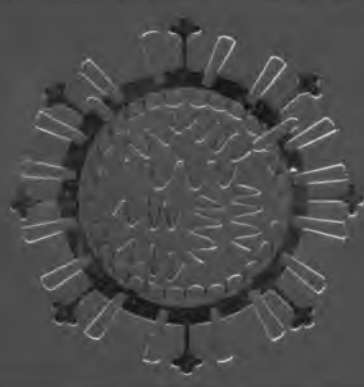


МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ



Под редакцией
академика РАМН А.А. Воробьева



МЕДИЦИНСКОЕ
ПЕДАГОГИЧЕСКОЕ
УЧЕБНОЕ ЦЕПО

УДК 612.012.1 (075)
ББК 52.64
М42

Рецензенты:

зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Оренбургского государственного университета, член-корреспондент РАН, академик РАМН, профессор *О.В. Бухарин*;

зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Московского государственного медико-стоматологического университета МЗ РФ, профессор *В.Н. Царев*.

Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для М42 студентов медицинских вузов / Под. ред. А. А. Воробьева. — 2-е изд., испр. и доп. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2012. — 704 с.: ил., табл.

ISBN 978-5-8948-1895-5

Учебник написан коллективом кафедры микробиологии с вирусологией и иммунологией Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова в соответствии с официально утвержденными программами преподавания микробиологии (бактериологии, вирусологии, микологии, протозоологии) и иммунологии на всех факультетах медицинских вузов.

В учебнике учтены новые данные по классификации микробов (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition, 2001), решения 7-го Международного Конгресса по таксономии вирусов о вступлении в силу новой классификации вирусов с 1 января 2002 г., а также перечень микробов и диагностических исследований, соответствующий приказу МЗ РФ за № 64 от 21.02.00 «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований». Учебник состоит из 20 глав, в которых последовательно разбираются вопросы общей и частной микробиологии, вирусологии и иммунологии. Включены главы по противомикробным препаратам, особенностям иммунитета при различных состояниях организма, клинической микробиологии. Во 2-е издание учебника внесены новые данные по микробиологии и иммунологии, расширен список сокращений и устранены редакционные недостатки, обнаруженные в 1-м издании. Классификация микробов приведена в соответствии с последними международными официальными документациями.

Книга рекомендована Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебника для студентов медицинских вузов и медицинских факультетов университетов, а также врачей всех специальностей. Также будет полезна клиницистам в качестве современного справочника по микроорганизмам и вызываемым ими заболеваниям.

УДК 612.012.1 (075)
ББК 52.64

ISBN 978-5-8948-1895-5

© Коллектив авторов, 2012
© Оформление. ООО «Медицинское информационное агентство», 2012

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме без письменного разрешения владельцев авторских прав.

АВТОРСКИЙ КОЛЛЕКТИВ

*(Сотрудники кафедры микробиологии с вирусологией и иммунологией
Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова)*

ВОРОБЬЕВ Анатолий Андреевич — академик РАМН, д-р мед. наук, профессор,
зав. кафедрой

БЫКОВ Анатолий Сергеевич — д-р мед. наук, профессор кафедры

БОЙЧЕНКО Марина Николаевна — д-р биол. наук, профессор кафедры

НЕСВИЖСКИЙ Юрий Владимирович — д-р мед. наук, профессор кафедры

ДРАТВИН Сергей Анатольевич — д-р мед. наук, профессор кафедры

ПАШКОВ Евгений Петрович — д-р мед. наук, профессор кафедры

МИРОНОВ Андрей Юрьевич — д-р мед. наук, профессор кафедры

НЕЧАЕВ Дмитрий Николаевич — канд. мед. наук, доцент кафедры

РЫБАКОВА Альбина Михайловна — канд. мед. наук, доцент кафедры

БУДАНОВА Елена Вячеславовна — канд. мед. наук, доцент кафедры

УСАТОВА Галина Николаевна — канд. мед. наук, доцент кафедры

ХОРОШКО Наина Владимировна — канд. мед. наук, доцент кафедры

ДАВЫДОВА Наталия Владимировна — канд. мед. наук, доцент кафедры

ОЖЕРЕЛЬЕВА Наталья Григорьевна — канд. мед. наук, доцент кафедры

В написании отдельных разделов учебника принимали участие:

Караулов Александр Викторович — член-корр. РАМН, профессор

Кетлинский Сергей Александрович — д-р мед. наук, профессор

Кривошеин Юрий Семёнович — д-р мед. наук, профессор

Лукин Евгений Павлович — д-р мед. наук, профессор

Смирнов Игорь Владимирович — д-р мед. наук, профессор

СОДЕРЖАНИЕ

| | | | |
|---|----|---|-----|
| ПРЕДИСЛОВИЕ | 14 | 3.1.5. Энергетический метаболизм..... | 57 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ | 16 | 3.1.6. Отношение бактерий к кислороду.... | 62 |
| ЧАСТЬ I. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ..... | 17 | 3.1.7. Рост и способы размножения бактерий | 64 |
| ГЛАВА 1. Введение в микробиологию и иммунологию (А.А. Воробьев)..... | 17 | 3.1.8. Условия культивирования бактерий | 67 |
| 1.1. Мир микробов и его роль в жизни человека..... | 17 | 3.2. Особенности физиологии грибов и простейших (А.С. Быков)..... | 68 |
| 1.2. Представители мира микробов..... | 17 | 3.3. Физиология вирусов (А.С. Быков, А.М. Рыбакова) | 69 |
| 1.3. Распространенность микробов..... | 18 | 3.3.1. Репродукция вирусов | 69 |
| 1.4. Роль микробов в патологии человека..... | 18 | 3.3.2. Abortивный тип взаимодействия вирусов с клеткой | 74 |
| 1.5. Микробиология — наука о микробах..... | 18 | 3.3.3. Интегративный тип взаимодействия вирусов с клеткой (виrogenия) | 75 |
| 1.6. Иммунология: сущность и задачи | 20 | 3.4. Культивирование вирусов..... | 76 |
| 1.7. Связь микробиологии с иммунологией .. | 21 | 3.5. Бактериофаги (вирусы бактерий)..... | 79 |
| 1.8. История развития микробиологии и иммунологии | 21 | ГЛАВА 4. Экология микробов — микроэкология .. | 83 |
| 1.8.1. Эвристический период | 21 | 4.1. Распространение микробов в окружающей среде (А.С. Быков, Е.П. Пашков) | 83 |
| 1.8.2. Морфологический период | 21 | 4.1.1. Микрофлора почвы..... | 83 |
| 1.8.3. Физиологический период | 23 | 4.1.2. Микрофлора воды | 84 |
| 1.8.4. Иммунологический период | 24 | 4.1.3. Микрофлора воздуха | 84 |
| 1.8.5. Молекулярно-генетический период .. | 25 | 4.1.4. Микрофлора продуктов питания..... | 84 |
| 1.9. Вклад отечественных ученых в развитие микробиологии и иммунологии | 26 | 4.1.5. Микрофлора растительного лекарственного сырья, фитопатогенные микробы..... | 85 |
| 1.10. Зачем нужны знания микробиологии и иммунологии врачу..... | 28 | 4.1.6. Микрофлора производственных, бытовых и медицинских объектов | 87 |
| ГЛАВА 2. Морфология и классификация микробов (А.С. Быков)..... | 30 | 4.1.7. Роль микробов в круговороте веществ в природе..... | 87 |
| 2.1. Систематика и номенклатура микробов.... | 30 | 4.2. Микрофлора организма человека..... | 88 |
| 2.2. Классификация и морфология бактерий .. | 31 | 4.2.1. Значение микрофлоры организма человека..... | 91 |
| 2.2.1. Формы бактерий (А.С. Быков, Е.П. Пашков) | 33 | 4.2.2. Дисбактериоз | 93 |
| 2.2.2. Структура бактериальной клетки (А.С. Быков, Е.П. Пашков) | 36 | 4.3. Влияние факторов окружающей среды на микробы..... | 93 |
| 2.3. Строение и классификация грибов | 42 | 4.3.1. Влияние физических факторов | 93 |
| 2.4. Строение и классификация простейших .. | 46 | 4.3.2. Влияние химических веществ..... | 95 |
| 2.5. Строение и классификация вирусов | 47 | 4.3.3. Влияние биологических факторов | 95 |
| ГЛАВА 3. Физиология микробов | 51 | 4.4. Уничтожение микробов в окружающей среде (Н.Г. Ожерельева) | 96 |
| 3.1. Физиология бактерий (М.Н. Бойченко) | 51 | 4.4.1. Стерилизация | 96 |
| 3.1.1. Питание бактерий | 51 | 4.4.2. Дезинфекция | 98 |
| 3.1.2. Ферменты бактерий | 54 | 4.4.3. Асептика и антисептика..... | 99 |
| 3.1.3. Транспорт веществ в бактериальную клетку..... | 55 | 4.5. Санитарная микробиология (А.С. Быков)... | 100 |
| 3.1.4. Конструктивный метаболизм | 55 | | |
| 3.1.4.1. Регуляция метаболизма у прокариот.. | 57 | | |

| | | | |
|---|------------|--|------------|
| 4.5.1. Микробиологический контроль почвы, воды, предметов обихода | 101 | 7.1.1.1. Источники и способы получения антибиотиков | 125 |
| 4.5.2. Микробиологический контроль воздуха | 102 | 7.1.1.2. Классификация антибиотиков по химической структуре | 126 |
| 4.5.3. Микробиологический контроль продуктов питания | 102 | 7.1.2. Синтетические противомикробные химиопрепараты | 127 |
| 4.5.4. Микробиологический контроль лекарственных средств | 103 | 7.2. Механизмы действия противомикробных химиопрепаратов | 128 |
| ГЛАВА 5. Генетика микробов (М.Н. Бойченко) .. | 105 | 7.3. Осложнения при антимикробной химиотерапии | 130 |
| 5.1. Строение генома бактерий | 105 | 7.4. Лекарственная устойчивость бактерий .. | 131 |
| 5.1.1. Бактериальная хромосома | 105 | 7.5. Основы рациональной антибиотикотерапии | 133 |
| 5.1.2. Плазмиды бактерий | 105 | 7.6. Противовирусные средства | 134 |
| 5.1.3. Подвижные генетические элементы | 106 | 7.7. Антисептические и дезинфицирующие вещества (А.С. Быков) | 136 |
| 5.2. Мутации у бактерий | 107 | Глава 8. Учение об инфекции (А.Ю. Миронов, Ю.В. Несвижский, Д.Н. Нечаев) | 137 |
| 5.3. Рекомбинация у бактерий | 109 | 8.1. Инфекционный процесс и инфекционная болезнь | 138 |
| 5.3.1. Гомологичная рекомбинация | 109 | 8.1.1. Стадии и уровни инфекционного процесса | 139 |
| 5.3.2. Сайт-специфическая рекомбинация .. | 109 | 8.1.2. Понятие об инфекционной болезни .. | 140 |
| 5.3.3. Незаконная или репликативная рекомбинация | 111 | 8.2. Свойства микробов—возбудителей инфекционного процесса | 141 |
| 5.4. Передача генетической информации у бактерий | 110 | 8.2.1. Понятие о патогенных, сапрофитных и условно-патогенных микробах | 141 |
| 5.4.1. Конъюгация | 110 | 8.3. Свойства патогенных микробов | 141 |
| 5.4.2. Трансдукция | 112 | 8.3.1. Факторы патогенности микробов .. | 145 |
| 5.4.3. Трансформация | 112 | 8.3.2. Токсины бактерий | 150 |
| 5.5. Особенности генетики вирусов | 113 | 8.3.3. Генетическая регуляция факторов патогенности | 157 |
| 5.6. Применение генетических методов в диагностике инфекционных болезней | 113 | 8.4. Влияние факторов окружающей среды на реактивность организма | 160 |
| 5.6.1. Рестрикционный анализ | 113 | 8.4.1. Роль реактивности макроорганизма в возникновении и развитии инфекционного процесса | 160 |
| 5.6.2. Метод молекулярной гибридизации .. | 114 | 8.4.2. Влияние биологических и социальных факторов окружающей среды на реактивность макроорганизма | 163 |
| 5.6.3. Полимеразная цепная реакция | 114 | 8.5. Характерные особенности инфекционных болезней | 165 |
| 5.6.4. Риботипирование и опосредованная транскрипцией амплификация рибосомальной РНК | 115 | 8.6. Формы инфекционного процесса | 169 |
| ГЛАВА 6. Биотехнология. | | 8.7. Особенности формирования патогенности у вирусов. | |
| Генетическая инженерия (А.А. Воробьев) | 117 | Формы взаимодействия вирусов с клеткой. | |
| 6.1. Сущность биотехнологии. | | Особенности вирусных инфекций | 171 |
| Цели и задачи | 117 | 8.8. Понятие об эпидемическом процессе .. | 177 |
| 6.2. Краткая история развития биотехнологии | 119 | | |
| 6.3. Микроорганизмы и процессы, применяемые в биотехнологии | 120 | | |
| 6.4. Генетическая инженерия и область ее применения в биотехнологии | 121 | | |
| ГЛАВА 7. Противомикробные препараты (Н.В. Хорошко, Н.В. Давыдова, Н.Г. Ожерельева) | 124 | | |
| 7.1. Химиотерапевтические препараты | 124 | | |
| 7.1.1. Антибиотики | 125 | | |

| | |
|---|------------|
| 8.8.1. Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней ... | 180 |
| 8.8.2. Понятие о конвенционных (карантинных) и особо опасных инфекциях..... | 182 |
| Часть II. ОБЩАЯ ИММУНОЛОГИЯ..... | 183 |
| ГЛАВА 9. Учение об иммунитете и факторы неспецифической резистентности (А.А. Воробьев, Ю.В. Несвижский, С.А. Кетлинский)..... | 183 |
| 9.1. Введение в иммунологию | 183 |
| 9.1.1. Сущность и роль иммунитета | 183 |
| 9.1.2. Иммунология как общебиологическая и общемедицинская наука | 184 |
| 9.1.3. История развития иммунологии | 186 |
| 9.1.4. Достижения иммунологии в медицине ... | 188 |
| 9.1.5. Основные принципы и механизмы функционирования иммунной системы.. | 190 |
| 9.1.6. Виды иммунитета | 191 |
| 9.2. Факторы неспецифической резистентности организма..... | 194 |
| 9.2.1. Кожа и слизистые оболочки | 194 |
| 9.2.2. Физико-химическая защита | 195 |
| 9.2.3. Иммунобиологическая защита | 195 |
| 9.2.3.1. Фагоцитоз | 195 |
| 9.2.3.2. Тромбоциты | 197 |
| 9.2.3.3. Комплемент | 197 |
| 9.2.3.4. Лизоцим | 199 |
| 9.2.3.5. Интерферон | 199 |
| 9.2.3.6. Защитные белки сыворотки крови ... | 200 |
| ГЛАВА 10. Антигены и иммунная система человека (Ю.В. Несвижский)..... | 201 |
| 10.1. Антигены..... | 201 |
| 10.1.1. Общие представления | 201 |
| 10.1.2. Свойства антигенов | 201 |
| 10.1.2.1. Антигенность | 201 |
| 10.1.2.2. Иммуногенность..... | 203 |
| 10.1.2.3. Специфичность..... | 205 |
| 10.1.3. Классификация антигенов..... | 205 |
| 10.1.4. Антигены организма человека | 208 |
| 10.1.4.1. Антигены групп крови человека... .. | 208 |
| 10.1.4.2. Антигены гистосовместимости .. | 209 |
| 10.1.4.3. Опухольассоциированные антигены..... | 212 |
| 10.1.4.4. CD-антигены | 212 |
| 10.1.5. Антигены микробов..... | 213 |
| 10.1.5.1. Антигены бактерий..... | 213 |
| 10.1.5.2. Антигены вирусов..... | 214 |
| 10.1.6. Процессы, происходящие с антигеном в макроорганизме | 214 |
| 10.2. Иммунная система человека..... | 215 |
| 10.2.1. Структурно-функциональные элементы иммунной системы | 215 |
| 10.2.1.1. Центральные органы иммунной системы | 216 |
| 10.2.1.2. Периферические органы иммунной системы | 217 |
| 10.2.1.3. Клеточные популяции иммунной системы | 218 |
| 10.2.1.3.1. Лимфоциты | 220 |
| 10.2.1.3.1.1. В-лимфоциты | 222 |
| 10.2.1.3.1.2. Т-лимфоциты | 222 |
| 10.2.1.3.1.2.1. Т-хелперы | 223 |
| 10.2.1.3.1.2.2. Т-киллеры..... | 224 |
| 10.2.1.3.1.2.3. Естественные киллеры..... | 225 |
| 10.2.1.3.1.2.4. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты..... | 226 |
| 10.2.1.3.2. Другие клетки иммунной системы | 226 |
| 10.2.2. Организация функционирования иммунной ситемы..... | 227 |
| 10.2.2.1. Взаимодействие клеток иммунной системы | 228 |
| 10.2.2.2. Активация иммунной системы .. | 228 |
| 10.2.2.3. Супрессия иммунного ответа..... | 230 |
| 10.2.2.4. Онтогенез клональной структуры иммунной системы | 231 |
| ГЛАВА 11. Основные формы иммунного реагирования (А.А. Воробьев, Ю.В. Несвижский)..... | 235 |
| 11.1. Антитела и антителообразование | 235 |
| 11.1.1. Природа антител..... | 235 |
| 11.1.2. Молекулярное строение антител .. | 236 |
| 11.1.3. Структурно-функциональные особенности иммуноглобулинов различных классов..... | 237 |
| 11.1.4. Антигенность антител | 241 |
| 11.1.5. Механизм взаимодействия антитела с антигеном..... | 241 |
| 11.1.6. Свойства антител | 242 |
| 11.1.7. Генетика иммуноглобулинов | 244 |
| 11.1.8. Динамика антителопродукции | 245 |
| 11.1.9. Теории разнообразия антител..... | 247 |
| 11.2. Иммунный фагоцитоз | 248 |
| 11.3. Опосредованный клетками киллинг .. | 249 |
| 11.3.1. Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность | 249 |

| | |
|--|-----|
| 11.3.2. Антителонезависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность | 250 |
| 11.4. Реакции гиперчувствительности | 251 |
| 11.5. Иммунологическая память | 253 |
| 11.6. Иммунологическая толерантность | 254 |
| ГЛАВА 12. Особенности иммунитета | |
| при различных локализациях и состояниях | |
| <i>(Ю.В. Несвижский, С.А. Кетлинский)</i> | |
| 12.1. Особенности местного иммунитета.... | 258 |
| 12.1.1. Иммунитет кожи..... | 258 |
| 12.1.2. Иммунитет слизистых | 259 |
| 12.1.2.1. Особенности иммунитета ротовой полости..... | 260 |
| 12.2. Особенности иммунитета при различных состояниях | 261 |
| 12.2.1. Особенности иммунитета при бактериальных инфекциях | 261 |
| 12.2.2. Особенности противовирусного иммунитета..... | 261 |
| 12.2.3. Особенности противогрибкового иммунитета..... | 262 |
| 12.2.4. Особенности иммунитета при протозойных инвазиях | 262 |
| 12.2.5. Особенности противоглистного иммунитета | 263 |
| 12.2.6. Трансплантационный иммунитет ... | 263 |
| 12.2.7. Иммунитет против новообразований | 264 |
| 12.2.8. Иммунология беременности..... | 265 |
| 12.3. Иммунный статус и его оценка <i>(А.Ю. Миронов)</i> | 265 |
| 12.4. Патология иммунной системы <i>(А.Ю. Миронов)</i> | 269 |
| 12.4.1. Иммунодефициты | 269 |
| 12.4.1.1. Первичные, или врожденные, иммунодефициты..... | 270 |
| 12.4.1.2. Вторичные, или приобретенные, иммунодефициты..... | 271 |
| 12.4.2. Аутоиммунные болезни | 272 |
| 12.4.3. Аллергические болезни | 275 |
| 12.4.3.1. Реакции I типа (анафилактические)..... | 276 |
| 12.4.3.2. Реакции II типа (гуморальные цитотоксические)..... | 276 |
| 12.4.3.3. Реакции III типа (иммунокомплексные) | 277 |
| 12.4.3.4. Реакции IV типа (опосредованные Т-лимфоцитами) | 278 |
| 12.4.4. Иммунопролиферативные заболевания | 278 |
| 12.5. Иммунокоррекция..... | 279 |
| ГЛАВА 13. Иммунодиагностические реакции и их применение | |
| <i>(А.С. Быков)</i> | |
| 13.1. Реакции антиген—антитело | 283 |
| 13.2. Реакции агглютинации..... | 283 |
| 13.3. Реакции преципитации | 286 |
| 13.4. Реакции с участием комплемента..... | 288 |
| 13.5. Реакция нейтрализации | 289 |
| 13.6. Реакции с использованием меченых антител или антигенов..... | 289 |
| 13.6.1. Реакция иммунофлюоресценции — РИФ (метод Кунса) | 289 |
| 13.6.2. Иммуноферментный метод, или анализ (ИФА) | 290 |
| 13.6.3. Радиоиммунологический метод, или анализ (РИА)..... | 292 |
| 13.6.4. Иммуноблоттинг | 293 |
| ГЛАВА 14. Иммунопрофилактика и иммунотерапия | |
| <i>(А.А. Воробьев)</i> | |
| 14.1. Сущность и место иммунопрофилактики и иммунотерапии в медицинской практике | 294 |
| 14.2. Иммунобиологические препараты | 294 |
| 14.2.1. Общая характеристика и классификация ИБП | 294 |
| 14.2.2. Вакцины | 295 |
| 14.2.2.1. Живые вакцины | 296 |
| 14.2.2.2. Инактивированные (убитые) вакцины..... | 297 |
| 14.2.2.3. Молекулярные вакцины..... | 297 |
| 14.2.2.4. Анатоксины (токсоиды) | 298 |
| 14.2.2.5. Синтетические вакцины..... | 298 |
| 14.2.2.6. Адъюванты | 298 |
| 14.2.2.7. Ассоциированные вакцины | 299 |
| 14.2.2.8. Массовые способы вакцинации ... | 299 |
| 14.2.2.9. Условия эффективности применения вакцин | 300 |
| 14.2.2.10. Общая характеристика вакцин, применяемых в практике..... | 301 |
| 14.2.2.11. Показания и противопоказания к вакцинации | 302 |
| 14.2.2.12. Календарь прививок | 302 |
| 14.2.3. Бактериофаги..... | 302 |
| 14.2.4. Пробиотики | 303 |

| | |
|--|------------|
| 14.2.5. Иммунобиологические препараты на основе специфических антител..... | 303 |
| 14.2.5.1. Иммунные сыворотки. | |
| Иммуноглобулины..... | 304 |
| 14.2.5.2. Моноклональные антитела..... | 305 |
| 14.2.5.3. Иммунотоксины. | |
| Иммуноадгезины..... | 305 |
| 14.2.5.4. Абзимы..... | 306 |
| 14.2.6. Иммуномодуляторы..... | 306 |
| 14.2.7. Адаптогены..... | 307 |
| 14.2.8. Диагностические препараты..... | 307 |
| ЧАСТЬ III. ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. | 310 |
| ГЛАВА 15. Микробиологическая и иммуно-логическая диагностика (А.Ю. Миронов) | 310 |
| 15.1. Организация микробиологической и иммунологической лабораторий..... | 310 |
| 15.2. Оснащение микробиологической и иммунологической лабораторий..... | 312 |
| 15.3. Правила работы в микробиологической лаборатории..... | 316 |
| 15.4. Принципы микробиологической диагностики инфекционных болезней..... | 317 |
| 15.5. Методы микробиологической диагностики бактериальных инфекций..... | 320 |
| 15.6. Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций..... | 323 |
| 15.7. Особенности микробиологической диагностики микозов..... | 324 |
| 15.8. Особенности микробиологической диагностики протозойных инфекций..... | 324 |
| 15.9. Принципы иммунологической диагностики болезней человека..... | 324 |
| 15.10. Контроль качества лабораторных исследований..... | 326 |
| ГЛАВА 16. Частная бактериология | 328 |
| 16.1. Кокки (А.Ю. Миронов)..... | 328 |
| 16.1.1. Аэробные грамположительные кокки..... | 329 |
| 16.1.1.1. Семейство <i>Micrococcaceae</i> | 329 |
| 16.1.1.1.1. Стафилококки (род <i>Staphylococcus</i>)..... | 329 |
| 16.1.1.2. Семейство <i>Streptococcaceae</i> | 335 |
| 16.1.1.2.1. Стрептококки (род <i>Streptococcus</i>)..... | 335 |
| 16.1.1.2.2. Энтерококки (род <i>Enterococcus</i>)..... | 339 |
| 16.1.1.2.3. Аэрококки (род <i>Aerococcus</i>), лейконостоки (род <i>Leuconostoc</i>), педиококки (род <i>Pediococcus</i>) и лактококки (род <i>Lactococcus</i>)..... | 341 |
| 16.1.2. Аэробные грамотрицательные кокки..... | 342 |
| 16.1.2.1. Нейссерии (род <i>Neisseria</i>)..... | 342 |
| 16.1.2.1.1. Менингококки..... | 344 |
| 16.1.2.1.2. Гонококки..... | 350 |
| 16.1.3. Анаэробные кокки..... | 354 |
| 16.1.3.1. Анаэробные грамположительные кокки..... | 354 |
| 16.1.3.2. Анаэробные грамотрицательные кокки..... | 355 |
| 16.1.3.2.1. Вейлонеллы (род <i>Veillonella</i>)..... | 355 |
| 16.2. Палочки грамотрицательные факультативно-анаэробные..... | 355 |
| 16.2.1. Энтеробактерии (семейство <i>Enterobacteriaceae</i>) (М.Н. Бойченко)..... | 355 |
| 16.2.1.1. Эшерихии (род <i>Escherichia</i>)..... | 357 |
| 16.2.1.2. Клебсиеллы (род <i>Klebsiella</i>)..... | 360 |
| 16.2.1.3. Шигеллы (род <i>Shigella</i>)..... | 361 |
| 16.2.1.4. Сальмонеллы (род <i>Salmonella</i>)..... | 363 |
| 16.2.1.5. Протеи (род <i>Proteus</i>)..... | 369 |
| 16.2.1.6. Иерсинии (род <i>Yersinia</i>)..... | 369 |
| 16.2.1.6.1. Возбудитель чумы (<i>Y. pestis</i>)..... | 369 |
| 16.2.1.6.2. Энтеропатогенные иерсинии..... | 372 |
| 16.2.1.6.2.1. Возбудитель псевдотуберкулеза (<i>Y. pseudotuberculosis</i>)..... | 373 |
| 16.2.1.6.2.2. Возбудитель кишечного иерсиниоза (<i>Y. enterocolitica</i>)..... | 374 |
| 16.2.2. Вибрионы (семейство <i>Vibrionaceae</i>) (С.А. Дратвин, М.Н. Бойченко)..... | 375 |
| 16.2.2.1. Вибрионы холеры (род <i>Vibrio</i>)..... | 375 |
| 16.2.2.1.1. Возбудитель холеры (<i>Vibrio cholerae</i>)..... | 375 |
| 16.2.2.2. Вибрионы парагемолитические (род <i>Vibrio</i>)..... | 378 |
| 16.2.2.3. Представители родов <i>Aeromonas</i> , <i>Plesiomonas</i> | 379 |
| 16.2.3. Семейство <i>Pasteurellaceae</i> (Е.В. Буданова)..... | 381 |
| 16.2.3.1. Гемофильные бактерии (род <i>Haemophilus</i>)..... | 381 |
| 16.2.3.2. Пастереллы (род <i>Pasteurella</i>)..... | 386 |
| 16.2.4. Другие роды..... | 387 |
| 16.2.4.1. Возбудитель донованоза (род <i>Calymmatobacterium</i>) (Е.П. Пашков)..... | 387 |
| 16.2.4.2. Эйкенеллы (род <i>Eikenella</i>) (Г.Н. Усатова)..... | 387 |
| 16.3. Палочки грамотрицательные аэробные..... | 388 |

| | |
|---|-----|
| 16.3.1. Бордетеллы (род <i>Bordetella</i>) (Е.В. Буданова) | 388 |
| 16.3.2. Бруцеллы (род <i>Brucella</i>) (А.Ю. Миронов) | 393 |
| 16.3.3. Франциселлы (род <i>Francisella</i>) (А.Ю. Миронов) | 396 |
| 16.3.4. Легионеллы (род <i>Legionella</i>) (А.А. Воробьев) | 399 |
| 16.3.5. Бартонеллы (род <i>Bartonella</i>) (А.А. Воробьев, Е.П. Лукин) | 401 |
| 16.3.6. Аэробные неферментирующие грамотрицательные палочки (Е.В. Буданова) | 402 |
| 16.3.6.1. Псевдомонады (род <i>Pseudomonas</i>) | 403 |
| 16.3.6.2. Буркхольдерии (род <i>Burkholderia</i>) (А.А. Воробьев, Е.В. Буданова) | 407 |
| 16.3.6.3. Кингеллы (род <i>Kingella</i>) | 409 |
| 16.3.6.4. Моракселлы (род <i>Moraxella</i>) и бранхамеллы (подрод <i>Branhamella</i>) | 410 |
| 16.3.6.5. Ацинетобактеры (род <i>Acinetobacter</i>) (Г.Н. Усатова) | 411 |
| 16.4. Палочки грамотрицательные анаэробные (Е.П. Пашков, А.Ю. Миронов) | 411 |
| 16.4.1. Бактероиды (род <i>Bacteroides</i>) | 412 |
| 16.4.2. Порфиромонады (род <i>Porphyromonas</i>) | 412 |
| 16.4.3. Превотеллы (род <i>Prevotella</i>) | 414 |
| 16.4.4. Лептотрихии (род <i>Leptotrichia</i>) | 415 |
| 16.4.5. Фузобактерии (род <i>Fusobacterium</i>) | 416 |
| 16.4.6. Селеномонады (род <i>Selenomonas</i>) | 417 |
| 16.5. Палочки спорообразующие грамположительные (А.Ю. Миронов) | 420 |
| 16.5.1. Сибиреязвенные бациллы (род <i>Bacillus</i>) | 420 |
| 16.5.2. Спорообразующие бактерии рода <i>Clostridium</i> | 424 |
| 16.5.2.1. Клостридии столбняка (<i>Clostridium tetani</i>) | 424 |
| 16.5.2.2. Клостридии ботулизма (<i>Clostridium botulinum</i>) | 428 |
| 16.5.2.3. Клостридии газовой гангрены ... | 430 |
| 16.5.2.3.1. <i>Clostridium perfringens</i> | 431 |
| 16.5.2.3.2. <i>Clostridium novyi</i> | 433 |
| 16.5.2.3.3. <i>Clostridium histolyticum</i> | 434 |
| 16.5.2.3.4. <i>Clostridium septicum</i> | 434 |
| 16.5.2.3.5. <i>Clostridium sordellii</i> | 435 |
| 16.5.2.3.6. <i>Clostridium chavoiei</i> | 436 |
| 16.5.2.3.7. <i>Clostridium sporogenes</i> | 436 |
| 16.5.2.3.8. <i>Clostridium fallax</i> | 436 |
| 16.5.2.3.9. <i>Clostridium bifermentans</i> | 436 |
| 16.5.2.4. Клостридии диффициле (<i>Clostridium difficile</i>) | 438 |
| 16.6. Палочки грамположительные правильной формы | 439 |
| 16.6.1. Лактобациллы (род <i>Lactobacillus</i>) (Е.П. Пашков, А.Ю. Миронов) | 439 |
| 16.6.2. Листерии (род <i>Listeria</i>) (М.Н. Бойченко) | 440 |
| 16.7. Палочки грамположительные неправильной формы, ветвящиеся бактерии | 441 |
| 16.7.1. Коринебактерии (род <i>Corynebacterium</i>) (Д.Н. Нечаев) | 441 |
| 16.7.1.1. Возбудитель дифтерии (<i>Corynebacterium diphtheriae</i>) | 442 |
| 16.7.1.2. Коринеформные бактерии | 450 |
| 16.7.2. Микобактерии (сем. <i>Mycobacteriaceae</i>) (Д.Н. Нечаев) | 451 |
| 16.7.2.1. Возбудители туберкулеза (<i>Mycobacterium tuberculosis</i> и др.) | 452 |
| 16.7.2.2. Возбудитель лепры (<i>Mycobacterium leprae</i>) | 461 |
| 16.7.2.3. Возбудители микобактериозов... .. | 466 |
| 16.7.3. Актиномицеты (род <i>Actinomyces</i>) (А.Ю. Миронов) | 469 |
| 16.7.4. Нокардии (род <i>Nocardia</i>) (А.Ю. Миронов) | 471 |
| 16.7.5. Бифидобактерии, эубактерии, пропионибактерии, гарднереллы, мобилункусы (А.Ю. Миронов) | 473 |
| 16.7.5.1. Бифидобактерии (род <i>Bifidobacterium</i>) | 473 |
| 16.7.5.2. Эубактерии (род <i>Eubacterium</i>) | 474 |
| 16.7.5.3. Пропионибактерии (род <i>Propionibacterium</i>) | 474 |
| 16.7.5.4. Гарднереллы (род <i>Gardnerella</i>) | 475 |
| 16.7.5.5. Мобилункусы (род <i>Mobiluncus</i>) | 477 |
| 16.8. Спирохеты и другие спиральные, изогнутые бактерии | 477 |
| 16.8.1. Трепонемы (род <i>Treponema</i>) (М.Н. Бойченко) | 477 |
| 16.8.1.1. Возбудитель сифилиса (<i>T. pallidum</i>) .. | 478 |
| 16.8.1.2. Другие патогенные трепонемы и вызываемые ими заболевания | 480 |
| 16.8.2. Боррелии (род <i>Borrelia</i>) (М.Н. Бойченко) | 480 |
| 16.8.2.1. Возбудители болезни Лайма (<i>B. burgdorferi</i> , <i>B. garini</i> , <i>B. afzelii</i>) | 480 |

| | |
|--|-----|
| 16.8.2.2. Возбудители возвратных тифов (<i>B. recurrentis</i> , <i>B. duttoni</i> , <i>B. persica</i>) | 482 |
| 16.8.3. Лептоспиры (род <i>Leptospira</i>) (<i>М.Н. Бойченко</i>) | 483 |
| 16.8.4. Кампилобактерии (род <i>Campylobacter</i>) (<i>Ю.В. Несвижский</i>) | 484 |
| 16.8.5. Хеликобактерии (род <i>Helicobacter</i>) (<i>Ю.В. Несвижский</i>) | 485 |
| 16.8.6. Спириллы (род <i>Spirillum</i>) (<i>Ю.В. Несвижский</i>) | 486 |
| 16.9. Риккетсии (семейство <i>Rickettsiaceae</i>) (<i>А.А. Воробьев, Е.П. Лукин</i>) | 487 |
| 16.9.1. Риккетсии группы сыпного тифа | 492 |
| 16.9.2. Риккетсии группы клещевых риккетсиозов | 494 |
| 16.9.3. Ориенции (возбудители лихорадки цугугамуши) | 498 |
| 16.9.4. Анаплазмы, неориккетсии и эрлихии (семейство <i>Anaplasmataceae</i>) | 499 |
| 16.10. Коксииеллы. Возбудитель лихорадки Ку (<i>Coxiella burnetii</i>) (<i>А.А. Воробьев, Е.П. Лукин</i>) | 502 |
| 16.11. Хламидии (семейство <i>Chlamydiaceae</i>) (<i>Е.В. Буданова, Н.Г. Ожерельева</i>) | 503 |
| 16.11.1. Возбудители трахомы, конъюнктивита, урогенитального хламидиоза и др. (серовары <i>Chlamydia</i> <i>trachomatis</i>) | 506 |
| 16.11.2. Возбудители пневмонии, бронхита (<i>C. pneumoniae</i>) | 510 |
| 16.11.3. Возбудители орнитоза (серовары <i>C. psittaci</i>) | 511 |
| 16.12. Микоплазмы (<i>А.Ю. Миронов</i>) | 512 |
| 16.13. Общая характеристика бактериальных зоонозных инфекций (<i>А.Ю. Миронов</i>) | 518 |
| ГЛАВА 17. Частная вирусология | 521 |
| 17.1. РНК-содержащие вирусы | 521 |
| 17.1.1. Пикорнавирусы (семейство <i>Picornaviridae</i>) (<i>Е.П. Пашков</i>) | 521 |
| 17.1.1.1. Энтеровирусы | 522 |
| 17.1.1.1.1. Вирусы полиомиелита | 523 |
| 17.1.1.1.2. Вирусы Коксаки А и В | 524 |
| 17.1.1.1.3. Вирусы группы ЕСНО | 525 |
| 17.1.1.2. Риновирусы | 525 |
| 17.1.1.3. Вирусы ящура | 525 |
| 17.1.1.4. Вирус гепатита А | 525 |
| 17.1.2. Реовирусы (семейство <i>Reoviridae</i>) (<i>А.С. Быков</i>) | 527 |
| 17.1.2.1. Ротавирусы (род <i>Rotavirus</i>) | 528 |
| 17.1.3. Буньявирусы (семейство <i>Bunyaviridae</i>) (<i>Д.Н. Нечаев</i>) | 529 |
| 17.1.3.1. Вирусы комплекса калифорнийского энцефалита | 531 |
| 17.1.3.2. Вирус лихорадки Рифт-валли | 533 |
| 17.1.3.3. Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго | 535 |
| 17.1.3.4. Вирусы ГЛПС и синдрома хантавирусной пневмонии | 536 |
| 17.1.4. Тогавирусы (семейство <i>Togaviridae</i>) (<i>Д.Н. Нечаев</i>) | 538 |
| 17.1.4.1. Вирус лихорадки Синдбис | 541 |
| 17.1.4.2. Вирус лихорадки леса Семлики | 541 |
| 17.1.4.3. Вирус лихорадок Чикунгунья и О Ньонг-Ньонг | 542 |
| 17.1.4.4. Вирусы энцефаломиелитов лошадей | 542 |
| 17.1.4.5. Вирус краснухи | 544 |
| 17.1.5. Флавивирусы (семейство <i>Flaviviridae</i>) (<i>Д.Н. Нечаев</i>) | 547 |
| 17.1.5.1. Вирус желтой лихорадки | 550 |
| 17.1.5.2. Вирус клещевого энцефалита | 551 |
| 17.1.5.3. Вирус омской геморрагической лихорадки | 553 |
| 17.1.5.4. Вирус болезни леса Киассанур... .. | 555 |
| 17.1.5.5. Вирус лихорадки денге | 556 |
| 17.1.5.6. Вирус японского энцефалита | 558 |
| 17.1.5.7. Вирус лихорадки Западного Нила ... | 559 |
| 17.1.6. Ортомиксовирусы (вирусы гриппа) (<i>Н.В. Хорошко, Н.Г. Ожерельева</i>) | 560 |
| 17.1.7. Парамиксовирусы (семейство <i>Paramyxoviridae</i>) (<i>А.С. Быков, Н.Г. Ожерельева</i>) | 566 |
| 17.1.7.1. Вирусы парагриппа | 567 |
| 17.1.7.2. Вирус эпидемического паротита | 568 |
| 17.1.7.3. Вирус кори и ПСПЭ | 568 |
| 17.1.7.4. Респираторно-синцитиальный вирус | 570 |
| 17.1.8. Рабдовирусы (семейство <i>Rhabdoviridae</i>) (<i>А.С. Быков</i>) | 569 |
| 17.1.8.1. Вирус бешенства | 571 |
| 17.1.8.2. Вирус везикулярного стоматита ... | 574 |
| 17.1.9. Филовирусы (семейство <i>Filoviridae</i>) (<i>А.А. Воробьев</i>) | 574 |
| 17.1.9.1. Вирусы Марбург и Эбола | 574 |
| 17.1.10. Коронавирусы (семейство <i>Coronaviridae</i>) (<i>Г.Н. Усатова</i>) | 575 |
| 17.1.11. Ретровирусы (семейство <i>Retroviridae</i>) (<i>А.А. Воробьев</i>) | 576 |
| 17.1.11.1. Вирус иммунодефицита человека | 577 |

| | |
|--|-----|
| 17.1.12. Ареновирусы (семейство <i>Arenaviridae</i>) (А.С. Быков, А.А. Воробьев) | 581 |
| 17.1.12.1. Вирусы лимфоцитарного хориоменингита, Ласса, Хунин, Мачупо и др..... | 582 |
| 17.1.13. Калицивирусы (семейство <i>Caliciviridae</i>) (А. С. Быков)..... | 583 |
| 17.1.13.1. Вирус гепатита Е | 583 |
| 17.2. ДНК-содержащие вирусы | 584 |
| 17.2.1. Парвовирусы (семейство <i>Parvoviridae</i>) (А.С. Быков) | 584 |
| 17.2.2. Паповавирусы (семейство <i>Papovaviridae</i>) (А.С. Быков) | 585 |
| 17.2.2.1. Папилломавирусы человека | 586 |
| 17.2.2.2. Полиомавирусы человека..... | 586 |
| 17.2.3. Аденовирусы (семейство <i>Adenoviridae</i>) (С.А. Дратвин) | 587 |
| 17.2.4. Гепаднавирусы (семейство <i>Hepadnaviridae</i> , вирус гепатита В) (М.Н. Бойченко) | 589 |
| 17.2.5. Герпесвирусы (семейство <i>Herpesviridae</i>) (А.С. Быков) | 592 |
| 17.2.5.1. Вирусы простого герпеса | 594 |
| 17.2.5.2. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса | 596 |
| 17.2.5.3. Вирус Эпштейна—Барр | 597 |
| 17.2.5.4. Вирус цитомегалии | 598 |
| 17.2.5.5. Герпесвирус человека типов 6, 7 и 8 | 599 |
| 17.2.6. Поксвирусы (семейство <i>Poxviridae</i>) (А.С. Быков) | 600 |
| 17.2.6.1. Вирус натуральной оспы и другие вирусы..... | 600 |
| 17.2.7. Цирциновирусы (семейство <i>Circinoviridae</i> — ТТВ) | 603 |
| 17.3. Медленные вирусные инфекции и прионные болезни (А.С. Быков, А.А. Воробьев)..... | 603 |
| 17.4. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций (Н.В. Хорошко, Н.Г. Ожерельева) | 606 |
| 17.5. Возбудители вирусных острых кишечных инфекций (Е.П. Пашков)..... | 610 |
| 17.6. Возбудители парентеральных вирусных гепатитов В, D, С, G (М.Н. Бойченко)..... | 610 |
| 17.7. Онкогенные вирусы (М.Н. Бойченко).... | 612 |
| ГЛАВА 18. Частная микология | 616 |
| 18.1. Возбудители поверхностных микозов (А.С. Быков) | 616 |
| 18.1.1. Возбудитель разноцветного лишая (<i>Malassezia furfur</i>) | 616 |
| 18.1.2. Возбудитель черного лишая (<i>Exophiala werneckii</i>)..... | 617 |
| 18.1.3. Возбудитель черной пьедыры (<i>Piedraia hortae</i>)..... | 617 |
| 18.1.4. Возбудитель белой пьедыры (<i>Trichosporon beigeli</i>) | 617 |
| 18.2. Возбудители эпидермофитий (А.С. Быков) .. | 617 |
| 18.2.1. Возбудители микроспории (род <i>Microsporium</i>)..... | 621 |
| 18.2.2. Возбудители трихофитии (род <i>Trichophyton</i>) | 621 |
| 18.2.3. Возбудитель фавуса (<i>Trichophyton schoenleinii</i>) | 622 |
| 18.2.4. Возбудитель эпидермофитии паховой (<i>Epidermophyton floccosum</i>) | 622 |
| 18.2.5. Возбудитель эпидермофитии стоп (<i>Trichophyton interdigitale</i>) | 622 |
| 18.2.6. Возбудитель руброфитии (<i>Trichophyton rubrum</i>) | 622 |
| 18.3. Возбудители подкожных, или субкутанных, микозов (А.С. Быков) | 622 |
| 18.3.1. Возбудитель споротрихоза (<i>Sporothrix schenckii</i>)..... | 623 |
| 18.3.2. Возбудители хромобластомикоза | 624 |
| 18.3.3. Возбудители феогифомикоза | 624 |
| 18.3.4. Возбудители мицетомы | 625 |
| 18.4. Возбудители системных, или глубоких, микозов (А.Ю. Миронов) | 625 |
| 18.4.1. Возбудители гистоплазмоза (<i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>H. duboisii</i>) | 625 |
| 18.4.2. Возбудитель бластомикоза (<i>Blastomyces dermatitidis</i>) | 627 |
| 18.4.3. Возбудитель кокцидиоидоза (<i>Coccidioides immitis</i>)..... | 628 |
| 18.4.4. Возбудитель паракокцидиоидоза (<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>)..... | 630 |
| 18.4.5. Возбудитель криптококкоза (<i>Cryptococcus neoformans</i>) | 631 |
| 18.4.6. Возбудители адиаспиромикоза (<i>Emmonsia crescens</i> , <i>E. parva</i>) | 633 |
| 18.5. Возбудители оппортунистических микозов (А.С. Быков) | 634 |
| 18.5.1. Возбудители кандидоза (род <i>Candida</i>) | 634 |
| 18.5.2. Возбудители зигомикоза | 636 |

| | |
|--|-----|
| 18.5.3. Возбудители аспергиллеза (род <i>Aspergillus</i>) | 636 |
| 18.5.4. Возбудители пенициллиоза (род <i>Penicillium</i>) | 637 |
| 18.5.5. Возбудители фузариоза (род <i>Fusarium</i>) | 638 |
| 18.5.6. Возбудитель пневмоцистоза (<i>Pneumocystis carinii</i>) | 638 |
| 18.6. Возбудители микотоксикозов (А.С. Быков) | 639 |
| 18.7. Неклассифицированные патогенные грибы (А.С. Быков) | 641 |
| ГЛАВА 19. Частная протозоология (А.С. Быков) | 643 |
| 19.1. Саркодовые (амебы) | 643 |
| 19.1.1. Возбудитель амебиоза (<i>Entamoeba histolytica</i>) | 644 |
| 19.1.2. Свободноживущие патогенные амебы | 645 |
| 19.2. Жгутиконосцы | 646 |
| 19.2.1. Лейшмании (род <i>Leishmania</i>) | 646 |
| 19.2.2. Трипаносомы (род <i>Trypanosoma</i>) .. | 648 |
| 19.2.3. Лямблии, или гиардии (род <i>Lambliа</i> , или <i>Giardia</i>) | 649 |
| 19.2.4. Трихомонады (род <i>Trichomonas</i>) .. | 650 |
| 19.3. Споровики | 651 |
| 19.3.1. Плазмодии малярии (род <i>Plasmodium</i>) .. | 651 |
| 19.3.2. Токсоплазмы (род <i>Toxoplasma</i>) | 654 |
| 19.3.3. Саркоцисты (род <i>Sarcocystis</i>) | 656 |
| 19.3.4. Изоспоры (род <i>Isospora</i>) | 657 |
| 19.3.5. Криптоспоридии (род <i>Cryptosporidium</i>) | 657 |
| 19.3.6. Циклоспоры (род <i>Cyclospora</i>) | 659 |
| 19.3.7. Бабезии (род <i>Babesia</i>) | 659 |
| 19.4. Ресничные | 660 |
| 19.4.1. Балантидии (род <i>Balantidium</i>) | 660 |
| 19.5. Микроспоридии (тип <i>Microspora</i>) | 661 |
| 19.6. Блостоцисты (род <i>Blastocystis</i>) | 662 |
| ГЛАВА 20. Клиническая микробиология (А.Ю. Миронов) | 663 |
| 20.1. Понятие о внутрибольничной инфекции | 663 |
| 20.2. Понятие о клинической микробиологии | 664 |
| 20.3. Этиология ВБИ | 664 |
| 20.4. Эпидемиология ВБИ | 665 |
| 20.5. Патогенез ВБИ | 666 |
| 20.6. Клиника ВБИ | 666 |
| 20.7. Микробиологическая диагностика ВБИ | 667 |
| 20.7.1. Правила забора, хранения и транспортировки материала | 668 |
| 20.7.2. Обобщенная (типовая) схема выделения возбудителей оппортунистических инфекций | 669 |
| 20.7.3. Критерии этиологической значимости выделенной чистой культуры .. | 670 |
| 20.8. Лечение | 671 |
| 20.9. Профилактика | 672 |
| 20.10. Диагностика бактериемии и сепсиса ... | 672 |
| 20.11. Диагностика инфекций мочевыводящих путей | 674 |
| 20.12. Диагностика инфекций нижних дыхательных путей | 676 |
| 20.13. Диагностика инфекций верхних дыхательных путей | 678 |
| 20.14. Диагностика менингитов | 679 |
| 20.15. Диагностика воспалительных заболеваний женских половых органов | 680 |
| 20.16. Диагностика острых кишечных инфекций и пищевых отравлений | 681 |
| 20.17. Диагностика раневой инфекции | 683 |
| 20.18. Диагностика воспалений глаз и ушей | 684 |
| 20.19. Микрофлора полости рта и ее роль в патологии человека (Ю.С. Кривошеин, И.В. Смирнов, Г.Н. Усатова) | 685 |
| 20.19.1. Роль микроорганизмов при заболеваниях челюстно-лицевой области | 687 |
| ГЛАВА 21. Клиническая иммунология (А.В. Караулов) | 691 |
| 21.1. Понятие о клинической иммунологии | 691 |
| 21.2. Цели и задачи иммунокоррекции | 691 |
| 21.3. Основные классы иммуномодуляторов и их эффективность .. | 692 |
| 21.4. Принципы использования иммуномодуляторов | 693 |
| 21.5. Оценка различных методов мониторинга при иммунокоррекции | 693 |
| Предметный указатель | 695 |

ПРЕДИСЛОВИЕ

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

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

Поскольку микробиология и иммунология лежат на стыке клинических, медико-профилактических и теоретических дисциплин, преподавание их студентам медицинских вузов (в медицинских академиях, университетах, институтах) ведется на всех факультетах (лечебном, педиатрическом, стоматологическом, медико-профилактическом, фармацевтическом, сестринском, факультете подготовки научных и педагогических кадров). Созданы

республиканские, утвержденные Минздравом РФ, программы по преподаванию микробиологии (бактериологии, вирусологии, микологии, протозологии) и иммунологии. Эти программы разработаны с учетом профиля, специфики и объема знаний, необходимого студентам каждого факультета.

