растениях, обитают в почве и воде. У человека они вызывают микоплазмозы – воспалительные заболевания органов дыхания, мочеполовой системы, суставов. Микоплазмозы являются антропонозными заболеваниями.

**Таксономическое положение.** Микоплазмы относятся к типу (филуму) *Tenericutes* (бактериям без ригидной клеточной стенки), классу *Mollicutes* (мягкокожие), порядку *Mycoplasmatales*, семейству *Mycoplasmataceae*. Семейство *Mycoplasmataceae* включает два рода: *Mycoplasma* и *Ureaplasma*.

**Род *Mycoplasma*** объединяет более 100 видов, среди которых патогенными и условно-патогенными для человека является 16 видов, в том числе *M. pneumoniae*, *M. fermentans*, *M. hominis*, *M. genitalium*. *M. pneumoniae* открыта в 1944 г. М. Eaton и долгое время назывался агентом Итона.

**Род *Ureaplasma*** включает 7 видов (*U. canigenitalium*, *U. cati*, *U. diversum*, *U. fellinum*, *U. gallorale*, *U. urealyticum* и *U. parvum*). Клинически важными считаются *U. parvum* и *U. urealyticum*.

**Морфологические и тинкториальные свойства.** Микоплазмы имеют особое строение. У них отсутствует ригидная клеточная стенка, так как они не имеют собственных ферментных систем, участвующих в синтезе компонентов клеточной стенки. Снаружи микоплазмы имеют трехслойную липопротеиновую цитоплазматическую мембрану, содержащую холестерин, концентрация которого может достигать 40% от количества всех мембранных липидов. Внутри микоплазмы содержат ДНК, рибосомы, РНК (рисунок 12.1).

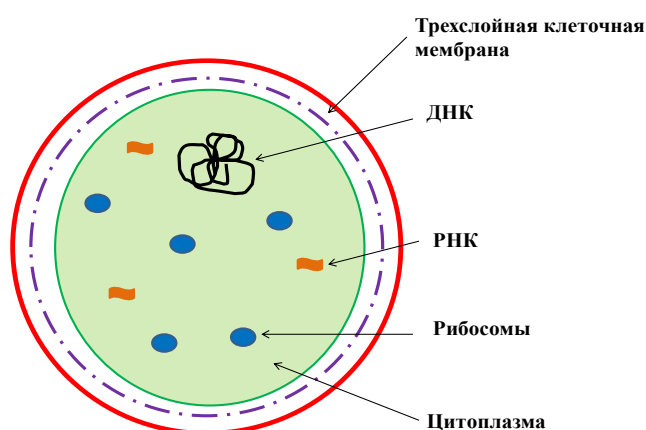


Рисунок 12.1 – Схематическое строение клетки микоплазм.

Отсутствие ригидной клеточной стенки определяет осмотическую чувствительность и пластичность микоплазм (разнообразие размеров и форм микробных клеток), их способность проходить через поры с диаметром 0,22 мкм.

Отсутствие клеточной стенки сближает микоплазмы с L-формами бактерий. Цитоплазматическая мембрана микоплазм содержит большое количество липидов, что сближает ее с эукариотами и отличает от других прокариотов. В бактериальной культуре наблюдаются клетки палочковидной, кокковидной, нитевидной, неправильной формы (рисунок 12.2).