В соответствии с этими программами написаны учебники, по которым обучаются в настоящее время студенты медвузов. За последнее время выпущены три издания учебника «Микробиология» для фармацевтических факультетов и медвузов (Воробьев А. А., Быков А. С., Пашков Е. П., Рыбакова А. М., Дратвин С. А., Ожерельева Н. Г. М.: Медицина, 1994, 1998, 2003); учебник «Микробиология и иммунология» для сестринского факультета с высшим сестринским образованием под ред. А. А. Воробьева (М.: Медицина, 1999, 2005); два издания «Атласа по микробиологии и иммунологии» (Изд-во «Диаморф», 2001, 2002; изд-во МИА, 2003) под ред. А. А. Воробьева и А. С. Быкова; учебник «Медицинская микробиология» под ред. В. И. Покровского (Изд-во «ГЕОТАР МЕД», 2001); учебное пособие «Медицинская микробиология, вирусология и иммунология» Л. Б. Борисова (М.: МИА, 2001); «Медицинская и санитарная микробиология» А. А. Воробьева, Ю. С. Кривошеина, В. П. Широбокова (М.: Изд-во «Академия», 2003).

Однако некоторые учебники, по которым учатся студенты, отличаются по объему и глубине изложения и не всегда соответствуют новым программам по преподаванию микробиологии и иммунологии. Более того, появились новые данные по классификации микробов (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition, 2001), а также решения 7-го Международного Конгресса по таксономии вирусов о вступлении в силу новой классификации вирусов с 1 января 2002 г. Далее, появился перечень микробов и диагностических исследований, соответствующий приказу МЗ РФ за № 64 от 21.02.00 «Об утверждении

номенклатуры клинических лабораторных исследований».

Учитывая, что микробиология и иммунология так же, как и другие науки, стремительно развиваются, а объем знаний удваивается через каждые 5–10 лет, для преподавания этих дисциплин на современном научном уровне необходимо, чтобы учебники обновлялись минимум каждые 5 лет. Исходя из этого, коллектив кафедры микробиологии с вирусологией и иммунологией Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова издал ряд указанных выше учебников и учебных пособий, а также взял на себя труд по написанию нового учебника по микробиологии и иммунологии, учитывающего официально утвержденные программы и запросы по преподаванию этих дисциплин на всех факультетах медицинских вузов. Мы отчетливо понимали, что создание такого универсального учебника — задача довольно сложная и что, конечно же, он не сможет удовлетворить в полной мере и студентов и преподавателей

всех факультетов. Однако мы надеемся, что изложенные в данном учебнике материалы послужат базовыми для студентов, обучающихся на всех факультетах медицинских вузов.

Авторами учебника являются сотрудники кафедры, имеющие большой опыт преподавания: академик РАМН, профессор А. А. Воробьев; профессора А. С. Быков, Ю. В. Несвижский, М. Н. Бойченко, С. А. Дратвин, А. Ю. Миронов, Е. П. Пашков; кандидаты медицинских наук Н. Г. Ожерельева, Д. Н. Нечаев, Е. В. Буданова, Г. Н. Усатова, Н. В. Хорошко, Н. В. Давыдова, А. М. Рыбакова, а также принявшие участие в написании отдельных разделов учебника профессора А. В. Караулов, С. А. Кетлинский, Е. П. Лукин, Ю. С. Кривошеин, И. В. Смирнов.

Во втором издании учебника мы внесли коррективы по некоторым разделам, связанные с появлением новых данных в области микробиологии и иммунологии, а также расширили список сокращений, приведенный в первом издании учебника.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

| | | | |
|---------------|--|--------------------|--|
| АГ | — антиген | ПСПЭ | — подострый склерозирующий панэнцефалит |
| АПК | — антигенпрезентирующая клетка | ПФ | — пентозофосфат |
| АТ | — антитела | ПЦР | — полимеразная цепная реакция |
| АТФ | — аденозинтрифосфат | РА | — реакция агглютинации |
| БГКП | — бактерии группы кишечной палочки | РАГА | — реакция агрегат-гемагглютинации |
| ВБИ | — внутрибольничная инфекция | РБН | — реакция биологической нейтрализации |
| ВГВ | — вирус гепатита В | РБТЛ | — реакция бласттрансформации лимфоцитов |
| ВГС | — вирус гепатита С | РГА | — реакция гемагглютинации |
| ВГД | — вирус гепатита D | РИА | — радиоиммунный анализ |
| ВИЧ | — вирус иммунодефицита человека | РИТ | — реакция иммобилизации трепонем |
| ВПГ | — вирус простого герпеса | РИФ | — реакция иммунофлюоресценции |
| ВПГЧ | — вирус парагриппа человека | РКЭ | — развивающийся куриный эмбрион |
| ВЭБ | — вирус Эпштейна–Барр | РН | — реакция нейтрализации |
| ГВЗ | — гнойно-воспалительное заболевание | РНГА (РПГА) | — реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации |
| ГВЧ | — герпесвирус человека | РНИФ | — реакция непрямой иммунофлюоресценции |
| ГЖХ | — газожидкостная хроматография | РНК | — рибонуклеиновая кислота |
| ГЗТ | — гиперчувствительность замедленного типа | РНП | — рибонуклеопротеин |
| ГЛПС | — геморрагическая лихорадка с почечным синдромом | РП | — реакция преципитации |
| ГМ-КСФ | — гранулоцит-моноцит-колониестимулирующий фактор | РРГ | — реакция радикального гемолиза |
| ГНТ | — гиперчувствительность немедленного типа | РС-вирус | — респираторно-синцитиальный вирус |
| ГТФ | — гуанозинтрифосфат | РСК | — реакция связывания комплемента |
| ГЦ | — гуанинцитозин | РТГА | — реакция торможения гемагглютинации |
| ДНК | — дезоксирибонуклеиновая кислота | СПИД | — синдром приобретенного иммунодефицита |
| ЕК | — естественный киллер | ТФР | — трансформирующий фактор роста |
| ЖКТ | — желудочно-кишечный тракт | УПМ | — условно-патогенные микробы |
| ЗППП | — заболевания, передающиеся половым путем | ФДФ | — фруктозодифосфат |
| ИБ | — иммуноблоттинг | ФНО | — фактор некроза опухолей |
| ИБП | — иммунобиологические препараты | цАМФ | — циклический аденозинмонофосфат |
| ИЛ | — интерлейкин | ЦМВ | — цитомегаловирус |
| ИФА | — иммуноферментный анализ | ЦНС | — центральная нервная система |
| ИФН | — интерферон | ЦПД | — цитопатогенное действие |
| КДФГ | — 2-кето-3-дезоксиглюконовая кислота | ЦПМ | — цитоплазматическая мембрана |
| КОЕ | — колониобразующая единица | ЦПЭ | — цитопатический эффект |
| КСФ | — колониестимулирующий фактор | ЭГКП | — энтерогеморрагические кишечные палочки |
| ЛПС | — липополисахарид | ЭИКП | — энтероинвазивные кишечные палочки |
| МПА | — мясопептонный агар | ЭПКП | — энтеропатогенные кишечные палочки |
| МПБ | — мясопептонный бульон | ЭТКП | — энтеротоксигенные кишечные палочки |
| ОКИ | — острые кишечные инфекции | BCR | — В-клеточный рецептор |
| ОРВИ | — острая респираторная вирусная инфекция | TCS | — Т-клеточный рецептор |
| ОРЗ | — острое респираторное заболевание | TTV | — ТТ-вирус |

ЧАСТЬ I

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

ГЛАВА 1. ВВЕДЕНИЕ В МИКРОБИОЛОГИЮ И ИММУНОЛОГИЮ

1.1. Мир микробов и его роль в жизни человека

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

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

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

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

(вирусы) до 10 мкм и более (бактерии, грибы, простейшие).

1.2. Представители мира микробов

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

Сложность молекулярно-биологической организации, биологические особенности представителей микромира обусловлены объемом, т. е. строением и составом, их генома. Так, геном бактерий и грибов включает до 5000 генов,

вирусов — до 100 генов, а простейших — примерно 5000–10 000 генов. Для сравнения, геном человека включает 35–40 тыс. генов (см. гл. 6).

1.3. Распространенность микробов

Микробы чрезвычайно широко распространены. Они обитают в почве, воде, атмосфере (даже в космосе), а также в организме человека, животных, растений. Видовой состав их очень разнообразен. Например, только бактерий насчитывается более 100 000 видов, грибов — до 250 000 видов. В организме каждого человека обитает до 10^{13-14} только бактерий, не считая грибов, вирусов и простейших, т. е. на каждую клетку организма человека приходится более чем одна бактериальная клетка. Если сложить число бактерий, обитающих в проживающей на Земле человеческой популяции, то мы получим огромную цифру — порядка 10^{25} бактерий. Микробы, населяющие организм каждого человека, составляют его микроэкологию, играющую большую роль как в обеспечении нормальной жизнедеятельности организма, так и в патологии человека (см. гл. 4). Огромное число микробов, обитающих в окружающей среде (почва, вода, атмосфера, жилые помещения, пищевые продукты и т. д.), а их количество огромно, составляют макроэкологию, которая также влияет на биологические и природные процессы на планете, прежде всего на санитарное благополучие той среды, в которой обитает человек. Подсчитано, что общая биомасса микробов даже превышает биомассу растений и животных.

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

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

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

1.4. Роль микробов в патологии человека

Взаимоотношение между организмом и микробами может иметь различный характер, т. е. носить форму паразитизма, когда микроб, существуя за счет организма, наносит ему ущерб; или форму симбиоза, выгодного как для организма, так и микроба, т. е. комменсализма. В соответствии с этим, это сожительство может носить положительный или отрицательный характер. Поэтому все микробы подразделяют на патогенные (от греч. *patos* — болезнь), или болезнетворные, т. е. способные вызвать инфекционное заболевание; условно-патогенные, т. е. которые могут вызвать болезни при определенных условиях; сапрофиты (от греч. *sapros* — гнилой и *phyton* — растение), т. е. болезнетворные (непатогенные) микробы, не вызывающие заболеваний у человека.

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

1.5. Микробиология — наука о микробах

Существование мира микробов явилось причиной появления специальной науки микробиоло-

ГЛАВА 1. Введение в микробиологию и иммунологию

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

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

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

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

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

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

Общим недостатком приведенных выше определений является то, что в них предста-

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

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

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

Микробиология, как это видно из таблицы, является весьма разветвленной наукой, имеющей связи со многими другими биологическими и медицинскими науками, прежде всего клиническими дисциплинами (инфекционные болезни, хирургия, внутренние болезни, акушерство и гинекология, заболевания мочеполовой системы и др.), медико-профилактическими дисциплинами (эпидемиология, гигиена, экология), биотехнологией, а также фундаментальными науками (молекулярная биология, генетика, иммунология, биохимия).

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

1.6. Иммунология: сущность и задачи

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

филактика и лечение врожденных и приобретенных иммунодефицитов, генотерапия и генопрофилактика многих болезней, связанных с поражением иммунной системы.

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

1.7. Связь микробиологии с иммунологией

С открытием микробов и установлением их этиологической роли в возникновении инфекционных болезней исследователи начали искать пути предупреждения и лечения болезней, вызываемых микробами. Изучались способы уничтожения микробов в окружающей среде (дезинфекция), пресечение путей передачи инфекционного начала, ранней диагностики инфекций, установление роли факторов патогенности и вирулентности бактерий и вирусов в развитии заболевания, патогенеза инфекционного процесса, средств антимикробной терапии и профилактики, проблемы иммунопрофилактики инфекционных болезней. Фундаментальные исследования патогенности, антигенных свойств, изменчивости, штаммовых различий, чувствительности к химиопрепаратам и антибиотикам возбудителей инфекционных болезней позволили разработать эффективные противомикробные препараты (химиопрепараты, антибиотики, дезинфектанты), создать многочисленные профилактические и терапевтические иммунобиологические препараты (вакцины, сывороточные препараты, иммуномодуляторы), которые являются основными и довольно эффективными средствами, позволившими снизить инфекционную заболеваемость людей, и даже ликвидировать некоторые инфекции (натуральную оспу, полиомиелит).

1.8. История развития микробиологии и иммунологии

Микробы появились на нашей планете раньше, чем животные и человек. Доказано, что патогенные микробы, вызывавшие инфекционные болезни человека, существовали и в древние времена. Об этом свидетельствует обнаружение антигенов болезнетворных бактерий, например возбудителя чумы, а также следы специфичес-

ких поражений (туберкулез костей) в останках древних захоронений (мумиях). Уже до открытия микробов люди догадывались о существовании каких-то внешних специфических факторов, вызывающих болезни. Следовательно, можно сказать, что микробиология возникла еще до нашей эры и прошла длительный путь развития. В соответствии с уровнем знаний о микробах, с появлением новых принципиальных открытий и методов, а также формированием новых направлений историю микробиологии можно разбить на пять периодов: 1) эвристический; 2) морфологический; 3) физиологический; 4) иммунологический; 5) молекулярно-генетический.

1.8.1. Эвристический период

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

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

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

1.8.2. Морфологический период

Этот период начинается с конца XVII — начала XVIII в., когда голландский естествоиспытатель Антоний ван Левенгук (1632–1723)

открыл бактерии. А. Левенгук родился и умер в маленьком голландском городке Делфте. Продавец сукна, он в свободное от работы время увлекался модной тогда в Голландии шлифовкой стекол и конструированием линз для микроскопов. Созданный им микроскоп увеличивал предметы в 150–300 раз. Рассматривая все подряд (воду, налет с зубов, испражнения, кровь, сперму и др.), Левенгук обнаружил множество живых «зверюшек», которых он назвал «анималькулюсы». Систематически делая зарисовки и описания «анималькулюсов», он направлял длинные письма с результатами своих наблюдений в Лондонское королевское научное общество. Эти письма сначала печатались в научных журналах, а потом, в 1695 г., были изданы на латинском языке отдельной большой книгой под названием «Тайны природы, открытые Антони ван Левенгуком при помощи микроскопов». Конечно, наблюдения Левенгука были наивны и примитивны, однако зарисованные им формы микроорганизмов были удивительно правдивы. Таким образом, Левенгук открыл и увидел мир микробов; и это положило начало так называемому морфологическому периоду в развитии микробиологии, который продолжается и до наших дней. Первым из россиян, кто увидел микробов, был Петр Великий, посетивший Левенгука в Голландии; он же впервые привез микроскоп в Россию, а первым исследователем микробов был врач М. М. Тереховский (1740–1796). Кстати, он отвергал теорию о самозарождении жизни.

После открытия Левенгука началось победное шествие микробиологии. Открывались все новые бактерии, грибы, простейшие, а в конце XIX в. были открыты вирусы. Однако длительное время не ясна была роль микробов в природе и в патологии человека. Чтобы доказать этиологическую роль микробов в патологии человека, велись исследования на животных, а также героические опыты по самозаражению. Следует отметить смелые опыты русского эпидемиолога Данилы Самойловича (1724–1810), который заразил себя отделяемым бубона больного человека чумой, в результате чего заболел, но, к счастью, остался жив. Исторически известен ряд таких же героических опытов по самозаражению материалами или культурами соответствующих возбудителей, взятыми

от больного холерой (Петенкофер, И. И. Мечников, Д. К. Заболотный, И. В. Савченко, Н. Ф. Гамалея), сыпным тифом (Г. Н. Минх, О. О. Мочутковский), чумой (В. П. Смирнов), вирусом полиомиелита (М. П. Чумаков), вирусом гепатита А (М. С. Балоян) и др.

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

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

Весь мир в 1992 г. отметил 100-летие со дня открытия вирусов Д. И. Ивановским. Этот микробиолог-исследователь закончил жизнь в безвестности и нищете, а в 1920 г., в период врангелевщины в Крыму, умер при неизвестных обстоятельствах.

Открытие и появление новых видов бактерий, вирусов, грибов, простейших, а также изменение патогенных свойств уже известных микробов вполне закономерно, так как, с одной стороны, совершенствуются методы микробиологии по их выявлению, индикации и идентификации, а с другой — представители микромира эволюционируют в соответствии с общими законами биологии и генетики. Только за последние 20–30 лет открыто новых или выявлено измененных вариантов известных уже микробов порядка трех десятков. Все

они объединены в группу эмерджентных, т. е. опасных непредсказуемых инфекций. Так, открыты вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусы геморрагических лихорадок (Марбург, Ласса, Эбола и др.), патогенные бактерии, вызывающие болезнь легионеров, лихорадку Лайма, Корона-вирусы, вызывающие атипичную пневмонию и др. Многие бактерии и вирусы в результате генетических трансформаций приобрели иные свойства, стали патогенными для человека (вирус оспы обезьян, хеликобактер пилори, вызывающий язву желудка и двенадцатиперстной кишки и др.). Получили эпидемическое распространение парентеральные гепатиты, туберкулез, хламидиоз. Некоторые представители микробов вообще исчезли с нашей планеты. Так, благодаря глобальной массовой вакцинации полностью исчезла натуральная оспа, исчезла, свирепствовавшая среди людей в средние века, болезнь потница, ставится задача ликвидации полиомиелита и других инфекций.

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

1.8.3. Физиологический период

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

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

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

позволило ему стать основоположником ряда наук: микробиологии, иммунологии, биотехнологии, дезинфектологии, стереохимии.

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

В 26-летнем возрасте Л. Пастер защитил докторскую диссертацию «О мышьяковистых соединениях калия, натрия и аммиака», в которой он доказал, что при выращивании грибов усваиваются лишь определенные стереоизомеры. Таким образом, Л. Пастер стал основоположником стереохимии.

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

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

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

Доказательство роли микробов в ферментативных процессах брожения, гниения, разложения белков и сахаров привело Пастера к решению ряда практических задач, в частности к разработке способа борьбы с болезнями вина путем прогревания его при 50–60 °С с целью уничтожения бактерий, вызывавших

брожение. Этот способ, названный затем пастеризацией, широко используется в наши дни в пищевой промышленности, а также послужил основанием для разработки принципов асептики и дезинфекции.

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

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

Изучение биологических и физиологических свойств микроорганизмов, продолжавшееся с конца XIX в. и течение XX в. привело к познанию глубинных процессов жизнедеятельности бактерий, вирусов и простейших, о чем будет сказано в разд. 1.8.4.

1.8.4. Иммунологический период

Этот период в развитии микробиологии связан прежде всего с именами французского ученого Л. Пастера, российского биолога И. И. Мечникова (1843–1916) и немецкого врача Пауля Эрлиха (1854–1915). Этим ученым с полным правом можно назвать основоположниками иммунологии, так как Л. Пастер открыл и разработал принцип вакцинации,

И. И. Мечников — фагоцитарную теорию, которая явилась основой клеточной иммунологии, и П. Эрлих высказал гипотезу об антителах и развил гуморальную теорию иммунитета.

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

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

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

Благодарное человечество за сделанные великим французом открытия на средства, собранные по международной подписке, в 1888 г. построило в Париже Пастеровский институт, который успешно работает и в наши дни. В частности, именно в Пастеровском институте в 1983 г. Люкс Монтанье открыл вирус

иммунодефицита человека одновременно с американским ученым Робертом Галло. Среди жертвователей на организацию института были и простые рабочие, и банкиры, и цари, и императоры различных стран. Один из щедрых взносов сделал русский царь. В Пастеровском институте работали такие выдающиеся ученые, как И. И. Мечников (26 лет был заместителем Л. Пастера), Э. Ру, А. Кальмет (создал вакцину БЦЖ), А. Лаверан (открыл плазмодия малярии), наш соотечественник А. М. Безредка (предложил метод десенсибилизации), Ж. Борде (иммунохимик), Г. Рамон (разработал метод получения анатоксинов), наши соотечественники Н. Ф. Гамалея (вакцинация против бешенства, принцип получения химических вакцин), С. Н. Виноградский (почвенная микробиология) и многие другие.

Огромный вклад в развитие иммунологии внес И. И. Мечников, который обосновал учение о фагоцитозе и фагоцитах, доказал, что фагоцитоз — явление универсальное, наблюдается у всех животных, включая простейших, и проявляется по отношению ко всем чужеродным веществам (бактерии, органические и неорганические частицы и т. д.). Теория фагоцитоза заложила краеугольный камень клеточной теории иммунитета и процесса иммуногенеза в целом с учетом клеточных и гуморальных факторов. За разработку теорий фагоцитоза И. И. Мечникову в 1908 г. присуждена Нобелевская премия. Л. Пастер на своем портрете, подаренном И. И. Мечникову, написал: «На память знаменитому Мечникову — творцу фагоцитарной теории».

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

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

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

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

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

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

1.8.5. Молекулярно-генетический период

Развитие во второй половине XX в. молекулярной биологии, генетики, биотехнологии, геномной и белковой инженерии, цитологии и других наук дало новый толчок к развитию микробиологии и иммунологии, особенно молекулярных и генетических аспектов этих наук. В этот период была расшифрована молекулярная структура многих бактерий и вирусов, строение и состав их генома, структура антигенов и антител, факторов патогенности бактерий и вирусов, а также факторов иммунной защиты (комплемент, интерферон, иммуномодуляторы и др.). Большие успехи до-

стигнуты в изучении иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоцитов, фагоцитов), их рецепторного аппарата, механизмов функционирования и взаимодействия между собой и с другими факторами иммунной защиты, явления апоптоза лимфоцитов, учения о стволовых, дендритных клетках и т. д.

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

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

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

количество противовирусных и антибактериальных препаратов.

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

1.9. Вклад отечественных ученых в развитие микробиологии и иммунологии

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

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

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

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

сийского акционерного общества «Биопрепарат» (Центр прикладной микробиологии в пос. Оболенск Московской области, Центр вирусологии и молекулярной биологии в пос. Кольцово Новосибирской области и др.).

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

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

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

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

Во второй половине XX в. в нашей стране появилась плеяда крупных ученых микробиологов и иммунологов, занявших ведущие позиции не только у себя в стране, но и в мире. Среди них Л. А. Зильбер — основоположник иммуноонкологии; П. Ф. Здродовский — иммунолог и микробиолог, известный своими фундаментальными работами по физиологии иммунитета, а также в области риккетсиологии и по бруцеллезу; В. М. Жданов — крупнейший вирусолог, один из организаторов глобальной ликвидации нату-

ральной оспы на планете, стоявший у истоков молекулярной вирусологии и геной инженерии; В. Д. Тимаков — известный своими трудами по L-формам бактерий, длительное время возглавлявший Президиум Академии медицинских наук СССР; М. П. Чумаков — иммунобиотехнолог и вирусолог, организатор Института полиомиелита и вирусных энцефалитов (ныне институт носит имя М. П. Чумакова), автор многих противовирусных вакцин, в том числе пероральной вакцины против полиомиелита; А. А. Смородинцев — автор гриппозной, паротитной, коревой и полиомиелитной вакцин; Г. В. Выгодчиков — крупный ученый в области стафилококковых инфекций; З. В. Ермольева — основоположник отечественной антибиотикотерапии, и многие другие ученые. В настоящее время продуктивно работают над решением проблем микробиологии и иммунологии крупные ученые нашей страны: академик РАН и РАМН Р. В. Петров, академики РАМН В. И. Покровский, Д. К. Львов, Р. М. Хаитов, Б. Ф. Семенов, С. Г. Дроздов, С. М. Клименко, В. А. Лашкевич, А. Л. Гинцзбург, В. В. Зверев, О. И. Киселев и др.

1.10. Зачем нужны знания микробиологии и иммунологии врачам

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

Во-первых, инфекционные болезни, смотря на развитие цивилизации, успехи, и в первую очередь медицины, по распространенности вышли на первое место среди болезней человека. Около 70 % регистрируемых больных — инфекционные, а это значит, что каждые два-три обращающихся к врачу больных — инфекционные больные, и врач должен своевременно и правильно поставить дифференциальный диагноз, особенно в тех случаях когда дело идет об особо опасных инфекциях. Кроме того, врач любого профиля (хирург, терапевты, педиатры, стоматологи, ургисты и т.д.) в любой неинфекционной клинике обязательно имеет дело с так называемыми внутрибольничными (оппортунистически госпитальными) инфекциями, вызываемыми условно-патогенными микробами, что требует от него знаний диагностики, профилактики и лечения этих болезней.

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

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

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

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

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

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

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

Наконец, противодействие биотерроризму, обеспечение биобезопасности невозможно без знания микробиологии и иммунологии патогенных агентов.

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

ГЛАВА 2. МОРФОЛОГИЯ И КЛАССИФИКАЦИЯ МИКРОБОВ

2.1. Систематика и номенклатура микробов

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

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

□ домен «*Bacteria*» — прокариоты, представленные настоящими бактериями (эубактериями);

□ домен «*Archaea*» — прокариоты, представленные архебактериями;

□ домен «*Eukarya*» — эукариоты, клетки которых имеют ядро с ядерной оболочкой и ядрышком, а цитоплазма состоит из высокоорганизованных органелл — митохондрий, аппарата Гольджи и др. Домен «*Eukarya*» включает: царство *Fungi* (грибы); царство живот-

ных *Animalia* (включает простейшие — подцарство *Protozoa*); царство растений *Plantae*.

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

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

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

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

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

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ: окраска по Граму, морфологические и куль-

туральные свойства. биохимические реакции, ферментативные реакции, использование источников углевода, антибиотикограмма, бактериоценотипирование, фаготипирование, антигенные свойства, химический состав клеточной стенки (пептидогликан, миколовая кислота и др.), а также белков и липидов клетки.

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

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

2.2. Классификация и морфология бактерий

Классификация бактерий. Решением Международного кодекса для бактерий рекомендованы следующие таксономические категории: класс, отдел, порядок, семейство, род, вид. Название вида соответствует бинарной номенклатуре, т. е. состоит из двух слов. Например, возбудитель сифилиса пишется как *Treponema pallidum*. Первое слово — на-

второе слово обозначает вид и пишется со строчной буквы. При повторном упоминании вида родовое название сокращается до начальной буквы, например: *T. pallidum*.

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

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

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

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

Таблица 2.1. Домены «Bacteria» и «Archaea»

| Домен «Bacteria» (эубактерии) | Домен «Archaea» (архебактерии) |
|--|--|
| <p>В домене «Bacteria» можно выделить следующие бактерии:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) бактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные*; 2) бактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительные**; 3) бактерии без клеточной стенки (класс Mollicutes — микоплазмы) | <p>Архебактерии не содержат пептидогликан в клеточной стенке. Они имеют особые рибосомы и рибосомные РНК (рРНК). Термин «архебактерии» появился в 1977 г. Это одна из древних форм жизни, на что указывает приставка «архе». Среди них нет возбудителей инфекций</p> |

*Среди тонкостенных грамотрицательных эубактерий различают:

- сферические формы, или кокки (гонококки, менингококки, вейлонеллы);
- извитые формы — спирохеты и спириллы;
- палочковидные формы, включая риккетсии.

** К толстостенным грамположительным эубактериям относят:

- сферические формы, или кокки (стафилококки, стрептококки, пневмококки);
- палочковидные формы, а также актиномицеты (ветвящиеся, нитевидные бактерии), коринбактерии (булавовидные бактерии), микобактерии и бифидобактерии (рис. 2.1).

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

*Расположение спор: 1 – центральное, 2 – субтерминальное, 3 – терминальное

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

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

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

В домен «Bacteria» входят 23 типа, из которых медицинское значение имеют следующие:

Тип Proteobacteria

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

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

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

Класс Deltaproteobacteria. Род: Bilophila

Класс Epsilonproteobacteria. Роды: Campylobacter, Helicobacter, Wolinella

Тип Firmicutes (главным образом грамположительные)

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

Класс Mollicutes. Роды: Mycoplasma, Ureaplasma

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

Тип Actinobacteria

ГЛАВА 2. Морфология и классификация микробов

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

Тип Chlamydiae

Класс Chlamydiae. Роды: Chlamydia, Chlamydophila

Тип Spirochaetes

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

Тип Bacteroidetes

Класс Bacteroidetes. Роды: Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella

Класс Flavobacteria. Род: Flavobacterium

Тип Fusobacteria

Класс Fusobacteria

Род Fusobacterium

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

2.2.1. Формы бактерий

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

Сферические формы, или кокки, — шаровидные бактерии размером 0,5–1,0 мкм*, которые по взаимному расположению делятся

на микрококки, диплококки, стрептококки, тетракокки, сарцины и стафилококки.

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

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

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

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

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

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

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

Слегка изогнутые палочки называются вибрионами (холерный вибрион). Большинство палочковидных бактерий располагается беспорядочно, так как после деления клетки расходятся. Если после деления клетки остаются связанны-

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

ми общими фрагментами клеточной стенки и не расходятся, то они располагаются под углом друг к другу (коринебактерии дифтерии) или образуют цепочку (сибиреязвенная бацилла).

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

Спирохеты — тонкие, длинные, извитые (спиралевидной формы) бактерии, отличающиеся от спирилл подвижностью, обусловленной сгибательными изменениями клеток. Спирохеты состоят из наружной мембраны (клеточной стенки), окружающей протоплазматический цилиндр с цитоплазматической мембраной и аксиальной нитью (аксистилю). Аксиальная нить находится под наружной мембраной клеточной стенки (в периплазме) и как бы закручивается вокруг протоплазматического цилиндра спирохеты, придавая ей винтообразную форму (первичные завитки спирохет). Аксиальная нить состоит из периплазматических фибрилл — аналогов жгутиков бактерий и представляет собой сократительный белок флагеллин. Фибриллы прикреплены к концам клетки (рис. 2.2) и направлены навстречу друг другу. Другой конец фибрилл свободен. Число и расположение фибрилл варьируют у разных видов. Фибриллы участвуют в передвижении спирохет, придавая клеткам вращательное, сгибательное и поступательное движение. При этом спирохеты образуют петли, завитки, изгибы, которые названы вторичными завитками. Спирохеты

плохо воспринимают красители. Обычно их окрашивают по Романовскому—Гимзе или серебрением. В живом виде спирохеты исследуют с помощью фазово-контрастной или темнопольной микроскопии.

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

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

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

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

Риккетсии — мелкие, грамотрицательные палочковидные бактерии (0,3—2,0 мкм), облигатные (обязательные) внутриклеточные паразиты. Размножаются бинарным деле-



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

нием в цитоплазме, а некоторые — в ядре инфицированных клеток. Обитают в членистоногих (вшах, блохах, клещах) которые являются их хозяевами или переносчиками. Свое название риккетсии получили по имени Х. Т. Риккетса — американского ученого, впервые описавшего одного из возбудителей (пятнистая лихорадка Скалистых гор). Форма и размер риккетсии могут меняться (клетки неправильной формы, нитевидные) в зависимости от условий роста. Структура риккетсий не отличается от таковой грамотрицательных бактерий.

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

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

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

Элементарные тельца попадают в эпителиальную клетку путем эндоцитоза с формированием внутриклеточной вакуоли. Внутри клеток они увеличиваются и превращаются в делящиеся ретикулярные тельца, образуя скопления в вакуолях (включения). Из ретикулярных телец образуются элементарные тельца, которые выходят из клеток путем экзоцитоза или лизиса клетки. Вышедшие из

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

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

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

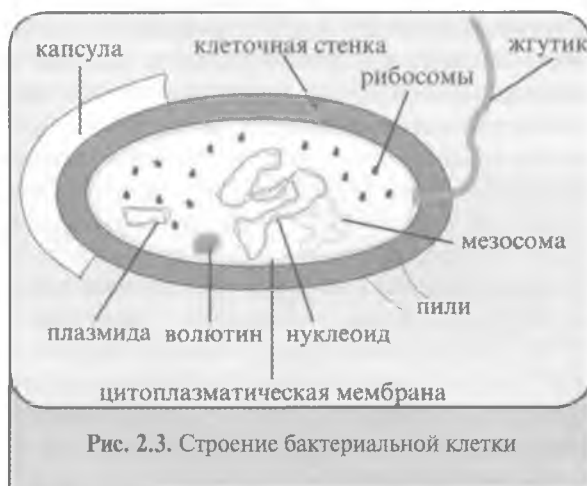
Патогенные актиномицеты вызывают актиномикоз, нокардии — нокардиоз, микобактерии — туберкулез и лепру, коринебактерии — дифтерию. Сапрофитные формы актиномицетов и нокардиоподобных актиномицетов широко распространены в почве, многие из них являются продуцентами антибиотиков.

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

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

2.2.2. Структура бактериальной клетки

Структура бактерий хорошо изучена с помощью электронной микроскопии целых клеток и их ультратонких срезов, а также других методов. Бактериальную клетку окружает оболочка, состоящая из клеточной стенки и цитоплазматической мембраны. Под оболочкой находится протоплазма, состоящая из цитоплазмы с включениями и ядра, называемого нуклеоидом. Имеются дополнительные структуры: капсула, микрокапсула, слизь, жгутики, пили (рис. 2.3). Некоторые бактерии в неблагоприятных условиях способны образовывать споры.



Клеточная стенка — прочная, упругая структура, придающая бактерии определенную форму и вместе с подлежащей цитоплазматической мембраной «сдерживающая» высокое осмотическое давление в бактериальной клетке. Она участвует в процессе деления клетки и транспорте метаболитов, имеет рецепторы для бактериофагов, бактериоцинов и различных веществ. Наиболее толстая клеточная стенка у грамположительных бактерий (рис. 2.4 и 2.5). Так, если толщина клеточной стенки грамотрицательных бактерий около 15–20 нм, то у грамположительных она может достигать 50 нм и более.

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

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

Основу пептидной связи пептидогликана грамотрицательных бактерий составляют тетрапептиды, состоящие из чередующихся L- и D-аминокислот, например: L-аланин — D-глутаминовая кислота — мезо-диаминопимелиновая кислота — D-аланин. У *E. coli* (грамотрицательная бактерия) пептидные цепи соединены друг с другом через D-аланин одной цепи и мезо-диаминопимели-

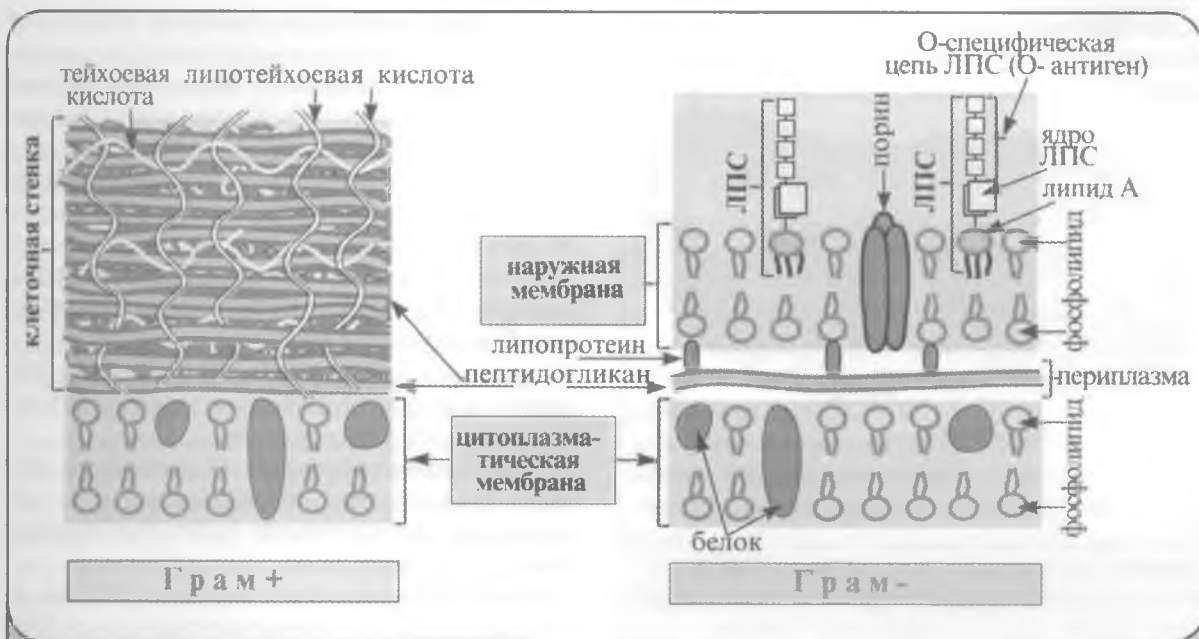


Рис. 2.4. Строение оболочек грамположительных (грам+) и грамотрицательных (грам-) бактерий



Рис. 2.5. Электронограмма ультратонкого среза клетки грамположительной бактерии *Listeria monocytogenes* (по А. А. Авакян, Л. Н. Кац, И. Б. Павловой)

липидную кислоту — другой. Состав и строение пептидной части пептидогликана грамотрицательных бактерий стабильны в отличие от пептидогликана грамположительных бактерий, аминокислоты которого могут отличаться по составу и последовательности. Тетрапептиды пептидогликана у грамположительных бактерий соединены друг с другом полипептидными цепочками из 5 остатков

глицина (пентаглицина). Вместо мезо-диаминопимелиновой кислоты они часто содержат лизин.

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



Рис. 2.6. Электронограмма ультратонкого среза клетки грамотрицательной бактерии *Brucella melitensis* (по А. А. Авакян, Л. Н. Кац, И. Б. Павловой)

Способность грамположительных бактерий при окраске по Граму удерживать генциановый фиолетовый в комплексе с йодом (сине-фиолетовая окраска бактерий) связана со свойством многослойного пептидогликана взаимодействовать с красителем. Кроме этого, последующая обработка мазка бактерий спиртом вызывает суживание пор в пептидогликане и тем самым задерживает краситель в клеточной стенке. Грамотрицательные бактерии после воздействия спиртом утрачивают краситель, что обусловлено меньшим количеством пептидогликана (5–10 % массы клеточной стенки); они обесцвечиваются спиртом и при обработке фуксином или сафранином приобретают красный цвет.

В состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий входит наружная мембрана, связанная посредством липопротеина с подлежащим слоем пептидогликана (рис. 2.4 и 2.6). Наружная мембрана при электронной микроскопии ультратонких срезов бактерий имеет вид волнообразной трехслойной структуры, сходной с внутренней мембраной, которую называют цитоплазматической. Основным компонентом этих мембран является бимолекулярный (двойной) слой липидов.

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

- липида А — консервативной структуры, практически одинаковой у грамотрицательных бактерий;
- ядра, или стержневой, коровой части (лат. *core* — ядро), относительно консервативной олигосахаридной структуры;
- высоковариабельной О-специфической цепи полисахарида, образованной повторяющимися идентичными олигосахаридными последовательностями.

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

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

Между наружной и цитоплазматической мембраной находится периплазматическое пространство, или периплазма, содержащая ферменты (протеазы, липазы, фосфатазы,

нуклеазы, бета-лактамазы), а также компоненты транспортных систем.

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

Бактерии сферо- или протопластного типа, утратившие способность к синтезу пептидогликана под влиянием антибиотиков или других факторов и способные размножаться, называются *L-формами* (от названия Института им. Д. Листера, где они впервые были изучены). L-формы могут возникать и в результате мутаций. Они представляют собой осмотически чувствительные, шаровидные, колбовидные клетки различной величины, в том числе и проходящие через бактериальные фильтры. Некоторые L-формы (нестабильные) при удалении фактора, приведшего к изменениям бактерий, могут реверсировать, «возвращаясь» в исходную бактериальную клетку. L-формы могут образовывать многие возбудители инфекционных болезней.

Цитоплазматическая мембрана при электронной микроскопии ультратонких срезов представляет собой трехслойную мембрану (2 темных слоя толщиной по 2,5 нм каждый разделены светлым — промежуточным). По структуре (см. рис. 2.5 и 2.6) она похожа на плазмалемму клеток животных и состоит из двойного слоя липидов, главным образом фосфолипидов, с внедренными поверхностными, а также интегральными белками, как бы пронизывающими насквозь структуру мембраны. Некоторые из них являются пермеазами, участвующими в транспорте веществ.

Цитоплазматическая мембрана является динамической структурой с подвижными компонентами, поэтому ее представляют как мобильную текучую структуру. Она окружает наружную часть цитоплазмы бактерий и участвует в регуляции осмотического давле-

ния, транспорте веществ и энергетическом метаболизме клетки (за счет ферментов цепи переноса электронов, аденозинтрифосфатазы и др.).

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

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

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

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

выполняют роль запасных веществ для питания и энергетических потребностей.

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

Нуклеоид — эквивалент ядра у бактерий. Он расположен в центральной зоне бактерий в виде двунитевой ДНК, замкнутой в кольцо и плотно уложенной наподобие клубка. Ядро бактерий, в отличие от эукариот, не имеет ядерной оболочки, ядрышка и основных белков (гистонов). Обычно в бактериальной клетке содержится одна хромосома, представленная замкнутой в кольцо молекулой ДНК. При нарушении деления в ней может находиться 4 и более хромосом. Нуклеоид выявляется в световом микроскопе после окраски специфическими для ДНК методами: по Фельгену или по Романовскому—Гимзе. На электронограммах ультратонких срезов бактерий нуклеоид имеет вид светлых зон с фибриллярными, нитевидными структурами ДНК, связанной определенными участками с цитоплазматической мембраной или мезосомой, участвующими в репликации хромосомы (см. рис. 2.5 и 2.6).

Кроме нуклеоида, представленного одной хромосомой, в бактериальной клетке имеются внехромосомные факторы наследственности — плазмиды (см. разд. 5.1.2.), представляющие собой ковалентно замкнутые кольца ДНК.

Капсула, микрокапсула, слизь. Капсула — слизистая структура толщиной более 0,2 мкм, прочно связанная с клеточной стенкой бактерий и имеющая четко очерченные внешние границы. Капсула различима в мазках-отпечатках из патологического материала. В чистых культурах бактерий капсула образуется

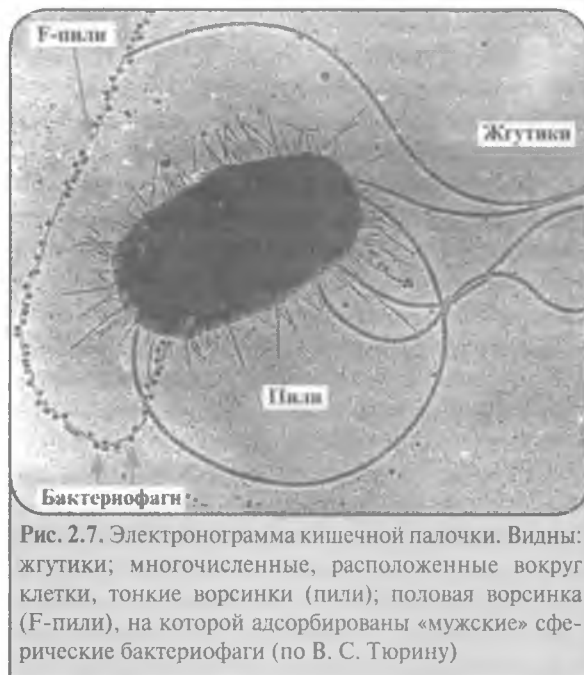


Рис. 2.7. Электронограмма кишечной палочки. Видны: жгуты; многочисленные, расположенные вокруг клетки, тонкие ворсинки (пили); половая ворсинка (F-пили), на которой адсорбированы «мужские» сферические бактериофаги (по В. С. Тюрину)

реже. Она выявляется при специальных методах окраски мазка по Бурри—Гинсу, создающих негативное контрастирование вещества капсулы: тушь создает темный фон вокруг капсулы.

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

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

Мукоидные экзополисахариды характерны для мукоидных штаммов синегнойной палочки, часто встречающихся в мокроте больных с кистозным фиброзом. Бактериальные экзополисахариды участвуют в адгезии (прилипанию к субстратам); их еще называют глико-

каликсом. Кроме синтеза экзополисахаридов бактериями, существует и другой механизм их образования: путем действия внеклеточных ферментов бактерий на дисахариды. В результате этого образуются декстраны и леваны.

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

Жгутики бактерий определяют подвижность бактериальной клетки. Жгутики представляют собой тонкие нити, берущие начало от цитоплазматической мембраны, имеют большую длину, чем сама клетка (рис. 2.7). Толщина жгутиков 12–20 нм, длина 3–15 мкм. Они состоят из 3 частей: спиралевидной нити, крюка и базального тельца, содержащего стержень со специальными дисками (1 пара дисков — у грамположительных и 2 пары — у грамотрицательных бактерий). Дисками жгутики прикреплены к цитоплазматической мембране и клеточной стенке. При этом создается эффект электромотора со стержнем — ротором, вращающим жгутик. В качестве источника энергии используется разность протонных потенциалов на цитоплазматической мембране. Механизм вращения обеспечивает протонная АТФ-синтетаза. Скорость вращения жгутика может достигать 100 об/с. При наличии у бактерии нескольких жгутиков они начинают синхронно вращаться, сплетаясь в единый пучок, образующий своеобразный пропеллер.

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

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

Жгутики выявляют с помощью электронной микроскопии препаратов, напыленных тяжелыми металлами, или в световом микроскопе после обработки специальными методами, основанными на протравливании и адсорбции различных

веществ, приводящих к увеличению толщины жгутиков (например, после серебрения).

Ворсинки, или пили (фимбрии) — нитевидные образования (см. рис. 2.7), более тонкие и короткие ($3 \div 10$ нм \times $0,3 \div 10$ мкм), чем жгутики. Пили отходят от поверхности клетки и состоят из белка пилина. Они обладают антигенной активностью. Различают пили, ответственные за адгезию, т. е. за прикрепление бактерий к поражаемой клетке, а также пили, ответственные за питание, водно-солевой обмен, и половые (F-пили), или конъюгационные, пили.

Обычно пили многочисленны — несколько сотен на клетку. Однако половых пилей обычно бывает 1–3 на клетку: они образуются так называемыми «мужскими» клетками-донорами, содержащими трансмиссивные плазмиды (F-, R-, Col-плазмиды). Отличительной особенностью половых пилей является их взаимодействие с особыми «мужскими» сферическими бактериофагами, которые интенсивно адсорбируются на половых пилях (см. рис. 2.7).

Споры — своеобразная форма покоящихся бактерий с грамположительным типом строения клеточной стенки (рис. 2.8).

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



Рис. 2.8. Электронограмма ультратонкого среза столбнячной палочки (*Clostridium tetani*) в процессе спорообразования. В вегетативной клетке столбнячной палочки формируется терминальная спора с многослойной оболочкой (по А.А. Авакян, Л.Н. Кац, И.Б. Павловой)

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

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

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

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

В благоприятных условиях споры прорастают, проходя три последовательные стадии: ак-

тивацию, инициацию, вырастание. При этом из одной споры образуется одна бактерия. Активация — это готовность к прорастанию. При температуре 60–80 °С спора активируется для прорастания. Инициация прорастания длится несколько минут. Стадия вырастания характеризуется быстрым ростом, сопровождающимся разрушением оболочки и выходом проростка.

2.3. Строение и классификация грибов

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

Грибы имеют *ядро* с ядерной оболочкой, цитоплазму с органеллами, цитоплазматическую мембрану и многослойную, ригидную клеточную стенку, состоящую из нескольких типов полисахаридов (маннанов, глюканов, целлюлозы, хитина), а также белка, липидов и др. Некоторые грибы образуют капсулу. Цитоплазматическая мембрана содержит гликопротеины, фосфолипиды и *эргостеролы* (в отличие от холестерина — главного стерола тканей млекопитающих). Грибы являются грамположительными микроорганизмами, вегетативные клетки — некислотоустойчивые. Тело гриба называется *талломом*.

Различают два основных типа грибов: гифальный и дрожжевой.

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

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

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

Размножение грибов происходит **половым и бесполом (вегетативным) способами**: Половое

размножение грибов происходит с образованием гамет, половых спор и других половых форм. Половые формы называются **телеоморфами**. Бесполое размножение грибов происходит с образованием соответствующих форм, называемых **анаморфами**. Такое размножение происходит почкованием, фрагментацией гиф и бесполом спорами. Эндогенные споры (**спорангиоспоры**) созревают внутри округлой структуры — спорангия (рис. 2.9). Экзогенные споры (**конидии**) формируются на кончиках плодоносящих гиф, так называемых «конидиеносцах» (рис. 2.10 и 2.11).

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

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

Зигомицеты относятся к низшим грибам. Они включают виды родов Мисог и др. Распространены в почве, воздухе и способны вызывать зигомикоз (мукомикоз) легких, головного мозга и других органов человека и животных. Половое размножение у зигомицетов осуществляется путем образования зигоспор. При бесполом размножении этих грибов на плодоносящей гифе, **спорангиеносце**, обра-



Рис. 2.9. Грибы Мисог

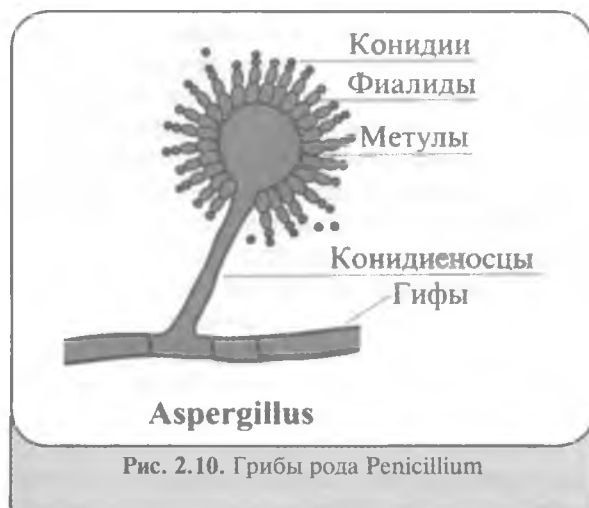


Рис. 2.10. Грибы рода *Penicillium*

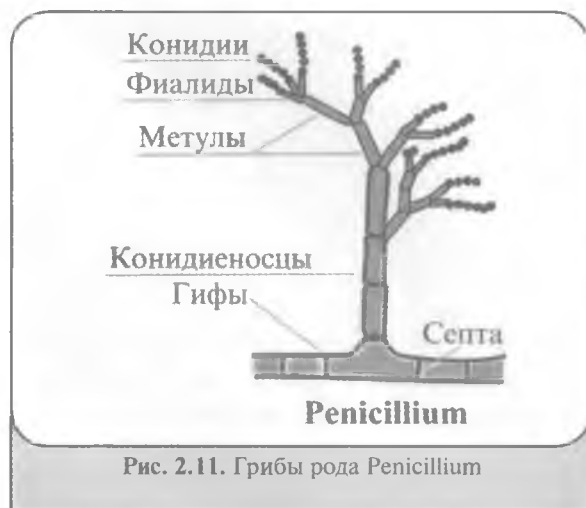


Рис. 2.11. Грибы рода *Penicillium*

Таблица 2.2. Основные группы грибов, имеющих медицинское значение*

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

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

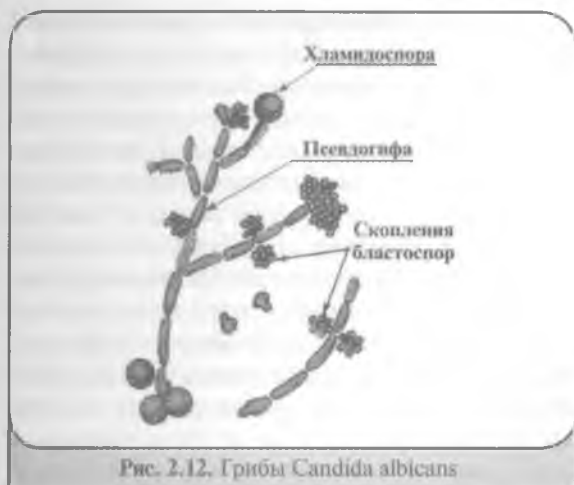


Рис. 2.12. Грибы *Candida albicans*

зуется спорангий — шаровидное утолщение с оболочкой, содержащее многочисленные **спорангиоспоры** (см. рис. 2.9).

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

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

Большинство грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium* являются анаморфами, т. е. размножаются только бесполом путем, и должны быть отнесены по этому признаку к несовершенным грибам. Они отличаются особенностями формирования плодоносящих гиф (см. рис. 2.10 и 2.11). У грибов рода *Aspergillus* (леечная плесень) на концах плодоносящих гиф, конидиеносцах, имеются утолщения — стеригмы, фиалиды, на которых образуются цепочки спор — конидии. Некоторые виды аспергилл могут вызывать аспергиллезы и афлатоксикозы. Плодоносящая гифа у грибов рода *Penicillium* (кистевик) напоминает кисточку, так как из нее (на конидиеносце) образуются утолщения, разветвляющиеся на более мелкие структуры — стеригмы, фиалиды, на которых находятся цепочки конидий. Пенициллы могут вызывать заболевания — пенициллиозы.

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

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

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

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

К дейтеромицетам относятся несовершенные дрожжи (дрожжеподобные грибы), например некоторые грибы рода *Candida*, поражающие кожу, слизистые оболочки и внутренние органы (кандидоз). Они имеют овальную форму (рис. 2.12), диаметр 2–5 мкм, делятся почкованием, образуют псевдогифы (псевдомицелий) в виде цепочек из удлиненных клеток и септированные гифы. Эти грибы называются дрожжеподобными, в отличие от истинных дрожжей, которые относятся к аскомицетам, образующим аскоспоры. Для *Candida albicans* характерно образование хламидоспор.

2.4. Строение и классификация простейших

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

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

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

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

Тип *Sarcomastigophora* состоит из подтипов *Sarcodina* и *Mastigophora*. К подтипу *Sarcodina* (саркодовые) относятся дизентерийная амeba — *Entamoeba histolytica* (см. рис. 19.1) — возбудитель амебиоза человека, свободноживущие амeбы (родов неглерия, акантамеба и др.) и непатогенные амeбы (кишечная амeба и др.). Эти простейшие передвигаются путем образования псевдоподий, с помощью которых происходят захват и погружение в цитоп-

лазму клеток питательных веществ. Половой путь размножения у амeб отсутствует. При неблагоприятных условиях они образуют цисты.

Подтип *Mastigophora* (жгутиконосцы) включает патогенных представителей, например трипаномы — возбудителей африканской трипаномоза (сонной болезни) и болезни Шагаса; лейшмании — возбудителей кожных и висцеральной форм лейшманиозов; влажную трихомонаду — возбудителя трихомоноза; лямблию — возбудителя лямблиоза. Эти простейшие характеризуются наличием жгутиков, например, у лейшманий — один жгутик (см. рис. 19.2, а), у трихомонад — свободных жгутика и 1 жгутик, соединенный с короткой ундулирующей мембраной (см. рис. 19.5).

Тип *Apicomplexa*. В классе *Sporozoa* (*споровики*) патогенными представителями являются плазмодии малярии (см. рис. 19.6), токсоплазмы (см. рис. 19.7), саркоцисты, изоспоры, криптоспоридии (см. рис. 19.8), циклоспоры, бабозии (см. рис. 19.9). Паразиты имеют апикальный комплекс, который позволяет им проникнуть в клетку хозяина для последующего внутриклеточного паразитизма. Каждый из этих представителей имеет сложное строение и свои особенности жизненного цикла. Так, например, жизненный цикл возбудителя малярии характеризуется чередованием полового размножения (в организме комаров *Anopheles*) и бесполого (в клетках тканей и эритроцитах человека, где они размножаются путем множественного деления). Токсоплазмы имеют форму полулуний. Человек заражается ими от животных, возбудитель может передаваться через плаценту, поражая центральную нервную систему (ЦНС) и глаза плода.

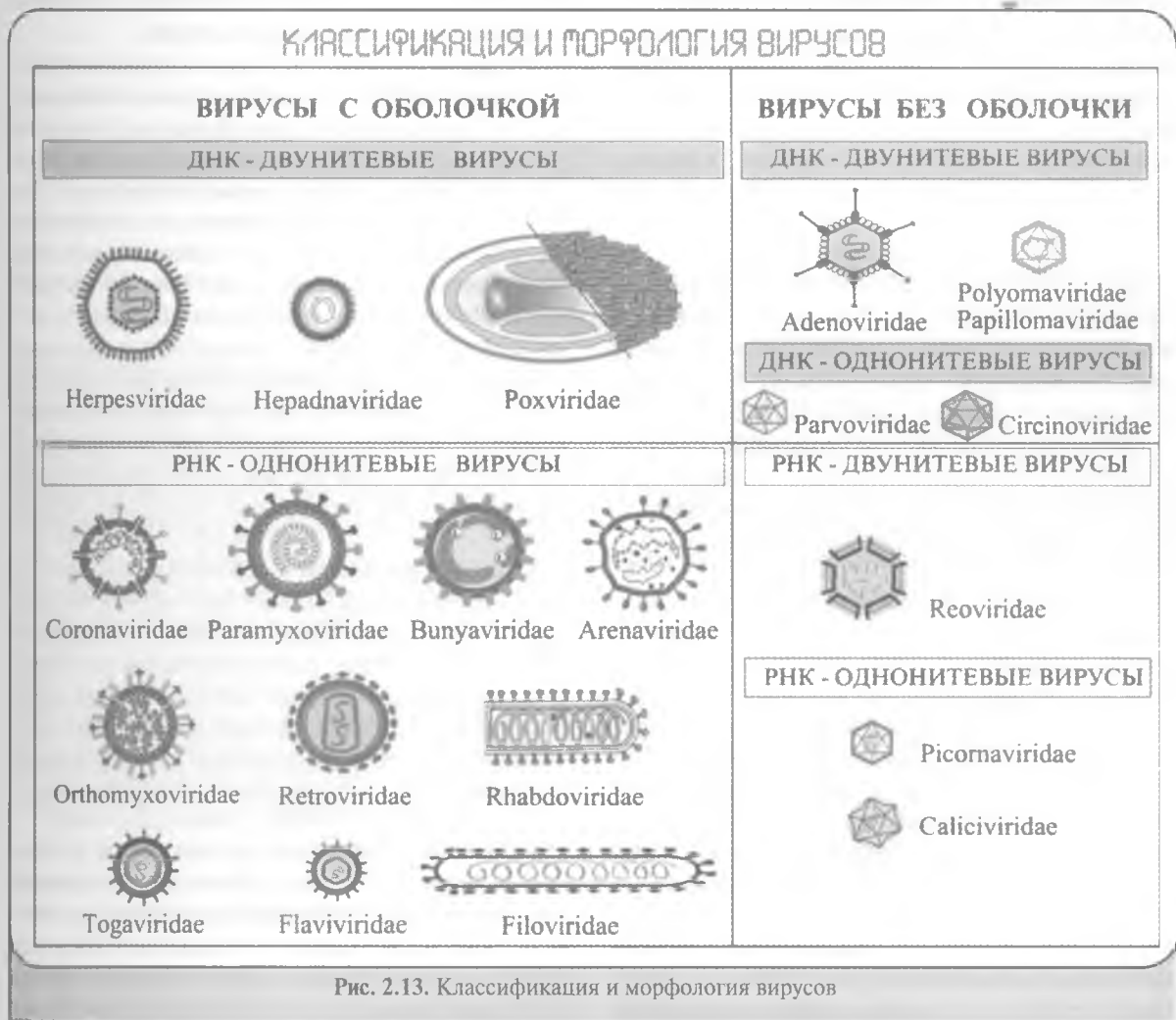
Тип *Ciliophora*. Патогенным представителем ресничных является *Balantidium coli* — возбудитель балантидиоза, поражающий толстую кишку человека. Балантидии подвижны, имеют многочисленные реснички, более тонкие, чем жгутики (см. рис. 19.10).

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

2.5. Строение и классификация вирусов

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

Морфологию и структуру вирусов изучают с помощью электронной микроскопии, так как их размеры малы и сравнимы с толщиной оболочки бактерий. Форма вирионов может быть различной (рис. 2.13): палочковидной (вирус табачной мозаики), пулевидной (вирус бешенства), сферической (вирусы полиомиелита, ВИЧ), нитевидной (филовирусы), в виде сперматозоида (многие бактериофаги — см. гл. 3). Размеры вирусов определяют с помощью электронной микроскопии, методом ультрафильтрации через фильтры с известным диаметром пор, методом ультрацентрифугирования. Наиболее мелкими вирусами являются парвовирусы (18 нм) и вирус полиомиелита (около 20 нм), наиболее крупным — вирус натуральной оспы (около 350 нм).



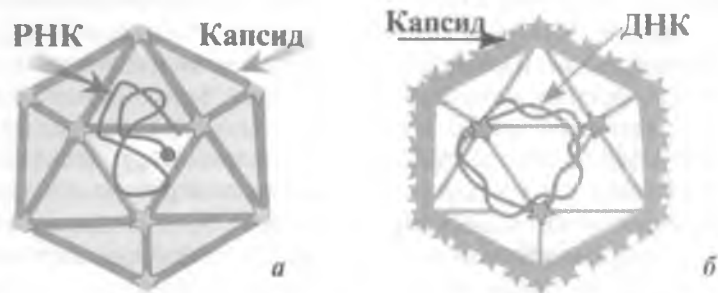


Рис. 2.14. Просто устроенные вирусы (без оболочки):

а — схема строения вируса гепатита А (вирус имеет однонитевую плюс-РНК);

б — схема строения папилломавируса (вирус имеет двунитевую кольцевую ДНК)

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

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

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

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

Различают просто устроенные вирусы (например, вирусы полиомиелита, гепатита А) и сложно устроенные вирусы (например, вирусы кори, гриппа, герпеса, коронавирусы).

У просто устроенных вирусов (рис. 2.14, *а* и *б*) нуклеиновая кислота связана с белковой оболочкой, называемой **капсидом** (от лат. *capsa* — футляр). Капсид состоит из повторяющихся морфологи-

ческих субъединиц — *капсомеров*. Нуклеиновая кислота и капсид взаимодействуют друг с другом и вместе называются **нуклеокапсидом**.

У сложно устроенных вирусов (рис. 2.15, *а* и *б*) капсид окружен липопротеиновой оболочкой — **суперкапсидом**, или пеплосом. Оболочка вируса является производной структурой от мембран вирус-инфицированной клетки. На оболочке вируса расположены *гликопротеиновые «шипы»*, или «шипики» (*пепломеры*, или *суперкапсидные белки*). Под оболочкой некоторых вирусов находится *М-белок*.

Таким образом, **просто устроенные вирусы** состоят из нуклеиновой кислоты и капсида. **Сложно устроенные вирусы** состоят из нуклеиновой кислоты, капсида и липопротеиновой оболочки.

Вирионы имеют *спиральный, икосаэдрический* (кубический) или сложный тип симметрии капсида (нуклеокапсида). Спиральный тип симметрии обусловлен винтообразной структурой нуклеокапсида (например, у вирусов гриппа, коронавирусов). Икосаэдрический тип симметрии обусловлен образованием изометрически полого тела из капсида, содержащего вирусную нуклеиновую кислоту (например, у вируса герпеса).

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



Рис. 2.15. Сложно устроенные вирусы (с оболочкой):

а — схема строения вируса герпеса (вирус с линейной двунитевой ДНК);

б — схема строения вируса гриппа (вирус с однонитевой минус-РНК из 8 фрагментов)

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

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

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

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

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

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

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

Таблица 2.3. Основные вирусы человека и животных

| Семейство | Представители | Вызываемые болезни |
|--|---|--|
| Группа I: ДНК (двунитевые)-вирусы | | |
| Poxviridae | Вирус натуральной оспы | Натуральная оспа |
| Herpesviridae | Вирусы простого герпеса | Герпес, энцефалит и другие |
| | Вирус ветряной оспы — опоясывающего герпеса; Цитомегаловирус | Ветряная оспа, опоясывающий герпес Цитомегалия |
| | Вирус Эпштейна—Барр и др. | Инфекционный мононуклеоз |
| Adenoviridae | Аденовирусы человека | Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) и др. |
| Polyomaviridae | Полиомавирусы человека | Лейкоэнцефалопатия |
| Papillomaviridae | Папилломавирусы человека | Бородавки (папилломы), рак |
| Группа II: ДНК (однунитевые)-вирусы | | |
| Parvoviridae | Парвовирус человека B19 | Инфекционная эритема и др. |
| Circoviridae | ТТ-вирус | Гепатит ТТ |
| Группа III: РНК (двунитевые)-вирусы | | |
| Reoviridae | Вирусы: Кемерово, Ротавирусы человека | Кемеровская лихорадка; Гастроэнтерит |
| Группа IV: РНК (плюс-однунитевые)-вирусы | | |
| Picornaviridae | Вирусы: полиомиелита, Вирус гепатита А и др. | Полиомиелит Гепатит А |
| Caliciviridae | Вирусы гастроэнтерита | Гастроэнтерит |
| Гепатит Е-подобные вирусы | Вирус гепатита Е | Гепатит Е |
| Astroviridae | Астровирус человека 1 | Гастроэнтерит |
| Coronaviridae | Коронавирус человека, вирус SARS | ОРВИ, SARS |
| Flaviviridae | Вирусы: желтой лихорадки, Японского энцефалита, денге, клещевого энцефалита и др. Вирус гепатита С | Желтая лихорадка; Японский энцефалит Лихорадка денге; Клещевой энцефалит Гепатит С |
| Неклассифицированные вирусы | Вирус гепатита G | Гепатит G |
| Togaviridae | Вирус краснухи и др. | Краснуха |
| Группа V: РНК (минус-однунитевые)-вирусы | | |
| Filoviridae | Вирусы Марбург, Эбола | Африканские геморрагические лихорадки |
| Paramyxoviridae | Вирусы: кори, парагриппа, эпидемического паротита | Корь, подострый склерозирующий панэнцефалит (ПСПЭ), парагрипп Эпидемический паротит |
| Rhabdoviridae | Вирусы бешенства и др. | Бешенство |
| Orthomyxoviridae | Influenzavirus типы А, В, С | Грипп |
| Bunyviridae | Вирусы геморрагической лихорадки Крым-Конго, геморрагической лихорадки с почечным синдромом и др. | Крым-Конго геморрагическая лихорадка, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом |
| Deltavirus | Вирус гепатита D | Гепатит D |
| Arenaviridae | Вирус лимфоцитарного хориоменингита и др. | Лимфоцитарный хориоменингит |
| Группа VI: РНК-вирусы (обратно транскрибирующиеся) | | |
| Retroviridae | ВИЧ | ВИЧ-инфекция (СПИД) |
| Группа VII: ДНК-вирусы (обратно транскрибирующиеся) | | |
| Herpadnaviridae | Вирус гепатита В | Гепатит В |
| Субвирусные агенты: прионы | | |
| Прионы | | Прионные болезни |

ГЛАВА 3. ФИЗИОЛОГИЯ МИКРОБОВ

3.1. Физиология бактерий

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

3.1.1. Питание бактерий

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

Состав сухого вещества распределен следующим образом:

52 % составляют белки, 17 % — углеводы, 9 % — липиды, 16 % — РНК, 3 % — ДНК и 3 % — минеральные вещества.

Белки являются ферментами, а также составной частью клетки, входят в состав цитоплазматической мембраны (ЦПМ) и ее произ-

водных, клеточной стенки, жгутиков, спор и некоторых капсул. Некоторые бактериальные белки являются антигенами и токсинами бактерий. В состав белков бактерий входят отсутствующие у человека Д-аминокислоты, а также диаминопимелиновая кислота.

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

Липиды или жиры входят в состав ЦПМ и ее производных, клеточной стенки грамотрицательных бактерий, а также служат запасными веществами, входят в состав эндотоксина грамотрицательных бактерий, в составе ЛПС формируют антигены. В бактериальных жирах преобладают длинноцепочечные (С14–С18) насыщенные жирные кислоты и ненасыщенные жирные кислоты, содержащие одну двойную связь. Сложные липиды представлены фосфатидилинозитом, фосфатидилглицерином и фосфатидилэтаноламином. У некоторых бактерий в клетке находятся воски, эфиры миколовой кислоты. Микоплазмы — единственные представители царства *Procaryotae*, имеющие в составе ЦПМ стеролы. Остальные бактерии в составе ЦПМ и ее производных не имеют стеролов.

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

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

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

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

Классификация бактерий по типам питания и способам получения энергии. Основной целью метаболизма бактерий является рост, т. е. координированное увеличение всех компонентов клетки. Поскольку основными компонентами бактериальной клетки являются органические соединения, белки, углеводы, нуклеиновые

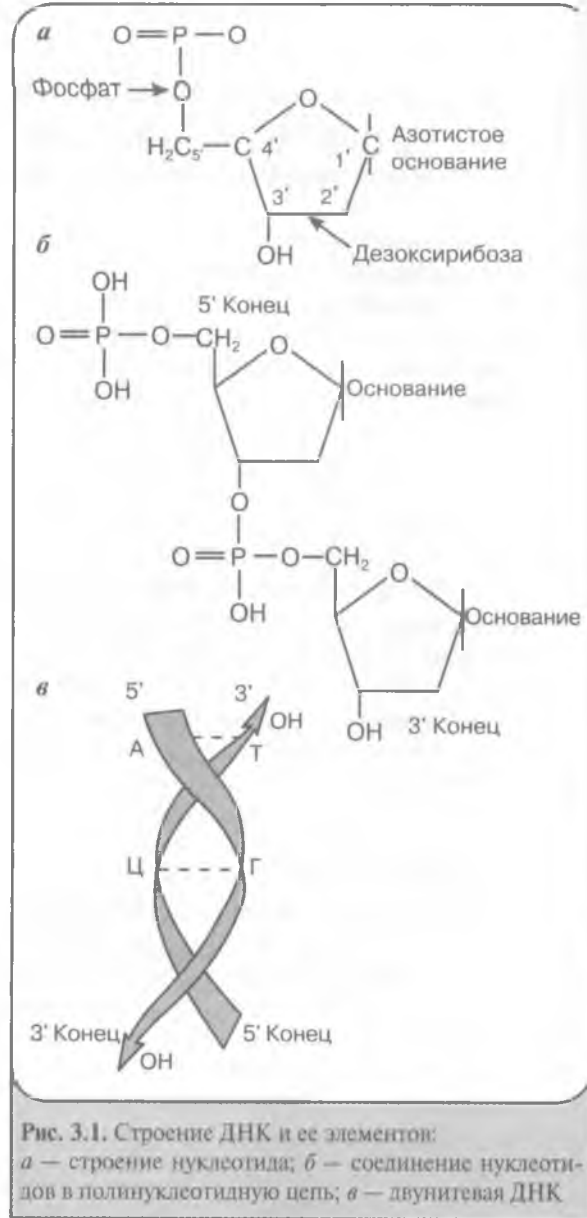


Рис. 3.1. Строение ДНК и ее элементов: а — строение нуклеотида; б — соединение нуклеотидов в полинуклеотидную цепь; в — двунитевая ДНК.

кислоты и липиды, остов которых построен из атомов углерода, то для роста требуется постоянный приток атомов углерода. В зависимости от источника усвояемого углерода бактерии подразделяют по типам на:

аутотрофы (от греч. *autos* — сам, *trophe* — питание), которые используют для построения своих клеток неорганический углерод, в виде CO_2 ;

гетеротрофы (от греч. *heteros* — другой), которые используют органический углерод. Легко усвояемыми источниками органического углерода являются гексозы, многоатомные спирты, аминокислоты.

Белки, жиры, углеводы и нуклеиновые кислоты являются крупными полимерными молекулами, которые синтезируются из мономеров в реакциях поликонденсации, протекающих с поглощением энергии. Поэтому для восполнения своей биомассы бактериям помимо источника углерода требуется источник энергии. Энергия запасается бактериальной клеткой в форме молекул АТФ.

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

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

Бактерии, изучаемые медицинской микробиологией, являются **гетерохемотрофами**. Отличительной особенностью этой группы является то, что источник углерода у них является источником энергии. Учитывая разнообразие микромира и типов метаболизма, далее изложение материала ограничено рассмотрением метаболизма у гетерохемотрофов.

Степень гетеротрофности у различных бактерий неодинакова. Среди бактерий выделяют **сапрофиты** (от греч. *sapros* — гнилой, *phyton* — растение), которые питаются мертвым органическим материалом и независимы от других организмов, и **паразиты** (от греч. *parasitos* — хлебник) — гетеротрофные микроорганизмы, зависимые в получении питательных веществ от макроорганизма.

Среди паразитов различают облигатных и факультативных. **Облигатные** паразиты полностью лишены возможности жить вне клеток. К ним относятся представители родов

Rickettsia, *Coxiella*, *Ehrlichia*, *Chlamydia*, размножающиеся только внутри клеток макроорганизма.

Факультативные паразиты могут жить и без хозяина и размножаться, так же как и сапрофиты, на питательных средах *in vitro*, т. е. вне организма.

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

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

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

3. Для синтеза белков, нуклеотидов, АТФ, коферментов бактериям требуются источники азота, серы, фосфаты и другие минеральные вещества, в том числе микроэлементы.

Источником азота может служить пептон; кроме того, большинство бактерий способны использовать соли аммония в качестве источника азота.

Серу и фосфор бактерии способны утилизировать в виде неорганических солей: сульфатов и фосфатов.

Для нормального функционирования ферментов бактериям требуются ионы Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , которые добавляют в питательную среду в виде солей, чаще всего фосфатов.

4. Решающее значение для роста многих микроорганизмов имеет рН среды. Поддерживание определенного рН имеет значение для предотвращения гибели микроорганизмов от ими же образованных продуктов обмена. С этой целью питательную

среду забуферивают, чаще всего используя фосфатный буфер. При сильном выделении бактериями кислот, как продуктов обмена, добавляют к питательной среде карбонат кальция CaCl_2 .

5. Среда должна обладать определенным осмотическим давлением. Большинство бактерий способны расти на изотоничных средах, изотоничность которых достигается добавлением NaCl в концентрации 0,87 %. Некоторые бактерии не способны расти на средах при концентрации соли в них ниже 1 %. Такие бактерии называются *галофильными*.

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

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

6. Питательные среды должны быть стерильными.

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

Агар — полисахарид, получаемый из водорослей. Он плавится при температуре 100°C , но при охлаждении остывает при температуре $45\text{--}50^\circ\text{C}$. Агар добавляют в концентрации 0,5 % — для полужидких сред и 1,5–2 % — для создания плотных сред. В зависимости от состава и цели применения различают простые, сложные, элективные, минимальные, дифференциально-диагностические и комбинированные среды.

По составу питательные среды могут быть простыми и сложными. К *простым средам* относятся пептонная вода, питательный бульон, мясопептонный агар. На основе этих простых сред готовят *сложные*, например сахарный и сывороточный бульоны, кровяной агар.

В зависимости от назначения среды подразделяются на элективные, обогащенные, дифференциально-диагностические.

Под *элективными* понимают среды, на которых лучше растет какой-то определенный

микроорганизм. Например, щелочной агар, имеющий pH 9, служит для выделения холерного вибриона. Другие бактерии, в частности кишечная палочка, из-за высокого pH на этой среде не растут.

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

Дифференциально-диагностические среды служат для изучения ферментативной активности бактерий. Они состоят из простой питательной среды с добавлением субстрата, на который должен подействовать фермент, и индикатора, меняющего свой цвет в результате ферментативного превращения субстрата. Примером таких сред являются среды Гисса, используемые для изучения способности бактерий ферментировать сахара.

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

3.1.2. Ферменты бактерий

В основе всех метаболических реакций в бактериальной клетке лежит деятельность ферментов, которые принадлежат к 6 классам: **оксиредуктазы, трансферазы, гидролазы, лигазы, лиазы, изомеразы**. Ферменты, образуемые бактериальной клеткой, могут локализоваться как внутри клетки — **эндоферменты**, так и выделяться в окружающую среду — **экзоферменты**. Экзоферменты играют большую роль в обеспечении бактериальной клетки доступными для проникновения внутрь источниками углерода и энергии. Большинство гидролаз является экзоферментами, выделяясь в окружающую среду, расщепляют крупные молекулы пептидов, полисахаридов, липидов до мономеров и димеров, способных проникнуть внутрь клетки. Ряд

экзоферментов, например гиалуронидаза, коллагеназа и другие, являются ферментами *агрессии*. Некоторые ферменты локализованы в периплазматическом пространстве бактериальной клетки. Они участвуют в процессах переноса веществ в бактериальную клетку. Ферментативный спектр является таксономическим признаком, характерным для семейства, рода и — в некоторых случаях — для видов. Поэтому определением спектра ферментативной активности пользуются при установлении таксономического положения бактерий. Наличие экзоферментов можно определить при помощи дифференциально-диагностических сред, поэтому для идентификации бактерий разработаны специальные тест-системы, состоящие из набора дифференциально-диагностических сред.

3.1.3. Транспорт веществ в бактериальную клетку

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

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

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

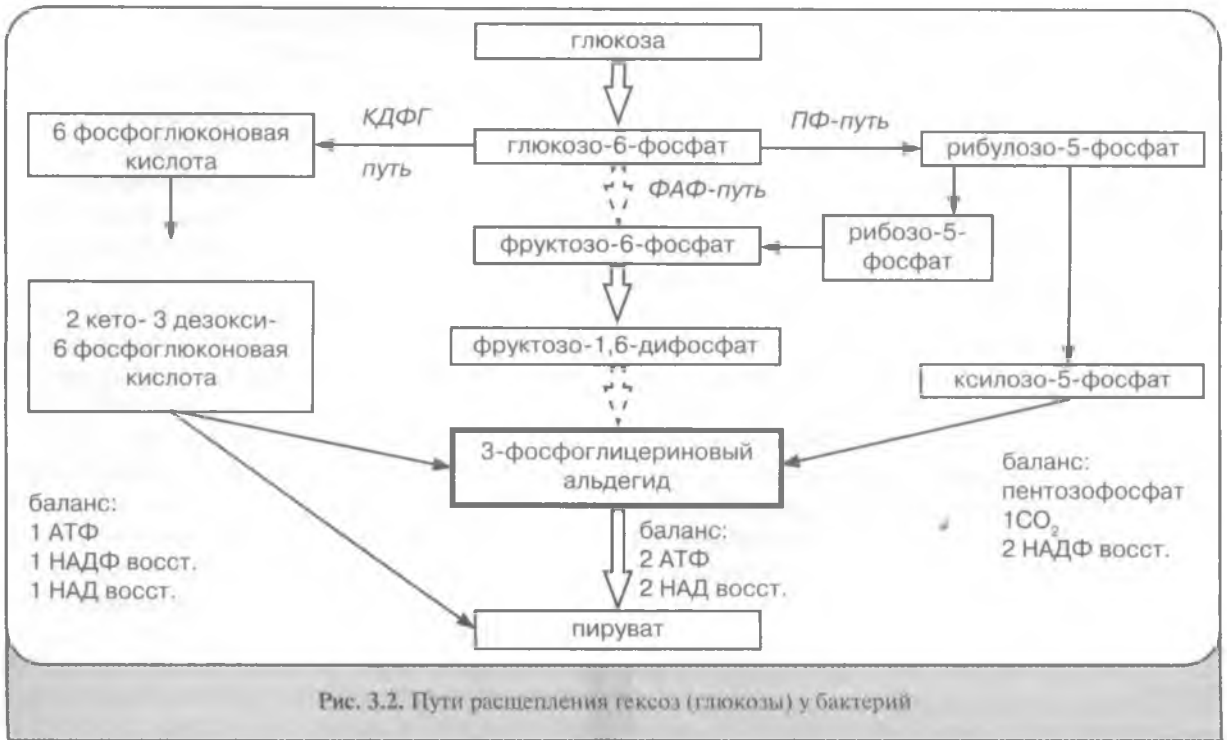
При активном переносе вещество проникает в клетку против градиента концентрации при помощи белка-переносчика — пермеазы. При этом происходит затрата энергии. Имеется два типа активного транспорта. При одном типе *активного транспорта*

небольшие молекулы (аминокислоты, некоторые сахара) «накачиваются» в клетку и создают концентрацию, которая может в 100–1000 раз превышать концентрацию этого вещества снаружи клетки. Второй механизм, получивший название *транслокация радикалов*, обеспечивает включение в клетку некоторых сахаров (например, глюкозы, фруктозы), которые в процессе переноса фосфорилируются, т. е. химически модифицируются. Для осуществления этих процессов в бактериальной клетке локализуется специальная фосфотрансферная система, составной частью которой является белок-переносчик, находящийся в активной фосфорилированной форме. Фосфорилированный белок связывает свободный сахар на наружной поверхности мембраны и транспортирует его в цитоплазму, где сахар освобождается в виде фосфата.

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

3.1.4. Конструктивный метаболизм

Основные органические компоненты бактериальной клетки, как уже было отмечено, синтезируются в реакциях полимеризации, из строительных блоков: аминокислот, фосфатов сахаров, пуриновых и пиримидиновых оснований, органических кислот. Поставщиками этих строительных блоков являются промежуточные продукты основных путей энергетического метаболизма (рис. 3.3). Среди бактерий выделяется группа, называемая *прототрофами*, которые способны синтезировать все компоненты клетки из одного источника углерода и энергии. Если бактерии теряют способность к синтезу какого-нибудь фермента, участвующего в биосинтетических процессах, то для их роста и размножения требуется наличие недостающего вещества, которое называется *фактором роста*, а такие бактерии — *ауксотрофами*.



Факторами роста являются аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, витамины, которые входят в состав простетических групп коферментов.

Биосинтез аминокислот. Большинство бактерий обладают способностью синтезировать все 20 аминокислот, из которых состоят белки. Белки в бактериальной клетке выполняют ферментативную функцию, а также являются составной частью структурных образований клетки: ЦПМ и ее производных, клеточной стенки, жгутиков, капсулы и спор у некоторых бактерий.

Углеродные скелеты аминокислот образуются из промежуточных продуктов обмена. Исходным материалом служат промежуточные продукты фруктозодифосфатного (ФДФ) и пентозофосфатного (ПФ) путей, цикл трикарбоновых кислот: пируват, кетоглутаровая кислота, оксалоацетат, фумарат, эритрозо-4-фосфат, рибозо-4-фосфат. Аминогруппы вводятся в результате непосредственного аминирования или переаминирования. Перевод неорганического азота в органические соединения происходит всегда через аммиак. Нитраты и нитриты и молекулярный азот предварительно восстанавливаются в

аммиак и только лишь после этого включаются в состав органических соединений.

В результате прямого аминирования образуются лишь L-аланин, L-аспартат, L-глутамат и L-глутамин. Все остальные аминокислоты получают свою аминогруппу в результате переаминирования, с одной из «первичных» аминокислот. В большинстве случаев аминогруппа вводится на последнем этапе синтеза путем переаминирования.

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

Исходным соединением для образования пентозной части нуклеотидов служит рибозо-5-фосфат, образующийся в ПФ-пути.

Углеродный скелет пиримидинов происходит из аспартата, который образуется в цикле трикарбоновых кислот.

Атомы азота и аминогруппы пуринов и аминокислотсодержащих пиримидинов происходят из аспартата и глутамина.

Биосинтез жиров. Жиры или липиды являются важными компонентами ЦПМ и клеточной стенки грамотрицательных бактерий, а также служат запасными веществами. В бактериальных жирах преобладают длинноцепочечные (C14–C18) насыщенные жирные кислоты и ненасыщенные жирные кислоты, содержащие одну двойную связь. Сложные липиды представлены фосфатидилинозитом, фосфатидилглицерином и фосфатидилэтаноламином.

Ключевым промежуточным продуктом для биосинтеза жирных кислот является ацетил-коэнзим А. Ключевыми промежуточными продуктами для синтеза фосфолипидов является продукт ФДФ-пути: диоксиацетилфосфат, восстанавливающийся в глицерол-3-фосфат, который соединяется с остатками жирных кислот.

Биосинтез углеводов. Углеводы представлены в бактериальной клетке в виде моно-, ди- и полисахаридов, а также комплексных соединений. Полисахариды входят в состав некоторых капсул, крахмал и гликоген являются запасными питательными веществами.

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

3.1.4.1. Регуляция метаболизма у прокариот

Поскольку все реакции, протекающие в клетке, катализируются ферментами, регуляция метаболизма сводится к регуляции интенсивности ферментативных реакций. Скорость последних может регулироваться двумя основными способами: *путем изменения количества ферментов и путем изменения их активности.*

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

Катаболические пути, опосредованные индуцибельными ферментами, регулируются индукцией синтеза ферментов и катаболической репрессией, а опосредованные конститутивными ферментами — посредством аллостерических воздействий на их активность. АТФ

в этом случае является отрицательным эффектором, а АДФ — положительным эффектором.

3.1.5. Энергетический метаболизм

Энергия в бактериальной клетке накапливается в форме молекул АТФ. У хемоорганотрофных бактерий реакции, связанные с получением энергии в форме АТФ, — это реакции окисления-восстановления, сопряженные с реакциями фосфорилирования. Окисленный в этих реакциях углерод выделяется клеткой в виде CO_2 . Для удаления отщепившегося в этих реакциях водорода, который находится в форме восстановленного НАД, различные бактерии используют различные возможности в зависимости от конечного акцептора водорода (или электронов, что является эквивалентным понятием). В зависимости от способа получения энергии у бактерий имеется несколько типов метаболизма: *окислительный*, или *дыхание*; *бродильный*, или *ферментативный*; *смешанный*. Тип метаболизма определяет не только реакции, в результате которых образуется АТФ, он также определяет конечные продукты этих реакций, которые используются при идентификации бактерий, а также условия культивирования бактерий.