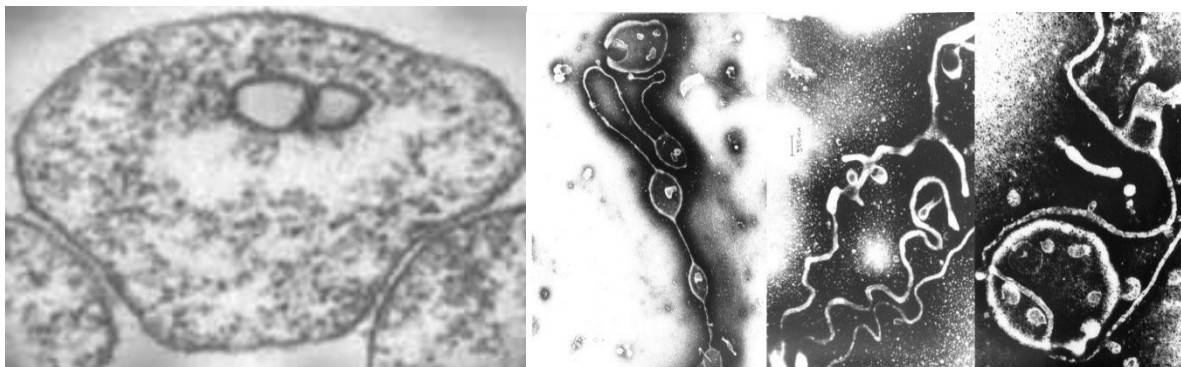
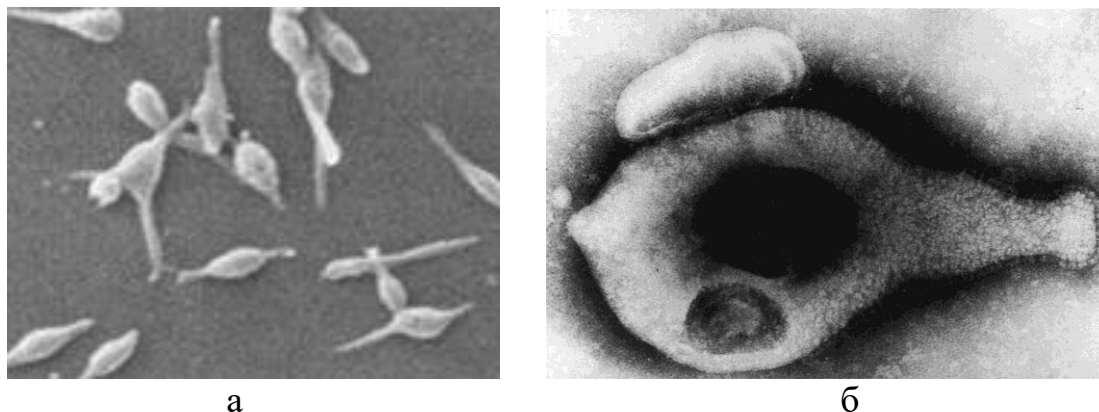


Рисунок 12.2 – Форма микоплазм. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Многие виды микоплазм имеют микрокапсулу, представленную углеводным полимером.

В популяциях *M. pneumoniae* и *M. genitalium* примерно 90% клеток являются грушевидными или колбовидными (рисунок 12.3), остальные представлены неправильными и ветвящимися формами.



а

б

Рисунок 12.3 – *M. pneumoniae* (а) и *M. genitalium* (б), электронная микроскопия. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Узкий (лидирующий) конец грушевидных клеток представляет собой “органеллу прикрепления”. Она содержит специализированные белки (в частности, P1, P30, P40, P65, P90, HMW1 - HMW3), выполняющие функцию адгезии.

P1-адгезин имеет молекулярную массу 168 кДа. Он участвует в прикреплении микоплазм к клеткам эпителия. Анти-P1-антитела блокируют прикрепление микоплазм к клеткам. Белки группы HMW1 - HMW3 контролируют распределение белка P1 на поверхности микоплазмы и участвуют в поддержании формы клеток.

Отмечена определенная последовательность прикрепления белков, локализуемых на лидирующем конце клетки: сначала прикрепляется белок HMW1, затем – HMW3, P1, P30, P90, P40 и P65 (рисунок 12.4).

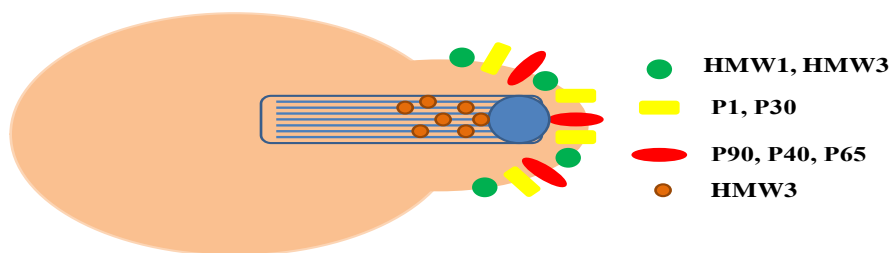


Рисунок 12.4 – Распределение белков на лидирующем конце микоплазм.

У клеток *M. pneumoniae* выявлена внутриклеточная сеть филаментов и особенная терминальная структура (электронно-плотная сердцевина с терминальной кнопкой), которую рассматривают как цитоскелетоподобную структуру (рисунок 12.5).

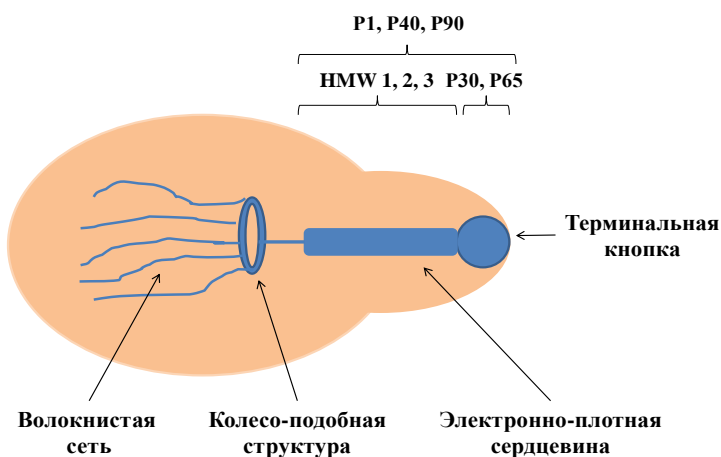


Рисунок 12.5 – Внутреннее строение *M. pneumoniae*.