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

Пути расщепления глюкозы. Расщепление глюкозы до пировиноградной кислоты, одному из важнейших промежуточных продуктов обмена веществ, у бактерий происходит 3 путями (рис. 3.2):

1) через образование фруктозо-1,6-дифосфата (ФДФ-путем, или гликолитическим распадом, или, по имени изучавших его исследователей, путем Эмбдена—Мейергофа—Парнаса);

2) через пентозофосфатный путь (ПФ-путь);

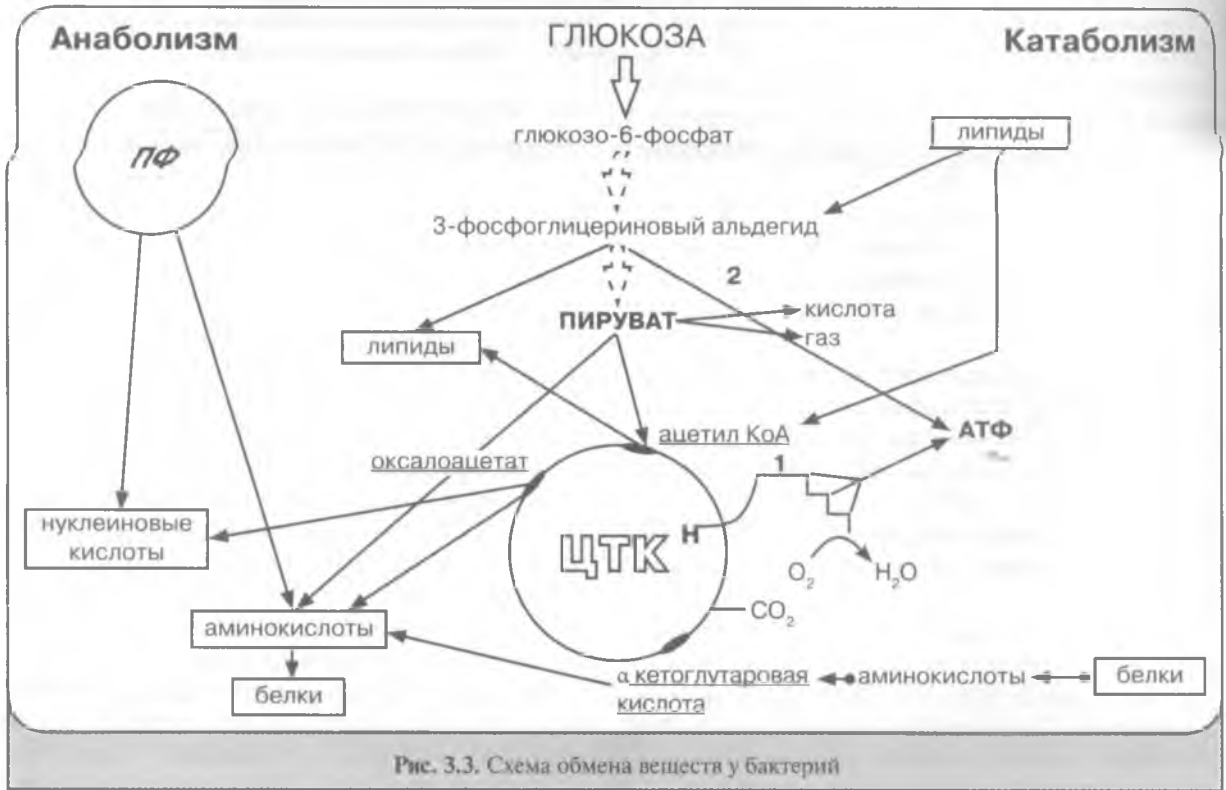


Рис. 3.3. Схема обмена веществ у бактерий

3) через путь Этнера—Дудорова, или КДФГ-путь (путь 2-кето-3-дезоксиглюконовой кислоты).

Глюкоза в бактериальной клетке сначала фосфорилируется при участии АТФ и фермента гексокиназы до метаболически активной формы глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф), которая служит исходным соединением для любого из трех указанных выше путей.

ФДФ-путь. Г-6-Ф изомеризуется до фруктозо-6-фосфата, который под действием фосфофруктокиназы превращается во фруктозо-1,6-дифосфат, который в дальнейшем через образование 3-фосфоглицеринового альдегида окисляется до пировиноградной кислоты.

Баланс окисления глюкозы по ФДФ-пути складывается из образования 2 молекул пирувата, 2 молекул АТФ и 2 молекул восстановленного НАД.

ПФ-путь. В этом случае глюкозо-6-фосфат через реакции дегидрирования и декарбоксилирования превращается в рибулуро-5-фосфат (Ри-5-Ф), который находится в равновесии с рибозо-5-фосфатом и ксилулозо-5-фосфатом. Ри-5-Ф расщепляется до

3-фосфоглицеринового альдегида, промежуточного продукта превращения глюкозы в пируват.

Образовавшиеся пентозофосфаты превращаются в результате транскетолазных и трансальдолазных реакций во фруктозо-6-фосфат, замыкая реакции в цикл, и в 3-фосфоглицериновый альдегид, промежуточный продукт превращения глюкозы в пируват по ФДФ-пути.

При одном обороте цикла образуется 1 молекула 3-фосфоглицеринового альдегида, 3 молекулы CO_2 и 2 молекулы восстановленного НАДФ.

Значение цикла заключается в подготовке важных промежуточных веществ, пентозофосфатов, эритрозофосфатов, необходимых для синтеза нуклеиновых кислот и аминокислот, а также синтеза восстановленного НАДФ.

ПФ-путь как единственный путь расщепления глюкозы встречается у бактерий, у которых отсутствуют основные ферменты ФДФ-пути (альдолаза и трифосфатизомераза), превращающие фруктозо-1,6-дифосфат в пируват, например у некоторых видов рода *Lactobacillus* (*L. brevis*).

КДФГ-путь (путь Этнера—Дудорова) расщепления глюкозы специфичен только для бактерий. Встречается у бактерий, потерявших фермент

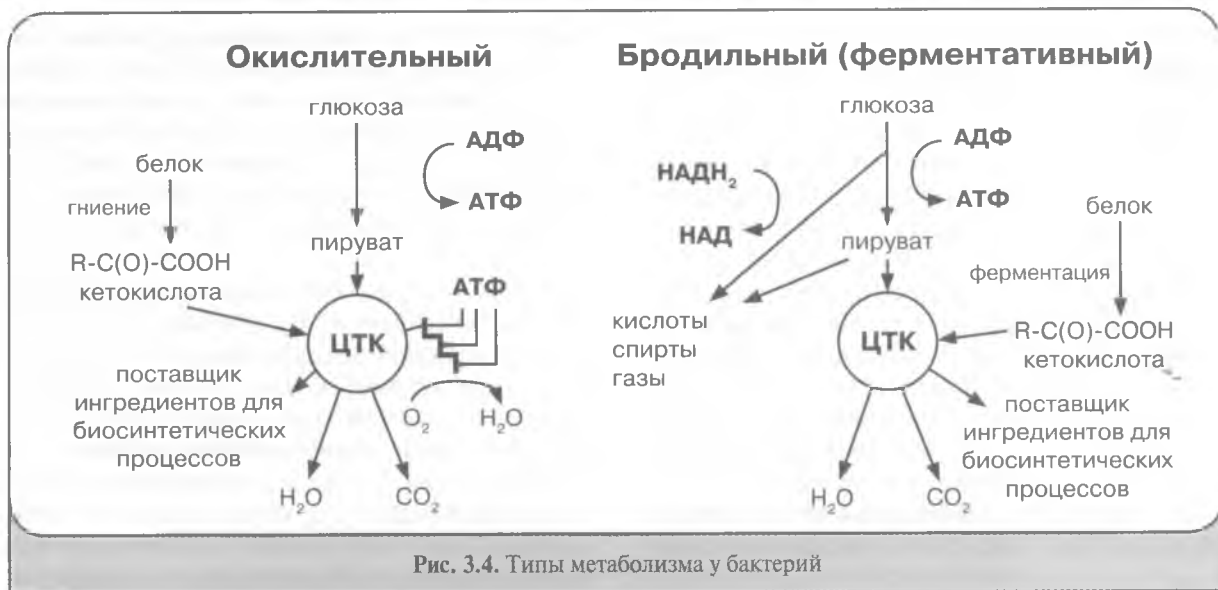


Рис. 3.4. Типы метаболизма у бактерий

фосфофруктокиназу, например у бактерий рода *Pseudomonas*.

Процесс начинается с дегидрирования глюкозо-6-фосфата до 6-фосфоглюконовой кислоты. От нее под действием дегидрогеназы отщепляется вода и образуется 2-кето-3-дезокси-6-фосфоглюконовая кислота (КДФГ), которая расщепляется альдолазой на пируват и 3-фосфоглицериновый альдегид. Последний окисляется до пировиноградной кислоты так же, как и по ФДФ-пути.

На каждую молекулу глюкозы образуется 1 молекула АТФ, 1 молекула восстановленного НАД и 1 молекула восстановленного НАДФ, которая эквивалентна 1 молекуле АТФ и 1 молекуле восстановленного НАД.

Микроорганизмы заметно различаются между собой по использованию того или иного из рассмотренных путей. Ферменты ФДФ-пути, как правило, являются обязательными компонентами клетки, хотя у многих бактерий этот путь действует лишь в обратном направлении; необратимые реакции при этом катализируются ферментами. ПФ-путь также имеет универсальное значение, так как он служит поставщиком ингредиентов для биосинтеза.

Пируват, образовавшийся при расщеплении глюкозы, превращается при участии кофакторов в «активированную» уксусную кислоту или ацетилкоэнзим А. Последний окисляется в CO₂ с отщеплением водорода в цикле трикарбоновых кислот.

Цикл трикарбоновых кислот выполняет не только функцию конечного окисления питательных веществ, этот цикл обеспечивает процессы биосинтеза многочисленными предшественниками: пируват α-кетоглутаровая, щавелевая и янтарные кислоты — для синтеза аминокислот; щавелевоуксусная — для синтеза пиримидиновых нуклеотидов, молонат — для синтеза аминокислот, пиримидиновых нуклеотидов и жиров (рис. 3.4).

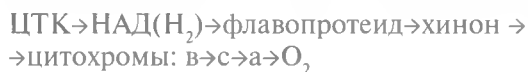
Окислительный метаболизм. Бактерии, обладающие окислительным метаболизмом, энергию получают путем *дыхания*.

Дыхание — процесс получения энергии в реакциях окисления-восстановления, сопряженных с реакциями окислительного фосфорилирования, при котором донорами электронов могут быть органические (у органотрофов) и неорганические (у литотрофов) соединения, а акцептором — только неорганические соединения.

У бактерий, обладающих окислительным метаболизмом, акцептором электронов (или водорода (H⁺)) является молекулярный кислород. В этом случае пируват полностью окисляется в цикле трикарбоновых кислот до C₂. Цикл трикарбоновых кислот выполняет функции как поставщика предшественников для биосинте-

тических процессов, так и атомов водорода, который в форме восстановленного НАД переносится на молекулярный кислород через серию переносчиков, обладающих сложной структурно оформленной мультиферментной системой — *дыхательной цепью*. Дыхательная цепь у бактерий локализована в ЦПМ и во внутриклеточных мембранных структурах.

Переносчики, осуществляющие транспорт водорода (электронов) на молекулярный кислород, относятся к 4 классам дегидрогеназ, коферментами которых являются НАД, флавопротеины, хиноны и цитохромы. Протоны (электроны) передвигаются от одного носителя к другому в направлении увеличивающегося окислительно-восстановительного потенциала. Типичная цепь выглядит следующим образом:



Среди бактериальных цитохромов различают цитохромы в, с, а и а₃. Конечным этапом переноса электронов (протонов) по дыхательной цепи является восстановление цитохромов а + а₃ (цитохромоксидазы). Цитохромоксидаза является конечной оксидазой, передающей электроны на кислород. В процессе переноса электронов по цитохромам меняется валентность входящего в состав железопорфирированной группы железа. Завершается перенос электронов реакцией $\text{O}_2 + 4\text{F}^{2+} + 2\text{O}^{2-} + 4\text{F}^{3+}$. Образующиеся при окислении ФАД или хинонов протоны связываются ионами O^{2-} с образованием воды.

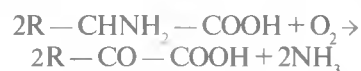
Образование АТФ в дыхательной цепи связывают с хемоосмотическим процессом. Особая ориентация переносчиков в ЦПМ приводит к тому, что передача водорода происходит с внутренней на внешнюю поверхность мембраны, в результате чего создается градиент атомов водорода, проявляющийся в наличии мембранного потенциала.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

В это время у эукариотов ферменты дыхательной цепи имеют относительно постоянный состав, у бактерий встречаются вариации в составе дыхательной цепи. Так, у многих бактерий вместо убихинонов имеются нафто-

хиноны, состав цитохромов может зависеть от условий роста бактерий. У некоторых бактерий цитохромы отсутствуют, и при контакте с кислородом происходит непосредственный перенос водорода на кислород с помощью флавопротеидов, конечным продуктом при этом оказывается перекись водорода — H_2O_2 .

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

Аминокислоты и белки также могут выступать в качестве энергетических ресурсов. Их использование связано, в первую очередь, с определенными ферментативными преобразованиями подготовительного характера. Белки вначале вне клетки расщепляются протеолитическими ферментами на пептиды, которые поглощаются клеткой и расщепляются внутриклеточными пептидазами до аминокислот. Аминокислоты могут использоваться в конструктивном метаболизме, а могут у аммонифицирующих бактерий служить основным материалом в энергетических процессах при *окислительном дезаминировании*, в результате которого происходит выделение аммиака и превращение аминокислоты в кетокислоту, которая через цикл трикарбоновых кислот вступает в конструктивный метаболизм:



Процесс аммонификации известен как «гниение», при этом происходит накопление продуктов, обладающих неприятным специфическим запахом образующихся при этом первичных аминов.

Гнилостные бактерии осуществляют минерализацию белка, разлагая его до CO_2 , NH_3 , H_2S . К гнилостным бактериям относятся *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus cereus*.

Бродильный (ферментативный) метаболизм

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

Кислород в процессе брожения участия не принимает. Восстановленные органические соединения выделяются в питательную среду и накапливаются в ней. Ферментоваться могут углеводы, аминокислоты (за исключением ароматических), пурины, пиримидины, многоатомные спирты. Не способны сбраживаться ароматические углеводороды, стероиды, каротиноиды, жирные кислоты. Эти вещества разлагаются и окисляются только в присутствии кислорода, в анаэробных условиях они стабильны. Продуктами брожения являются кислоты, газы, спирты.

При ферментации гексоз (глюкозы) пируват лишь частично окисляется в цикле трикарбоновых кислот. Последний выполняет только функции поставщика предшественников для биосинтетических процессов. Энергия в форме 2 молекул АТФ образуется в результате субстратного фосфорилирования, протекающего при окислении триозофосфата в пируват. Отщепившийся от субстрата водород, находящийся в форме восстановленного НАД, переносится на пируват, превращая его в цепи реакций в этанол, кислоты, газы. Исходя из природы конечных продуктов, различают несколько типов ферментации углеводов.

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

Спиртовое брожение используется в пищевой промышленности: хлебопекарной, виноделии.

Молочнокислотное брожение. Различают два типа молочнокислотного брожения: гомоферментативное и гетероферментативное.

При **гомоферментативном** типе расщепление глюкозы проходит по ФДФ-пути. Водород от восстановленного НАД передается на пируват при помощи лактатдегидрогеназы, при этом образуется молочная кислота. Гомоферментативное молочнокислотное брожение происходит у *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *S. salivarius* у некоторых видов рода *Lactobacillus*: *L. dulgaricus*, *L. lactis*.

Гетероферментативное молочнокислотное брожение присутствует у бактерий, у которых отсутствуют ферменты ФДФ-пути: альдолаза и триозофосфатизомераза. Расщепление глюкозы происходит по ПФ-пути с образованием фосфоглицеринового альдегида, который превращается далее в пируват по ФДФ-пути и в последующем восстанавливается в лактат. Дополнительными продуктами этого типа брожения являются также этанол, уксусная кислота. Гетероферментативное молочнокислотное брожение встречается у различных представителей бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*.

Продукты молочнокислотного брожения играют большую роль в формировании колонизационной резистентности бактериями рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, составляющих облигатную флору кишечника.

Молочнокислые бактерии широко используются в молочной промышленности для получения молочнокислых продуктов, а также в создании пробиотиков.

Муравьинокислотное (смешанное) брожение. Встречается у представителей семейств *Enterobacteriaceae* *Vibrionaceae*. Глюкоза расщепляется по ФДФ-пути, глюконат расщепляется по КДФГ-пути.

В зависимости от продуктов брожения, выделяющихся в анаэробных условиях, различают два типа процессов:

1. В одном случае происходит расщепление пирувата с образованием ацетилкофермента А и муравьиной кислоты, которая, в свою очередь, может расщепляться на двуокись углерода и молекулярный водород. Другими продуктами брожения, образующимися через цепь реакций, являются этанол, янтарная и молочная кислоты. Сильное кислотообразование можно выявить реакцией с индикатором *метил-рот*, который меняет окраску в сильно кислой среде.

2. При другом типе брожения образуется целый ряд кислот, однако главным продуктом брожения являются *ацетоин* и *2,3-бутандиол*. Ацетоин образуется из двух молекул пирувата с последующим двукратным декарбоксилированием. При последующем восстановлении ацетоина образуется 2,3-бутандиол. Эти вещества при взаимодействии а-нафтол в щелочной среде вызывают образование окраски бурого цвета,

что выявляется *реакцией Фогеса—Проскауэра*, используемой при идентификации бактерий.

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

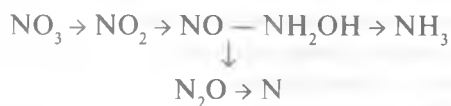
Ферментация белков. Если для бактерий с бродильным метаболизмом источником энергии служат белки, то такие бактерии называются *пептолитическими*. Пептолитическими являются некоторые кластридии, в частности *C. histolyticum*, *C. botulinum*. Пептолитические бактерии гидролизуют белки и сбраживают аминокислоты. Многие аминокислоты сбраживаются совместно с другими, при этом одна выполняет функцию донора, а другая функцию — акцептора водорода. Аминокислота-донор дезаминируется в кетокислоту, которая в результате окислительного декарбоксилирования превращается в жирную кислоту.

Анаэробное дыхание. Некоторые бактерии обладают способностью использовать в анаэробных условиях нитрат как конечный акцептор водорода. Восстановление нитрата может происходить двумя путями:

1. *Аммонификацией*, при которой нитрат превращается в аммиак;

2. *Денитрофикацией*, при которой происходит восстановление нитрата до молекулярного азота или закиси азота.

Этот процесс связан с деятельностью фермента нитратредуктазы:



Сульфатное дыхание. Использовать сульфат как конечный акцептор водорода при анаэробном дыхании способна лишь небольшая группа бактерий, включающая только два рода: *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*. Эти бактерии являются строгими анаэробами, они обитают в сероводородном иле и не имеют значения в медицинской микробиоло-

гии. Они способны использовать в качестве донора электронов молекулярный водород, поэтому их относят к хемолитотрофам. Эти бактериям принадлежит ведущая роль в образовании сероводорода в природе.

3.1.6. Отношение бактерий к кислороду

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

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

Облигатные аэробы

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

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

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

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

Облигатные анаэробы

Не используют кислород для получения энергии.

ГЛАВА 3. Физиология микробов

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

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

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

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

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

Факультативные анаэробы

Способны расти и размножаться как в присутствии кислорода, так и в его отсутствии.

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

Различное физиологическое отношение микроорганизмов к кислороду связано с наличием у них ферментных систем, позволяющих существовать в атмосфере кислорода. Следует отметить, что в окислительных процессах, протекающих в атмосфере кислорода, при окислении флавопротеидов образуются токсические продукты: перекись водорода H_2O_2 и закисный радикал кислорода O_2^- — соединение, имеющее неспаренный электрон. Эти соединения вызывают перекисное окисление ненасыщен-

ных жирных кислот и окисление SH-групп белков.

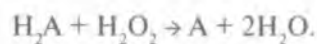
Для нейтрализации токсичных форм кислорода микроорганизмы, способные существовать в его атмосфере, имеют защитные механизмы. У облигатных аэробов и факультативных анаэробов накоплению закисного радикала O_2^- препятствует фермент *супероксиддисмутаза*, расщепляющая закисный радикал на перекись водорода и молекулярный кислород:



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



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



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

3.1.7. Рост и способы размножения бактерий

Под ростом бактериальной клетки понимают согласованное увеличение количества всех компонентов клетки. Рост клетки не беспределен. После достижения критических размеров клетка подвергается делению. Большинство бактерий делится поперечным делением надвое. У большинства грамположительных бактерий деление происходит путем синтеза поперечной перегородки, идущей от периферии к центру. Клетки большинства грамотрицательных бактерий делятся путем перетяжки.

Деление бактериальной клетки начинается спустя некоторое время завершения цикла репликации хромосомы, которая у бактерий протекает по полуконсервативному механизму. Это означает, что каждая из двух нитей ДНК хромосомы служит матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепи ДНК. В процессе репликации бактериальной хромосомы участвует более 20 ферментов. Так как натив-

ная бактериальная ДНК двуспиральная, при репликации цепи родительской молекулы матричной цепи ДНК должны быть разделены. В этом процессе участвуют ферменты *хеликазы*, которая в энергопоглощаемой реакции расплетает двойную спираль, и *топоизомераза* (*гираза*), которая предотвращает образование вторичных завитков. SSB-белок связывается с одноцепочечной ДНК, предотвращая повторное скручивание в двойную спираль. В результате образуется репликативная вилка (рис. 3.5). Синтез новых цепей ДНК осуществляется ферментом *ДНК-полимеразой*. ДНК-полимераза не способна инициировать новые цепи ДНК.

Особенностью функционирования ДНК-полимеразы является ее способность присоединять комплементарные матрицы нуклеотиды к свободному 3'-концу растущей цепи. Поэтому для осуществления реакции полимеризации нуклеотидов на матрице родительской цепи полимеразе требуется затравка, праймер (primer — запал, англ.). Праймер представляет

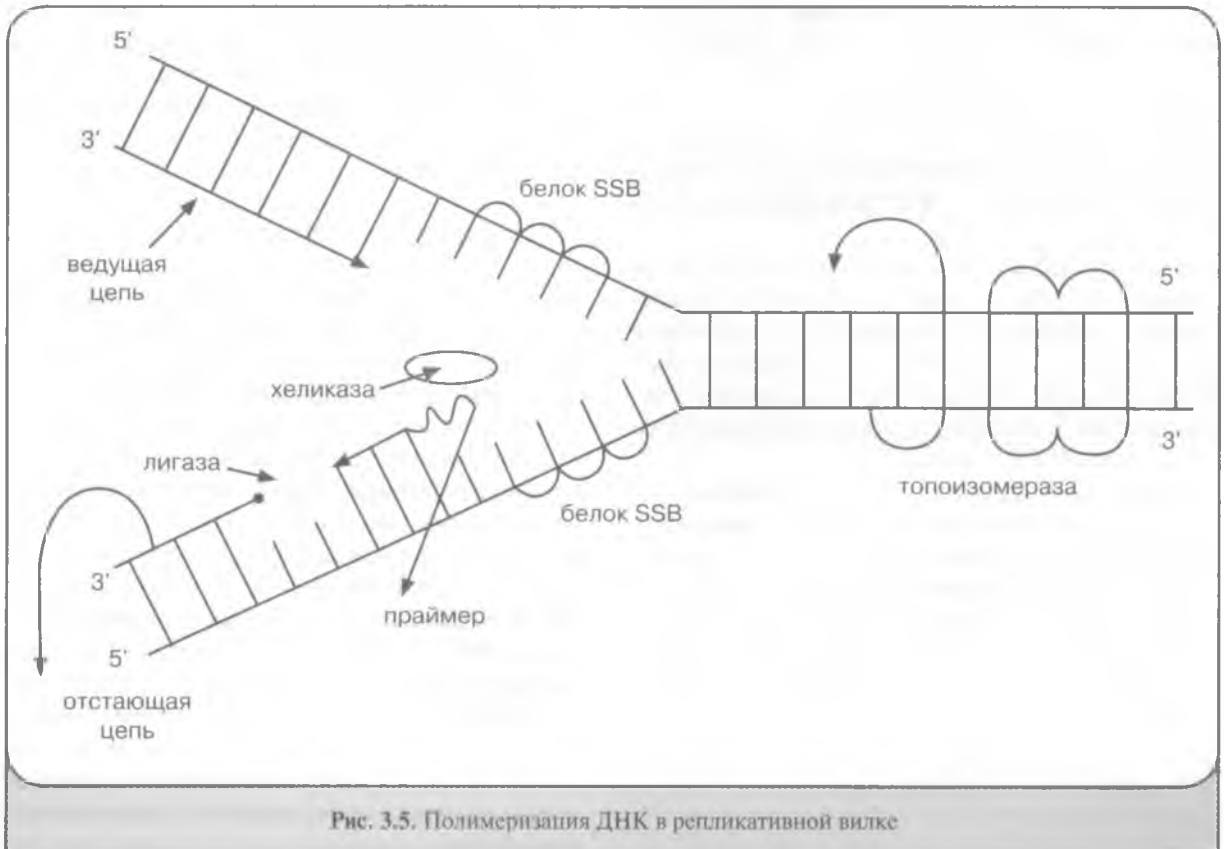


Рис. 3.5. Полимеризация ДНК в репликативной вилке

ГЛАВА 3. Физиология микробов

собой короткую нуклеотидную цепочку РНК, комплементарную матричной цепи, со свободным 3'-концом. Достаивание осуществляется присоединением к свободной гидроксильной группе 3'-конца затравки нового нуклеотида. Расплетенные цепи ДНК всегда содержат на 5'-конце несколько рибонуклеотидов, т. е. синтез ДНК начинается с синтеза РНК. РНК-затравку для синтеза ДНК образует специальный фермент ДНК-праймаза, способная инициировать синтез РНК по одноцепочечной ДНК матрицы в отсутствие какой-либо затравки. После того как цепь ДНК начала синтезироваться, РНК-затравка удаляется, а удаляющиеся бреши застраиваются ДНК-полимеразой с высокой точностью. Так как цепи ДНК в дуплексе антипараллельны, то направление расплетания двойной цепи совпадает лишь с направлением синтеза ДНК на одной матрице, которая называется ведущей и на которой протекает непрерывный синтез ДНК. На комплементарной цепи ДНК синтезируется короткими фрагментами *Оказаки*, которые впоследствии сшиваются в одну ковалентно связанную непрерывную цепь ДНК ДНК-лигазами.

Процесс репликации ДНК бактерии продолжается до тех пор, пока не удвоится вся ДНК. Репликация начинается в одной изbranной области, называемой *origin* (*origin* — начало, англ.), имеющей определенную последовательность нуклеотидов. На *origin* может возникнуть одна или две репликативные вилки.

Последовательность нуклеотидов на *origin*-участке способствует необходимому для репликации ДНК расплетанию двойной спирали и служит местом «посадки» на ДНК комплекса ферментов, участвующих в репликации. Правильное распределение вновь синтезированных нитей ДНК по дочерним клеткам достигается у бактерий за счет прикрепления ДНК к мембране. Пространственная организация участка прикрепления и зоны роста мембраны, и клеточной стенки обеспечивает автоматическое растаскивание двух копий реплицированной ДНК по дочерним клеткам. Размножение бактерий бинарным делением приводит к росту числа бактериальных клеток в геометрической прогрессии.

При внесении бактерий в питательную среду они растут и размножаются до тех пор,

пока содержание какого-нибудь из необходимых компонентов среды не достигнет минимума, после чего рост и размножение прекращаются. Если на протяжении всего этого времени не прибавлять питательных веществ и не удалять конечных продуктов обмена, то получаем *статическую бактериальную культуру*. Статическая (периодическая) культура бактерий ведет себя как многоклеточный организм, с генетическим ограничением роста. Если построить график, по оси абсцисс которого отложить время, а по оси ординат — число клеток, то получим кривую, описывающую зависимость числа образующихся клеток от времени размножения, которая называется *кривой роста* (рис. 3.6).

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

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

2. Экспоненциальная (логарифмическая) фаза. Характеризуется постоянной максимальной скоростью деления клеток. Эта скорость зависит от вида бактерий и питательной среды. Время удвоения клеток назы-



Рис. 3.6. Фазы размножения бактерий

вается *временем генерации*, которое варьирует от вида бактериальной культуры: у бактерий рода *Pseudomonas* оно равняется 14 мин, а у *Mycobacterium* — 24 ч. Величина клеток и содержание белка в них во время экспоненциальной фазы остаются постоянными. Бактериальная культура в этой фазе состоит из стандартных клеток.

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

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

Постоянное нахождение бактериальной популяции в логарифмической фазе роста наблюдается в *непрерывной культуре*, что достигается постепенным дозированием поступления питательных веществ, контролем плотности бактериальной суспензии и удалением метаболитов. Непрерывные бактериальные культуры используются в биотехнологических процессах.

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

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

На плотных питательных средах бактерии образуют скопление клеток — *колонии*,

которые принято считать потомком одной клетки. Колонии различаются формой, размерами, поверхностью, прозрачностью, консистенцией и окраской. Колонии с гладкой блестящей поверхностью принято называть колониями в S-форме (*smooth* — гладкий, англ.). Колонии с матовой шероховатой поверхностью называют R-формами (*rough* — шероховатый, англ.).

Окраска колоний определяется способностью бактерий синтезировать пигменты.

Пигменты различаются по цвету, химическому составу и растворимости. Среди продуцируемых бактериями пигментов встречаются — каротиноиды — жирорастворимые пигменты красного, желтого и оранжевого цветов. Они встречаются у представителей рода *Mycobacterium*, *Micrococcus*;

— пирроловые — к ним относится спирторастворимый пигмент продигиозин, встречающийся у *Serratia marcescens*;

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

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

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

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

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

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

Микоплазмы являются полиморфными бактериями, что обусловлено особенностями их размножения. Помимо поперечного деления, если оно происходит синхронно с синтезом ДНК, ми-

коплазмы могут размножаться почкованием. В этом случае основной морфологической репродуцирующейся единицей являются элементарные тельца сферической или овоидной формы, размножающиеся фрагментацией и почкованием.

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

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

Некультивируемые формы бактерий. Некоторые неспорообразующие бактерии способны переживать неблагоприятные для размножения условия окружающей среды, переходя в *некультивируемое состояние*. В этом состоянии бактериальные клетки сохраняют свою метаболическую активность, но не способны к непрерывному клеточному делению, необходимому для роста на жидких и плотных питательных средах. При смене условий существования, в частности при попадании в организм человека или животных, клетки вновь приобретают способность к размножению и сохраняют свой патогенный потенциал. Переход в некультивируемое (покоящееся) состояние обеспечивает сохранение патогенных бактерий в межэпидемические и межэпизоотические периоды. При переходе в некультивируемую форму бактериальные клетки уменьшаются в размерах, приобретают сферическую форму, меняют вязкость ЦПМ. У них сохраняется транспорт электронов по дыхательной цепи и невысокий уровень метаболической активности. На переход в некультивируемую форму влияют температура, концентрация солей, свет, парциальное давление кислорода, содержание питательных веществ, а также метаболиты водорослей, находящиеся в биоценозе с бактериями. Выявить наличие

бактерий, находящихся в некультивируемой форме, можно с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) (разд. 5.6.3) или применением красителей, меняющих окраску в окисленной и восстановленной форме. Возврат способности к размножению и росту находящихся в покоящейся форме клеток могут вызвать естественные факторы: простейшие, обитатели почв и водоемов, фитогормоны, выделяемые корневыми волосками растений.

3.1.8. Условия культивирования бактерий

Для культивирования бактерий необходимо соблюдать ряд условий.

1. **Наличие полноценной питательной среды.** Каждая питательная среда независимо от сложности состава и цели применения (гл. 2) должна обладать водной основой, органическим источником углерода и энергии, определенным рН, осмотическим давлением.

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

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

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

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

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

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

Микроаэрофилы размножаются при пониженном парциальном давлении кислорода. Этого можно достичь повышением в атмосфере культивирования парциального давления CO_2 до концентрации 1–5 % против 0,03 % CO_2 в атмосфере воздуха. Для этих же целей используют специальные CO_2 -инкубаторы, или же посевы помещают в эксикаторы, в которых устанавливают горящую свечу.

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

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

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

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

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

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

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

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

Культивирование абсолютных внутриклеточных паразитов, бактерий, относящихся к родам *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Coxiella*, *Chlamydia*, осуществляют на культурах клеток или в организме животных и членистоногих, а также

в куриных эмбрионах (за исключением эрхий). Куриные эмбрионы используют также для культивирования бактерий, обладающих высоким уровнем гетеротрофности, например: родов *Borrelia*, *Legionella*.

В промышленных условиях для получения биомассы бактерий или грибов с целью получения антибиотиков, вакцин, диагностических препаратов, пробиотиков культивирование осуществляется в аппаратах (ферментерах) различной вместимости при строгом соблюдении оптимальных параметров роста и размножения культур (гл. 6).

3.2. Особенности физиологии грибов и простейших

Грибы по типу питания — гетеротрофы по отношению к кислороду — аэробы и облигатные анаэробы. Растут в широком диапазоне температур (оптимальная температура 25–30 °С), имеют половую и бесполовые способы размножения. Поэтому грибы широко распространены в окружающей среде, особенно в почве. Грибы вместе с синезелеными водорослями образуют *симбиоз* в виде лишайника. В этом симбиозе грибы поглощают воду и растворимые в ней вещества, синезеленые водоросли поставляют грибу органические соединения. Другой вид взаимоотношений — *микориза* — симбиоз грибов и корней высших растений.

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

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

Простейшие имеют органы движения (жгутики, реснички, псевдоподии), питания (пищеварительные вакуоли) и выделения (экскретительные вакуоли). По типу питания они могут быть гетеротрофами или аутотрофами. Размножаются бесполым и половым путем. Некоторые простейшие имеют сложный жизненный цикл, сопровождающийся сменой

форм развития, полового и бесполого размножения, образуют цисты.

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

3.3. Физиология вирусов

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

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

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

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

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

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

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

3.3.1. Репродукция вирусов

Продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой, т. е. *репродукция* вируса (лат. *re* — повторение, *productio* — производство), проходит в 6 стадий: 1) адсорбция вирионов на клетке; 2) проникновение вируса в клетку; 3) «раздевание» и высвобождение вирусного генома (депротеинизация вируса); 4) синтез вирусных компонентов; 5) формирование вирионов; 6) выход вирионов из клетки. У различных вирусов эти стадии отличаются (рис. 3.7–3.10).

Адсорбция вирусов. Первая стадия репродукции вирусов — адсорбция, т. е. прикрепление вириона к поверхности клетки. Она протекает в две фазы. Первая фаза — неспецифическая, обусловленная ионным притяжением между вирусом и клеткой, включая и другие механизмы. Вторая фаза адсорбции — высокоспецифическая, обусловленная гомологией, комплементарностью рецепторов чувствительных клеток и «узнающих» их белковых лигандов вирусов. Белки на поверхности вирусов, узнающие специфические клеточные рецепторы и взаимодействующие с ними, называются *прикрепительными* белками (в основном это гликопротеины) в составе липопротеиновой оболочки.

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

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

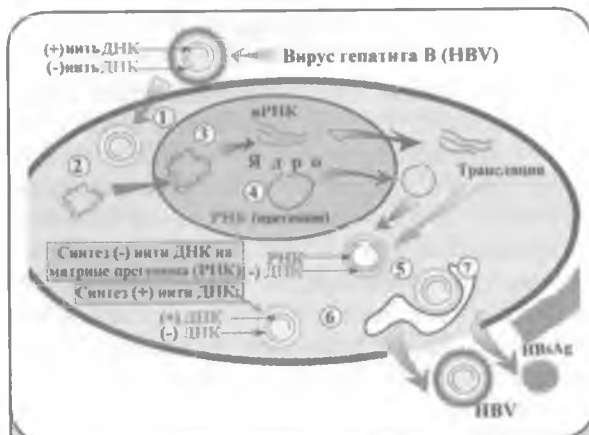


Рис. 3.7. Схема репродукции вируса гепатита В. После проникновения в клетку сердцевины вируса (1) неполная нить ДНК-генома достраивается; формируется полная двунитевая кольцевая ДНК (2) и созревший геном (3) попадает в ядро клетки. Здесь клеточная ДНК-зависимая РНК-полимераза синтезирует разные иРНК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

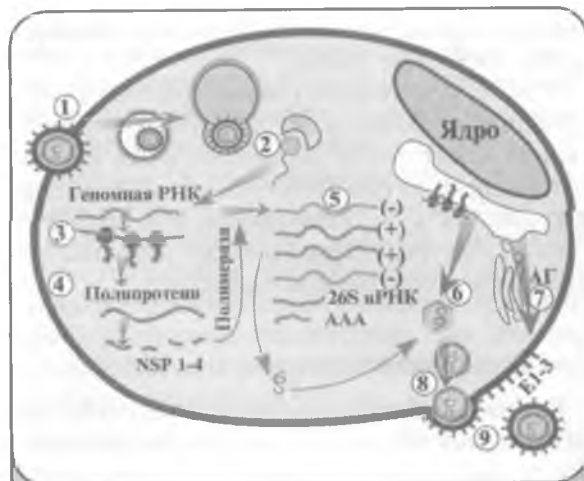


Рис. 3.8. Схема репродукции плюс-однонитевых РНК-содержащих вирусов (представитель семейства тогавирусов). Вирус (1) попадает в клетку рецептор-опосредованным эндоцитозом. Вирусный геном (плюс-РНК) попадает в цитоплазму (2), где, как иРНК, связывается с рибосомами (3); транслируется полипротеин (4), расщепляющийся на 4 неструктурных белка (NSP 1-4), включая РНК-зависимую РНК-полимеразу. Эта полимеразы транскрибирует геномную плюс-РНК в минус-нить РНК (матрицу), на которой (5) синтезируются копии РНК двух размеров: полная плюс-нить 49S-геномной РНК; неполная нить 26S иРНК, кодирующая С-белок капсида (6) и гликопротеины оболочки Е1-3, которые синтезируются на рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума, затем включаются в мембрану и гликозилируются. Белки оболочки дополнительно гликозилируются в аппарате Гольджи (7) и встраиваются в плазмолемму. С-белок образует с геномной РНК нуклеокапсид (8), который вместе с модифицированной плазмолеммой (оболочкой вириона) выходит из клетки почкованием (9)

иммунокомпетентных клетках — иммунотропными и т. д.

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

1. **Рецептор-зависимый эндоцитоз** происходит в результате захватывания и поглощения вириона клеткой: клеточная мембрана с прикрепленным вирионом впячивается с образованием внутриклеточной вакуоли (эндосомы), содержащей вирус. За счет АТФ-зависимого «протонного» насоса содержимое эндосомы закисляется, что приводит к слиянию липопротеиновой оболочки сложно организованного вируса с мембраной эндосомы

и выходу вирусного нуклеокапсида в цитозоль клетки. Эндосомы объединяются с лизосомами, которые разрушают оставшиеся вирусные компоненты. Процесс выхода безоболочечных (просто организованных) вирусов из эндосомы в цитозоль остается малоизученным.

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

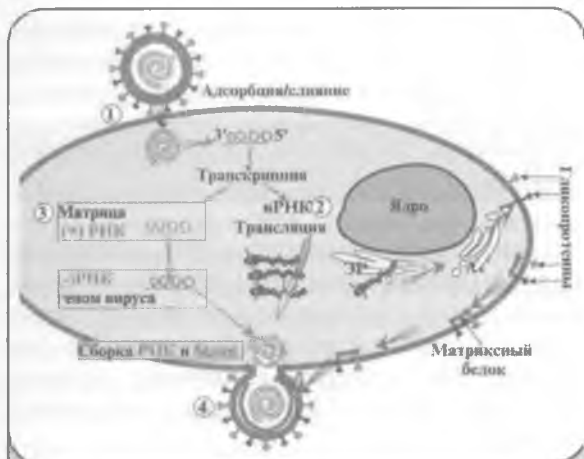


Рис. 3.9. Схема репродукции минус-однонитевых РНК-содержащих вирусов (парамиксовирусов). Вирус связывается гликопротеинами оболочки с поверхностью клетки и сливается с плазмолеммой (1). С геномной минус-нити РНК вируса транскрибируются неполные плюс-нити РНК, являющиеся иРНК для отдельных белков, и полная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

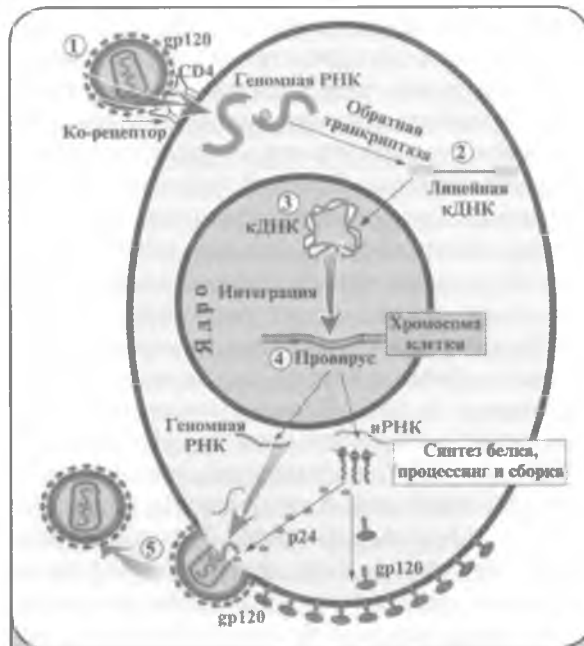


Рис. 3.10. Схема репродукции вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Вирус (1) связывается гликопротеином gp120 с рецептором CD4 Т-хелперов, макрофагов, дендритных и микроглиальных клеток. Участвуют и другие ко-рецепторы клеток. После слияния оболочки ВИЧ с плазмолеммой клетки в цитоплазме освобождается геномная РНК и обратная транскриптаза вируса, которая на матрице геномной РНК синтезирует комплементарную минус-нить ДНК (линейная кДНК). С последней (2) копируется плюс-нить с образованием двойной кольцевой кДНК (3). Комплементарная ДНК интегрирует с хромосомной ДНК клетки (4). Рекомбинантная ДНК-провирус служит основой синтеза геномной РНК вируса и иРНК, которые обеспечивают синтез компонентов вируса и сборку вирионов. Вирионы выходят из клетки почкованием (5): сердцевина вируса «одевается» в модифицированную плазмолемму клетки

клеточной мембраной, а внутренний компонент вируса попадает в цитозоль клетки.

«Раздевание» (депротеинизация) вирусов. В результате депротенизации удаляются поверхностные структуры вируса и высвобождается его внутренний компонент, способный вызывать инфекционный процесс. Первые этапы «раздевания» вируса начинаются в процессе его проникновения в клетку путем слияния вирусных и клеточных мембран или же при выходе вируса из эндосомы в цитозоль. Последующие этапы «раздевания» вируса тесно взаимосвязаны с их внутриклеточным транспортом к местам депротенизации. Для разных вирусов существуют свои специализированные участки «раздевания» в клетке: для пикорнавирусов — в цитоплазме с участием лизосом, аппарата Гольджи; для герпесвирусов — окооядерное пространство или поры ядерной мембраны; для аденовирусов — сначала структуры цитоплазмы, а затем ядро клетки. Конечными продуктами «раздевания» могут быть нуклеиновая кислота, нуклеопротеин (нуклеокапсид)

или сердцевина вириона. Так, конечным продуктом «раздевания» пикорнавирусов является нуклеиновая кислота, ковалентно связанная с одним из внутренних белков. А у многих оболочечных РНК-содержащих вирусов конечными продуктами «раздевания» могут быть нуклеокапсиды или сердцевинки, которые не только не препятствуют экспрессии вирусного генома, а, более того, защищают его от клеточных протеаз и регулируют последующие биосинтетические процессы.

Синтез вирусных компонентов. Следующей стадией репродукции является синтез белков и

нуклеиновых кислот вируса, который разобщен во времени и пространстве. Синтез осуществляется в разных частях клетки, поэтому такой способ размножения вирусов называется *дизъюнктивным* (от лат. *disjunctus* — разобщенный).

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

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

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

геномная ДНК вируса → транскрипция иРНК → трансляция белка вируса.

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

□ **Плюс-нитевые РНК-содержащие вирусы** (например, пикорнавирусы, флавивирусы, тогавирусы) имеют геном, выполняющий функ-

цию иРНК; он распознается и транслируется рибосомами. Синтез белков у этих вирусов осуществляется без акта транскрипции по схеме:

геномная РНК вируса → трансляция белка вируса.

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

геномная РНК вируса → транскрипция иРНК → трансляция белка вируса.

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

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

Репликация вирусных геномов, т. е. синтез вирусных нуклеиновых кислот, приводит к накоплению в клетке копий исходных вирусных геномов, которые используются при сборке вирионов. Способ репликации генома зависит от типа нуклеиновой кислоты вируса, наличия вирусоспецифических или клеточных полимераз, а также от способности вирусов индуцировать образование полимераз в клетке. Механизм

ГЛАВА 3. Физиология микробов

репликации отличается у вирусов, имеющих: 1) двунитевую ДНК; 2) однонитевую ДНК; 3) плюс-однонитевую РНК; 4) минус-однонитевую РНК; 5) двунитевую РНК; 6) идентичные плюс-нитевые РНК (ретровирусы).

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

Уникальный механизм репликации характерен для гепаднавирусов (вируса гепатита В). Геном гепаднавирусов представлен двунитевой кольцевой ДНК, одна нить которой короче (неполная плюс-нить) другой нити. Первоначально достраивается неполная плюс-нить ДНК (см. рис. 3.7). Затем полная двунитевая ДНК с помощью клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы транскрибируется с образованием небольших молекул иРНК и полной однонитевой плюс-РНК. Последняя называется прегеномной РНК; она является матрицей для репликации генома вируса. Синтезированные иРНК участвуют в процессе трансляции белков, в том числе вирусной РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы). С помощью этого фермента мигрирующая в цитоплазму прегеномная РНК обратно транскрибируется в минус-нить ДНК, которая, в свою очередь, служит матрицей для синтеза плюс-нити ДНК. Этот процесс заканчивается образованием двунитевой ДНК, содержащей неполную плюс-нить ДНК.

2. Однонитевые ДНК-вирусы. Единственными представителями однонитевых ДНК-вирусов являются парвовирусы. Парвовирусы используют клеточные ДНК-полимеразы для создания двунитевого вирусного генома, так называемой репликативной формы последнего. При этом на исходной вирусной ДНК (плюс-нить) комплементарно синтезируется

минус-нить ДНК, служащая матрицей для синтеза плюс-нити ДНК нового вириона. Параллельно синтезируется иРНК, происходит трансляция вирусных пептидов.

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

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

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

вых кислот этих вирусов происходит в цитоплазме клеток.

6. **Ретровирусы** (плюс-нитевые диплоидные РНК-содержащие вирусы). Обратная транскриптаза ретровирусов синтезирует (на матрице РНК-вируса) минус-нить ДНК, с которой копируется плюс-нить ДНК с образованием двойной нити ДНК, замкнутой в кольцо (рис. 3.10). Далее двойная нить ДНК интегрирует с хромосомой клетки, образуя провирус. Многочисленные вирионные РНК образуются в результате транскрипции одной из нитей интегрированной ДНК при участии клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

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

Существуют следующие общие принципы сборки вирусов:

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

□ Сборка просто устроенных вирусов заключается во взаимодействии вирусных нуклеиновых кислот с капсидными белками и в образовании нуклеокапсидов.

□ У сложно устроенных вирусов сначала формируются нуклеокапсиды, которые взаимодействуют с модифицированными мембранами клеток (будущей липопротеиновой оболочкой вируса). Причем сборка вирусов, реплицирующихся в ядре клетки, происходит с участием мембраны ядра, а сборка вирусов, репликация которых идет в цитоплазме, осуществляется с участием мембран эндоплазматической сети или плазматической мембраны, куда встраиваются гликопротеины и другие белки оболочки вируса.

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

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

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

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

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

Почкование вирусов, формирующихся в цитоплазме, может происходить либо через плазматическую мембрану (например, парамиксовирусы, тогавирусы — см. рис. 3.2 и 3.3), либо через мембраны эндоплазматической сети с последующим их выходом на поверхность клетки (например, буньявирусы).

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

3.3.2. Абортивный тип взаимодействия вирусов с клеткой

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

- 1) заражение чувствительных клеток дефектными вирусами или дефектными вирионами;
- 2) заражение стандартным вирусом генетически резистентных к нему клеток;
- 3) заражение стандартным вирусом чувствительных клеток в непермиссивных (неразрешающих) условиях.

Различают дефектные вирусы и дефектные вирионы.

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

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

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

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

3.3.3. Интегративный тип взаимодействия вирусов с клеткой (виrogenия)

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

функционирует как составная часть генома клетки.

Интегративный тип взаимодействия характерен для умеренных ДНК-содержащих бактериофагов, онкогенных вирусов и некоторых инфекционных вирусов как ДНК-содержащих (например, вируса гепатита В), так и РНК-содержащих (например, вируса иммунодефицита человека). Для интеграции с геномом клетки необходимо наличие кольцевой формы двунитевой ДНК-вируса. Геном ДНК-содержащих вирусов в кольцевой форме прикрепляется к клеточной ДНК в месте гомологии нуклеотидных последовательностей и встраивается в определенный участок хромосомы при участии ряда ферментов (рестриктаз, эндонуклеаз, лигаз). У РНК-содержащих вирусов процесс интеграции более сложный. Он начинается с механизма обратной транскрипции, который заключается в синтезе комплементарной нити ДНК на матрице вирусной РНК с помощью вирусоспецифического фермента обратной транскриптазы (ревертазы). После образования двунитевой ДНК и замыкания ее в кольцо происходит интеграция ДНК-транскрипта в хромосому клетки (рис. 3.10). Встроенная в хромосому клетки ДНК вируса называется *провирусом*, или провирусной ДНК. Провирус реплицируется в составе хромосомы и переходит в геном дочерних клеток, т. е. состояние виrogenии наследуется. Однако под влиянием некоторых физических или химических факторов провирус может исключаться из хромосомы клетки и переходить в автономное состояние с развитием продуктивного типа взаимодействия с клеткой.

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

3.4. Культивирование вирусов

Культивирование вирусов человека и животных проводят с целью лабораторной диагностики вирусных инфекций, для изучения патогенеза и иммунитета при вирусных инфекциях, а также для получения диагностических и вакцинных препаратов. Вирусы культивируют на трех биологических моделях: в организме лабораторных животных, в развивающихся эмбрионах птиц (чаще на куриных эмбрионах) и культурах клеток (тканей).

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

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

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

Куриные эмбрионы (5–12-дневные) заражают путем введения исследуемого матери-

ала в различные полости и ткани зародыша. Таким образом можно культивировать вирусы гриппа, герпеса, натуральной оспы и др. Достоинствами модели являются: возможность накопления вирусов в больших количествах; отсутствие скрытых вирусных инфекций; доступность для любой лаборатории. О репродукции вирусов в куриных эмбрионах свидетельствуют: специфические поражения оболочек и тела эмбриона (оспины, кровоизлияния); гибель эмбриона; положительная РГА с вирусосодержащей жидкостью, полученной из полостей зараженного зародыша.

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

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

При выращивании культур клеток необходимо выполнение ряда условий:

- 1) соблюдение правил асептики; 2) использование лабораторной посуды из нейтрального стекла (пробирки, флаконы, матрасы) или специальных реакторов для получения биотехнологической продукции; 3) использование сложных по составу питательных сред (среда 199, Игла), содержащих минеральные соли, аминокислоты, витамины, глюкозу, сыворотку крови животных или человека, буферные растворы для поддержания стабильного pH; 4) добавление антибиотиков к питательной среде для подавления роста посторонних мик-

ГЛАВА 3. Физиология микробов

робов; 5) соблюдение оптимальной температуры (36–38,5 °С) роста клеток.

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

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

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

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

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

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

Перевиваемые, или стабильные, культуры клеток способны размножаться в лабораторных условиях неопределенно длительный срок (десяtkи лет), т. е. выдерживают многочисленные пассажи. Их получают преимущественно из опухолевых или эмбриональных тканей, обладающих большой потенциальной способностью к росту. Перевиваемые культуры клеток имеют преимущества перед первичными культурами. К ним относятся: продолжительность их культивирования, высокая скорость размно-

жения опухолевых и эмбриональных клеток, меньшая трудоемкость, способность культур сохранять свои свойства в замороженном состоянии в течение многих лет, возможность использования международных линий культур во многих лабораториях мира. Однако злокачественный характер клеток и соматические мутации, претерпеваемые нормальными клетками в процессе многочисленных генераций, ограничивают использование этого вида культур, в частности невозможно их применение в производстве вирусных вакцин.

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

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

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

ЦПД — патологические изменения морфологии клеток, вплоть до их гибели, возникающие в результате репродукции вирусов, и наблюдаемые под микроскопом (рис. 3.11). В зависимости от особенностей репродуцирующихся вирусов ЦПД может отличаться. В одних случаях быстро вакуолизируется ци-

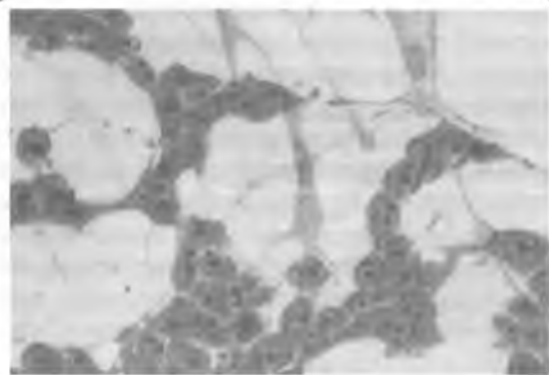


Рис. 3.11. Однослойная культура клеток, зараженная вирусом — ЦПД вируса



Рис. 3.12. Цитоплазматические включения — тельца Гварниери



Рис. 3.13. Бляшкообразование в культуре клеток

топлазма, разрушаются митохондрии, округляются и гибнут клетки, а в других — формируются гигантские многоядерные клетки (так называемые симпласты) или наблюдается явление клеточной пролиферации, которое в итоге заканчивается деструкцией клеток. Таким образом, характер ЦПД позволяет использовать этот феномен не только для индикации вирусов, но и для их ориентировочной идентификации в культуре клеток.

Некоторые вирусы можно обнаружить и идентифицировать по внутриклеточным вклю-

чениям, которые образуются в ядре или цитоплазме зараженных клеток (рис. 3.12). Час включения представляют собой скопления вирусных частиц или отдельных компонентов вирусов, иногда могут содержать клеточный материал. Выявляют включения с помощью светового или люминесцентного микроскопа после окрашивания зараженных клеток соответственно анилиновыми красителями или флюорохромами. Включения могут отличаться по величине (от 0,2 до 25 мкм), форме (округлые или неправильные) и численности (одиночные и множественные). Характерные цитоплазматические включения формируются в клетках, инфицированных вирусом натуральной оспы (тельца Гварниери), бешенстве (тельца Бабеша—Негри), а внутриядерные включения — при заражении аденовирусами или вирусами герпеса.

«Бляшки», или «негативные колонии», — представляют собой ограниченные участки разрушенных вирусами клеток в сплошном монослое культур клеток. Они видны невооруженным глазом в виде светлых пятен на фоне окрашенного монослоя живых клеток (рис. 3.13). Добавление агара в питательную среду ограничивает распространение вирусов по всему монослою после выхода их из разрушенной клетки и обеспечивает взаимодействие вирусов только с соседними клетками. Каждая «бляшка» образуется потомством одного вириона. Подсчитав количество «бляшек», можно определить концентрацию вирусов в исследуемом материале. Кроме того, «бляшки» разных групп вирусов отличаются по размеру, форме, срокам появления. Поэтому метод «бляшек» используют для дифференциации вирусов, а также для селекции штаммов и получения чистых линий вирусов.

В основе реакции гемадсорбции лежит способность культур клеток, инфицированных вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты. Целый ряд вирусов (гриппа, парагриппа и др.) обладают гемадсорбирующими свойствами, что позволяет использовать реакцию гемадсорбции для индикации этих вирусов даже при отсутствии выраженного ЦПД в культуре клеток. Механизмы реакции гемадсорбции и гемагглютинации сходны. Поэтому для обнаружения репродукции некоторых вирусов в культуре клеток можно использовать

ГЛАВА 3. Физиология микробов

реакцию гемагглютинации с культуральной жидкостью, т. е. с питательной средой, содержащей размножившиеся вирусы.

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

3.5. Бактериофаги (вирусы бактерий)

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

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

Бактериофаги широко распространены: они выявлены у большинства бактерий, а также у

других микроорганизмов, например у грибов. Поэтому бактериофаги в широком смысле слова часто называют просто *фагами*.

Бактериофаги принято обозначать буквами латинского, греческого или русского алфавита, часто с цифровым индексом, перед которыми стоит название вида бактерий (например, фаги *E. coli* T2). Для обозначения группы родственных фагов используют родовые и видовые названия микробов, из которых выделены соответствующие фаги: колифаги, стафилофаги, актинофаги, микофаги и т. д.

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

Наиболее изучены крупные бактериофаги, имеющие форму сперматозоида и сокращающийся чехол отростка, например, колифаги T2, T4, T6. Они состоят из головки икосаэдрического типа размером 65–100 нм и хвостового отростка длиной более 100 нм (рис. 3.14).



Рис. 3.14. Взаимодействие бактериофага с оболочкой бактерии

Хвостовой отросток имеет внутри полый цилиндрический стержень, сообщающийся с головкой, а снаружи — чехол, способный к сокращению, наподобие мышцы. Чехол присоединен к воротничку, окружающему стержень около головки. На дистальном конце отростка имеется шестиугольная базальная пластинка с шипами, от которых отходят нитевидные структуры — *фибриллы*.

Бактериофаги содержат или ДНК, или РНК. Нуклеиновые кислоты фагов могут быть дунитевыми, однострунчыми, линейными, кольцевыми. Большинство фагов содержит дунитевую ДНК, замкнутую в кольцо.

У фагов, имеющих форму сперматозоида, одна молекула дунитевой суперспирализованной ДНК находится внутри головки и защищена капсидом. Капсид состоит из белковых молекул — идентичных полипептидных субъединиц, уложенных по икосаэдрическому (кубическому) типу симметрии. В состав головки также входит полипептид, состоящий из аспарагиновой, глутаминовой кислот и лизина. У некоторых фагов внутри головки находится внутренний гистоноподобный белок, обеспечивающий суперспирализацию ДНК. Сокращающийся чехол хвостового отростка образован также белковыми субъединицами, уложенными по спиральному типу симметрии, содержащими АТФ и ионы Ca^{2+} . У некоторых фагов (например, T2) в дистальной части отростка содержится фермент лизоцим.

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

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

Взаимодействие фагов с бактериальной клеткой. Бактериофаги инфицируют определенные бактерии, взаимодействуя специфическими рецепторами клетки. Из специфичности взаимодействия различают следующие бактериофаги: *поливалентные*, взаимодействующие с родственными видами бактерий; *моновалентные*, взаимодействующие с бактериями определенного вида; *типичные*, взаимодействующие с отдельными типами (вариантами) бактерий данного вида.

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

Вирулентные бактериофаги взаимодействуют с бактерией по продуктивному типу. Проникнув в бактерию, они репродуцируют с образованием 200–300 новых фаговых частиц и вызывают лизис бактерий. Взаимодействие бактериофага с бактерией напоминает взаимодействие вирусов человека с клеткой хозяина. Специфическая адсорбция фагов на бактериальной клетке происходит при наличии коплементарных рецепторов липопротеиновой или липополисахаридной природы в ее клеточной стенке. На бактериях, лишенных клеточной стенки (протопласты, сферопласты) бактериофаги не адсорбируются. Некоторые фаги в качестве рецепторов используют полые пилы бактерий (см. рис. 2.7).

Фаги, имеющие хвостовой отросток, прикрепляются к бактериальной клетке свободным концом отростка (фибриллами, базальной пластинкой). Проникновение фагового нуклеиновой кислоты в бактерию наиболее изучено у бактериофагов, имеющих отросток с сокращающимся чехлом (см. рис. 3.14). В результате активации АТФ чехол хвостового отростка сокращается, и стержень с помощью лизоцима, растворяющего прилегающий фрагмент клеточной стенки, как бы просвер-

ГЛАВА 3. Физиология микробов

ливаает оболочку клетки. При этом ДНК фага, содержащаяся в его головке, проходит в форме нити через канал хвостового стержня и инъецируется в клетку, а капсид фага остается снаружи бактерии.

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

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

Умеренные бактериофаги в отличие от вирулентных взаимодействуют с чувствительными бактериями либо по продуктивному, либо по интегративному типу (рис. 3.15). Продуктивный цикл умеренного фага идет в той же последовательности, что и у вирулентных фагов, и заканчивается лизисом клетки. При интегративном типе взаимодействия ДНК умеренного фага встраивается в хромосому бактерии, реплицируется синхронно с геномом размножающейся бактерии, не вызывая ее лизиса. ДНК бактериофага, встроенная в хромосому бактерии, называется *профагом*, а культура бактерий — *лизогенной*. Такое сосуществование бактерии и умеренного бактериофага называется *лизогенией* (от греч. *lysis* — разложение, *genea* — происхождение). Профаг, ставший частью хромосомы бактерии, при ее размножении передается по наследству потомкам.

Каким образом нуклеиновая кислота присоединяется к бактериальной хромосоме?

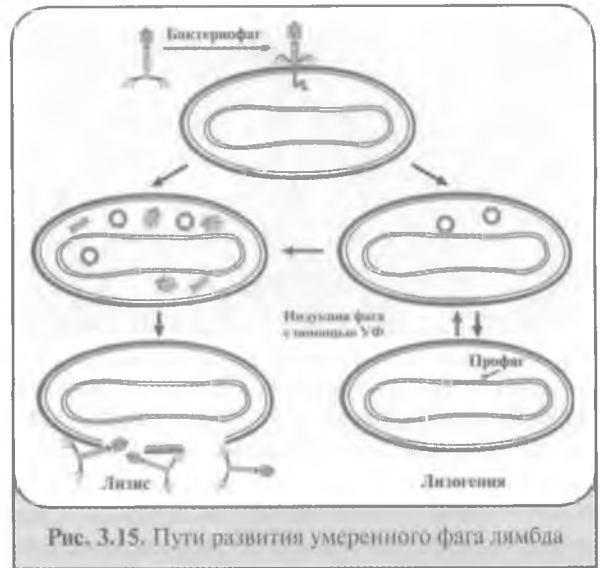


Рис. 3.15. Пути развития умеренного фага лямбда

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

Итак, при лизогении образование фагового потомства не происходит. В основе «сдерживающего» механизма репродукции фагов лежит образование в бактерии специфического репрессора — низкомолекулярного белка, подавляющего транскрипцию фаговых генов. Биосинтез репрессора детерминируется генами профага. Наличием репрессора можно объяснить способность лизогенных бактерий приобретать иммунитет (невосприимчивость) к последующему заражению гомологичным или близкородственными фагами. Под иммунитетом в данном случае понимается такое состояние бактерии, при котором исключается процесс вегетативного размножения вышеуказанных фагов и лизис клетки. Однако термин «лизогения» отражает потенциальную возможность лизиса бактерии, содержащей профаг. Действительно, профаги некоторой части лизогенной культуры бактерий могут спонтанно (самопроизвольно) или направленно под действием ряда физических или химических факторов дерепрессироваться,

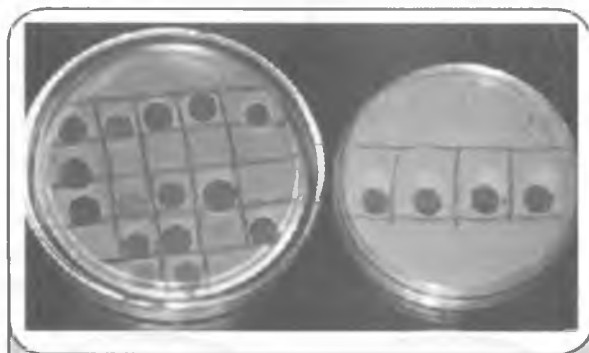


Рис. 3.16. Фаготипирование и титрование стафилококковых бактериофагов

исключаться из хромосомы, переходить в вегетативное состояние. Этот процесс заканчивается продукцией фагов и лизисом бактерий. Частота спонтанного лизиса бактерий в лизогенных культурах невелика (10^{-2} – 10^{-6}), т. е. не захватывает все клетки, обладающие иммунитетом. Частоту лизиса бактерий можно значительно увеличить, воздействуя на лизогенную культуру *индуцирующими* агентами (УФ-лучи, ионизирующее излучение, перекисные соединения, митомицин С и др.). Сам же феномен воздействия, приводящий к инаktivации репрессора, называется *индукцией* профага. Явление индукции используют в генной инженерии. Однако спонтанный лизис лизогенных культур может нанести вред микробиологическому производству. Так, если микроорганизмы — продуценты биологически активных веществ оказываются лизогенными, существует опасность перехода фага в вегетативное состояние, что приведет к лизису производственного штамма этого микроба.

Геном профага может придавать бактерии новые, ранее отсутствовавшие у нее свойства. Этот феномен изменения свойств микроорганизмов под влиянием профага получил название *фаговой конверсии* (от лат. *conversio* — превращение). Конвертироваться могут морфологические, культуральные, биохимические, антигенные и другие свойства бактерий. Например, наличие профага в дифтерийной палочке обуславливает ее способность продуцировать дифтерийный экзотоксин.

Умеренные фаги могут быть дефектными, т. е. неспособными образовывать зрелые фаговые частицы ни в естественных условиях, ни при индукции. Геном некоторых умеренных фагов (P1) может находиться в цитоплазме бактериальной клетки в так называемой плазмидной форме, не включаясь в ее хромосому. Такого рода умеренные фаги используют в качестве векторов в генной инженерии.

Практическое применение фагов. Бактериофаги используют в лабораторной диагностике инфекций при внутривидовой идентификации бактерий, т. е. определении фаговара (фаготипа). Для этого применяют метод *фаготипирования*, основанный на строгой специфичности действия фагов: на чашку с плотной питательной средой, засеянной «газоном» чистой культурой возбудителя, наносят капли различных диагностических типоспецифических фагов (рис. 3.16). Фаговар бактерии определяется тем типом фага, который вызвал ее лизис (образование стерильного пятна, «бляшки», или «негативной колонии», фага). Методику фаготипирования используют для выявления источника и путей распространения инфекции (эпидемиологическое маркирование). Выделение бактерий одного фаговара от разных больных указывает на общий источник их заражения.

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

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

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

ГЛАВА 4. ЭКОЛОГИЯ МИКРОБОВ — МИКРОЭКОЛОГИЯ

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

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

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

4.1. Распространение микробов в окружающей среде

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

4.1.1. Микрофлора почвы

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

Наибольшее число микроорганизмов содержится в верхнем слое почвы толщиной до

10 см. По мере углубления количество микроорганизмов уменьшается, и на глубине 3—4 м они практически отсутствуют.

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

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

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

Кишечные бактерии (сем. *Enterobacteriaceae*) — кишечная палочка, возбудители брюшного тифа, сальмонеллез, дизентерии — могут попадать в почву с фекалиями. Однако здесь отсутствуют условия для их размножения, и они постепенно отмирают. В чистых почвах кишечная палочка и протей встречаются редко; обнаружение их в значительных количествах является показателем загрязнения почвы фекалиями человека и животных и свидетельствует об ее санитарно-эпидемиологическом неблагополучии (в плане передачи возбудителей кишечных инфекций).

В почве находятся также многочисленные грибы. Они участвуют в почвообразователь-

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

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

4.1.2. Микрофлора воды

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

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

Микрофлора воды океанов и морей также содержит различные микроорганизмы, в том числе светящиеся и галофильные (солелюбивые), например галофильные вибрионы,

поражающие моллюсков и некоторые виды рыб, при употреблении которых в пищу возникает пищевая токсикоинфекция.

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

4.1.3. Микрофлора воздуха

С микрофлорой почвы и воды взаимосвязана микрофлора воздуха. В воздух также попадают микроорганизмы из дыхательных путей человека и животных и с каплями слюны человека и животных. Здесь обнаруживаются кокковидные и палочковидные бактерии, бациллы, клостридии, актиномицеты, грибы и вирусы. Солнечный свет и другие факторы способствуют гибели микроорганизмов микрофлоры воздуха. Большее количество микроорганизмов присутствует в воздухе крупных городов, меньшее — в воздухе сельской местности. Особенно мало микроорганизмов в воздухе над лесами, горами и в пустынях. Много микроорганизмов содержится в воздухе закрытых помещений, микробная обсемененность которых зависит от условий уборки помещения, уровня освещенности, количества людей в помещении, частоты проветривания и др.

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

4.1.4. Микрофлора продуктов питания

Пищевые продукты могут обсеменяться различными микроорганизмами. В слюне и фекалиях животных содержатся микроорганизмы, которые вызывают первичное (прижизненное) загрязнение продуктов собственной микрофлорой, присущей животному, и вторичное, возникающее в результате попадания микроорганизмов при забое животных, доении коров, отлове рыбы, переработке и хранении продуктов.

Прижизненное обсеменение органов и тканей животного собственной микрофлорой может быть вызвано патогенными микроорганизмами происхо-

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4.1.5. Микрофлора растительного лекарственного сырья, фитопатогенные микробы

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

Микроорганизмы, развивающиеся в норме на поверхности растений, относятся к эпифитам (от греч. *epi* — над, *phyton* — растение). Они не наносят вреда, являются антагонистами некоторых фитопатогенных микроорганизмов, растут за счет обычных выделений растений и органических загрязнений поверхности растений. Эпифитная микрофлора препятствует проникновению фитопатогенных микроорганизмов в растительные ткани, усиливая тем самым иммунитет растений. Наибольшее количество эпифитной микрофлоры составляют грамтрицательные палочковидные бактерии *Erwinia herbicola* (новое название, предложенное в 1989 г. — *Pantoea agglomerans*), образующие на мясопептонном

агаре золотисто-желтые колонии. Эти бактерии являются антагонистами возбудителя мягкой гнили овощей. Обнаруживают в норме и другие бактерии — *Pseudomonas fluorescens*, реже *Bacillus mesentericus* и небольшое количество грибов.

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

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

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

Растения окультуренных почв в большей степени загрязнены микроорганизмами, чем растения лесов и лугов. Особенно много микроорганизмов содержится в нижней прикорневой части растений, что связано с попаданием микроорганизмов из почвы. В большом количестве обнаруживаются микроорганизмы на растениях, растущих на полях орошения, свалках, вблизи складирования навоза, в местах выпаса скота. При этом растения могут загрязняться патогенными микроорганизмами

и при неправильной заготовке могут служить хорошей питательной средой для размножения микроорганизмов. Одним из способов, препятствующих их росту на растениях, является процесс высушивания растений.

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

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

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

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

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

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

Агробактерии (род *Agrobacterium*) способствуют развитию различных опухолей у расте-

ний. Образование опухолей вызывается онкогенной плазмидой, передающейся агробактериями в растительные клетки. Эти бактерии вызывают у растений образование опухолей (корончатый галл, корень волосистой, рак стеблей). После развития опухоли агробактерии в тканях обычно отсутствуют.

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

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

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

Для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами проводят следующие меропр-

ятия: возделывание выносливых растений, очистку и обработку семян, обеззараживание почвы, удаление пораженных растений, уничтожение переносчиков возбудителей болезней, обитающих на растениях.

4.1.6. Микрофлора производственных, бытовых и медицинских объектов

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

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

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

4.1.7. Роль микробов в круговороте веществ в природе

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

Круговорот углерода. Активное участие в круговороте углерода принимают растения, водоросли и цианобактерии, фиксирующие CO_2 в процессе фотосинтеза, а также микроорганизмы, разлагающие органические вещества отмерших растений и животных с выделением CO_2 . При аэробном разложении органических веществ образуются CO_2 и вода, а при анаэробном брожении — кислоты,

спирты, CO_2 . Так, при спиртовом брожении микроорганизмы (дрожжи и др.) расщепляют углеводы до этилового спирта и диоксида углерода. Молочнокислое брожение, вызываемое молочнокислыми бактериями, характеризуется выделением молочной, уксусной кислот и диоксида углерода. Процессы пропионовокислого (вызываемого пропионибактериями), маслянокислого, ацетонобутилового (вызываемых клостридиями) и других видов брожения сопровождаются образованием различных кислот и диоксида углерода.

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

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

4.2. Микрофлора организма человека

Организм человека заселен (колонизирован) примерно 500 видами микроорганизмов, составляющими его нормальную микрофлору, в виде сообщества микроорганизмов (*микробиоценоз*). Они находятся в состоянии равновесия (*эубиоза*) друг с другом и организмом человека. Большинство этих микроорганизмов являются *комменсалами*, не причиняющими вреда человеку. Микрофлора колонизирует поверхность тела и полости, сообщающиеся с окружающей средой. В норме микроорганизмы отсутствуют в легких, матке и во всех внутренних органах. Различают нормальную микрофлору различных биотопов: кожи, слизистых оболочек рта, верхних дыхательных путей, пищеварительного тракта и мочеполовой системы. В организме человека выделяют постоянную и транзиторную микрофлору. *Постоянная* (резидентная, индигенная, или автохтонная) микрофлора представлена микроорганизмами, постоянно присутствующими в организме. *Транзиторная* (непостоянная, или аллохтонная) микрофлора не способна к длительному существованию в организме.

Постоянную микрофлору можно разделить на облигатную и факультативную. Облигатная микрофлора (бифидобактерии, лактобактерии, пептострептококки, кишечные палочки и др.) является основой микробиоценоза, а факультативная микрофлора (стафилококки, стрептококки, клебсиеллы, клостридии, некоторые грибы и др.) включает меньшую часть микробиоценоза.

Организм человека и его нормальная микрофлора составляют единую экологическую систему (эндоэкологию). Количество микроорганизмов у взрослого человека составляет около 10^{14} особей, причем преобладают в значительной степени облигатные анаэробы. Микроорганизмы, составляющие нормаль-

ную микрофлору, заключены в высокогидратированный экзополисахаридно-муциновый матрикс, образуя биологическую пленку, устойчивую к различным воздействиям.

Микрофлора кожи. На коже, в ее более глубоких слоях (волосяных мешочках, протоках сальных и потовых желез), анаэробов в 2–10 раз больше, чем аэробов. Кожу колонизируют грамположительные бактерии (пропионибактерии, коринеформные бактерии, эпидермальные стафилококки и другие коагулазаотрицательные стафилококки, микрококки, пептострептококки, стрептококки, *Dermabacter hominis*), дрожжеподобные грибы рода *Pityrosporum* (новое название — *Malassezia*), реже встречается транзиторная микрофлора (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* и др.). При ослаблении организма на коже возрастает количество грамотрицательных бактерий.

В норме на 1 см² кожи приходится менее 80 000 микроорганизмов, и это количество не увеличивается в результате действия бактерицидных стерилизующих факторов. Например, в поте кожи обнаружены иммуноглобулины классов А и G, трансферрин, лизоцим, органические кислоты и другие противомикробные вещества. Низкий уровень рН (5,5), низкая температура кожи также ограничивают размножение микроорганизмов. Процесс самоочищения кожи усиливается на чисто вымытой коже. Более увлажненные участки кожи колонизируются наибольшим количеством микроорганизмов (10⁶ на 1 см²), например, в паховых складках, межпальцевых пространствах, подмышечных впадинах. Усиленный рост микроорганизмов происходит при загрязнении кожи; при ослаблении организма размножающиеся там микроорганизмы определяют запах тела. Через грязные руки происходит контаминация (загрязнение) лекарственных средств микроорганизмами, что приводит к их последующей порче.

Микрофлора кожи имеет большое значение в распространении микроорганизмов в воздухе. В результате десквамации (шелушения)

кожи несколько миллионов чешуек, несущих каждая несколько микроорганизмов, загрязняют окружающую среду.

Микрофлора конъюнктивы. На конъюнктиве глаза имеется небольшое количество коринеформных бактерий и стафилококков. Незначительное количество микробов на конъюнктиве обусловлено действием лизоцима и других бактерицидных факторов слезной жидкости.

Микрофлора верхних дыхательных путей. В верхние дыхательные пути попадают пылевые частицы, нагруженные микроорганизмами, большая часть которых задерживается и погибает в носо- и ротоглотке. Здесь растут бактериоиды, коринеформные бактерии, гемофильные палочки, лактобактерии, стафилококки, стрептококки, нейссерии, пептококки, пептострептококки и др. Трахея, бронхи и альвеолы обычно стерильны.

Микрофлора желудочно-кишечного тракта. Микрофлора пищеварительного тракта является наиболее представительной по своему качественному и количественному составу. При этом микроорганизмы свободно обитают в полости пищеварительного тракта, а также колонизируют слизистые оболочки в виде биологической пленки.

Рот. В полости рта обитают многочисленные микроорганизмы. В 1 мл слюны обитает до 10⁸ бактерий. Этому способствуют остатки пищи во рту, благоприятная температура (37 °С) и щелочная реакция среды. Анаэробов больше, чем аэробов, в 100 раз и более. Здесь обитают разнообразные бактерии: бактериоиды, превотеллы, порфиромонады, бифидобактерии, эубактерии, фузобактерии, лактобактерии, актиномицеты, гемофильные палочки, лептотрихии, нейссерии, спирохеты, стрептококки, стафилококки, пептококки, пептострептококки, вейлонеллы и др. Обнаруживаются также грибы рода *Candida* и простейшие (*Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*).

Различные виды бактерий имеют определенное топографическое распространение. Так, различные виды стрептококков располагаются неодинаково: на эпителии щек — *S. mitior*; на

* *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis* (на лбу, лице), *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus pasteurii*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylois*. *Staphylococcus auricularis* колонизирует внешний слуховой канал.

сосочках языка, в слюне — *S. salivarius*; на зубах — *S. mutans*. Актиномицеты присутствуют в больших количествах на языке, десневых карманах, на зубной бляшке и в слюне. Ассоцианты нормальной микрофлоры и продукты их жизнедеятельности образуют зубной налет.

Состав микрофлоры рта регулируется механическим действием слюны и языка; микроорганизмы смываются слюной со слизистой оболочки и зубов (человек проглатывает в день около литра слюны). Антимикробные компоненты слюны, особенно лизоцим, антитела (секреторный IgA), подавляют адгезию посторонних микробов к эпителиоцитам. С другой стороны, бактерии образуют полисахариды: *S. sanguis* и *S. mutans* преобразовывают сахарозу во внеклеточный полисахарид (глюканы, декстраны), участвующие в адгезии к поверхности зубов. Колонизации постоянной частью микрофлоры способствует фибронектин, покрывающий эпителиоциты слизистых оболочек. Он обладает сродством к грамположительным бактериям. При низком уровне фибронектина грамположительные бактерии замещаются на грамотрицательные.

Пищевод практически не содержит микроорганизмов.

Желудок. Микрофлора желудка представлена лактобациллами и дрожжами, единичными кокками и грамотрицательными бактериями. Концентрация бактерий меньше, чем 10^3 на 1 мл. Она несколько беднее, чем, например, микрофлора кишечника, так как желудочный сок имеет низкое значение pH, неблагоприятное для жизни многих микроорганизмов. Желудок в норме — это своеобразная стерилизационная камера (соляная кислота, пепсиноген — предшественник пепсина и др.), подавляющая патогенные микроорганизмы.

При гастритах, язвенной болезни желудка обнаруживаются изогнутые формы бактерий, относящихся к роду *Helicobacter*, которые являются этиологическими факторами многих патологических процессов (гастрит, язвы, опухоли).

Тонкая кишка. В *тонкой кишке* находится 10^5 – 10^8 микроорганизмов на 1 мл содержимого. Здесь обнаруживаются бифидобактерии, лактобактерии, клостридии, эубактерии, энтерококки, порфиромонады, превотеллы и анаэробные кокки.

Толстая кишка. Наибольшее количество микроорганизмов накапливается в *толстой кишке*. В 1 г фекалий содержится до 10 микробных клеток. Около 95 % всех видов микроорганизмов составляют анаэробные бактерии.

Основными представителями микрофлоры толстой кишки являются: грамположительные анаэробные палочки (бифидобактерии, лактобациллы, эубактерии); грамположительные спорообразующие анаэробные палочки (клостридии перфрингенс и др.); энтерококки; грамотрицательные анаэробные палочки (бактероиды); грамотрицательные факультативно-анаэробные палочки (кишечные палочки и сходные с ними бактерии семейства *Enterobacteriaceae* — цитробактер, энтеробактер, клебсиеллы, протей и др.); анаэробные грамположительные кокки (пептострептококки, пептококки, *Gemella morbillorum*). На эпителии успешно растут спирохеты.

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

Рост посторонней микрофлоры задерживается в результате антагонистических свойств нормальной микрофлоры и блокирующего действия секреторного IgA. Кроме того, у младенцев угнетающим действием обладает лактоферрин, поступающий с грудным молоком матери.

Микрофлора мочеполового тракта. Почки, мочеточники, мочевого пузыря, матка, простата обычно стерильны. Микрофлора *наружных гениталий* представлена эпидермальными стафилококками, коринеформными бактериями, зелеными стрептококками, сапрофитическими микобактериями (*Myc. smegmatis*), кандидами и энтеробактериями. На слизистой оболочке передней уретры у обоих полов встречаются в норме стафилококки, непато-

генные нейссерии, коринеформные бактерии, сапрофитные трепонемы и др.

Нормальная микрофлора влагалища включает лактобактерии, бифидобактерии, бактерии, пропионибактерии, порфиромонады, превотеллы, пептострептококки, коринеформные бактерии и др. Преобладают анаэробы: соотношение анаэробы/аэробы составляет 10/1. В репродуктивный период жизни преобладают грамположительные бактерии, а в период менопаузы они заменяется грамотрицательными бактериями. Примерно у 5–60 % здоровых женщин выявляются *Gardnerella vaginalis*; у 15–30 % — *Mycoplasma hominis*; у 5 % — бактерии рода *Mobiluncus*.

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

Полость матки и мочевого пузыря в норме стерильны.

Возрастные изменения в составе микрофлоры. Ребенок рождается стерильным, но, проходя через родовые пути, захватывает сопутствующую микрофлору. Формирование микрофлоры осуществляется в результате контакта новорожденного с микроорганизмами окружающей среды и микрофлорой организма матери. Формирование микрофлоры новорожденных начинается с попадания микроорганизмов в процессе родов на кожу и слизистые оболочки. Дальнейшее формирование микрофлоры определяется санитарным состоянием среды, в которой проходили роды, типом вскармливания и др. Нормальная микрофлора становится устойчивой и к 1–3 месяцам жизни ребенка сходной с микрофлорой взрослого. Первоначально после рождения полость рта ребенка колонизируют аэробы, а после прорезывания зубов аэробы замещаются анаэробами. При грудном вскармливании основой микрофлоры являются бифидобактерии (10^9 – 10^{11} в 1 г кала). При искусственном вскармливании

у недоношенных и слабых детей нарушается размножение бифидобактерий, увеличивается количество транзитной микрофлоры, грамотрицательных бактерий (энтеробактерий и др.), а также кокков. У таких детей часто развиваются кишечные болезни. В сформировавшемся микробиоценозе кишечника преобладают бифидобактерии и лактобактерии.

4.2.1. Значение микрофлоры организма человека

Нормальная микрофлора организма является своеобразным «экстракорпоральным органом», играющим важную роль в жизнедеятельности человека. Значение и функции нормальной микрофлоры многообразны:

- Нормальная микрофлора является одним из факторов неспецифической резистентности организма.

- Нормальная микрофлора обладает антагонистическими свойствами против патогенной и гнилостной микрофлоры, так как продуцирует молочную, уксусную кислоты, антибиотики, бактериоцины; конкурирует с посторонней микрофлорой за счет более высокого биологического потенциала.

- Нормальная микрофлора участвует в водно-солевом обмене, регуляции газового состава кишечника, обмене белков, углеводов, жирных кислот, холестерина, нуклеиновых кислот, а также в продукции биологически активных соединений: антибиотиков, витаминов (К, группы В и др.), токсинов и др.

- Нормальная микрофлора участвует в переваривании и детоксикации экзогенных субстратов и метаболитов, что сравнимо с функцией печени.

- Нормальная микрофлора участвует в рециркуляции стероидных гормонов и желчных солей в результате экскреции метаболитов из печени в кишечник и последующего возврата в нее.

- Нормальная микрофлора выполняет морфокинетическую роль в развитии различных органов и систем организма, участвует в физиологическом воспалении слизистой оболочки и смене эпителия.

- Нормальная микрофлора выполняет антимутагенную функцию, разрушая канцерогенные вещества в кишечнике. В то же время некоторые бактерии могут продуцировать

сильные мутагены. Так, ферменты бактерий кишечника преобразовывают искусственный подсластитель цикломат в активный канцероген (циклогексамин) для мочевого пузыря.

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

- Значительное влияние оказывает микрофлора кишечника на формирование и поддержание иммунитета. В кишечнике находится примерно 1,5 кг микроорганизмов, антигены которых стимулируют иммунную систему. Естественным неспецифическим стимулятором иммуногенеза является мурамилдипептид, образующийся из пептидогликана бактерий под влиянием лизоцима и других литических ферментов, находящихся в кишечнике. В результате происходит обильное насыщение кишечной ткани лимфоцитами и макрофагами, т. е. в норме кишка находится как бы в состоянии хронического воспаления. Животные-гнотобионты, выращиваемые в среде, свободной от микроорганизмов, отличаются от обычных животных слабо развитой лимфоидной тканью. Особенно отличается тонкая пластинка рorgia. Кишечная ткань у гнотобионтов слабо насыщена лимфоцитами и макрофагами, в результате чего такие животные неустойчивы к инфекциям.

- Важнейшей функцией нормальной микрофлоры является ее участие в колонизационной резистентности.

Колонизационная резистентность — это совокупность защитных факторов организма и конкурентных, антагонистических и других свойств нормальной микрофлоры (в основном анаэробов) кишечника, придающих стабильность микрофлоре и предотвращающих колонизацию слизистых оболочек посторонними, в том числе патогенными, микроорганизмами.

При снижении колонизационной резистентности увеличивается количество и спектр аэробных условно-патогенных микробов. Их транслокация через слизистые оболочки мо-

жет привести к развитию эндогенного гнойно-воспалительного процесса.

Для предотвращения инфекционных осложнений, при понижении сопротивляемости организма и повышенном риске аутоинфекции (в случаях обширных травм, ожогов, иммунодепрессивной терапии, трансплантации органов и тканей и др.) целесообразно сохранить или восстановить колонизационную резистентность с помощью селективной деконтаминации.

Селективная деконтаминация — это избирательное удаление из пищеварительного тракта аэробных бактерий и грибов для повышения сопротивляемости организма к инфекционным агентам.

Селективную деконтаминацию проводят путем назначения для приема внутрь малоадсорбируемых химиопрепаратов, подавляющих аэробную часть микрофлоры и не влияющих на анаэробы, например комплексное назначение ванкомицина, гентамицина и нистатина.

- Представители нормальной микрофлоры при снижении сопротивляемости организма вызывают гнойно-воспалительные процессы, т. е. нормальная микрофлора может стать источником аутоинфекции, или эндогенной инфекции. Когда микробы-комменсалы оказываются при транслокации в непривычных местах обитания, они могут вызывать различные нарушения. Например, бактероиды, обитающие в норме в кишке, могут вызывать абсцессы, проникая в различные ткани в результате травмы или хирургической операции. Эпидермальный стафилококк, в норме часто встречающийся на коже, склонен колонизировать внутривенные катетеры, вызывая нарушения кровотока. Такие комменсалы кишки, как кишечная палочка, поражают мочевую систему (цистит и др.).

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

- Нормальная микрофлора является хранилищем и источником хромосомных и плазмидных генов, в частности генов лекарственной устойчивости к антибиотикам.

• Отдельных представителей нормальной микрофлоры используют в качестве *санитарно-показательных микроорганизмов*, свидетельствующих о загрязнении окружающей среды (воды, почвы, воздуха, продуктов питания и др.) выделениями человека и, следовательно, об их эпидемиологической опасности (см. разд. 4.5).

4.2.2. Дисбактериоз

Состояние *эубиоза* — динамического равновесия нормальной микрофлоры и организма человека — может нарушаться под влиянием факторов окружающей среды, стрессовых воздействий, широкого и бесконтрольного применения антимикробных препаратов, лучевой терапии и химиотерапии, нерационального питания, оперативных вмешательств и т. д. В результате нарушается колонизационная резистентность. Аномально размножившиеся транзиторные микроорганизмы продуцируют токсичные продукты метаболизма — индол, скатол, аммиак, сероводород.

Состояния, развивающиеся в результате утраты нормальных функций микрофлоры, называются *дисбактериозом* и *дисбиозом*. При дисбактериозе происходят стойкие количественные и качественные изменения бактерий, входящих в состав нормальной микрофлоры. При дисбиозе изменения происходят и среди других групп микроорганизмов (вирусов, грибов и др.). Дисбиоз и дисбактериоз могут приводить к эндогенным инфекциям. Дисбиозы классифицируют по этиологии (грибковый, стафилококковый, протейный и др.) и по локализации (дисбиоз рта, кишки, влагалища и т. д.). Изменения в составе и функциях нормальной микрофлоры сопровождаются различными нарушениями: развитием инфекций, диарей, запоров, синдрома мальабсорбции, гастритов, колитов, язвенной болезни, злокачественных новообразований, аллергий, мочекаменной болезни, гипо- и гиперхолестеринемии, гипо- и гипертензии, кариеса, артрита, поражений печени и др.