Именно с помощью лидирующего конца микоплазмы внедряются в плазматическую мембрану эукариотических клеток и закрепляются в ней. Это обеспечивает доступ микоплазм к продуктам питания клеток и способствует их повреждению.

В начале клеточного деления рядом с “органеллой прикрепления” формируется новая, которая затем мигрирует к противоположному полюсу клетки. Только после этого начинается процесс деления микоплазмы.

В культуре одного и того же вида микоплазм можно обнаружить клетки разной формы: крупные и мелкие шаровидные, палочковидные, нитевидные, ветвящиеся. Способность микоплазм образовывать мицелиальные формы послужило основанием для их названия (лат. *tusos* – гриб). Размеры клеток могут варьировать в пределах от 0,1 до 1,5 мкм. Микоплазмы являются самыми мелкими бактериями. Микоплазмы относятся к группе грамотрицательных бактерий. Однако окраску по Граму они воспринимают плохо. Микоплазмы лучше окрашиваются по Романовскому-Гимзе (рисунок 12.6).

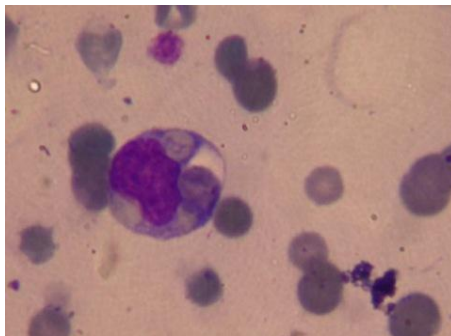


Рисунок 12.6 – Микоплазмы, окраска по Романовскому-Гимзе. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Культуральные свойства.** Размножение микоплазм может происходить путем бинарного деления, фрагментации, почкования.

Микоплазмы являются факультативными анаэробами, обладают слабой ферментативной активностью, имеют ограниченные биосинтетические возможности, чрезвычайно требовательны к питательным средам и условиям культивирования. Оптимальная температура культивирования 36-37°C. Время выращивания - 5-7 дней. В состав питательных сред для культивирования микоплазм входят аминокислоты, холестерин, жирные кислоты, фосфолипиды, пурины, пиримидины, глюкоза, сыворотка крови. Основным источником энергии для микоплазм является глюкоза или аминокислоты (аргинин). Для выращивания уреоплазм в среды добавляют мочевины. Для подавления посторонней микрофлоры используют пенициллин и его аналоги (при культивировании микоплазм) или линкомицин (при культивировании уреоплазм). Большинство микоплазм хорошо растут в атмосфере, состоящей из 95% азота и 5% углекислого газа. На плотных питательных средах через 2-3 суток и более микоплазмы образуют очень мелкие растущие в среду колонии (0,1-0,3 мм) с приподнятым центром, похожие на яичницу-глазунью (рисунок 12.7).

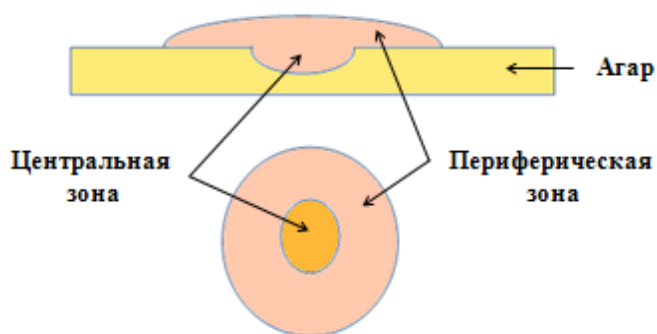
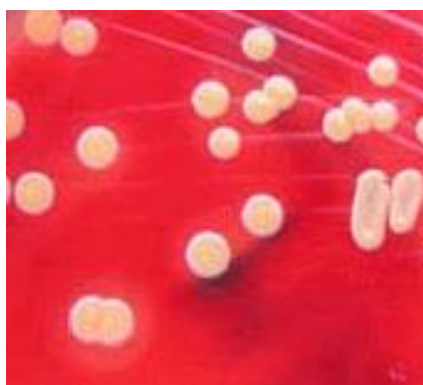


Рисунок 12.7 – Колонии микоплазм на плотной питательной среде. Заимствовано и адаптировано из Интернет-ресурсов.

При размножении на питательных средах биосинтез нуклеиновых кислот происходит путем извлечения микоплазмами нуклеотидов и нуклеозидов из среды. При недостатке предшественников нуклеиновых кислот репликация нуклеоидов ингибируется и образуются мини-клетки, не содержащие ДНК.

Все представители рода микоплазм стеролозависимые и нуждаются для роста в экзогенном холестерине, не гидролизуют мочевины.

Уреаплазмы также являются стеролозависимыми, но гидролизуют мочевины.

В толще полужидкого агара микоплазмы и уреаплазмы растут по ходу укола в виде облачка, заметного в проходящем свете.

**Антигенная структура.** Микоплазмы характеризуются выраженным антигенным полиморфизмом. Среди микоплазм выделяют различные серовары. Антигенами микоплазм являются белки-адгезины, фосфолипиды, гликолипиды, полисахаридные компоненты. Адгезины микоплазм имеют высокую гомологию к структурным белкам млекопитающих, что позволяет им уклоняться от иммунной системы хозяина (антигенная мимикрия).

Известно 16 серотипов *U. urealyticum*, разделенных на серогруппы А и В. Часто от больных выделяют смешанные культуры различных серотипов.

**Роль микоплазм в патологии.** У человека наиболее часто выделяют следующие виды микоплазм и уреаплазм, обладающих тропностью к клеткам органов урогенитальной системы (так называемые генитальные микоплазмы): *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum*, *M. primatum*, *M. genitalium*, *M. spermophilum* и *M. penetrans*. Наиболее часто в клиническом материале, полученном из органов урогенитальной системы, выявляют *M. hominis* и *U. urealyticum*.

*M. hominis* и уреаплазмы обнаруживаются в урогенитальном тракте практически здоровых мужчин и женщин в 30-40% случаев. Эти виды микоплазм относят к условно-патогенным возбудителям, способным при определенных условиях вызывать воспалительные заболевания органов урогенитального тракта. *M. genitalium* считают патогенным видом, так как ее выделяют от пациентов с признаками воспаления органов мочеполовой системы.

*M. pneumoniae* вызывает респираторный микоплазмоз. Эта инфекция протекает с поражением верхних дыхательных путей и развитием пневмонии.

Уреаплазма вызывает воспаление слизистых оболочек половых органов и мочевых путей человека (уреаплазмоз).

В таблице 12.1 приведены виды родов *Mycoplasma* и *Ureaplasma*, имеющие медицинское значение.

Таблица 12.1 – Виды родов *Mycoplasma* и *Ureaplasma*, имеющие медицинское значение

Вид	Локализация	Заболевания
<i>M. pneumoniae</i>	Дыхательные пути	Воспаление верхних дыхательных путей, трахеобронхит, атипичная пневмония, нереспираторные проявления
<i>M. hominis</i>	Мочеполовой тракт и дыхательные пути	Пиелонефрит, воспалительные заболевания тазовых органов, послеродовая лихорадка, пороки развития
<i>M. genitalium</i>	Мочеполовой тракт и дыхательные пути	Негонококковый уретрит (урогенитальный микоплазмоз)
<i>M. salivarium</i>	Полость рта	Гингивит, периодонтит
<i>M. fermentans</i>	Мочеполовой тракт, дыхательные пути	Воспалительные заболевания респираторного тракта, ревматоидный артрит
<i>U. urealyticum</i>	Мочеполовой тракт	Негонококковый уретрит, рождение детей с малой массой тела, хронические заболевания легких, врожденные пневмонии, бесплодие



**Резистентность.** Устойчивость микоплазм в окружающей среде низкая. Они чувствительны к действию антисептиков и дезинфектантов, многим антибиотикам. Отсутствие клеточной стенки обуславливает устойчивость микоплазм к пенициллинам и цефалоспорином.

**Эпидемиология.** **Источником инфекции** при микоплазмозах и уреоплазмозах является больной человек. **Механизмы передачи** - аэрогенный, контактный. **Пути передачи** - воздушно-капельный, половой. Возможна передача микоплазм и уреоплазм от инфицированной матери плоду трансплацентарно и при прохождении через родовые пути. Распространение микоплазм в организме происходит лимфогенно, гематогенно и при участии сперматозоидов.

**Факторы патогенности микоплазм.** Факторами патогенности микоплазм являются следующие компоненты.

**Адгезины.** Они входят в состав поверхностных структур и обеспечивают взаимодействие с клетками хозяина по типу лиганд-рецептор. Адгезированные микоплазмы могут находиться в инвагинатах клеточных мембран, что делает возбудителя недоступным для антител, комплемента и других факторов защиты.