Нарушения нормальной микрофлоры человека определяются следующим образом:

1. Выявление видового и количественного состава представителей микробиоценоза опреде-

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

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

Для восстановления нормальной микрофлоры: а) проводят селективную деконтаминацию; б) назначают препараты пробиотиков* (эубиотиков), полученные из лиофильно высушенных живых бактерий — представителей нормальной микрофлоры кишечника — бифидобактерий (бифидумбактерин), кишечной палочки (колибактерин), лактобактерий (лактобактерин) и др.

4.3. Влияние факторов окружающей среды на микробы

Физические, химические и биологические факторы окружающей среды оказывают различное воздействие на микроорганизмы: бактерицидное — приводящее к гибели клетки; бактериостатическое — подавляющее размножение микроорганизмов; мутагенное — изменяющее наследственные свойства микробов.

4.3.1. Влияние физических факторов

Влияние температуры. Представители различных групп микроорганизмов развиваются при определенных диапазонах температур. Бактерии,

* Пробиотики — препараты, оказывающие при приеме *per os* нормализующее действие на организм человека и его микрофлору

растущие при низкой температуре, называют психрофилами; при средней (около 37 °С) — мезофилами; при высокой — термофилами.

Психрофильные микроорганизмы растут при температуре от -10 до 40 °С; температурный оптимум колеблется от 15 до 40 °С, приближаясь к температурному оптимуму мезофильных бактерий. К психрофилам относится большая группа сапрофитов — обитателей почвы, морей, пресных водоемов и сточных вод (железобактерии, псевдомонады, светящиеся бактерии, бациллы). Некоторые психрофилы могут вызывать порчу продуктов питания на холоде. Способностью расти при низких температурах обладают и некоторые патогенные бактерии (возбудитель псевдотуберкулеза размножается при температуре 4 °С, а возбудитель чумы — в диапазоне от 0 до 40 °С при оптимуме роста 25 °С). В зависимости от температуры культивирования свойства бактерий меняются. Так, *Serratia marcescens* образует при температуре 20–25 °С большее количество красного пигмента (продигиозана), чем при температуре 37 °С. Возбудитель чумы, выращенный при 25 °С, вирулентнее, чем при 37 °С. Синтез полисахаридов, в том числе капсульных, активизируется при более низких температурах культивирования.

Мезофилы растут в диапазоне температур от 10 до 47 °С, оптимум роста около 37 °С. Они включают в себя основную группу патогенных и условно-патогенных бактерий.

Термофильные бактерии развиваются при более высоких температурах (от 40 до 90 °С). На дне океана в горячих сульфидных водах живут бактерии, развивающиеся при температуре 250–300 °С и давлении 265 атм. Термофилы обитают в горячих источниках, участвуют в процессах самонагрева навоза, зерна, сена. Наличие большого количества термофилов в почве свидетельствует о ее загрязненности навозом и компостом. Поскольку навоз наиболее богат термофилами, их рассматривают как показатель загрязненности почвы.

Температурный фактор учитывается при осуществлении стерилизации. Vegetативные формы бактерий погибают при температуре 60 °С в течение 20–30 мин, споры — в автоклаве при 120 °С в условиях пара под давлением.

Микроорганизмы хорошо переносят действие низких температур. Поэтому их можно

долго хранить в замороженном состоянии, в том числе при температуре жидкого азота (-173 °С).

Высушивание. Обезвоживание вызывает нарушение функций большинства микроорганизмов. Наиболее чувствительны к высушиванию возбудители гонореи, менингита, холеры, брюшного тифа, дизентерии и другие патогенные микроорганизмы. Более устойчивыми являются микроорганизмы, защищенные слизью мокроты. Так, бактерии туберкулеза в мокроте выдерживают высушивание до 90 дней. Устойчивы к высушиванию некоторые капсуло- и слизиобразующие бактерии. Особой устойчивостью обладают споры бактерий. Например, споры возбудителя сибирской язвы могут сохраняться в почве столетиями.

Для продления жизнеспособности, при консервировании микроорганизмов, используют лиофилизацию — высушивание под вакуумом из замороженного состояния. Лиофилизированные культуры микроорганизмов и иммунобиологические препараты длительно (в течение нескольких лет) сохраняются, не изменяя своих первоначальных свойств.

Действие излучения. Ионизирующее излучение применяют для стерилизации одноразовой пластиковой микробиологической посуды, питательных сред, перевязочных материалов, лекарственных препаратов и др. Однако имеются бактерии, устойчивые к действию ионизирующих излучений, например *Micrococcus radiodurans* был выделен из ядерного реактора.

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

Ультрафиолетовые лучи, достигающие поверхности земли, имеют длину волны 290 нм. УФ-лучи применяют для обеззараживания воздуха и различных предметов в больницах, родильных домах, микробиологических лабораториях. С этой целью используют бактерицидные лампы ультрафиолетового излучения с длиной волны 200–400 нм.

4.3.2. Влияние химических веществ

Химические вещества могут оказывать различное действие на микроорганизмы: служить источниками питания; не оказывать какого-либо влияния; стимулировать или подавлять рост, вызывать гибель. Антимикробные химические вещества используются в качестве антисептических и дезинфицирующих средств, так как обладают бактерицидным, вирулицидным, фунгицидным действием и т. д.

Химические вещества, используемые для дезинфекции, относятся к различным группам, среди которых наиболее широко представлены хлор-, йод- и бромсодержащие соединения и окислители (см. разд. 7.7).

4.3.3. Влияние биологических факторов

Микроорганизмы находятся в различных взаимоотношениях друг с другом. Совместное существование двух различных организмов называется *симбиозом* (от греч. *simbiosis* — совместная жизнь). Различают несколько вариантов полезных взаимоотношений: метабиоз, мутуализм, комменсализм, сателлитизм.

Метабиоз — взаимоотношение микроорганизмов, при котором один из них использует для своей жизнедеятельности продукты жизнедеятельности другого. Метабиоз характерен для почвенных нитрифицирующих бактерий, использующих для своего метаболизма аммиак — продукт жизнедеятельности аммонифицирующих почвенных бактерий.

Мутуализм — взаимовыгодные взаимоотношения разных организмов. Примером мутуалистического симбиоза являются лишайники — симбиоз гриба и сине-зеленой водоросли. Получая от клеток водоросли органические вещества, гриб, в свою очередь, поставляет им минеральные соли и защищает от высыхания.

Комменсализм (от лат. *commensalis* — со-трапезник) — сожительство особей разных видов, при котором выгоду из симбиоза извлекает один вид, не причиняя другому вреда. Комменсалами являются бактерии — представители нормальной микрофлоры человека

Сателлитизм — усиление роста одного вида микроорганизма под влиянием другого вида микроорганизма. Например, колонии дрожжей или сарцин, выделяя в питательную среду метаболиты, стимулируют рост вокруг них колоний других микроорганизмов. При совместном росте нескольких видов микроорганизмов могут активизироваться их физиологические функции и свойства, что приводит к более быстрому воздействию на субстрат.

Антагонистические взаимоотношения, или антагонистический симбиоз, выражаются в виде неблагоприятного воздействия одного вида микроорганизма на другой, приводящего к повреждению и даже гибели последнего. Микроорганизмы-антагонисты распространены в почве, воде и в организме человека и животных. Хорошо известна антагонистическая активность против посторонней и гнилостной микрофлоры представителей нормальной микрофлоры толстого кишечника человека — бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки и др.

Механизм антагонистических взаимоотношений разнообразен. Распространенной формой антагонизма является образование антибиотиков — специфических продуктов обмена микроорганизмов, подавляющих развитие микроорганизмов других видов. Существуют и другие проявления антагонизма, например большая скорость размножения, продукция *бактериоцинов*, в частности *колицинов*, продукция органических кислот и других продуктов, изменяющих рН среды.

Антагонизм может развиваться в форме *конкуренции* в основном за источники питания: интенсивно развиваясь и истощая питательную среду, микроорганизм-антагонист подавляет рост других микроорганизмов. При *хищничестве* микроорганизм, например амеба кишечника, захватывает и переваривает бактерии кишечника. Наконец, такая форма антагонизма, когда микроорганизм использует другой организм как источник питания, называется *паразитизмом*. Примером паразитизма является взаимоотношение бактериофага и бактерии, а также взаимоотношение бделловибрионов (маленькие бактерии, паразиты обычных грамотрицательных бактерий).

4.4. Уничтожение микробов в окружающей среде

Для уничтожения микробов (бактерий, вирусов, грибов и простейших) на различных предметах и в материалах, используемых в медицине, в пищевой промышленности и в быту, применяют два способа: стерилизацию и дезинфекцию.

4.4.1. Стерилизация

Стерилизация (от лат. *sterilis* — бесплодный) предполагает полную инактивацию микробов в объектах, подвергающихся обработке.

Существует три основных метода стерилизации: тепловой, лучевой, химической.

Тепловая стерилизация основана на чувствительности микробов к высокой температуре. При 60 °С и наличии воды происходит денатурация белка, деградация нуклеиновых кислот, липидов, вследствие чего вегетативные формы микробов погибают. Споры, содержащие очень большое количество воды в связанном состоянии и обладающие плотными оболочками, инактивируются при 160–170 °С.

Для тепловой стерилизации применяют, в основном, сухой жар и пар под давлением.

Стерилизацию сухим жаром осуществляют в воздушных стерилизаторах (прежнее название — «сухожаровые шкафы или печи Пастера»). Воздушный стерилизатор представляет собой металлический плотно закрывающийся шкаф, нагревающийся с помощью электричества и снабженный термометром. Обеззараживание материала в нем производят, как правило, при 160 °С в течение 120 мин. Однако возможны и другие режимы: 200 °С — 30 мин, 180 °С — 40 мин.

Стерилизуют сухим жаром лабораторную посуду и другие изделия из стекла, инструменты, силиконовую резину, т. е. объекты, которые не теряют своих качеств при высокой температуре.

Большая часть стерилизуемых предметов не выдерживает подобной обработки, и поэтому их обеззараживают в паровых стерилизаторах.

Обработка паром под давлением в паровых стерилизаторах (старое название — «автоклавы») является наиболее универсальным методом стерилизации.

Паровой стерилизатор (существует множество его модификаций) — металлический

цилиндр с прочными стенками, герметически закрывающийся, состоящий из водопаровой и стерилизующей камер. Аппарат снабжен манометром, термометром и другими контрольно-измерительными приборами. В автоклаве создается повышенное давление, что приводит к увеличению температуры кипения (табл. 4.1).

Таблица 4.1. Зависимость температуры кипения воды от атмосферного давления

| | |
|---------|--------|
| 0,5 атм | 80 °С |
| 1 атм | 100 °С |
| 2 атм | 121 °С |
| 3 атм | 136 °С |

Поскольку кроме высокой температуры на микробы оказывает воздействие и пар, споры погибают уже при 120 °С. Наиболее распространенный режим работы парового стерилизатора: 2 атм — 121 °С — 15–20 мин. Время стерилизации уменьшается при повышении атмосферного давления, а следовательно, и температуры кипения (136 °С — 5 мин). Микробы погибают за несколько секунд, но обработку материала производят в течение большего времени, так как, во-первых, высокая температура должна быть и внутри стерилизуемого материала и, во-вторых, существует так называемое поле безопасности (рассчитанное на небольшую неисправность автоклава).

Стерилизуют в автоклаве большую часть предметов: перевязочный материал, белье, коррозионно-устойчивые металлические инструменты, питательные среды, растворы, инфекционный материал и т. д.

Эффективность стерилизации в паровом стерилизаторе зависит от правильного выбора упаковки, соблюдения правил загрузки для свободного прохождения пара (например, перевязочный материал укладывают в камеру параллельно движению пара), плотности загрузки камеры и других факторов.

Одной из разновидностей тепловой стерилизации является дробная стерилизация, которую применяют для обработки материалов, не выдерживающих температуру выше 100 °С, например, для стерилизации питательных сред с углеводами, желатина. Их нагревают в водяной бане при 80 °С в течение 30–60 мин, в ре-

зультате чего вегетативные формы погибают. Процедуру повторяют три дня подряд, в промежутках между манипуляциями питательные среды выдерживают в термостате, что способствует прорастанию спор. Иногда эту процедуру производят в автоклаве при давлении 0,5 атм.

В настоящее время применяют еще один метод тепловой стерилизации, предназначенный специально для молока — ультравысокотемпературный (УВТ): молоко обрабатывают в течение нескольких секунд при 130–150 °С.

Тепловая стерилизация — наиболее надежный, экологически безопасный, дешевый и хорошо контролируемый метод. Однако его невозможно применять тогда, когда предметы повреждаются от высокой температуры. В этих случаях прибегают к другим методам.

Химическая стерилизация предполагает использование токсичных газов: оксида этилена, смеси ОБ (смеси оксида этилена и бромистого метила в весовом соотношении 1:2,5) и формальдегида. Эти вещества являются алкилирующими агентами, их способность в присутствии воды инактивировать активные группы в ферментах, других белках, ДНК и РНК приводит к гибели микроорганизмов.

Стерилизация газами осуществляется в присутствии пара при температуре от 18 до 80 °С в специальных камерах. В больницах используют формальдегид, в промышленных условиях — оксид этилена и смесь ОБ.

Перед химической стерилизацией все изделия, подлежащие обработке, должны быть высушены.

Этот вид стерилизации небезопасен для персонала, для окружающей среды и для пациентов, пользующихся простерилизованными предметами (большинство стерилизующих агентов остается на предметах).

Однако существуют объекты, которые могут быть повреждены нагреванием, например, оптические приборы, радио- и электронная аппаратура, предметы из нетермостойких полимеров, питательные среды с белком и т. п., для которых пригодна только химическая стерилизация. Например, космические корабли и спутники, укомплектованные точной аппаратурой, для их деконтаминации обезвреживают газовой смесью (оксид этилена и бромистого метила).

В последнее время в связи с широким распространением в медицинской практике изделий из термолабильных материалов, снабженных оптическими устройствами, например эндоскопов, стали применять обезвреживание с помощью химических растворов. После очистки и дезинфекции прибор помещают на определенное время (от 45 до 60 мин) в стерилизующий раствор, затем прибор должен быть отмыт стерильной водой. Для стерилизации и отмытки используют стерильные емкости с крышками. Простерилизованное и отмытое от стерилизующего раствора изделие высушивают стерильными салфетками и помещают в стерильную емкость. Все манипуляции проводят в асептических условиях и в стерильных перчатках. Хранят эти изделия не более 3 суток.

Лучевая стерилизация осуществляется либо с помощью гамма-излучения, либо с помощью ускоренных электронов.

Источником гамма-излучения, получаемого в специальных гамма-установках, являются радиоактивные изотопы, например ⁶⁰Co, ¹³⁷Cs. Для получения электронного излучения применяют ускорители электронов (с высоким уровнем энергии — 5–10 MeV).

Гибель микробов под действием гамма-лучей и ускоренных электронов происходит прежде всего в результате повреждения нуклеиновых кислот. Причем микробы более устойчивы к облучению, чем многоклеточные организмы.

Лучевая стерилизация является альтернативой газовой стерилизации в промышленных условиях, и применяют ее также в тех случаях, когда стерилизуемые предметы не выдерживают высокой температуры. Лучевая стерилизация позволяет обрабатывать сразу большое количество предметов (например, одноразовых шприцев, систем для переливания крови). Благодаря возможности широкомасштабной стерилизации, применение этого метода вполне оправданно, несмотря на его экологическую опасность и неэкономичность.

Еще одним способом стерилизации является фильтрование. Фильтрование с помощью различных фильтров (керамических, асбестовых, стеклянных), а в особенности мембранных ультрафильтров из коллоидных растворов нитроцел-

люлозы или других веществ позволяет освободить жидкости (сыворотку крови, лекарства) от бактерий, грибов, простейших и даже вирусов. Для ускорения процесса фильтрации обычно создают повышенное давление в емкости с фильтруемой жидкостью или пониженное давление в емкости с фильтратом.

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

Микробиологический контроль объектов, подвергшихся стерилизации, в повседневной практике не производится. Его заменяет косвенный контроль — контроль работы стерилизаторов, который осуществляется несколькими способами. Во-первых, персонал должен строго соблюдать и документировать установленный режим стерилизации, который обеспечивает гибель микробов. Во-вторых, косвенно о поддержании определенной температуры можно судить по изменению окраски химических индикаторов (либо индикаторных бумажек, либо порошков, жидкостей — бензойной кислоты, мочевины, запаянных в ампулы), которые помещают на поверхности и в глубине стерилизуемого объекта. В-третьих, должен регулярно проводиться технический контроль аппаратуры соответствующей службой. В-четвертых, три раза в году осуществляют биологический контроль, помещая внутрь стерилизуемых предметов биотесты, приготовленные из термоустойчивых бацилл *Bac. stearothermophilus* ВКМ-718.

Для проведения микробиологического контроля производят посев кусочков материала, смывов с предметов, подвергшихся стерилизации, на среды, позволяющие обнаружить аэробные и анаэробные бактерии, грибы (сахарный бульон, тиогликолевую среду, среду Сабуро). Отсутствие роста после 14 дней инкубации в термостате свидетельствует о стерильности предмета. Более тщательный контроль стерильности осуществляют в промышленных условиях, отбирая случайным методом некоторое количество образцов.

После процедуры стерилизации должна сохраняться стерильность, которую поддерживают с помощью упаковки: полимерной плен-

ки, бумаги, фольги, биксов, металлических пеналов и др.

Существует общий стандарт для всех видов стерилизации, принятый Европейской Фармакопеей в 1983 г.: после завершения стерилизации на лечебном материале может оставаться некоторое количество жизнеспособных микроорганизмов — 1 из 10^6 .

4.4.2. Дезинфекция

Дезинфекция (от франц. приставки *des*, обозначающей удаление, уничтожение инфекционного начала) — процедура, предусматривающая обработку загрязненного микробами предмета с целью их уничтожения до такой степени, чтобы они не смогли вызвать инфекцию при использовании данного предмета. Как правило, при дезинфекции погибает большая часть микробов (в том числе все патогенные), однако споры и некоторые резистентные вирусы могут остаться в жизнеспособном состоянии.

Стерилизация — лучший способ обеззараживания. Однако, если отсутствует возможность подвергнуть предмет стерилизации, проводится дезинфекция. Например, нельзя простерилизовать бокс, в котором ведутся работы с заразным материалом, операционный стол, руки хирурга или оптиковолоконные микроскопы.

После дезинфекции, в отличие от стерилизации, нет необходимости защищать продезинфицированный материал от попадания микробов извне. До стерилизации предмет необходимо тщательно отчистить от грязи, крови, химических веществ (в том числе и лекарств) и вымыть, чтобы сократить количество микробов на нем. Дезинфекция нередко выполняется перед процедурой чистки для обеспечения безопасности медперсонала.

Различают три основных метода дезинфекции: тепловой, химический, УФ-облучение. Выбор того или иного метода также зависит от дезинфицируемого материала.

Тепловая дезинфекция. Очень эффективным является действие горячей воды и насыщенного пара. Рекомендуется следующее время воздействия: при 80°C — 10 мин, при 85°C — 3 мин, при 90°C — 1 мин. При этом режиме

погибают все вегетативные формы бактерий и большинство вирусов. Температура 100 °С в течение 5 мин убивает все вегетативные формы бактерий и все вирусы.

При добавлении в воду 2 % натрия гидрокарбоната (NaHCO_3) погибают и споры. Кроме того, добавление соды имеет дополнительные преимущества: сода растворяет белки и жиры, которые могут находиться на поверхности предмета, предупреждает коррозию инструментов и оседание на них кальция. Подобным образом можно обрабатывать инструменты, иглы, шприцы и т. д.

Более удобным является применение автоматических моечных машин, в которых предметы сначала промываются в холодной воде, затем — в теплой с детергентом, далее — в чистой и, наконец, дезинфицируются в дистиллированной воде при 90 °С.

Обычные процессы стирки белья, приготовление пищи и кипячение питьевой воды являются примером использования дезинфекции в быту.

Для дезинфекции применяют также сухое тепло, например, прокаливание.

Тепловая дезинфекция — это единственный метод, который не вызывает загрязнения окружающей среды; кроме того, он является наиболее эффективным и дешевым.

Разновидностью тепловой дезинфекции является пастеризация — метод, созданный Л. Пастером и применяемый для обработки в основном молока, а также соков, вина и пива. При используемом обычно режиме — 60–70 °С в течение 20–30 мин — погибает большинство вегетативных форм бактерий (особенно важно уничтожение бруцелл и *Mycobacterium bovis*, которые могут находиться в молоке), но сохраняется часть энтерококков, молочнокислых бактерий и споры. Поэтому пастеризованное молоко помещают на холод для предотвращения и прорастания спор и размножения бактерий.

Химическая дезинфекция проводится с помощью различных дезинфицирующих веществ. Дезинфектанты действуют, например, растворяя липиды клеточных оболочек (детергенты) или разрушая белки и нуклеиновые кислоты (денатураты, оксиданты). Активность каждого из дезинфектантов неодинакова для раз-

личных микроорганизмов и зависит от температуры, рН и прочих условий.

В качестве контрольных микроорганизмов для изучения действия дезинфектантов используют *S. typhi* и *S. aureus*.

Обеззараживанию с помощью данного метода подлежат, например, поверхность операционного стола, стены процедурного кабинета, кожа, некоторые инструменты — все то, что невозможно обработать теплом. Еще одним примером химической дезинфекции является хлорирование воды.

Использование большинства дезинфицирующих веществ опасно для медперсонала, они загрязняют окружающую среду, многие из них дорогостоящи.

Ультрафиолетовое облучение (лучи с длиной волны 200–400 нм) производится с помощью специальных бактерицидных ламп (настенных, потолочных, передвижных и др.) для обеззараживания воздуха, различных поверхностей в операционных, перевязочных, микробиологических лабораториях, предприятиях пищевой промышленности и т. д. Действие ультрафиолетовых лучей приводит к разрушению ДНК микробов в результате образования тиминовых димеров.

Очень незначительна роль механической дезинфекции: проветривания, вентиляции, обработки пылесосом и т. п.

Различают профилактическую дезинфекцию в эпидемическом очаге, которая осуществляется с целью предупреждения распространения различных болезней. При возникновении эпидемического очага проводят текущую (во время вспышки) и заключительную (после ее окончания) дезинфекцию; подобные процедуры проводятся как в медицинских учреждениях, так и за их пределами.

4.4.3. Асептика и антисептика

Для профилактики внутрибольничных, и в особенности хирургических, инфекций применяют асептику и антисептику.

Асептика, основоположником которой является Д. Листер (1867), — это комплекс мер, направленных на предупреждение попадания возбудителя инфекции в рану, органы больного при операциях, лечебных и диагностических процедурах. Методы асептики применяют для

борьбы с экзогенной инфекцией, источниками которой являются больные и бактерионосители.

Асептика включает: стерилизацию и сохранение стерильности инструментов, перевязочного материала, операционного белья, перчаток и всего, что приходит в соприкосновение с раной; дезинфекцию рук хирурга, операционного поля, аппаратуры, операционной и других помещений, применение специальной одежды, масок. К мерам асептики относится также планировка операционных (этаж, боксирование, вентиляция, кондиционирование воздуха и т. п.).

Методы асептики находят также применение в микробиологических производствах, на предприятиях пищевой промышленности.

Антисептика — совокупность мер, направленных на уничтожение микробов в ране, патологическом очаге или организме в целом, на предупреждение или ликвидацию воспалительного процесса. Первые элементы антисептики были предложены И. Земмельвейсом в 1847 г.

Антисептика включает различные методы: механические (удаление инфицированных некротизированных тканей, инородных тел и т. д.), физические (дренирование ран, введение тампонов, наложение гипоскопических повязок), химические (применение антисептиков), биологические (использование протеолитических ферментов для лизиса нежизнеспособных клеток, применение бактериофагов, антибиотиков). Обычно применяют комплекс этих методов.

4.5. Санитарная микробиология

Санитарная микробиология — раздел медицинской микробиологии, изучающий микроорганизмы, содержащиеся в окружающей среде и способные оказывать неблагоприятное воздействие на состояние здоровья человека. Она разрабатывает микробиологические показатели гигиенического нормирования, методы контроля за эффективностью обеззараживания объектов окружающей среды, а также выявляет в объектах окружающей среды патогенные, условно-патогенные и санитарно-показательные микроорганизмы.

Обнаружение *патогенных микроорганизмов* позволяет дать оценку эпидемиологической

ситуации и принять соответствующие меры по борьбе и профилактике инфекционных заболеваний.

Условно-патогенные микроорганизмы способны вызывать гнойно-воспалительные процессы в ослабленном организме. Кроме того, они могут попадать в продукты питания, быстро размножаться с накоплением большого количества микробных клеток и их токсинов, вызывая у людей пищевые отравления микробной этиологии.

Санитарно-показательные микроорганизмы используют в основном для косвенного определения возможного присутствия в объектах окружающей среды патогенных микроорганизмов. Их наличие свидетельствует о загрязнении объекта выделениями человека и животных, так как они постоянно обитают в тех же органах, что и возбудители заболеваний, и имеют общий путь выделения в окружающую среду. Например, возбудители кишечных инфекций имеют общий путь выделения (с фекалиями) с такими санитарно-показательными бактериями, как бактерии группы кишечной палочки — БГКП (в эту группу, кроме кишечной палочки, входят сходные по свойствам бактерии родов *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*), энтерококки, кластридии перфрингенс. Возбудители воздушно-капельных инфекций имеют общий путь выделения с бактериями (кокками), постоянно обитающими на слизистой оболочке верхних дыхательных путей, выделяющимися в окружающую среду (при кашле, чиханье, разговоре), поэтому в качестве санитарно-показательных бактерий для воздуха закрытых помещений предложены гемолитические стрептококки и золотистые стафилококки. Санитарно-показательные микроорганизмы должны отвечать следующим основным требованиям:

— должны обитать только в организме людей или животных и постоянно обнаруживаться в их выделениях;

— не должны размножаться или обитать в почве и воде;

— сроки их выживания и устойчивость к различным факторам после выделения из организма в окружающую среду должны быть равными или превышать таковые у патогенных микробов;

— их свойства должны быть типичными и легко выявляемыми для их дифференциации;

— методы их обнаружения и идентификации должны быть простыми, методически и экономически доступными;

— должны встречаться в окружающей среде в значительно больших количествах, чем патогенные микроорганизмы;

— в окружающей среде не должно быть близко сходных обитателей — микроорганизмов.

Кроме определения патогенных, условно-патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов, в практике санитарно-микробиологических исследований используется определение общего *микробного числа*, т. е. общего количества микроорганизмов в определенном объеме или определенной массе исследуемого материала (вода, почва, продукты питания, лекарственная форма и др.).

4.5.1. Микробиологический контроль почвы, воды, предметов обихода

Загрязненность почвы, воды, воздуха и других объектов определяется по общей микробной обсемененности и обнаружению *санитарно-показательных микроорганизмов* — индикаторов наличия выделений человека или животных. В воде регистрируют *кишечную палочку, БГКП (колиформные палочки), энтерококк, стафилококки*; в почве — *кишечную палочку, БГКП (колиформные палочки), клостридии перфрингенс, термофилы*; на предметах обихода — *БГКП (колиформные палочки), золотистый стафилококк, энтерококк*.

На основании количественного выявления этих санитарно-показательных бактерий вычисляются *индекс БГКП* (число БГКП в 1 л воды), *перфрингенс-титр, титр энтерококка* и т. д. Так, например, титр энтерококка воды — это наименьшее количество воды, в котором определяется энтерококк.

К бактериям группы кишечной палочки относят грамотрицательные палочки, сбраживающие с образованием кислоты и газа лактозу или глюкозу при температуре 37°C в течение 24–48 ч и не обладающие оксидазной активностью. Наиболее часто этот показатель

применяют как индикатор фекального загрязнения воды. Другой сходный показатель фекального загрязнения — общие колиформные бактерии: грамотрицательные, оксидазаотрицательные палочки, ферментирующие лактозу или маннит (глюкозу) с образованием альдегида, кислоты и газа при температуре 37°C в течение 24 часов. Вместо последнего термина предлагается использовать термин «бактерии семейства Enterobacteriaceae», так как все бактерии этого семейства имеют индикаторное значение. К бактериям семейства Enterobacteriaceae относятся грамотрицательные, оксидазаотрицательные палочки, растущие на лактозосодержащих средах типа среды Эндо и ферментирующие глюкозу до кислоты и газа при температуре 37°C в течение 24 часов; *колиформные бактерии (палочки)*.

При бактериальном загрязнении воды свыше допустимых норм следует провести дополнительное исследование на наличие бактерий — показателей свежего фекального загрязнения. К таким бактериям относят *термотолерантные колиформные бактерии, фекальные кишечные палочки*, ферментирующие лактозу до кислоты и газа при температуре 44 °C в течение 24 часов и не растущие на цитратной среде. О свежем фекальном загрязнении свидетельствует также выявление *энтерококка*. На давнее фекальное загрязнение указывают отсутствие БГКП и наличие определенного количества *клостридий перфрингенс*, т. е. наиболее устойчивых спорообразующих бактерий.

В соответствии с нормативными документами регламентируются следующие *нормативы микробиологических показателей питьевой воды при централизованном водоснабжении*:

1. **Общее микробное число воды** не должно превышать 100 микробов в 1 мл исследуемой воды;
2. **Общие колиформные бактерии** должны отсутствовать в 100 мл исследуемой воды;
3. **Термотолерантные колиформные бактерии** должны отсутствовать в 100 мл исследуемой воды;
4. **Колифаги** не должны определяться в 100 мл исследуемой воды (учет по бляшкообразующим единицам);
5. **Споры сульфитредуцирующих клостридий** не должны определяться в 20 мл исследуемой воды;
6. **Цисты лямблий** не должны определяться в 50 мл исследуемой воды.

Кроме того, загрязненность воды оценивается по обнаружению патогенных микробов с фекально-оральным механизмом передачи (энтеровирусы, энтеробактерии, холерные вибрионы и др.).

Оценка фекального загрязнения почвы и его давности проводится по индексу БГКП (количество БГКП в 1 г почвы), перфрингенс-титру (наименьшее количество почвы, в котором обнаруживается *Clostridium perfringens*), а иногда и по титру энтерококков. Параллельно определяется микробное число почвы. Загрязненность почвы навозом и компостом оценивается по титру термофилов — бактерий, вырастающих на мясе — пептонном агаре при 60 °С в течение 24 часов.

Существуют следующие критерии оценки степени загрязнения почвы:

1. Титр БГКП и перфрингенс-титр для сильно загрязненных почв — соответственно 0,009 и ниже, 0,00009 и ниже; для чистых почв — коли-титр 1,0 и выше, перфрингенс-титр — 0,01 и выше.

2. Количество термофилов (на 1 г почвы; культивирование при температуре 60 °С): в чистых почвах — 100–1000, в загрязненных — 1000–10 000, а в сильно загрязненных — 100 000–400 000 колониеобразующих единиц (КОЕ).

Санитарный надзор за состоянием объектов общественного питания, аптек, лечебных и детских учреждений осуществляется исследованием смывов с рук персонала, посуды, поверхности столов, оборудования и др. Смывы высевают на различные питательные среды для определения микробной обсемененности, наличия БГКП, патогенных энтеробактерий, золотистого стафилококка, энтерококка, грибов рода *Candida*. Отдельно можно выявлять энтеровирусы.

4.5.2. Микробиологический контроль воздуха

Микробиологический контроль воздуха проводится с помощью методов естественной или принудительной седиментации микробов. Естественная седиментация (по методу Коха) проводится в течение 5–10 мин путем осаждения микробов на поверхность твердой питательной среды в чашке Петри. Принудительная седиментация микробов

осуществляется путем «посева» проб воздуха на питательные среды с помощью специальных приборов (импакторов, импинджеров, фильтров). *Импакторы* — приборы для принудительного осаждения микробов из воздуха на поверхность питательной среды (прибор Кротова, пробоотборник аэрозоля бактериологический и др.). *Импинджеры* — приборы, с помощью которых воздух проходит через жидкую питательную среду или изотонический раствор хлорида натрия.

Санитарно-гигиеническое состояние воздуха определяется по следующим микробиологическим показателям:

1. Общее количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха (так называемое общее микробное число, или обсемененность воздуха) — количество колоний микроорганизмов, выросших при посеве воздуха на питательном агаре в чашке Петри в течение 24 ч при 37 °С, выраженное в КОЕ;

2. Индекс санитарно-показательных микробов — количество золотистого стафилококка и гемолитических стрептококков в 1 м³ воздуха. Эти бактерии являются представителями микрофлоры верхних дыхательных путей и имеют общий путь выделения с патогенными микроорганизмами, передающимися воздушно-капельным путем. Появление в воздухе спорообразующих бактерий — показатель загрязненности воздуха микроорганизмами почвы, а появление грамотрицательных бактерий — показатель возможного антисанитарного состояния.

Для оценки воздуха лечебных учреждений можно использовать данные из официально рекомендованных нормативных документов (табл. 4.2).

4.5.3. Микробиологический контроль продуктов питания

Санитарно-микробиологическое исследование продуктов питания проводится в плановом порядке и по эпидемиологическим показаниям. В плановом порядке проводятся исследования по следующим показателям:

1. Общее микробное число (обсеменение). Определяют МАФМ — мезофильные и факультативно анаэробные микроорганизмы, выросшие в виде видимых колоний на плотной питательной среде после инкубации при 37 °С в течение 24 ч.

Таблица 4.2. Допустимые уровни бактериальной обсемененности воздуха в некоторых отделениях стационаров

| Место отбора проб | Условия работы | Общее количество КОЕ в 1 м ³ воздуха | Количество золотистого стафилококка в 1 м ³ воздуха | Количество грамотрицательных бактерий в 1 м ³ воздуха |
|--|-------------------------|---|--|--|
| Операционные (обеспеченные 10–20-кратным и более воздухообменом) | Подготовленные к работе | Не более 100 | Не должно быть | |
| Реанимационные отделения (палаты) | | Не более 1000 | Не более 4 | Не должно быть |
| Процедурная | До начала работы | Не более 50 | Не должно быть | |
| | Во время работы | Не более 2000 | Не более 1–2 | |

2. Обнаружение санитарно-показательных бактерий в продуктах питания — *кишечной палочки, БГКП, энтерококка, золотистого стафилококка, бактерий группы протей, клостридий (сульфит-восстановителей).*

3. Обнаружение сальмонелл, например, при исследовании продуктов из мяса (наряду с другими показателями).

По эпидемиологическим показаниям продукты исследуют на наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов — возбудителей пищевых отравлений микробной этиологии.

Общее микробное обсеменение не определяют в кисломолочных продуктах — твороге, сметане, кефире и других, содержащих специфическую микрофлору (молочнокислые стрептококки, лактобактерии и др.). В этих продуктах исследуют молочнокислую микрофлору бактериоскопическим изучением мазков из них, окрашенных метиленовым синим. Отсутствие характерной молочнокислой микрофлоры и наличие посторонней микрофлоры (плесневые грибы, дрожжи и др.) указывают на неудовлетворительное приготовление, нарушение технологии или неправильное хранение продуктов. Исключение составляют кефир, кумыс, в которых при микроскопическом исследовании обязательно выявляются в поле зрения 2–5 дрожжевых клеток, поскольку эти продукты есть результат комби-

нированного брожения — молочнокислого и спиртового.

Некоторые ориентировочные микробиологические показатели приведены в табл. 4.3.

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

1. Обнаружение аэробных микроорганизмов.
2. Обнаружение анаэробных микроорганизмов.
3. Определение ботулинических экзотоксинов.

4.5.4. Микробиологический контроль лекарственных средств

Обсеменение лекарственного сырья возможно на всех этапах его заготовки и при хранении. Активному размножению микроорганизмов способствует увлажнение растений и растительного сырья. Размножившиеся микроорганизмы вызывают изменение фармакологических свойств препаратов, полученных из лекарственных растений. Микроорганизмы могут также попадать из окружающей среды, от людей и обсеменять лекарственные препараты в процессе их изготовления из растительного сырья. Для соблюдения санитарного режима изготовления лекарственных препаратов проводят санитарно-микробиологический контроль объектов окружающей среды предприятия

Таблица 4.3. Ориентировочные микробиологические показатели некоторых продуктов

| Продукт | Общее микробное число | Наличие БГКП (коли-титр) |
|--|-----------------------|--------------------------------|
| Молоко, сливки, пахта | 75 000–150 000 | Не менее 3 |
| Сухое молоко | Не более 2500 | Не допускается |
| Кефир | Не исследуется | Не менее 0,3 |
| Полуфабрикаты из рубленого мяса (котлеты, шницели и др.) | Не более 1000 | Не допускается |
| Жареная и печеная рыба | Не более 1000 | Не должны быть в 10 г продукта |

и каждой серии выпускаемой лекарственной формы. Лекарственные средства для парентерального введения в виде инъекций, глазные капли, мази, пленки и др., в отношении которых имеются соответствующие указания в нормативно-технической документации, должны быть стерильными. Контроль стерильности лекарственных средств проводят путем посева на тиогликолевую среду для выявления различных бактерий, в том числе анаэробов; при посеве на среду Сабуро выявляют грибы, главным образом рода *Candida*. Стерильность лекарственных средств с антимикробным действием определяют путем мембранной фильтрации: фильтр после фильтрации исследуемого препарата делят на части и вносят для подрашивания задержанных микроорганизмов в жидкие питательные среды. При отсутствии роста препарат считается стерильным.

Лекарственные средства, не требующие стерилизации, обычно содержат микроорганизмы. Поэтому их испытывают на микробиологическую чистоту: проводят количественное определение жизнеспособных бактерий и грибов в 1 г или 1 мл препарата, а

также выявляют микроорганизмы (бактерии семейства энтеробактерий, синегнойная палочка, золотистый стафилококк), которые не должны присутствовать в нестерильных лекарственных средствах. В 1 г или 1 мл лекарственного сырья для приема внутрь должно быть не более 1000 бактерий и 100 дрожжевых и плесневых грибов; должны отсутствовать кишечные палочки и сальмонеллы. В случаях местного применения (полость уха, носа, интравагинальное использование) количество микроорганизмов не должно превышать 100 (суммарно) микробных клеток на 1 г или 1 мл препарата при отсутствии энтеробактерий, синегнойной палочки и золотистого стафилококка. В таблетированных препаратах не должно быть патогенной микрофлоры, а общая обсемененность не должна превышать 10 тыс. микробных клеток на таблетку. Средства гигиены полости рта, зубные пасты и эликсиры, жевательные резинки не должны содержать синегнойную палочку, бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, плесневые грибы и грибы рода *Candida*; микробное число должно быть не более 100 КОЕ/г.

ГЛАВА 5. ГЕНЕТИКА МИКРОБОВ

5.1. Строение генома бактерий

Бактериальный геном состоит из генетических элементов, способных к самостоятельной репликации (син. воспроизведение), т. е. *репликонов*. Репликонами являются *бактериальная хромосома* и *плазмиды*.

Наследственная информация хранится у бактерий в форме последовательности нуклеотидов ДНК, которые определяют последовательность аминокислот в белке (строение ДНК изложено в разд. 2.1 и показано на рис. 2.1). Каждому белку соответствует свой ген, т. е. дискретный участок на ДНК, отличающийся числом и специфичностью последовательности нуклеотидов.

5.1.1. Бактериальная хромосома

Бактериальная хромосома представлена одной двухцепочечной молекулой ДНК кольцевой формы. Размеры бактериальной хромосомы у различных представителей царства *Procarvota* варьируют от 3×10^8 до $2,5 \times 10^9$ Да, что соответствует $3,2 \times 10^6$ нуклеотидных пар (н.п.). Например, у *E. coli* бактериальная хромосома содержит 5×10^6 н.п. Для сравнения: размеры ДНК вирусов составляют порядка 10^3 н.п., дрожжей — 10^7 н.п., а суммарная длина хромосомных ДНК человека составляет 3×10^9 н.п. Бактериальная хромосома формирует компактный нуклеоид бактериальной клетки. Бактериальная хромосома имеет гаплоидный набор генов. Она кодирует жизненно важные для бактериальной клетки функции.

5.1.2. Плазмиды бактерий

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

Среди фенотипических признаков, сообщаемых бактериальной клетке плазмидами, можно выделить следующие:

- 1) устойчивость к антибиотикам;
- 2) образование колицинов;
- 3) продукция факторов патогенности;
- 4) способность к синтезу антибиотических веществ;
- 5) расщепление сложных органических веществ;
- 6) образование ферментов рестрикции и модификации.

Репликацию плазмидной ДНК осуществляет тот же набор ферментов, что и репликацию бактериальной хромосомы (см. разд. 3.1.7 и рис. 3.6), однако репликация плазмид происходит независимо от хромосомы.

Некоторые плазмиды находятся под *строгим контролем*. Это означает, что их репликация сопряжена с репликацией хромосомы так, что в каждой бактериальной клетке присутствует одна или, по крайней мере, несколько копий плазмид.

Число копий плазмид, находящихся под *слабым контролем*, может достигать от 10 до 200 на бактериальную клетку.

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

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

Некоторые бактериальные плазмиды способны передаваться из одной клетки в другую,

иногда даже принадлежащую иной таксономической единице. Такие плазмиды называются *трансмиссивными* (*конъюгативными*, син.) Трансмиссивность присуща лишь крупным плазмидам, имеющим *tra*-оперон, в который объединены гены, ответственные за перенос плазмиды. Эти гены кодируют половые пили, которые образуют мостик с клеткой, не содержащей трансмиссивную плазмиду, по которой плазмидная ДНК передается в новую клетку. Этот процесс называется *конъюгацией*; подробно он будет рассмотрен в разд. 5.4.1.

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

Особое значение в медицинской микробиологии имеют плазмиды, обеспечивающие устойчивость бактерий к антибиотикам, которые получили название R-плазмид, и плазмиды, обеспечивающие продукцию факторов патогенности, способствующих развитию инфекционного процесса в макроорганизме.

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

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

Плазмиды, детерминирующие синтез факторов патогенности, в настоящее время обнаружены у многих бактерий, являющихся возбудителями инфекционных заболеваний человека. Патогенность возбудителей шигеллезов, иерсиниозов, чумы, сибирской язвы, иксодового боррелиоза, кишечных эшерихиозов связана с наличием у них и функционированием плазмид патогенности. Первыми, из этой группы плазмид были определены

Ent-плазида, определяющая синтез энтеротоксина, и Hly-плазида, детерминирующая синтез гемолизина у *E. coli*.

Некоторые бактериальные клетки содержат плазмиды, детерминирующие синтез бактерицидных по отношению к другим бактериям веществ. Например, некоторые *E. coli* владеют Col-плазмидой, определяющей синтез колицинов, обладающих микробицидной активностью по отношению к колиформным бактериям. Бактериальные клетки, несущие такие плазмиды, обладают преимуществами при заселении экологических ниш.

Плазмиды используются в практической деятельности человека, в частности в генной инженерии, при конструировании специальных рекомбинантных бактериальных штаммов, вырабатывающих в больших количествах биологически активные вещества (см. гл. 6).

5.1.3. Подвижные генетические элементы

В состав бактериального генома, как в бактериальную хромосому, так и в плазмиды, входят *подвижные генетические элементы*. К подвижным генетическим элементам относятся вставочные последовательности и транспозоны.

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

Отличительной особенностью IS-элементов является наличие на концах вставочной последовательности *инвертированных повторов*. Эти инвертированные повторы узнает фермент *транспозаза* (рис. 5.1). Транспозаза осуществляет одноцепочечные разрывы цепей ДНК, расположенных по обе стороны от подвижного элемента. Оригинальная копия IS-элемента остается на прежнем месте, а ее

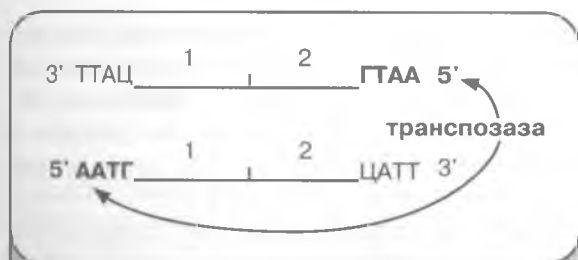


Рис. 5.1. Схема строения IS-элемента: 1 — ген репрессора; 2 — ген транспозазы. Жирным шрифтом выделены инвертированные повторы, узнаваемые транспозазой. Стрелками указаны места разрывов

реплицированный дубликат перемещается на новый участок.

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

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

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

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

1. Инактивацию генов тех участков ДНК, куда они, переместившись, встраиваются.

2. Образование повреждений генетического материала.

3. Слияние репликонов, т. е. встраивание плазмиды в хромосому.

4. Распространение генов в популяции бактерий, что может приводить к изменению биологических свойств популяции, смене возбудителей инфекционных заболеваний, а

также способствует эволюционным процессам среди микробов.

Изменения бактериального генома, а следовательно, и свойств бактерий могут происходить в результате мутаций и рекомбинаций.

5.2. Мутации у бактерий

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

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

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

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

Тимин, например, обычно находится в кетоформе, в которой он способен образовывать водородные связи с аденином. Но если тимин во время спаривания оснований при репликации ДНК переходит в енольную форму, то он спаривается с гуанином. В результате в новой молекуле ДНК на месте, где раньше стояла пара А–Т, появляется пара Г–Ц.

Спонтанные хромосомные абберации возникают вследствие перемещения подвижных генетических элементов.

Индукцированные мутации появляются под влиянием внешних факторов, которые на-

зываются *мутагенами*. Мутагены бывают физическими (УФ-лучи, гамма-радиация), химическими (аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований, азотистая кислота и ее аналоги и другие соединения) и биологически — транспозоны.

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

Азотистая кислота и ее аналоги вызывают дезаминирование азотистых оснований, результатом чего

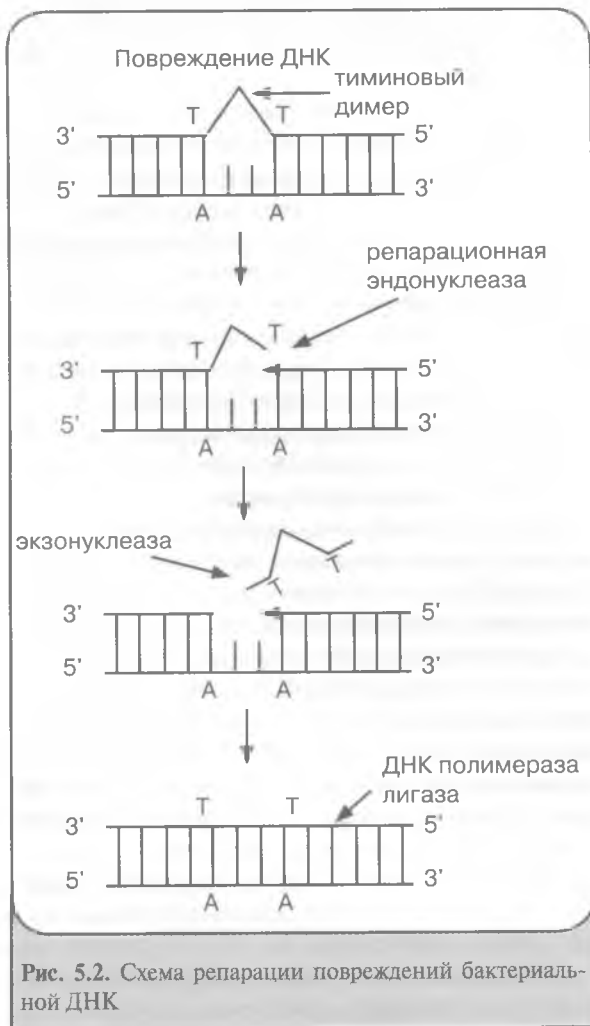
являются ошибки при спаривании и, как следствие, возникновение транзигции. Аденин в результате дезаминирования превращается в гипоксантин, который спаривается с цитозином, что приводит к возникновению транзигции АТ–ГЦ. Гуанин же при дезаминировании превращается в ксантин, который по-прежнему спаривается с цитозином; таким образом, дезаминирование гуанина не сопровождается мутацией.

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

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

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

Мутация, приводящая к потере функции, называется *прямой* мутацией. У мутантов может произойти восстановление исходных свойств, т. е. реверсия (*reverse* — обратный, англ.) Если происходит восстановление исходного генотипа и фенотип, называется обратной или прямой *реверсией*. Если мутация восстанавливает фенотип, не восстанавливая генотип, то такая мутация называется *супрессорной*. Супрессорные мутации могут возникать как в пределах того самого гена, в



котором произошла первичная мутация, так в других генах или могут быть связаны с мутациями в тРНК.

5.3. Рекомбинация у бактерий

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

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

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

5.3.1. Гомологичная рекомбинация

При гомологичной рекомбинации в процессе разрыва и воссоединения ДНК происходит обмен между участками ДНК, обладающими высокой степенью гомологии. Гомологичная рекомбинация происходит через образование промежуточного соединения, крестообразной структуры Холлидея или *полухиазмы* (рис. 5.3). В полухиазме осуществляется комплементарное спаривание между одноцепочечными участками, принадлежащими разным родительским молекулам ДНК. Процесс гомологичной рекомбинации находится под контролем генов, объединен-

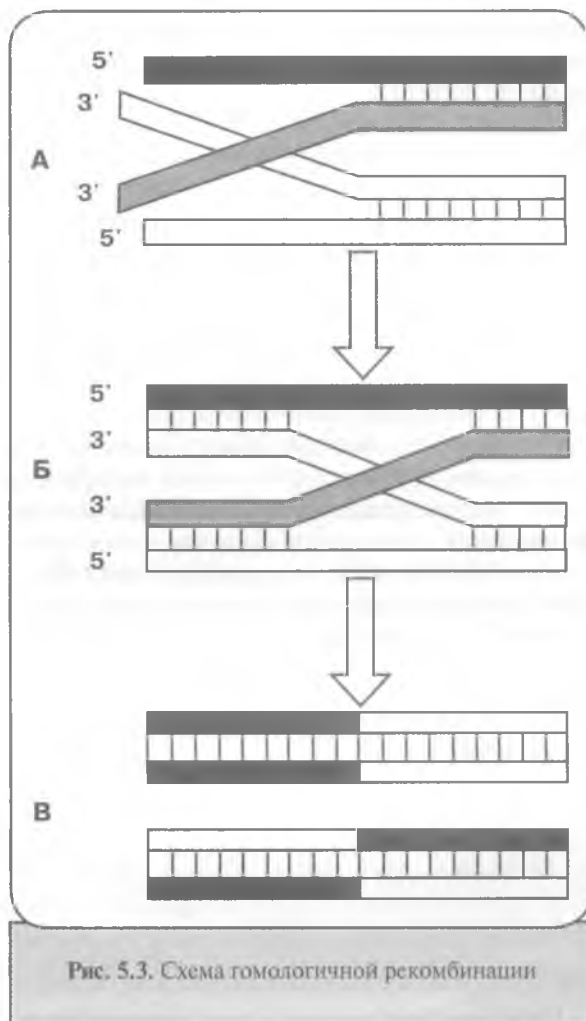


Рис. 5.3. Схема гомологичной рекомбинации

ных в *REC-системе*, состоящую из генов *recA, B, C, D*. Продукты этих генов производят расплетание нитей ДНК и их переориентацию с образованием структуры Холлидея, а также разрезают структуру Холлидея для завершения процесса рекомбинации.

5.3.2. Сайт-специфическая рекомбинация

Происходит в определенных участках генома и не требует высокой степени гомологии ДНК. Этот тип рекомбинации не зависит от функционирования генов *recA, B, C, D*. Примером этого типа рекомбинации является встраивание плазмиды в хромосому бактерий, которое происходит между идентичными IS-элементами хромосомы и плазмиды, интеграция ДНК фага в хромосому *E. coli*. Сайт-специфическая рекомбинация, происходящая в пределах одного репликона, участвует также в переключении актив-

ности генов. Например, у сальмонелл следствием этого процесса являются фазовые вариации жгутикового H-антигена.

5.3.3. Незаконная или репликативная рекомбинация

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

Рекомбинация у бактерий является конечным этапом передачи генетического материала между бактериями, которая осуществляется тремя механизмами: конъюгацией (при контакте бактерий, одна из которых несет конъюгативную плазмиду), трансдукцией (при помощи бактериофага), трансформацией (при помощи высокополимеризованной ДНК) (рис. 5.4).

5.4. Передача генетической информации у бактерий

5.4.1. Конъюгация

Передача генетического материала от клетки-донора в клетку-реципиент путем непосредственного контакта клеток называется конъюгацией.

Передача генетического материала от клетки-донора в клетку-реципиент впервые была обнаружена Дж. Ледербергом и Э. Тейтумом в 1946 г.

Необходимым условием для конъюгации является наличие в клетке-доноре трансмиссивной плазмиды.

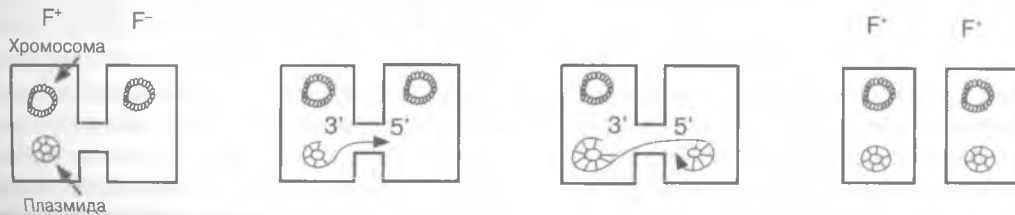
Трансмиссивные плазмиды кодируют половые пили, образующие конъюгационную трубочку между клеткой-донором и клеткой-реципиентом, по которому плазмидная ДНК передается в новую клетку. Механизм передачи плазмидной ДНК из клетки в клетку заключается в том, что специальный белок, кодируемый *tra*-опероном, «узнает» определенную последовательность в ДНК плазмиды (называемую *origin* — начало, англ., переноса), вносит в эту последовательность одноцепочечный разрыв и ковалентно связывается с 5'-концом. Затем цепь ДНК, с которой связан белок, переносится в клетку-реципиент, а неразорванная комплементарная цепь остается в клетке-доноре. Клеточный аппарат синтеза ДНК достраивает одиночные цепи и в доноре и в реципиенте до двухцепочечной структуры. Белок связанный с 5'-концом перенесенной цепи, способствует замыканию плазмиды в реципиентной клетке в кольцо. Этот процесс представлен на рис. 5.4, *IA* на примере переноса в реципиентную клетку плазмиды *F* (*fertility* — плодовитость, англ.), которая является как трансмиссивной, так и интегративной плазмидой. Клетки-доноры, обладающие F-фактором, обозначаются как F^+ -клетки, а клетки-реципиенты, не имеющие F-фактора, обозначаются как F^- -клетки. Если F-фактор находится в клетке-доноре в автономном состоянии, то в результате скрещивания: $F^+ \times F^-$ клетка-реципиент приобретает донорские свойства (см. рис. 5.4, *IA*).

Если F-фактор или другая трансмиссивная плаزمида встраиваются в хромосому клетки-донора, то плазмиды и хромосома начинают функционировать в виде единого трансмиссивного репликона, что делает возможным перенос бактериальных генов в бесплазмидную клетку-реципиент, т. е. процесс конъюгации. Штаммы, в которых плазмиды находятся в интегрированном состоянии, переносят свои хромосомные гены бесплазмидным клеткам с высокой частотой и поэтому называются *Hfr* (от англ. *high frequency of recombination* — высокая частота рекомбинации) (рис. 5.4, *IB*).

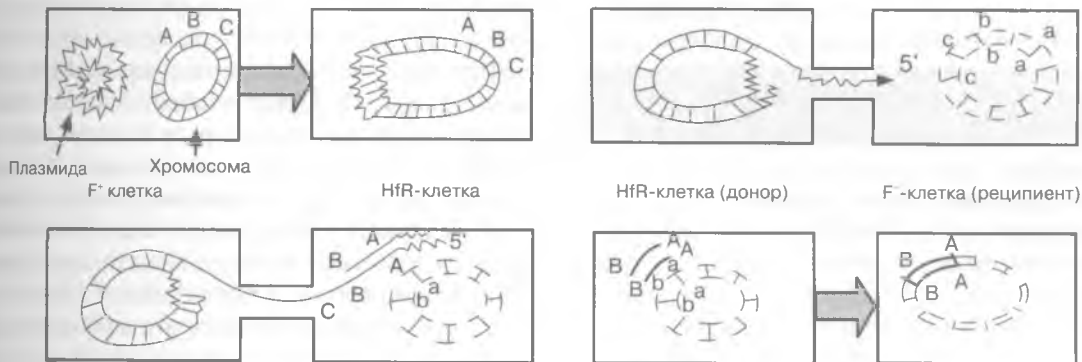
Процесс переноса хромосомных генов в случае скрещивания: $Hfr \times F^-$ всегда начинается с расщепления ДНК в одной и той же точке, месте интеграции F-фактора или другой трансмиссивной плазмиды. Одна нить донорской ДНК передается через конъюгационный мостик в реципиентную клетку. Процесс сопровождается достраиванием комплементарной нити до образования двунической структуры. Перенос хромосомных генов при конъюгации всегда имеет одинаковую направленность, противоположную встроенной плазмиде. Сама трансмиссивная плазмиды передается последней. Переданная в реципиентную клетку и достро-

1. СХЕМА КОНЬЮГАЦИИ У БАКТЕРИЙ

А. Передача F-фактора от F⁺ клетки в F⁻



Б. Передача бактериальной хромосомы путем конъюгации при включении F-фактора в хромосому бактерии



2. СХЕМА ТРАНСДУКЦИИ

А. Неспецифическая трансдукция



Б. Специфическая трансдукция



3. СХЕМА ТРАНСФОРМАЦИИ

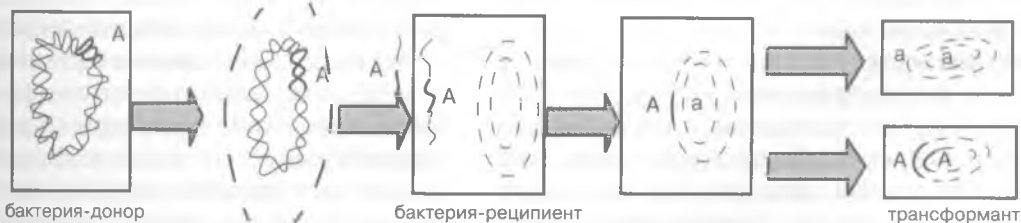


Рис. 5.4. Схемы: 1 — конъюгации у бактерий; 2 — трансдукции; 3 — трансформации

енная до двунитчатой структуры нить ДНК донора рекомбинирует с гомологичным участком реципиентной ДНК с образованием стабильной генетической структуры. Вследствие хрупкости конъюгационного мостика половой фактор редко передается в клетку-реципиент, поэтому образовавшиеся рекомбинант донорскими функциями как правило не обладает.

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

5.4.2. Трансдукция

Трансдукцией называют передачу бактериальной ДНК посредством бактериофага.

Этот процесс был открыт в 1951 г. Н. Циндером и Дж. Ледербергом. В процессе репликации фага внутри бактерий (см. разд. 3.5) фрагмент бактериальной ДНК проникает в фаговую частицу и переносится в реципиентную бактерию во время фаговой инфекции. Существует два типа трансдукции:

общая трансдукция — перенос бактериофагом фрагмента любой части бактериальной хромосомы — происходит вследствие того, что бактериальная ДНК фрагментируется после фаговой инфекции и кусочки бактериальной ДНК того же размера, что и фаговая ДНК, проникает в вирусную, формируя дефектную фаговую частицу с частотой приблизительно 1 на 1000 фаговых частиц (рис. 5.4, 2А). При инфицировании клетки-реципиента дефектной фаговой частицей ДНК клетки-донора «впрыскивается» в нее и рекомбинирует гомологичной рекомбинацией с гомологичным участком хромосомы-реципиента с образованием стабильного рекомбинанта. Этим типом трансдукции обладают Р-фаги;

специфическая трансдукция — наблюдается в том случае, когда фаговая ДНК интегрирует в бактериальную хромосому с образованием профага. В процессе исключения ДНК-фага из бактериальной хромосомы в результате случайного процесса захватывается прилегающий к месту включения фаговой ДНК фрагмент бактериальной хромосомы, становясь дефектным фагом (рис. 5.4, 2Б). Так как большинство умеренных бактериофагов

интегрирует в бактериальную хромосому в специфических участках, для таких бактериофагов характерен перенос в клетку-реципиент определенного участка бактериальной ДНК клетки-донора. ДНК дефектного фага рекомбинирует с ДНК клетки-реципиента сайт-специфической рекомбинацией. Рекомбинант становится меродиплоидом по принесенному гену. В частности, бактериофаг передает специфической трансдукцией *gal*-ген у *E. coli*.

5.4.3. Трансформация

Феномен трансформации впервые был описан в 1928 г. Ф. Гриффитсом, обнаружившим превращение бескапсульного R-штамма пневмококков (*Streptococcus pneumoniae*) в штамм, образующий капсулу S-формы. Гриффитс ввел мышам одновременно небольшое количество авирулентных R-клеток и убитых нагреванием S-клеток. R-клетки были получены от штамма, капсульное вещество которого принадлежало к типу S II, а убитые нагреванием S-штаммы принадлежали к типу S III. Из крови погибших мышей были выделены вирулентные пневмококки с капсулой S III.

Природу трансформирующего фактора в 1944 г. установили О. Эвери, К. Мак-Леод, М. Мак-Картти, которые показали, что ДНК, экстрагированная из инкапсулированных пневмококков, может трансформировать некапсулированные пневмококки в инкапсулированную форму. Таким образом, было доказано, что именно ДНК является носителем генетической информации.

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

Процесс трансформации зависит от компетентности клетки-реципиента и содержания донорской трансформирующей ДНК. **Компетентность** — это способность бактериальной клетки поглощать ДНК. Она зависит от присутствия особых белков в клеточной мембране, обладающих специфическим аффинитетом к ДНК. Состояние компетентности у грамположительных бактерий связано с определенными фазами кривой роста.

Трансформирующей активностью обладает только двунитчатая высокоспирализованная молекула ДНК.

Это связано с тем, что в клетку-реципиент проникает только одна нить ДНК, тогда как другая — на клеточной мембране — подвергается деградации с освобождением энергии, которая необходима для проникновения в клетку сохранившейся нити. Высокий молекулярный вес трансформирующей ДНК увеличивает шанс рекомбинации, так как внутри клетки трансформирующая нить ДНК подвергается воздействию эндонуклеаз. Интеграция с хромосомой требует наличия гомологичных с ней участков у трансформирующей ДНК. Рекомбинация происходит на одной нити, в результате чего образуется гетеродуплексная молекула, одна нить которой имеет генотип реципиента, а другая — рекомбинантный генотип. Рекомбинантные трансформанты формируются только после цикла репликации (рис. 5.4, 3).

В настоящее время этот метод является основным методом генной инженерии, используемым при конструировании рекомбинантных штаммов с заданным геномом.

5.5. Особенности генетики вирусов

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

Мутации у вирусов могут возникать спонтанно, в процессе репликации нуклеиновой кислоты вируса, а также под влиянием тех же внешних факторов и мутагенов, что и у бактерий.

Фенотипически мутации вирусного генома проявляются изменениями в антигенной структуре, неспособностью вызывать продуктивную инфекцию в чувствительной клетке, чувствительностью продуктивного цикла к температуре, а также изменением формы и размера бляшек, которые образуют вирусы в культуре клеток под агаровым покрытием (гл. 3.3).

Свойства вирусов могут изменяться при одновременном заражении несколькими ви-

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

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

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

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

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

5.6. Применение генетических методов в диагностике инфекционных болезней

5.6.1. Рестрикционный анализ

Данный метод основан на применении ферментов, носящих название *рестриктазы*.

Рестриктазы представляют собой эндонуклеазы, которые расщепляют молекулы ДНК, разрывая фосфатные связи не в произвольных местах, а в определенных последовательностях нуклеотидов. Особое значение для методов молекулярной генетики имеют рестриктазы, которые узнают последовательности, обладающие центральной симметрией и считающиеся одинаково в обе стороны от оси симметрии.

Точка разрыва ДНК может или совпадать с осью симметрии, или быть сдвинута относительно нее.

В настоящее время из различных бактерий выделено и очищено более 175 различных рестриктаз, для которых известны сайты (участки) узнавания (рестрикции). Выявлено более 80 различных типов сайтов, в которых может происходить разрыв двойной спирали ДНК.

В геноме конкретной таксономической единицы находится строго определенное (генетически задетерминированное) число участков узнавания для определенной рестриктазы.

Если выделенную из конкретного микроба ДНК обработать определенной рестриктазой, то это приведет к образованию строго определенного количества фрагментов ДНК фиксированного размера.

Размер каждого типа фрагментов можно узнать с помощью электрофореза в агарозном геле: мелкие фрагменты перемещаются в геле быстрее, чем более крупные фрагменты, и длина их пробега больше. Гель окрашивают бромистым этидием и фотографируют в УФ-излучении. Таким образом можно получить рестрикционную карту определенного вида микробов.

Сопоставляя карты рестрикции ДНК, выделенных из различных штаммов, можно определить их генетическое родство, выявить принадлежность к определенному виду или роду, а также обнаружить участки, подвергнутые мутациям.

Этот метод используется также как начальный этап метода определения последовательности нуклеотидных пар (секвенирования) и метода молекулярной гибридизации.

5.6.2. Метод молекулярной гибридизации

Позволяет выявить степень сходства различных ДНК. Применяется при идентификации микробов для определения их точного таксономического положения.

Метод основан на способности двухцепочечной ДНК при повышенной температуре (90 °С) в щелочной среде денатурировать, т. е. расплетаться на две нити, а при понижении температуры на 10 °С вновь восстанавливать

исходную двухцепочечную структуру. Метод требует наличия молекулярного зонда.

Зондом называется одноцепочечная молекула нуклеиновой кислоты, меченная радиоактивными нуклидами, с которой сравнивают исследуемую ДНК.

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

5.6.3. Полимеразная цепная реакция

ПЦР позволяет обнаружить микроб в исследуемом материале (воде, продуктах, материале от больного) по наличию в нем ДНК микроба без выделения последнего в чистую культуру.

Для проведения этой реакции из исследуемого материала выделяют ДНК, в которой определяют наличие специфичного для данного микроба гена. Обнаружение гена осуществляют его накоплением. Для этого необходимо иметь праймеры комплементарного 3'-концам ДНК исходного гена. Накопление (амплификация) гена выполняется следующим образом. Выделенную из исследуемого материала ДНК нагревают. При этом ДНК распадается на 2 нити. Добавляют праймеры. Смесь ДНК и праймеров охлаждают. При этом праймеры, при наличии в смеси ДНК искомого гена, связываются с его комплементарными участками. Затем к смеси ДНК и праймера добавляют ДНК-полимеразу и нуклеотиды. Устанавливают температуру, оптимальную для функционирования ДНК-полимеразы. В этих условиях, в случае комплементарности ДНК гена и праймера, происходит присоединение нуклеотидов к 3'-концам праймеров, в результате чего синтезируются две копии гена. После этого цикл повторяется снова, при этом количество ДНК гена будет увеличиваться каж-

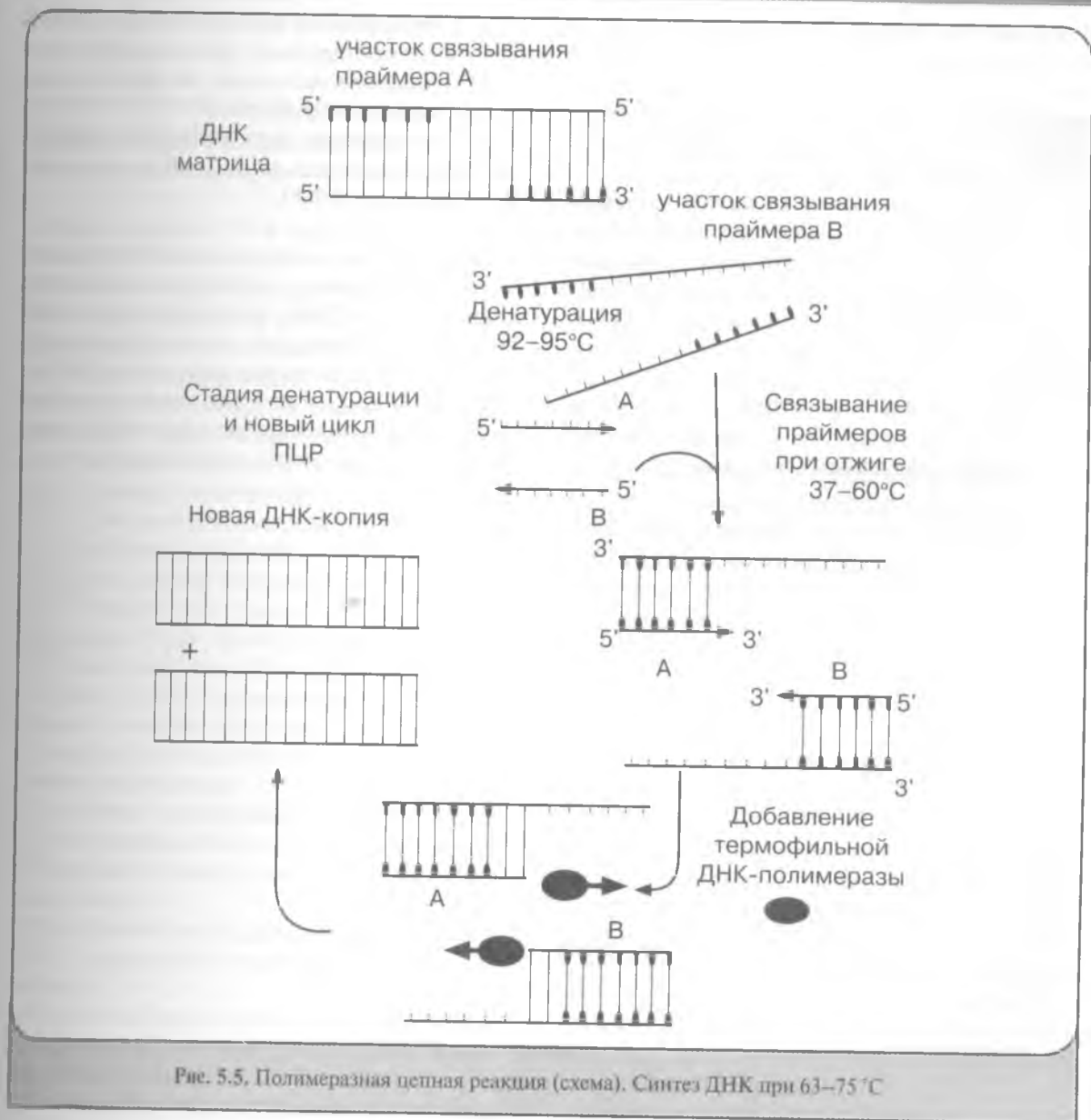


Рис. 5.5. Полимеразная цепная реакция (схема). Синтез ДНК при 63–75 °С

дый раз вдвое (рис. 5.5) Проводят реакцию в специальных приборах — амплификаторах. ПЦР применяется для диагностики вирусных и бактериальных инфекций.

5.6.4. Риботипирование и опосредованная транскрипцией амплификация рибосомальной РНК

Последовательность нуклеотидных оснований в оперонах, кодирующих рРНК, отличается консервативностью, присущей каждому

виду бактерий. Эти опероны представлены на бактериальной хромосоме в нескольких копиях. Фрагменты ДНК, полученные после обработки ее рестриктазами, содержат последовательности генов рРНК, которые могут быть обнаружены методом молекулярной гибридизации с меченой рРНК соответствующего вида бактерий. Количество и локализация копий оперонов рРНК и рестрикционный состав сайтов как внутри рРНК-оперона, так и по его флангам варьируют у различных вида

бактерий. На основе этого свойства построен метод *риботипирования*, который позволяет производить мониторинг выделенных штаммов и определение их вида. В настоящее время риботипирование проводится в автоматическом режиме в специальных приборах.

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

1. Амплификация пула рРНК на матрице выделенной из исследуемого материала ДНК при помощи ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

2. Гибридизация накопленного пула рРНК с комплементарными видоспецифическим рРНК олигонуклеотидами, меченными флюорохромом или ферментами.

3. Определение продуктов гибридизации методами денситометрии, иммуноферментного анализа (ИФА).

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

ГЛАВА 6. БИОТЕХНОЛОГИЯ. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Вторая половина XX и начало XXI века ознаменовались появлением и развитием ряда основополагающих фундаментальных наук, определявших успехи в научно-техническом прогрессе в целом и отразившихся на изменении уровня и образа жизни человека. К ним следует отнести атомную энергию, радиоэлектронику, сверхпроводимость, робототехнику, искусственный интеллект, информатику, геномику, протеомику и другие науки. Однако, по мнению большинства ученых, государственных и общественных деятелей, все же ведущей наукой, которая будет определять научно-технический прогресс в ближайшие десятилетия, будет биотехнология, успехи и открытия в биологии. По мнению академика А. А. Баева (1998), изложенному им в анкетепрогнозе развития биологии на ближайшее десятилетие, основную роль будут играть следующие направления:

1) комплекс «молекулярных наук» — молекулярные основы иммунитета; молекулярные основы рака; молекулярные основы нервной деятельности;

2) биотехнология — фармацевтические продукты, трансгенные животные, трансгенные растения;

3) геном человека: структура генома, функция генома, генотерапия, диагностика и профилактика наследственных болезней.

По существу, как следует из этого прогноза, биотехнология не только решает конкретные задачи и направления в биологии, но и пронизывает буквально все области профилактической и клинической медицины.

Биотехнология тесно связана с микробиологией и иммунологией. Фактически она родилась в недрах микробиологии, является развитием технической микробиологии. Не случайно основоположником биотехнологии по праву признается основатель микробиологии и иммунологии Л. Пастер, открывший ферментативную природу брожения. Вот по-

чему знакомство с основами медицинской биотехнологии заложено в программе кафедр микробиологии и иммунологии медицинских вузов.

6.1. Сущность биотехнологии.

Цели и задачи

Биотехнология представляет собой область знаний, которая возникла и оформилась на стыке микробиологии, молекулярной биологии, генетической инженерии, иммунологии, химической технологии и ряда других наук. Рождение биотехнологии обусловлено потребностями общества в новых, более дешевых продуктах для народного хозяйства, в том числе для медицины и ветеринарии, а также принципиально новых технологиях. Само слово «биотехнология» произошло от греч. *bios* — жизнь, *tecnen* — искусство, *logos* — наука. Целью биотехнологии является получение продуктов из биологических объектов или с их применением, а также воспроизведение биоэффектов, не встречающихся в природе. В качестве биологических объектов чаще всего используются одноклеточные микроорганизмы, животные и растительные клетки, а также организм животных, человека или растений. Выбор этих объектов обусловлен следующими причинами:

1) Клетки являются своего рода «биофабриками», вырабатывающими в процессе жизнедеятельности разнообразные ценные продукты: белки, жиры, углеводы, витамины, аминокислоты, антибиотики, гормоны, антитела, антигены, ферменты, спирты и т. д. Многие из этих продуктов, крайне необходимых в жизни человека, пока недоступны для получения «небиотехнологическими» способами.

2) Клетки чрезвычайно быстро воспроизводятся. Так, бактериальная клетка, делится через каждые 20–60 мин, дрожжевая — через 1,5–2 ч, животная — через 24 ч, что позво-

ляет за относительно короткое время искусственно нарастить на сравнительно дешевых и недефицитных питательных средах в промышленных масштабах огромные количества биомассы микробных, животных или растительных клеток.

3) Биосинтез сложных веществ, таких как белки, антибиотики, антигены, антитела и др. значительно экономичнее и технологически доступнее, чем другие виды химического синтеза. При этом исходное сырье для биосинтеза, как правило, проще, дешевле и доступнее, чем сырье для других видов синтеза. Для этого используются отходы сельскохозяйственной, рыбной продукции, пищевой промышленности, растительное сырье, например рыбная мука, меласса, дрожжи, древесина и др.

4) Возможность проведения биотехнологического процесса в промышленных масштабах, т. е. наличие соответствующего технологического оборудования, доступность сырья, технология переработки и т. д.

Биотехнология использует следующие продукты одноклеточных:

а) Сами клетки как источник целевого продукта;

б) Крупные молекулы, которые синтезируются клетками в процессе выращивания: ферменты, токсины, антигены, антитела, пептидогликаны и др.;

в) Первичные метаболиты — низкомолекулярные вещества (мол. масса менее 1500 Да), необходимые для роста клеток (аминокислоты, витамины, нуклеотиды, органические кислоты и др.);

г) Вторичные метаболиты (идиолиты) — низкомолекулярные и макромолекулярные соединения, не требующиеся для роста клеток: антибиотики, алкалоиды, токсины, гормоны и др.

Биотехнология использует эту продукцию клеток как сырье, которое в результате технологической обработки превращается в конечный, пригодный для использования, продукт.

Помимо микроорганизмов, животных и растительных клеток биотехнология в качестве биологических объектов использует органы и ткани человека и животных, растения, организм животных и человека. Например, для получения инсулина можно использовать

поджелудочную железу крупного рогатого скота и свиней, гормона роста — гипофизы трупов человека; для получения иммуноглобулинов используют организм лошадей и других животных, препаратов крови — доноров и т. д.

Биотехнология, используя перечисленные выше биологические объекты, получает огромный ассортимент продукции, для медицины, ветеринарии, сельского хозяйства, пищевой и химической промышленности, других отраслей народного хозяйства. К ним относятся, например, такие продукты, без которых невозможно существование современного человека, как антибиотики, витамины, ферменты, вакцины, гормоны, аминокислоты, нуклеотиды, комплемент и препараты крови, иммуномодуляторы, антитела, диагностические препараты, сердечно-сосудистые, противоопухолевые и множество других фармацевтических препаратов; пищевые и кормовые белки, биологические средства защиты растений, инсектициды, сахара, спирты, липиды, дрожжи, кислоты, бутанол, ацетон и многие другие.

Помимо этого, биотехнология играет большую роль в оздоровлении окружающей среды — в экологии, так как с помощью биотехнологических процессов проводят очистку от загрязняющих веществ почвы, водоемов, воздушную среду путем их биоконверсии и биодеградации.

Однако биотехнология не ограничивается получением только вышеперечисленных продуктов. Значительные, более масштабные и революционные проблемы она решает на пути создания трансгенных животных и растений, т. е. создания новых, ранее неизвестных пород животных и растений, а также клонирования животных. Новейший раздел биотехнологии — генетическая и белковая инженерия — позволяет получать совершенно уникальные биотехнологические эффекты, открывать способы диагностики, профилактики и лечения врожденных болезней, влиять на свойства генома человека, животных и растений.

Одним из перспективных направлений биотехнологии является разработка биосенсоров для определения, индикации и идентификации биологически активных веществ и

макромолекул. Принцип работы биосенсоров основан на регистрации с помощью датчиков и детекторов физических, химических или биологических эффектов, возникающих при взаимодействии детектируемых клеток и молекул с биореагентами. Например, реакцию антиген—антитело можно выявлять по физическим, биологическим и химическим эффектам, сахар в крови — по CO_2 , образующемуся в результате его расщепления ферментом («ферментным электродом»).

Следовательно, биотехнология призвана внести существенный вклад в создание эффективных диагностических, профилактических и лечебных медицинских и ветеринарных препаратов, решение продовольственной программы (повышение урожайности, продуктивности животноводства, улучшение качества пищевых продуктов — молочной, кондитерской, хлебобулочной, мясной и рыбной продукции), обеспечение многих технологических процессов в легкой, химической и других отраслях промышленности, а также в оздоровлении окружающей среды. В настоящее время в биотехнологии выделяют 4 приоритетных направления: а) медико-фармацевтическое; б) продовольственное; в) сельскохозяйственное; г) экологическое.

В литературе не просто отсутствует приемлемое определение предмета биотехнологии, а даже ведется спор, что такое биотехнология — наука или производство? Некоторые авторы понимают биотехнологию как сугубо промышленную отрасль, другие — сводят ее к генетической инженерии, третьи — дают половинчатое определение, сводя биотехнологию к процессу использования культур клеток бактерий, дрожжей, животных и растений для получения специфических веществ. Н. П. Елинов определяет биотехнологию как науку об использовании биологических процессов в технике и промышленном производстве.

Видимо, правильно будет определять биотехнологию как науку, которая на основе изучения процессов жизнедеятельности живых организмов, главным образом микроорганизмов, животных и растительных клеток, использует эти биологические процессы, а также сами биологические объекты для промышленного производства продуктов, необходимых для жизни

человека или воспроизведения биоэффектов, не проявляющихся в естественных условиях (А. А. Воробьев).

В биотехнологии, как в никакой другой области знаний, тесно увязываются наука и производство. Промышленное производство в биотехнологии, по сути дела, основано на нескольких принципах: на брожении (ферментации), биоконверсии (превращении одного вещества в другое), культивировании растительных и животных клеток, бактерий и вирусов; на генетических манипуляциях. в том числе генно-инженерных процедурах. Естественно, что реализация этих научных принципов в производстве потребовала разработки соответствующего промышленного оборудования и аппаратуры, отработки и оптимизации технологических процессов, разработки способов оценки и контроля продукции на всех ее стадиях. Современная биотехнологическая промышленность располагает крупными заводами, опытно-конструкторскими учреждениями, научно-исследовательскими институтами; фундаментальными проблемами биотехнологии заняты научно-исследовательские институты Академии наук, Академии медицинских наук, Академии сельскохозяйственных наук и ряд прикладных отраслевых институтов.

6.2. Краткая история развития биотехнологии

Старая биотехнология возникла в древности, примерно 6000—5000 лет до н. э., тогда, когда люди научились выпекать хлеб, варить пиво, приготавливать сыр и вино. Этот первый этап биотехнологии был сугубо эмпирический и продолжал оставаться таким, несмотря на совершенствование технологических процессов и расширение сфер использования биотехнологических приемов, вплоть до открытия Л. Пастером в XIX в. ферментативной природы брожения. С этого момента начался второй, научный этап традиционной биотехнологии. В этот период получены и выделены ферменты, открыты многие микроорганизмы; разработаны способы их выращивания и получения в массовых количествах; получены культуры животных и

растительных клеток и разработаны способы искусственного культивирования; в результате изучения физиологии, биохимии и генетики микробных и животных клеток намечены пути получения многих продуктов микробиологического синтеза, необходимых для медицины, сельского хозяйства и промышленности. Вначале сформировалась техническая микробиология, а затем — биотехнология. Однако промышленное производство сводилось в основном к получению на основе природных штаммов биомассы бактерий, дрожжей, грибов, вирусов, из которых затем получали или выделяли необходимый продукт (ферменты, антибиотики, антигены, белок и т. д.).

На смену старой, традиционной биотехнологии пришла новая биотехнология, основанная на применении искусственно получаемых штаммов — суперпродуцентов бактерий, клеток животных и растений, на использовании иммобилизованных ферментов, применении культур животных и растительных клеток, широком использовании генно-инженерных работ для получения клеток-рекомбинантов, моноклональных антител и других биологически активных веществ.

Новая биотехнология возникла, таким образом, на основе достижений молекулярной биологии и микробиологии, генетики и генной инженерии, иммунологии и химической технологии. Сердцевиной ее явилась генетическая инженерия, индустрия рекомбинантных ДНК.

Рождение новой биотехнологии обусловлено рядом принципиальных открытий и достижений в науке, таких как доказательство 2-нитевой структуры ДНК, расшифровка генетического кода и доказательство его универсальности для человека, животных, растений, бактерий и т. д.; искусственный синтез биологически активных веществ, открытие ферментов обмена нуклеиновых кислот, получение рекомбинантных ДНК, а также рекомбинантных вирусов, бактерий, способных синтезировать несвойственные им продукты; искусственный синтез генов и их экспрессия в биологических объектах; получение трансгенных животных и растений, генодиагностика и генотерапия и др.

Вышеупомянутые фундаментальные достижения позволили в течение последнего десятилетия расшифровать, синтезировать и создать рекомбинантные молекулы для целого ряда белковых продуктов (гормонов, антигенов, ферментов, иммунопрепаратов) и получать их в несвойственных биологических системах.

Возможности генной инженерии и биотехнологии в наши дни таковы, что ставится задача расшифровать и получить геном человека. Основная цель этой программы — прочтение наследственной информации, записанной в ДНК человека, с тем чтобы установить структуру и механизм работы генов и хромосомы и на основании этого попытаться исправлять наследственные повреждения генома человека, направленно менять генетическую программу животных и растений. Создана программа «Геном человека», которая успешно решается. В настоящее время уже расшифровано примерно 5000 генов из 30–35 тыс., заложенных в ДНК человека, а также расшифрована нуклеотидная последовательность всей ДНК человека.

6.3. Микроорганизмы и процессы, применяемые в биотехнологии

На Земле существует около 100 000 видов бактерий, не считая многочисленных грибов (270 тыс. видов), вирусов, простейших. Микробы, как указывалось, способны синтезировать продукты или осуществлять реакции, полезные для биотехнологии. Однако в практике используют не более 100 видов микроорганизмов, так как остальные мало изучены.

Так, например, дрожжи используют в хлебопечении, пивоварении, виноделии, получении соков, кормового белка, питательных сред для выращивания бактерий и культур животных клеток.

Из бактерий в биотехнологии чаще всего используются: род *Acetobacter* — для превращение этанола в уксусную кислоту, в углекислый газ и воду; род *Bacillus* — для получения ферментов (*B. subtilis*), средств защиты растений (*B. thuringiensis*); род *Clostridium* — для сбраживания сахаров в ацетон, этанол, бута-

нол; молочнокислые бактерии (*Lactobacillus* и др.); псевдомонады, например *Ps. denitrificans*, — для получения витамина В₁₂; *Corinebacterium gentamicum* — для получения аминокислот, и др.

Из грибов в биотехнологии для получения разнообразных антибиотиков применяют род *Streptomyces*, *Penicillium chrysogenum*, *Cephalosporium acremonium*, *Streptomyces spp.* и др.

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

Многие микроорганизмы — бактерии, дрожжи, вирусы — используются в качестве реципиентов чужеродного генетического материала с целью получения рекомбинантных штаммов — продуцентов биотехнологической продукции. Так, получены рекомбинантные штаммы *E. coli*, продуцирующие интерфероны, инсулин, гормоны роста, разнообразные антигены; штаммы *B. subtilis*, вырабатывающие интерферон; дрожжи, продуцирующие интерлейкины, антигены вируса гепатита В, рекомбинантные вирусы осповакцины, синтезирующие антигены гепатита В, вирус клещевого энцефалита — ВИЧ и другие антигены.

Широкое применение в биотехнологии нашли культуры животных и растительных клеток. Известно, что строение, физиология и биохимия животных и растительных клеток более сложны, чем бактериальных клеток. Хотя из животных и растительных клеток можно извлекать более широкий ассортимент сложных и ценных веществ, однако их трудно культивировать. Из культур клеток растений (так же как и из растений) можно получать разнообразные соединения, используемые в медицине (алкалоиды, противопалительные вещества, противолейкозные и противоопухолевые, противобактериальные, сердечные и мочегонные средства, ферменты, опиаты, витамины и др.), в сельском хозяйстве, в химической и других отраслях промышленности. Например, разработано и освоено в крупномасштабном производстве выращивание клеток женьшеня, обладающе-

го биологическим действием, присущим природному женьшеню.

Животные клетки используют как для получения продукции, синтезируемой клетками, так и для выращивания в клетках вирусов с целью получения из них вакцин и диагностических препаратов. Для этого используют перевиваемые и первичные (первично-трипсинизированные) клетки человека и животных, полученные из различных нормальных органов (легких, кожи, почки, костного мозга, соединительной ткани) или опухолевых тканей. Штаммы животных и растительных клеток поддерживаются в специальных сложных условиях (замороженные в жидком азоте) и как можно реже подвергаются пересевам, так как они могут претерпевать генетические изменения.

Технология получения продуктов микробного и клеточного синтеза принципиально сводится к нескольким типовым стадиям: выбор продуктивного штамма; подбор оптимальной для роста экономичной питательной среды; культивирование; выделение целевого продукта, его стандартизация и придание лекарственной формы препарату. Перечисленные стадии и процессы осуществляются в промышленной биотехнологии на соответствующем оборудовании и аппаратуре в крупных масштабах при получении многих медицинских препаратов.

6.4. Генетическая инженерия и область ее применения в биотехнологии

Генетическая инженерия является сердцевиной биотехнологии. Она, по существу, сводится к генетической рекомбинации, т. е. к обмену генами между двумя хромосомами, которая приводит к возникновению клеток или организмов с двумя и более наследственными детерминантами (генами), по которым родители различались между собой. Метод рекомбинации *in vitro* или генетической инженерии заключаются: а) в выделении или синтезе ДНК из отличающихся друг от друга организмов или клеток; б) получении гибридных молекул ДНК; в) введении рекомбинантных (гибридных) молекул в живые клетки; г) создании условий

для экспрессии и секреции продуктов, кодируемых генами.

Гены, кодирующие те или иные структуры, или выделяют (клонировать) как таковые (хромосомы, плазмиды), или прицельно выщепляют из этих генетических образований с помощью ферментов рестрикции. Набор этих ферментов, а их уже известно более тысячи, способны резать ДНК по многим определенным связям, что является важным инструментом генной инженерии.

В последнее время обнаружены ферменты, расщепляющие по определенным связям РНК, наподобие рестриктаз ДНК. Эти ферменты названы рибозимами.

Чтобы представить генетические структуры клеток человека, бактерий, а также вирусов, приведем такие данные. Бактериальная хромосома представляет собой молекулу ДНК длиной 1 мм, состоящую приблизительно из 3 млн пар нуклеотидов. В клетке она компактно уложена несколько тысяч раз и занимает пространство менее 1 мкм в поперечнике. В клетках человека ДНК организована в 46 хромосом, каждая из которых содержит молекулу ДНК длиной 4 см, а полное число нуклеотидов в ней приближается к 3 млрд пар.

Сравнительно небольшие гены могут быть получены с помощью химического синтеза. Для этого вначале расшифровывают число и последовательность аминокислот в белковой молекуле вещества, а затем по этим данным узнают очередность нуклеотидов в гене, поскольку каждой аминокислоте соответствуют три нуклеотида (кодон). С помощью синтезатора создают химическим путем ген, аналогичный природному гену.