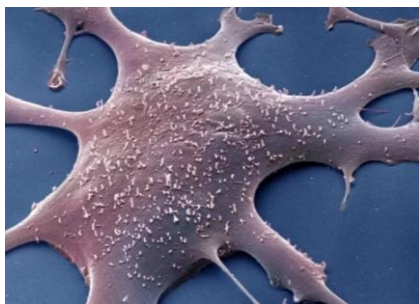
**Эндотоксины** обуславливают пирогенный эффект, лейкопению, тромбогеморрагические поражения, коллапс, отек легких.

**Ферменты агрессии** (уреаза, фосфолипаза А, аминопептидазы, нейраминидаза, протеазы, РНКазы, ДНКазы). Нейраминидаза обеспечивает взаимодействие микоплазм с клеточными структурами, содержащими сиаловые кислоты, нарушает строение клеточных мембран и межклеточные взаимодействия. Фосфолипаза А и аминопептидазы гидролизуют фосфолипиды клеточной стенки. Протеазы вызывают дегрануляцию клеток, расщепляют молекулы антител. РНКазы и ДНКазы нарушают метаболизм нуклеиновых кислот. Эндопептидазы расщепляют молекулы IgA на мономерные формы, что обеспечивает доступность этих иммуноглобулинов со стороны клеточных ферментов.

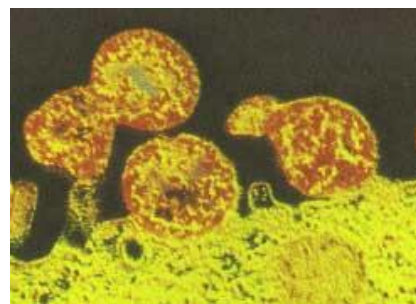
**Продукты метаболизма** микоплазм (в частности, перекиси) оказывают разрушающее воздействие на липидные комплексы клеточных мембран.

К ведущим факторам патогенности микоплазм относят адгезины, протеазу и фосфолипазы. К ведущим факторам патогенности *U. urealyticum* относится уреаза.

**Патогенез микоплазмозов.** После проникновения в организм микоплазмы прикрепляется к эпителиальным клеткам и паразитируют на их мембране (рисунок 12.8).



а



б

Рисунок 12.8 – Микоплазмы на поверхности фибробласта (а) и паразитизм на клеточной мембране (б), компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Адгезия микоплазм на клеточной мембране обеспечивается “органеллой прикрепления” (рисунок 12.9).

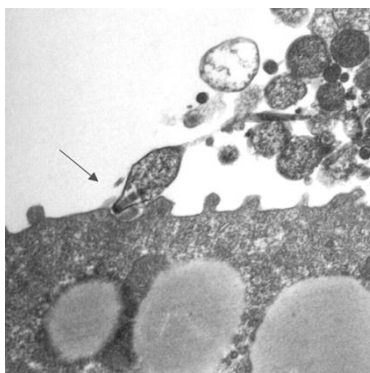


Рисунок 12.9 – Прикрепление микоплазмы к клеточной мембране (указано стрелкой). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Способность персистировать на мембранах клетки обусловлена сходством структуры и состава цитоплазматической мембраны микоплазм и мембран эукариотических клеток. Кроме того, микоплазмы, находясь на клеточной мембране, способны использовать компоненты эукариотических клеток (в частности, холестерин и фосфолипиды) для построения собственных структур. Нахождение микоплазм на мембранах клетки хозяина вызывает нарушение функций клеток и развитие воспаления.

Микоплазмы способны прикрепляться к различным эукариотическим клеткам. Взаимодействие с макрофагами приводит к нарушению их функций; персистенция микоплазм на мембранах лимфоидных клеток оказывает деструктивное действие на иммунную систему; находясь на эритроцитах, микоплазмы воздействуют на эритропоэз (рисунок 12.10).



Рисунок 12.10 – Микоплазмы на мембране эритроцита. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Обмен антигенными компонентами с клетками хозяина обеспечивает антигенную мимикрию и развитие аутоиммунных реакций.

**Клиническая картина заболеваний.** Микоплазмы вызывают развитие респираторного или урогенитального микоплазмоза. Респираторный микоплазмоз обусловлен *M. pneumoniae* и протекает в форме назофарингита, бронхита, пневмонии. Урогенитальные микоплазмы (*M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum*)

вызывают острые и хронические гнойно-воспалительные заболевания мочеполового тракта.

Уреаплазмоз представляет собой воспалительный процесс мочеполовых органов, при котором обнаруживается *U. urealyticum*, но не выявляются другие возбудители. *U. urealyticum* может длительное время находиться в организме, не приводя к заболеванию (бессимптомное носительство). Заболевание возникает при увеличении концентрации микроорганизмов сверх определенной нормы.

Чаще всего заражение происходит при половом контакте. Симптомы заболевания возникают через 3-5 недель с момента заражения. Основными симптомами являются зуд, жжение при мочеиспускании, незначительные выделения из мочеиспускательного канала.

У женщин часто заболевание протекает бессимптомно.

**Осложнения микоплазмоза, уреаплазмоза.** При микоплазмозе и уреаплазмозе возможно развитие многочисленных осложнений:

- невынашивание беременности;
- уретрит;
- цистит;
- сальпингит;
- пиелонефрит;
- артрит.

**Особенности иммунитета при микоплазмозах.** На антигены микоплазм в организме образуются антитела классов IgM, IgG и IgA, однако развитие иммунного ответа, как правило, не сопровождается элиминацией возбудителя из организма и формированием резистентности к повторному заражению. Основная роль в антибактериальном иммунитете принадлежит секреторным иммуноглобулинам. Макрофаги и нейтрофилы способны фагоцитировать клетки микоплазм, которые при этом остаются жизнеспособными (незавершенный фагоцитоз).

**Диагностика.** В зависимости от пораженного органа материалом для исследования могут быть мазки из носоглотки, мокрота, соскобы со слизистой оболочки уrogenитального тракта.

Для диагностики микоплазмозов и уреаплазмозов используют культуральный, серологический и молекулярно-биологический методы (таблица 12.2).

Таблица 12.2 – Методы лабораторной диагностики микоплазменной инфекции (Воробьев А.А. и др., 2006)

Метод	Цель исследования	Применяемый тест
Культуральный	Выделение возбудителя	Посев материала на элективные питательные среды, выделение и идентификация чистой культуры возбудителя
Серологический	Обнаружение антигенов возбудителя	РАГА, РИФ, ИФА
	Выявление антител	РПГА, ИФА, РИА и др.
Молекулярно-генетический	Выявление ДНК возбудителя	ПЦР, ДНК-зонды

**Культуральный (бактериологический) метод.** Для культивирования микоплазм используют жидкие и плотные селективные питательные среды, обогащенные лошадиной сывороткой, экстрактом дрожжей, мочевиной, L-цистеином. Для подавления роста посторонней микрофлоры в среды добавляют пенициллин. Микоплазмы растут в аэробных условиях при 37°C. Для культивирования используют среду IST. Культуральное исследование является “золотым стандартом” диагностики микоплазмоза. Точность диагностики составляет 100%. Обнаружение микоплазм и уреазплазм в исследуемом материале более  $10^4$  КОЕ/мл (г) свидетельствует о заболевании. Этот метод позволяет не только обнаружить присутствие микоплазм, но и определить их концентрацию, установить чувствительность возбудителя к антибиотикам и проконтролировать эффективность лечения.

Ускоренный бактериологический метод для выявления генитальных микоплазм и уреазплазм основан на способности микоплазм расщеплять аргинин, а уреазплазм - мочевины с образованием щелочи. О росте культуры судят по изменению цвета индикатора, добавленного в питательную среду (рисунок 12.11).



Рисунок 12.11 – Проба на уреазу и аргинин. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Для выделения *M. pneumoniae* и определения чувствительности возбудителя к антибиотикам выпускаются специальные наборы (рисунок 12.12).



Рисунок 12.12 – Набор реагентов для выявления *M. pneumoniae* и определения чувствительности к антибиотикам (Пневмо-тест). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

**Серологические методы.** Одним из методов диагностики является исследование мазков-отпечатков в РИФ (реакция непрямой

иммунофлюоресценции). При этом микоплазмы и уреоплазмы окрашиваются в ярко-зеленый цвет на поверхности клеток, а цитоплазма эукариотических клеток – в красно-бурый цвет (рисунок 12.13).

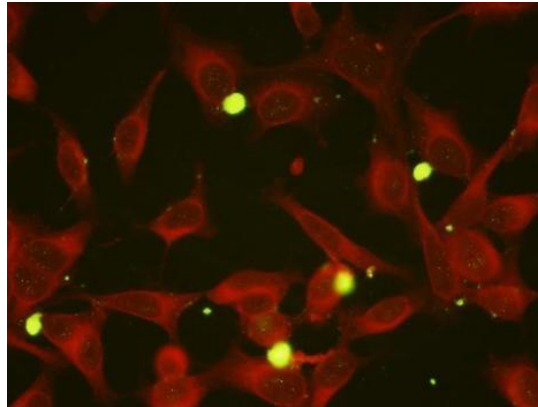


Рисунок 12.13 – Микоплазмы (ярко-зеленые) на поверхности клеток (красно-бурого цвета) при постановке реакции иммунофлюоресценции. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Однако люминесцентная диагностика не всегда дает удовлетворительные результаты, что связано с серологической гетерогенностью и антигенной изменчивостью возбудителя.

**Иммуноферментный анализ (ИФА)** направлен на выявление антител классов IgA, IgM и IgG к микоплазме и уреоплазме. При первичном инфицировании сначала образуются антитела классов IgM и IgA, а затем класса IgG. При повторном инфицировании быстро нарастают титры антител классов IgG и IgA; возможно отсутствие антител класса IgM.

**Молекулярно-биологический метод.** Для диагностики микоплазмозов наиболее широкое распространение в лабораторной практике получил метод ПЦР с праймерами на гены 23S и 16S рРНК микоплазм.

**Лечение.** Для лечения микоплазмозов используют антибиотики (макролиды, хинолоны). При назначении лечения микоплазменной инфекции выбор антибиотика производят с учетом клинической формы, тяжести заболевания, наличия осложнений, беременности. Антибиотики назначают с учетом чувствительности к ним возбудителя. Антибиотикотерапию назначают в случае выявления облигатно патогенного вида – *M. genitalium*. Для условно-патогенных микоплазм диагностически значимым является выявление возбудителя в концентрации  $10^4$  и более микробных клеток в 1 мл материала.

### Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение микоплазм.
2. Морфологические и тинкториальные особенности микоплазм.
3. Культуральные свойства микоплазм.
4. Факторы патогенности микоплазм и патогенез заболеваний.
5. Диагностика микоплазмозов.
6. Профилактика и лечение микоплазмозов.

## Тренировочные тесты

1. Облигатным патогеном для человека является (один правильный ответ):

- 1.1. *M. hominis*
- 1.2. *M. genitalium*
- 1.3. *U. urealyticum*
- 1.4. *U. parvum*
- 1.5. *E. coli*

2. Микоплазмы – это (один правильный ответ):

- 2.1 грибы
- 2.2 актиномицеты
- 2.3 бактерии
- 2.4 простейшие
- 2.5 вирусы

3. Особенности микоплазм (несколько правильных ответов):

- 3.1 имеют толстую ригидную клеточную стенку
- 3.2 не имеют клеточной стенки
- 3.3 имеют форму кокков
- 3.4 имеют форму палочек
- 3.5 не имеют постоянной формы

4. Особенность микоплазм (несколько правильных ответов):

- 4.1 отсутствие пептидогликана
- 4.2 облигатные аэробы
- 4.3 облигатный внутриклеточный паразитизм
- 4.4 паразитирование на клеточной мембране
- 4.5 наличие внешней мембраны

5. Для микоплазм характерно (несколько правильных ответов):

- 5.1 стеролозависимость
- 5.2 наличие ригидной клеточной стенки
- 5.3 дизъюнктивный способ репродукции
- 5.4 наличие липидной мембраны
- 5.5 облигатный внутриклеточный паразитизм

6. Антибиотики, действующие на микоплазмы (несколько правильных ответов):

- 6.1 бета-лактамы антибиотики
- 6.2 ингибиторы синтеза белка
- 6.3 ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот
- 6.4 ингибиторы синтеза цитоплазматической мембраны
- 6.5 ингибиторы синтеза пептидогликана

7. Не имеют клеточной стенки (несколько правильных ответов):

- 7.1 микобактерии

- 7.2 микоплазмы
- 7.3 уреаплазмы
- 7.4 хламидии
- 7.5 риккетсии

8. На плотных питательных средах микоплазмы образуют колонии в виде (один правильный ответ):

- 8.1 битого стекла
- 8.2 кружевных платочков
- 8.3 яичницы-глазуньи
- 8.4 львиной гривы
- 8.5 цветной капусты

9. Источником инфекции при микоплазмозах (один правильный ответ):

- 9.1 больной человек
- 9.2 больное животное
- 9.3 вода
- 9.4 воздух
- 9.5 почва

10. Механизмы передачи инфекции при микоплазмозах (несколько правильных ответов):

- 10.1 аэрогенный
- 10.2 фекально-оральный
- 10.3 парентеральный
- 10.4 трансмиссивный
- 10.5 контактный

11. Пути передачи микоплазм (несколько правильных ответов):

- 11.1 воздушно-капельный
- 11.2 воздушно-пылевой
- 11.3 алиментарный
- 11.4 водный
- 11.5 половой

12. При микоплазмозах преобладают поражения (несколько правильных ответов):

- 12.1 респираторного тракта
- 12.2 желудочно-кишечного тракта
- 12.3 сердечно-сосудистой системы
- 12.4 нервной системы
- 12.5 мочеполовой системы

13. Осложнения микоплазмозов (несколько правильных ответов):

- 13.1 бесплодие
- 13.2 аборты
- 13.3 врожденные пороки сердца

13.4 поражение ЦНС

13.5 внутриутробное инфицирование плода

14. Методы диагностики микоплазмозов (несколько правильных ответов):

14.1 бактериологический

14.2 биологический

14.3 постановка кожных аллергических проб

14.4 иммуноферментный анализ

14.5 полимеразная цепная реакция

15. Специфическая профилактика микоплазмозов проводится с помощью (один правильный ответ):

15.1 живой вакцины

15.2 инактивированной вакцины

15.3 анатоксина

15.4 не разработана

15.5 химической вакцины

Правильные ответы: 1.2; 2.3; 3.2, 3.5; 4.1, 4.4; 5.1, 5.4; 6.2, 6.3, 6.4; 7.2, 7.3; 8.3; 9.1; 10.1, 10.5; 11.1, 11.5; 12.1, 12.5; 13.1, 13.2, 13.5; 14.1, 14.4, 14.5; 15.4.



## Список учебной литературы

1. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие для студентов медицинских вузов / Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – 236 с.: ил.
2. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: М: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2002. – 736 с.
3. Воробьев А.А. Медицинская и санитарная микробиология: учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений / А.А. Воробьев, Ю.С. Кривошеин, В.П. Ширококов. – 2-е изд., стер. – М.: Издательский центр “Академия”, 2006. – 464 с.
4. Галынкин В., Заикина Н., Кочеровец В. Основы фармацевтической микробиологии. 2008.
5. Инфекционные болезни и эпидемиология: Учебник / В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико, Б.К. Данилкин. – 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 816 с.: илл.
6. Коротяев А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для студентов мед. вузов / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. - 5-е изд., испр. и доп. – СПб.: СпецЛит, 2012. – 759 с.: ил.
7. Медицинская микробиология / Под ред. В.И. Покровского. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 768 с.
8. Медицинская микробиология: учебник. 4-е изд. Поздеев О.К. / Под ред. В.И. Покровского. – 2010. – 768 с.
9. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов медицинских вузов / Под ред. А.А. Воробьева. Учебники и учеб. пособия для высшей школы. Издательство: Медицинское информационное агентство, 2012. – 702 с.
10. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х т. Том 1 : учеб. по дисциплине “Микробиология, вирусология и иммунология” для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65 “Лечеб. дело”, 060103.65 “Педиатрия”, 060104.65 “Медико-профилакт. дело” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 448 с.: ил.
11. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х т. Том 2 : учеб. по дисциплине “Микробиология, вирусология и иммунология” для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65 “Лечеб. дело”, 060103.65 “Педиатрия”, 060104.65 “Медико-профилакт. дело” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 480 с.: ил.
12. Микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов (стоматология). / Под ред. В.Н. Царева. – М.: Практическая медицина, 2010. – 581 с.
13. Микробиология: учеб. для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальности 060301.65 “Фармация” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 608 с.: ил.
14. Одегова Т.Ф., Олешко Г.И., Новикова В.В. Микробиология. Учебник для фармацевтических вузов и факультетов. - Пермь, 2009. - 378 с.
15. Пожарская В.О., Райкис Б.Н., Казиев А.Х. Общая микробиология с вирусологией и иммунологией (в графическом изображении). Учебное пособие. М.: “Триада X”, 2004. – 352 с.

16. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология. Книга 1 / Колл. Авторы // Под редакцией Лабинской А.С., Воиной Е.Г. – М.: Издательство БИНОМ, 2008. – 1080 с.: ил.

17. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга II / Колл. авторов // Под редакцией Лабинской А.С., Костюковой Н.Н., Ивановой С.М. – М.: Издательство БИНОМ, 2010. – 1152 с.: ил.

18. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. акад. РАМН О.В. Бухарина. М.: Медицина; УрО РАН, 2002. 342 с.

19. Сбойчаков В.Б. Санитарная микробиология. Учебное пособие. 2007.

20. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие / Под ред. А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. – М.: ОАО “Издательство “Медицина”, 2005. – 600 с.: ил.

21. Информационные ресурсы по микробиологии, вирусологии и иммунологии:

- <http://www.microbiology.ru>
- <http://ru.wikipedia.org>
- <http://immunology.ru>
- <http://www.rusmedserv.com>
- <http://www.molbiol.ru>

Литусов Николай Васильевич

Частная бактериология

Электронное иллюстрированное учебное издание