Полученный одним из способов целевой ген с помощью ферментов лигаз сшивают с другим геном, который используется в качестве вектора, для встраивания гибридного гена в клетку. Вектором могут служить плазмиды, бактериофаги, вирусы человека, животных и растений.

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

Экспрессируемый ген в виде рекомбинантной ДНК (плазида, фаг, вирусная ДНК) встраивается в бактериальную или животную клетку, которая приобретает новое свойство — продуцировать несвойственное этой клетке вещество, кодируемое экспрессируемым геном.

В качестве реципиентов экспрессируемого гена чаще всего используют *E. coli*, *B. subtilis*, псевдомонады, дрожжи, вирусы. Реципиента подбирают не только с учетом возможности встройки чужеродного гена, но и уровня выраженности (экспрессии) синтеза вещества, кодируемого геном, возможности его секреции в окружающую среду, легкости и доступности массового культивирования, экологической безопасности. Некоторые штаммы рекомбинантных бактерий способны переключать на синтез чужеродного вещества, экспрессируемого геном, до 50 % своей синтетической возможности. Такие штаммы — суперпродуценты целевых продуктов уже получены и применяются в биотехнологической промышленности. В качестве примера можно привести штаммы — суперпродуценты триптофана, интерферона и других веществ.

Некоторые штаммы микроорганизмов хорошо экспрессируют чужеродные гены, но плохо секретизируют продукт в окружающую среду. В таких случаях приходится прибегать к дезинтеграции (разрушению) клетки с целью высвобождения из нее синтезированного продукта. Иногда, несмотря на наличие экспрессии и секреции продукта клеткой, его не удается получить, вернее — собрать, из-за разрушения в процессе синтеза или после него протеазами и другими ингибиторами. В некоторых случаях с целью повышения уровня секреции целевого белка к гену целевого белка присоединяют ген-индикатор, т. е. ген, кодирующий легко узнаваемый белок, в результате этой манипуляции получают химерный белок, а из него — целевой белок. В качестве индикатора может быть, например, β -галактозидаза, можно использовать ген интерферона и т. д.

Методом генетической инженерии созданы сотни препаратов медицинского и ветеринарного назначения, получены рекомбинантные штаммы-суперпродуценты, многие из которых нашли практическое применение. Уже применяются в медицине полученные мето-

дом генетической инженерии вакцины против гепатита В, интерлейкины-1, -2, -3, -6 и другие, инсулин, гормоны роста, интерфероны α , β , γ , фактор некроза опухолей, пептиды тимуса, миелопептиды, тканевой активатор плазминогена, эритропоэтин, антигены ВИЧ, фактор свертываемости крови, моноклональные антитела и многие антигены для диагностических целей.

Разработаны или разрабатываются и в ближайшие годы будут использованы в практике генно-инженерные вакцины против гепатита С, ВИЧ-инфекции, сифилиса, клещевого энцефалита, холеры, бруцеллеза, гриппа, бешенства и других инфекций; интерлейкины-6–30, пептиды тимуса, колониестимулирующие факторы, эпидермальный фактор роста, атриальный пептид, фактор тромбоцитов, рекомбинантные антигены многих бактерий и вирусов, нейропептиды и другие поведенческие пептиды, рецепторы клеток, ферменты, метаболиты, тканевые антигены, антигены опухолей и др.

Работы по созданию рекомбинантных препаратов ведутся широким фронтом. Быстрому внедрению их в практику препятствуют следующие преодолимые обстоятельства.

Во-первых, длительное время к генно-инженерным препаратам и рекомбинантным штаммам микроорганизмов относились настороженно и даже с опаской, боясь, что может произойти неуправляемое распространение экологически опасных рекомбинантных микробов, а в препаратах может содержаться нежелательная для организма генетическая информация. Однако в настоящее время эти опасения практически сняты, так как доказана безопасность при соблюдении определенных правил и самих рекомбинантных штаммов, и препаратов, полученных на их основе.

Во-вторых, использование рекомбинантных штаммов-продуцентов предусматривает разработку сложных технологических процессов по получению и выделению целевых продуктов. На разработку технологии обычно затрачивается значительно больше средств, чем на получение штамма.

В-третьих, при получении препаратов генно-инженерным способом всегда возникает вопрос об идентичности активного начала, вырабатываемого рекомбинантным штаммом-продуцентом, природному веществу, т. е. требуется проведение исследовательских работ, направленных на доказательство их идентичности, а также иногда для решения дополнительных задач по приданию продукту природного характера.

Тем не менее генно-инженерный способ относится к числу перспективнейших при получении многих белковых биологических веществ, ценных для медицины.

Таким образом, биотехнология проникла во все сферы науки и производства, стала незаменимой в жизни людей. Мы переживаем ее бурный расцвет, каждый день приносит новые результаты. Развитие биотехнологии во всех странах порождает конкуренцию на рынках сбыта. Так, сейчас за рынки сбыта генно-инженерных продуктов (вакцина против гепатита В, интерферон, интерлейкин и др.) за рубежом конкурируют десятки и сотни фирм. Это определяет темпы развития, с одной стороны, а также служит движущей силой поиска и разработки новых продуктов для медицины, ветеринарии, промышленности — с другой. Будущее за биотехнологией, как наиболее природной и рациональной сферой в области производства многих жизненно ценных продуктов, в том числе медицинского назначения.

ГЛАВА 7. ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Сдерживание или прекращение роста микробов достигается различными методами (комплексами мер): антисептикой, стерилизацией, дезинфекцией, химиотерапией. Соответственно, химические вещества, которые применяются для осуществления этих мер, называются стерилизующими агентами, дезинфектантами, антисептиками и противомикробными химиотерапевтическими лекарственными средствами. Противомикробные химические препараты подразделяют на две группы: (1) **не обладающие избирательностью действия** — губительны в отношении большинства микробов (антисептики и дезинфектанты), но при этом токсичны для клеток макроорганизма, и (2) **обладающие избирательностью действия** (химиотерапевтические средства).

7.1. Химиотерапевтические препараты

Химиотерапевтические противомикробные лекарственные средства — это химические препараты, которые применяют при инфекционных заболеваниях для **этиотропного** лечения (т. е. направленного на микроб как на причину болезни), а также (*редко и осторожно!*) для профилактики инфекций.

Химиопрепараты вводят внутрь организма, поэтому они должны губительно действовать на возбудителей инфекций, но при этом быть нетоксичными для человека и животных, т. е. обладать **избирательностью действия**.

Избирательное действие («*селективная токсичность*») — термин, предложенный немецким иммунохимиком, лауреатом Нобелевской премии Паулем Эрлихом, и характеризующий **разную** степень токсичности химиопрепарата для паразитов и для клеток организма хозяина. Для осуществления избирательности необходимо, чтобы противо-

микробный препарат действовал на такую мишень, которая есть у микроба, но отсутствует в клетках макроорганизма. Такие мишени легче подобрать для прокариотов (бактерий), так как у них гораздо больше отличий от клеток хозяина, чем у эукариотических микробов (грибы, простейшие). Наиболее отличаются от клеток хозяина вирусы, как не имеющие клеточных структур и собственного метаболизма. Тем не менее выбрать мишени для селективного действия противовирусных препаратов оказалось чрезвычайно сложно, так как вирусы — облигатные внутриклеточные паразиты и, следовательно, противовирусные препараты должны осуществлять свое действие внутри клетки хозяина, не принося ей вреда.

В настоящее время известны тысячи химических соединений, обладающих антимикробной активностью, но лишь только несколько десятков из них применяются в качестве химиотерапевтических средств.

По тому, на какие микробы действуют химиотерапевтические препараты, определяют **спектр** их активности:

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

- **противовирусные** химиопрепараты.

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

ГЛАВА 7. Противомикробные препараты

По типу действия различают химиопрепараты:

- **«микробицидные»** (бактерицидные, фунгицидные и т. п.), т. е. губительно действующие на микробы за счет необратимых повреждений;
- **«микростатические»**, т. е. ингибирующие рост и размножение микробов.

К антимикробным химиотерапевтическим средствам относят следующие группы препаратов:

- **антибиотики** (действуют только на клеточные формы микроорганизмов; также известны противоопухолевые антибиотики).
- **синтетические химиопрепараты** разного химического строения (среди них есть препараты, которые действуют или на клеточные микроорганизмы, или на вирусы).

7.1.1. Антибиотики

Тот факт, что одни микробы могут каким-то образом задерживать рост других, был хорошо известен издавна. Еще в 1871–1872 гг. российские ученые В. А. Манассеин и А. Г. Полотебнов наблюдали эффект при лечении зараженных ран прикладыванием плесени. Наблюдения Л. Пастера (1887) подтвердили, что **антагонизм** в мире микробов — это распространенное явление, однако природа его была неясна. В 1928–1929 гг. А. Флеминг открыл штамм плесневого гриба пеницилла (*Penicillium notatum*), выделяющего химическое вещество, которое задерживает рост стафилококка. Вещество было названо «пенициллин», однако лишь в 1940 г. Х. Флори и Э. Чейн смогли получить стабильный препарат очищенного пенициллина — первый антибиотик, нашедший широкое применение в клинике. В 1945 г. А. Флеминг, Х. Флори и Э. Чейн были удостоены Нобелевской премии. В нашей стране большой вклад в учение об антибиотиках внесли З. В. Ермольева и Г. Ф. Гаузе.

Сам термин «антибиотик» (от греч. *anti*, *bios* — против жизни) был предложен С. Ваксманом в 1942 г. для обозначения природных веществ, **продуцируемых** микроорганизмами и в низких концентрациях антагонистичных к росту других бактерий.

Антибиотики — это химиотерапевтические препараты из химических соединений биологического происхождения (природные), а также их полусинтетические производные и синтетические аналоги, которые в низких концентрациях оказывают избирательное повреждающее или губительное действие на микроорганизмы и опухоли.

7.1.1.1. Источники и способы получения антибиотиков

Основными продуцентами природных антибиотиков являются микроорганизмы, которые, находясь в своей естественной среде (в основном, в почве), синтезируют антибиотики в качестве средства выживания в борьбе за существование. Животные и растительные клетки также могут вырабатывать некоторые вещества с селективным антимикробным действием (например, фитонциды), однако широкого применения в медицине в качестве продуцентов антибиотиков они не получили.

Таким образом, основными источниками получения природных и полусинтетических антибиотиков стали:

- **Актиномицеты** (особенно стрептомицеты) — ветвящиеся бактерии. Они синтезируют большинство природных антибиотиков (80 %).
- **Плесневые грибы** — синтезируют природные бета-лактамы (грибы рода *Cephalosporium* и *Penicillium*) и фузидиевую кислоту.
- **Типичные бактерии** — например, эубактерии, бациллы, псевдомонады — продуцируют бацитрацин, полимиксины и другие вещества, обладающие антибактериальным действием.

Существует три основных способа получения антибиотиков:

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

получают природный антибиотик, а затем его первоначальную молекулу видоизменяют путем химических модификаций, например присоединяют определенные радикалы, в результате чего улучшаются противомикробные и фармакологические характеристики препарата;

- **химический синтез** (так получают синтетические *аналоги* природных антибиотиков, например хлорамфеникол/левомицетин). Это вещества, которые имеют такую же структуру, как и природный антибиотик, но их молекулы синтезированы химически.

7.1.1.2. Классификация антибиотиков по химической структуре

По химической структуре антибиотики сгруппированы в семейства (классы):

- **бета-лактамы** (*пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы*)

- гликопептиды
- аминогликозиды
- тетрациклины
- макролиды (и азалиды)
- линкозамиды
- левомицетин (хлорамфеникол)
- рифамицины
- полипептиды
- полиены
- **разные антибиотики** (*фузидиевая кислота, фузафунжин и др.*)

Бета-лактамы. Основу молекулы составляет бета-лактамное кольцо, при разрушении которого препараты теряют свою активность; тип действия — бактерицидный. Антибиотики этой группы подразделяют на пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы и монобактамы.

√ **Пенициллины.** Природный препарат — *бензилпенициллин* (пенициллин G) — активен против грамположительных бактерий, однако имеет много недостатков: быстро выводится из организма, разрушается в кислой среде желудка, инактивируется пеницилиназами — бактериальными ферментами, разрушающими бета-лактамное кольцо. Полусинтетические пенициллины, полученные путем присоединения к основе природного пенициллина — 6-аминопенициллановой кислоте — различных радикалов, имеют преимущества перед природным препаратом, в том числе широкий спектр действия:

- **депо-препараты** (*бициллин*), действует около 4 недель (создает депо в мышцах), применяется для лечения сифилиса, профилактики рецидивов ревматизма;

- **кислотоустойчивые** (*феноксиметилпенициллин*), для перорального приема;

- **пенициллиназостойчивые** (*метициллин, оксациллин*), но у них довольно узкий спектр;

- **широкого спектра** (*ампициллин, амоксициллин*);

- **антисинегнойные** (*карбокспенцициллины — карбенициллин, уреидопенициллины — пиперациллин, азлоциллин*);

- **комбинированные** (амоксициллин + клавулановая кислота, ампициллин+сульбактам). В состав этих препаратов включены **ингибиторы ферментов** — **бета-лактамаз** (клавулановая кислота и др.), которые тоже содержат в своей молекуле бета-лактамное кольцо; их противомикробная активность очень низка, но они легко связываются с этими ферментами, ингибируют их и таким образом защищают молекулу антибиотика от разрушения.

√ **Цефалоспорины.** Спектр действия широкий, но более активны в отношении грамотрицательных бактерий. По последовательности внедрения различают 4 поколения (генерации) препаратов, которые отличаются по спектрам активности, устойчивости к бета-лактамазам и некоторым фармакологическим свойствам, поэтому препараты одного поколения не заменяют препараты другого поколения, а **дополняют**.

- **1-е поколение** (*цефазолин, цефалотин и др.*) — более активны в отношении грамположительных бактерий, разрушаются бета-лактамазами;

- **2-е поколение** (*цефуроксим, цефаклор и др.*) — более активны в отношении грамотрицательных бактерий, более устойчивы к бета-лактамазам;

- **3-е поколение** (*цефотаксим, цефтазидим и др.*) — более активны в отношении грамотрицательных бактерий, высоко резистентны к действию бета-лактамаз;

- **4-е поколение** (*цефепим и др.*) — действуют в основном на грамположительные, некоторые грамотрицательные бактерии и синегнойную палочку, резистентны к действию бета-лактамаз.

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

√ **Монобактамы** (*азтреонам и др.*) — резистентны к бета-лактамазам. Спектр действия узкий (очень активны против грамотрицательных бактерий, в том числе против синегнойной палочки).

ГЛАВА 7. Противомикробные препараты

ГЛИКОПЕПТИДЫ (*ванкомицин и тейкопланин*) — это крупные молекулы, которым трудно пройти через поры грамотрицательных бактерий. Вследствие этого спектр действия ограничивается грамположительными бактериями. Их используют при резистентности или аллергии к бета-лактамам, при псевдомембранозном колите, вызываемом *Clostridium difficile*.

АМИНОГЛИКОЗИДЫ — соединения, в состав молекулы которых входят аминсахара. Первый препарат — стрептомицин — был получен в 1943 г. Ваксманом как средство для лечения туберкулеза. Сейчас различают несколько поколений препаратов: (1) *стрептомицин, канамицин и др.*, (2) *гентамицин*, (3) *сизомицин, тобрамицин и др.* Препараты бактерицидны, спектр действия — широкий (особенно активны против грамотрицательных бактерий, действуют на некоторых простейших).

ТЕТРАЦИКЛИНЫ — это семейство крупномолекулярных препаратов, имеющих в своем составе четыре циклических соединения. В настоящее время, в основном, применяют полусинтетика, например *доксциклин*. Тип действия — статический. Спектр действия — широкий (особенно часто используются для лечения инфекций, вызванных внутриклеточными паразитами: риккетсиями, хламидиями, микоплазмами, бруцеллами, легионеллами).

МАКРОЛИДЫ (и азалиды) — это семейство больших макроциклических молекул. *Эритромицин* — наиболее известный и широко используемый антибиотик. Более новые препараты: *азитромицин, кларитромицин* (их можно применять всего 1–2 раза в сутки). Спектр действия — широкий, включая внутриклеточные микроорганизмы, легионеллы, гемофильную палочку. Тип действия — статический (хотя, в зависимости от вида микроба, может быть и цидным).

ЛИНКОЗАМИДЫ (*линкомицин* и его хлорированный дериват — *линдамицин*). Бактериостатики. Спектр их действия похож на макролиды, клиндамицин особенно активен против анаэробов.

ЛЕВОМИЦЕТИН (ХЛОРАМФЕНИКОЛ) имеет в составе молекулы нитробенzenовое «ядро», которое, к сожалению, делает препарат токсичным не только в отношении бактерий, но для клеток организма человека. Статический тип действия. Спектр действия — широкий, включая внутриклеточных паразитов.

РИФАМИЦИНЫ (*рифампицин*). В основе препарата — крупная молекула со сложной структурой. Тип действия — бактерицидный. Спектр действия — широкий (в том числе внутриклеточные паразиты; очень эффективны против микобактерий). Сейчас

применяют в основном только для лечения туберкулеза.

ПОЛИПЕПТИДЫ (*полимиксины*). Спектр антимикробного действия — узкий (грамотрицательные бактерии), тип действия — бактерицидный. Очень токсичны. Применение — наружное; в настоящее время не используются.

ПОЛИЕНЫ (*амфотерицин В, нистатин* и др.). Противогрибковые препараты, токсичность которых достаточно велика, поэтому применяются чаще местно (нистатин), а при системных микозах препарат выбора — амфотерицин В.

7.1.2. Синтетические противомикробные химиопрепараты

Методами химического синтеза создано много веществ, которые не встречаются в живой природе, но похожи на антибиотики по механизму, типу и спектру действия. В 1908 г. П. Эрлих на основе органических соединений мышьяка синтезировал сальварсан — препарат для лечения сифилиса. Однако дальнейшие попытки ученого создать подобные препараты — «волшебные пули» — против других бактерий были безуспешны. В 1935 г. Герхардт Домагк предложил пронтозил («красный стрептоцид») для лечения бактериальных инфекций. Действующим началом пронтозила являлся сульфаниламид, который высвобождался при разложении пронтозила в организме.

К настоящему времени создано много разновидностей антибактериальных, противогрибковых, противопротозойных синтетических химиотерапевтических лекарственных средств разного химического строения. К наиболее значимым группам относятся: сульфаниламиды, нитроимидазолы, хинолоны и фторхинолоны, имидазолы, нитрофураны и др.

Особую группу составляют противовирусные препараты (см. разд. 7.6).

СУЛЬФАНИЛАМИДЫ. Основу молекулы этих препаратов составляет парааминогруппа, поэтому они действуют как аналоги и конкурентные антагонисты парааминобензойной кислоты, которая необходима бактериям для синтеза жизненно важной фолиевой (тетрагидрофолиевой) кислоты — предшественника пуриновых и пиримидиновых оснований. Бактериостатики, спектр действия — широкий. Роль сульфаниламидов в лечении инфекций в последнее

время снизилась, так как существует много устойчивых штаммов, серьезные побочные эффекты и активность сульфаниламидов в целом ниже, чем у антибиотиков. Единственным препаратом этой группы, который продолжает достаточно широко использоваться в клинической практике, является ко-тримоксазол и его аналоги. Ко-тримоксазол (*бактрим, бисептол*) — комбинированный препарат, который состоит из сульфаметоксазола и триметоприма. Оба компонента действуют синергически, потенцируя действие друг друга. Действует бактерицидно. Триметоприм блокирует синтез фолиевой кислоты, но на уровне другого фермента. Применяют при инфекциях мочевого тракта, вызванных грамотрицательными бактериями.

ХИНОЛОНЫ. Первый препарат этого класса — налидиксовая кислота (1962). У нее ограниченный спектр действия, к ней быстро развивается резистентность, применение нашла при лечении инфекций мочевыводящих путей, вызванных грамотрицательными бактериями. Сейчас используют так называемые **фторхинолоны**, т. е. принципиально новые фторированные соединения. Преимущества фторхинолонов — разные способы введения, бактерицидное действие, хорошая переносимость, высокая активность в месте введения, хорошая проникаемость через гистогематический барьер, достаточно низкий риск развития резистентности. У **фторхинолонов** (*ципрофлоксацин, норфлоксацин* и др.) спектр — широкий, тип действия — цидный. Применяют при инфекциях, вызванных грамотрицательными бактериями (в том числе синегнойной палочкой), внутриклеточными паразитами, микобактериями.

НИТРОИМИДАЗОЛЫ (*метронидазол, трихопол*). Особенно активны против анаэробных бактерий, так как только эти микробы способны активировать мет-

ронидазол путем восстановления. Тип действия — цидный, спектр — анаэробные бактерии и простейшие (трихомонады, лямблии, дизентерийная амеба).

ИМИДАЗОЛЫ (*клотримазол* и др.). Противогрибковые препараты, действуют на уровне цитоплазматической мембраны.

НИТРОФУРАНЫ (*фуразолидон* и др.). Тип действия — цидный, спектр — широкий. Накапливаются в моче в высоких концентрациях. Применяются как уросептики для лечения инфекций мочевыводящих путей.

7.2. Механизмы действия противомикробных химиопрепаратов

Основа избирательности противомикробных химиопрепаратов состоит в том, что микробы отличаются от таковых в клетках макроорганизма. Большинство химиотерапевтических препаратов вмешиваются в метаболизм микробной клетки и обычно не повреждают готовые структуры, поэтому препараты особенно активно воздействуют на микроорганизмы в фазе их активного роста и размножения. По механизму действия противомикробных химиопрепаратов различают следующие группы: ингибиторы синтеза клеточной стенки, ингибиторы синтеза белка, нарушающие синтез функции нуклеиновых кислот, нарушающие синтез и функции ЦПМ (табл. 7.1).

Ингибиторы синтеза клеточной стенки
Антибиотики, ингибирующие синтез клеточной стенки, очень различаются по своей

Таблица 7.1. Классификация антимикробных химиопрепаратов по механизму действия

| Ингибиторы синтеза клеточной стенки | Ингибиторы синтеза белка | Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот | Ингибиторы функций клеточных мембран (ЦПМ) |
|---|---|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Бета-лактамы (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы) • Гликопептиды | <ul style="list-style-type: none"> • Аминогликозиды • Тетрациклины • Хлорамфеникол • Линкозамиды • Макролиды • Фузидиевая кислота | <ul style="list-style-type: none"> Ингибиторы синтеза предшественников нуклеиновых кислот • Сульфаниламиды • Триметоприм Ингибиторы репликации ДНК • Хинолоны • Нитроимидазолы • Нитрофураны Ингибиторы РНК-полимеразы • Рифамицины | <ul style="list-style-type: none"> • Полимиксины • Полиены • Имидазолы |

ГЛАВА 7. Противомикробные препараты

химической структуре. Наиболее важные препараты этой группы — бета-лактамы и гликопептиды (есть еще циклосерин и бацитрацин, которые очень токсичны). Пептидогликан — основа клеточной стенки бактерий — уникален и жизненно необходим для прокариотов, он есть у большинства бактерий, за исключением не имеющих клеточной стенки. Синтез предшественников пептидогликана начинается в цитоплазме. Затем они транспортируются через ЦПМ, где происходит их объединение в гликопептидные цепи (эту стадию ингибируют гликопептиды). Образование полноценного пептидогликана происходит на внешней поверхности ЦПМ. Этот этап совершается при участии белков-ферментов, которые называют пенициллинсвязывающими белками, так как именно они служат мишенью для пенициллина и других бета-лактамных антибиотиков. Ингибирование пенициллинсвязывающих белков приводит к накоплению предшественников пептидогликана в бактериальной клетке. В результате ненормально большое количество этих предшественников запускает в бактериальной клетке систему их уничтожения — аутолитические ферменты, которые в норме расщепляют пептидогликан при делении бактериальных клеток. В результате действия аутолитических ферментов и происходит лизис бактериальной клетки.

Ингибиторы синтеза белка

По ряду признаков белоксинтезирующий аппарат прокариотов отличается от рибосом эукариотических клеток, что может быть использовано для достижения селективной токсичности действующих на них препаратов. Синтез белка — многоступенчатый процесс, в котором задействовано множество ферментов и структурных субъединиц. Известно несколько точек приложения действия различных препаратов: присоединение тРНК с образованием инициального комплекса на 70S рибосоме (аминогликозиды), перемещение тРНК с акцепторного сайта на донорский сайт, присоединение нового аминокислоты к акцепторному сайту (тетрациклины), формирование пептида, катализируемого пептидил-трансферазой (хлорамфеникол, линкозамиды), транслокация пептидил тРНК

(эритромицин), удлинение пептидной цепи (фузидиевая кислота), терминация и высвобождение пептидной цепи. Таким образом, аминогликозиды и тетрациклины связываются с 30S-субъединицей, блокируя процесс еще до начала синтеза белка. Аминогликозиды необратимо ингибируют процесс присоединения транспортной РНК, а тетрациклины обратимо блокируют следующую стадию присоединения к рибосомам транспортной РНК. Макролиды, хлорамфеникол, линкозамиды соединяются с 50S-субъединицей. Это обрывает удлинение пептидных цепей. После удаления этих антибиотиков процесс возобновляется, т. е. эффект бактериостатичен.

Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот

Нарушение синтеза и функций нуклеиновых кислот достигается тремя способами: 1) ингибирование синтеза предшественников пурин-пиримидиновых оснований (сульфаниламиды, триметоприм), 2) подавление репликации и функций ДНК (хинолоны/фторхинолоны, нитроимидазолы, нитрофураны) и 3) ингибирование РНК-полимеразы (рифамицины).

В большинстве своем в эту группу входят синтетические препараты, из антибиотиков подобным механизмом действия обладают только рифамицины, которые присоединяются к РНК-полимеразе и блокируют синтез мРНК. Действие фторхинолонов связано, в основном, с инактивацией ДНК-гиразы — фермента, обеспечивающего суперспирализацию бактериальной хромосомы. Сульфаниламиды — структурные аналоги парааминобензойной кислоты — могут конкурентно связываться и ингибировать фермент, который нужен для перевода парааминобензойной кислоты в фолиевую кислоту — предшественник пуриновых и пиримидиновых оснований. Эти основания необходимы для синтеза нуклеиновых кислот.

Ингибиторы функций ЦПМ

ЦПМ есть у всех живых клеток, но у прокариотов (бактерий) и эукариотов ее структура различна. У грибов больше общего с клетками макроорганизма, хотя есть и различия. Поэтому противогрибковые препараты — антимикоти-

ки — более токсичны для организма человека, так что лишь немногие препараты из этой группы допустимо принимать внутрь. Число антибиотиков, специфически действующих на мембраны бактерий, невелико. Наиболее известны полимиксины (полипептиды), к которым чувствительны только грамотрицательные бактерии. Полипептиды лизируют клетки, повреждая фосфолипиды клеточных мембран. Из-за токсичности они применялись лишь для лечения местных процессов и не вводились парентерально. В настоящее время не используются. Противогрибковые препараты (антимикотики) повреждают эргостеролы (полиеновые антибиототики) и ингибируют один из ключевых ферментов биосинтеза эргостеролов (имидазолы).

7.3. Осложнения при антимикробной химиотерапии

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

Осложнения со стороны макроорганизма

Наиболее частыми осложнениями антимикробной химиотерапии являются:

• токсическое действие препаратов

Как правило, развитие этого осложнения зависит от свойств самого препарата, его дозы, способа введения, состояния больного и проявляется только при длительном и систематическом применении антимикробных химиотерапевтических препаратов, когда создаются условия для их накопления в организме. Особенно часто такие осложнения бывают, когда мишенью действия препарата являются процессы или структуры, близкие по составу или строению к аналогичным структурам клеток макроорганизма. Токсическому действию антимикробных препаратов особенно подвержены дети, беременные, а также пациенты с нарушением функций печени, почек.

Побочное токсическое влияние может проявляться как нейротоксическое (например, гликопептиды и аминогликозиды оказывают ототоксическое действие, вплоть до полной потери слуха за счет воздействия на слуховой нерв); нефротоксическое (полиены, полипептиды, аминогликозиды, макролиды, гликопептиды, сульфаниламиды); общетоксическое (противогрибковые препараты — полиены, имидазолы); угнетение кроветворения (тетрациклины, сульфаниламиды, левомецетин/хлорамфеникол, который содержит нитробензен — супрессор функции костного мозга); тератогенное [аминогликозиды, тетрациклины нарушают развитие костей, хрящей у плода и детей, формирование зубной эмали (коричневая окраска зубов), левомецетин/хлорамфеникол токсичен для новорожденных, у которых ферменты печени не полностью сформированы («синдром серого ребенка»¹), хинолоны — действуют на развивающуюся хрящевую и соединительную ткани].

Предупреждение осложнений состоит в отказе от противопоказанных данному пациенту препаратов, контроле за состоянием функций печени, почек и т. п.

• дисбиоз (дисбактериоз)

Антимикробные химиопрепараты, особенно широкого спектра, могут воздействовать не только на возбудителей инфекций, но и на чувствительные микроорганизмы нормальной микрофлоры. В результате формируется дисбиоз, поэтому нарушаются функции ЖКТ, возникает авитаминоз и может развиваться вторичная инфекция (в том числе эндогенная, например кандидоз, псевдомембранозный колит, вызванный *C. difficile*). Предупреждение последствий такого рода осложнений состоит в назначении, по возможности, препаратов узкого спектра действия, сочетании лечения основного заболевания с противогрибковой терапией (например, назначением нистатина), витаминотерапией, применением эубиотиков и т. п.

• отрицательное воздействие на иммунную систему. К этой группе осложнений отно-

¹ Синдром «серого ребенка» — левомецетин метаболизируется в печени, образуя глюкурониды, поэтому при врожденном дефиците фермента — глюкуронилтрансферазы может быть накопление препарата в крови в токсических концентрациях, в результате чего появляется серый цвет кожи, увеличение печени, боли в сердце, отеки, рвота, общая слабость.

сят прежде всего аллергические реакции. Причинами развития гиперчувствительности может быть сам препарат, продукты его распада, а также комплекс препарата с сывороточными белками. Возникновение такого рода осложнений зависит от свойств самого препарата, от способа и кратности его введения, индивидуальной чувствительности пациента к препарату. Аллергические реакции развиваются примерно в 10 % случаев и проявляются в виде сыпи, зуда, крапивницы, отека Квинке. Относительно редко встречается такая тяжелая форма проявления аллергии, как анафилактический шок. Такое осложнение чаще дают бета-лактамы (пенициллины), рифамицины. Сульфаниламиды могут вызвать гиперчувствительность замедленного типа. Предупреждение осложнений состоит в тщательном сборе аллергоанамнеза и назначении препаратов в соответствии с индивидуальной чувствительностью пациента. Кроме того, антибиотики обладают некоторым иммунодепрессивным действием и могут способствовать развитию вторичного иммунодефицита и ослаблению напряженности иммунитета.

• **эндотоксический шок (терапевтический)**

Это явление, которое возникает при лечении инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями. Введение антибиотиков вызывает гибель и разрушение клеток и высвобождение больших количеств эндотоксина. Это закономерное явление, которое сопровождается временным ухудшением клинического состояния больного.

• **взаимодействие с другими препаратами**

Антибиотики могут способствовать потенцированию действия или инактивации других препаратов (например, эритромицин стимулирует выработку ферментов печени, которые начинают ускоренно метаболизировать лекарственные средства разного назначения).

Побочное воздействие на микроорганизмы

Применение антимикробных химиопрепаратов оказывает на микробы не только прямое угнетающее или губительное воздействие, но также может привести к формированию атипичных форм микробов (например, к образованию L-форм бактерий или изменению других свойств микробов, что значительно

затрудняет диагностику инфекционных заболеваний) и персистирующих форм микробов. Широкое использование антимикробных лекарственных средств ведет также к формированию антибиотикозависимости (редко) и лекарственной устойчивости — антибиотикорезистентности (достаточно часто).

7.4. Лекарственная устойчивость бактерий

Антибиотикорезистентность — это устойчивость микробов к антимикробным химиопрепаратам. Бактерии следует считать резистентными, если они не обезвреживаются такими концентрациями препарата, которые реально создаются в макроорганизме. Резистентность может быть природной и приобретенной.

Природная устойчивость

Некоторые виды микробов природно устойчивы к определенным семействам антибиотиков или в результате отсутствия соответствующей мишени (например, микоплазмы не имеют клеточной стенки, поэтому не чувствительны ко всем препаратам, действующим на этом уровне), или в результате бактериальной непроницаемости для данного препарата (например, грамотрицательные микробы менее проницаемы для крупномолекулярных соединений, чем грамположительные бактерии, так как их наружная мембрана имеет «маленькие» поры).

Приобретенная устойчивость

Начиная с 1940-х годов, когда началась «эра антибиотиков», бактерии стали чрезвычайно быстро приспосабливаться, постепенно формируя устойчивость ко всем новым препаратам. Приобретение резистентности — это биологическая закономерность, связанная с адаптацией микроорганизмов к условиям внешней среды. Она, хотя и в разной степени, справедлива для всех бактерий и всех антибиотиков. К химиопрепаратам адаптируются не только бактерии, но и остальные микробы — от эукариотических форм (простейшие, грибы) до вирусов. Проблема формирования и распространения лекарственной резистентности микробов особенно значима для внут-

рибольничных инфекций, вызываемых так называемыми «госпитальными штаммами», у которых, как правило, наблюдается множественная устойчивость к антибиотикам (так называемая **полирезистентность**).

Генетические основы приобретенной резистентности

Устойчивость к антибиотикам определяется и поддерживается генами резистентности (г-генами) и условиями, способствующими их распространению в микробных популяциях. Приобретенная лекарственная устойчивость может возникать и распространяться в популяции бактерий в результате:

- **мутаций в хромосоме бактериальной клетки с последующей селекцией** (т. е. отбором) **мутантов**. Особенно легко селекция происходит в присутствии антибиотиков, так как в этих условиях мутанты получают преимущество перед остальными клетками популяции, которые чувствительны к препарату. Мутации возникают независимо от применения антибиотика, т. е. сам препарат не влияет на частоту мутаций и не является их причиной, но служит фактором отбора. Далее резистентные клетки дают потомство и могут передаваться в организм следующего хозяина (человека или животного), формируя и распространяя резистентные штаммы. Мутации могут быть: 1) единичные (если мутация произошла в одной клетке, в результате чего в ней синтезируются измененные белки) и 2) множественные (серия мутаций, в результате чего изменяется не один, а целый набор белков, например пенициллинсвязывающих белков у пенициллин-резистентного пневмококка);

- **переноса трансмиссивных плазмид резистентности (R-плазмид)**. Плазмиды резистентности (трансмиссивные) обычно кодируют перекрестную устойчивость к нескольким семействам антибиотиков. Впервые такая множественная резистентность была описана японскими исследователями в отношении кишечных бактерий. Сейчас показано, что она встречается и у других групп бактерий. Некоторые плазмиды могут передаваться между бактериями разных видов, поэтому один и тот же ген резистентности можно встретить у бактерий, таксономически далеких друг от

друга. Например, бета-лактамаза, кодируемая плазмидой TEM-1, широко распространена у грамотрицательных бактерий и встречается у кишечной палочки и других кишечных бактерий, а также у гонококка, резистентного к пенициллину, и гемофильной палочки, резистентной к ампициллину;

- **переноса транспозонов, несущих г-гены** (или мигрирующих генетических последовательностей). Транспозоны могут мигрировать с хромосомы на плазмиду и обратно, а также с плазмиды на другую плазмиду. Таким образом гены резистентности могут передаваться далее дочерним клеткам или при рекомбинации другим бактериям-реципиентам.

Реализация приобретенной устойчивости

Изменения в геноме бактерий приводят к тому, что меняются и некоторые свойства бактериальной клетки, в результате чего она становится устойчивой к антибактериальным препаратам. Обычно антимикробный эффект препарата осуществляется таким образом: агент должен связаться с бактерией и пройти сквозь ее оболочку, затем он должен быть доставлен к месту действия, после чего препарат взаимодействует с внутриклеточными мишенями. Реализация приобретенной лекарственной устойчивости возможна на каждом из следующих этапов:

- **модификация мишени**. Фермент-мишень может быть так изменен, что его функции не нарушаются, но способность связываться с химиопрепаратом (аффинность) резко снижается или может быть включен «обходной путь» метаболизма, т. е. в клетке активируется другой фермент, который не подвержен действию данного препарата.

- **«недоступность» мишени** за счет снижения **проницаемости** клеточной стенки и клеточных мембран или **«эффлюкс»-механизма**, когда клетка как бы «выталкивает» из себя антибиотик.

- **инактивация препарата бактериальными ферментами**. Некоторые бактерии способны продуцировать особые ферменты, которые делают препараты неактивными (например, бета-лактамазы, аминогликозид-модифицирующие ферменты, хлорамфениколацетилтрансфераза). Бета-лактамазы — это фермен-

ты, разрушающие бета-лактамное кольцо с образованием неактивных соединений. Гены, кодирующие эти ферменты, широко распространены среди бактерий и могут быть как в составе хромосомы, так и в составе плазмиды.

Для борьбы с инактивирующим действием бета-лактамаз используют вещества — ингибиторы (например, клавулановую кислоту, сульбактам, тазобактам). Эти вещества содержат в своем составе бета-лактамное кольцо и способны связываться с бета-лактамазами, предотвращая их разрушительное действие на бета-лактамы. При этом собственная антибактериальная активность таких ингибиторов низкая. Клавулановая кислота ингибирует большинство известных бета-лактамаз. Ее комбинируют с пенициллинами: амоксициллином, тикарциллином, пиперациллином.

Предупредить развитие антибиотикорезистентности у бактерий практически невозможно, но необходимо использовать антимикробные препараты таким образом, чтобы не способствовать развитию и распространению устойчивости (в частности, применять антибиотики строго по показаниям, избегать их использования с профилактической целью, через 10–15 дней антибиотикотерапии менять препарат, по возможности использовать препараты узкого спектра действия, ограниченно применять антибиотики в ветеринарии и не использовать их как фактор роста).

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам

Для определения чувствительности бактерий к антибиотикам (**антибиотикограммы**) обычно применяют:

- **Метод диффузии в агар.** На агаризованную питательную среду засевают исследуемый микроб, а затем вносят антибиотики. Обычно препараты вносят или в специальные лунки в агаре, или на поверхности посева раскладывают диски с антибиотиками («метод дисков»). Учет результатов проводят через сутки по наличию или отсутствию роста микробов вокруг лунок (дисков). **Метод дисков** — **качественный** и позволяет оценить, чувствителен ли устойчив микроб к препарату.

- **Методы определения** минимальных ингибирующих и бактерицидных концентраций,

т. е. минимального уровня антибиотика, который позволяет *in vitro* предотвратить видимый рост микробов в питательной среде или полностью ее стерилизует. Это **количественные** методы, которые позволяют рассчитать дозу препарата, так как концентрация антибиотика в крови должна быть значительно выше минимальной ингибирующей концентрации для возбудителя инфекции. Введение адекватных доз препарата необходимо для эффективного лечения и профилактики формирования устойчивых микробов.

Есть ускоренные способы, с применением автоматических анализаторов.

- Кроме перечисленных **фенотипических** методов разработаны **генотипические**, основанные на непосредственном обнаружении у микроба генов, кодирующих устойчивость к антимикробным препаратам (например, разработана ПЦР для выявления метициллин-резистентных стафилококков). Однако, пока применение этих методов ограничено.

7.5. Основы рациональной антибиотикотерапии

Профилактика развития осложнений состоит прежде всего в соблюдении **принципов рациональной антибиотикотерапии** (антимикробной химиотерапии):

- **Микробиологический принцип.** До назначения препарата следует установить возбудителя инфекции и определить его индивидуальную чувствительность к антимикробным химиотерапевтическим препаратам. По результатам антибиотикограммы больному назначают препарат узкого спектра действия, обладающий наиболее выраженной активностью в отношении конкретного возбудителя, в дозе, в 2–3 раза превышающей минимальную ингибирующую концентрацию. Если возбудитель пока неизвестен, то обычно назначают препараты более широкого спектра, активные в отношении всех возможных микробов, наиболее часто вызывающих данную патологию. Коррекцию лечения проводят с учетом результатов бактериологического исследования и определения индивидуальной чувствительности конкретного возбудителя (обычно

через 2–3 дня). Начинать лечение инфекции нужно как можно раньше (во-первых, в начале заболевания микробов в организме меньше, во-вторых, препараты активнее действуют на растущих и размножающихся микробов).

- **Фармакологический принцип.** Учитывают особенности препарата — его фармакокинетику и фармакодинамику, распределение в организме, кратность введения, возможность сочетания препаратов и т. п. Дозы препаратов должны быть достаточными для того, чтобы обеспечить в биологических жидкостях и тканях микростатические или микробицидные концентрации. Необходимо представлять оптимальную продолжительность лечения, так как клиническое улучшение не является основанием для отмены препарата, потому что в организме могут сохраняться возбудители и может быть рецидив болезни. Учитывают также оптимальные пути введения препарата, так как многие антибиотики плохо всасываются из ЖКТ или не проникают через гематоэнцефалический барьер.

- **Клинический принцип.** При назначении препарата учитывают, насколько безопасным он будет для данного пациента, что зависит от индивидуальных особенностей состояния больного (тяжесть инфекции, иммунный статус, пол, наличие беременности, возраст, состояние функции печени и почек, сопутствующие заболевания и т. п.) При тяжелых, угрожающих жизни инфекциях особое значение имеет своевременная антибиотикотерапия. Таким пациентам назначают комбинации из двух-трех препаратов, чтобы обеспечить максимально широкий спектр действия. При назначении комбинации из нескольких препаратов следует знать, насколько эффективным против возбудителя и безопасным для пациента будет сочетание данных препаратов, т. е. чтобы не было антагонизма лекарственных средств в отношении антибактериальной активности и не было суммирования их токсических эффектов.

- **Эпидемиологический принцип.** Выбор препарата, особенно для стационарного больного, должен учитывать состояние резистентности микробных штаммов, циркулирующих в данном отделении, стационаре и даже регионе. Следует помнить, что антибиотикоре-

зистентность может не только приобретаться, но и теряться, при этом восстанавливается природная чувствительность микроорганизма к препарату. Не изменяется только природная устойчивость.

- **Фармацевтический принцип.** Необходимо учитывать срок годности и соблюдать правила хранения препарата, так как при нарушении этих правил антибиотик может не только потерять свою активность, но и стать токсичным за счет деградации. Немаловажна также и стоимость препарата.

7.6. Противовирусные средства

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

Противовирусные химиопрепараты — это синтетические лекарственные средства, используемые, в основном, для этиотропной терапии вирусных инфекций. Механизм действия противовирусных химиопрепаратов заключается в избирательном подавлении отдельных этапов репродукции вирусов без существенного нарушения жизнедеятельности клеток макроорганизма.

Облигатный внутриклеточный паразитизм вирусов значительно осложняет задачу получения высокоэффективных противовирусных препаратов, безопасных для человека, так как лишь немногие из этапов процесса репродукции вирусов специфичны, ведь синтез вирусных геномов (транскрипция) и белков (трансляция), транспорт вирусных компонентов внутри клетки хозяина и, наконец, сборка новых вирионов осуществляются инфицированными клетками. Именно поэтому основным показателем клинической пригодности отобранных препаратов служит их химиотерапевтический индекс, т. е. отношение специфической эффективности к токсичности. Другим существенным недостатком химиопрепаратов является их участие в формировании резистентных штаммов, возникновение и распростране-

ГЛАВА 7. Противомикробные препараты

ние которых, несомненно, снижает эффективность терапии.

В качестве противовирусных химиопрепаратов в настоящее время применяют в основном аномальные нуклеозиды (аналоги нуклеозидов), производные адамантана, синтетические аминокислоты, аналоги пирофосфата и тиосемикарбозона, некоторые препараты, имеющие прямое вирулицидное действие на вирионы, находящиеся вне клеток. В настоящее время разработаны противовирусные лекарственные средства, которые угнетают следующие стадии взаимодействия вируса с клеткой: процесс депротенинизации вирусного генома (производные адамантана), синтез «ранних» вирусных белков (гуанидин), синтез нуклеиновых кислот (аналоги нуклеозидов), синтез «поздних» вирусных белков (производные пептидов), сборку вирионов (производные тиосемикарбозона) (табл. 7.2).

Сейчас существует достаточно много средств борьбы с гриппом и герпесом. При вирусных гепатитах и ВИЧ/СПИДе применяют единичные препараты. Что касается энтеровирусных инфекций, вирусных энцефалитов и других вирусных инфекций, то до сих пор практически отсутствуют химиотерапевтические средства для их эффективного этиотропного лечения.

Таким образом, антимикробные химиотерапевтические препараты являются основным средством лечения и профилактики бактериальных, вирусных инфекций и заболеваний другой микробной этиологии. Они производятся и выпускаются в огромных количествах и в нашей стране, и за рубежом. Поэтому знание основных характеристик, а также механизмов действия и принципов применения антимикробных химиопрепаратов необходимо каждому врачу и медицинскому работнику.

Таблица 7.2. Классификация противовирусных химиопрепаратов

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

7.7. Антисептические и дезинфицирующие вещества

Основой антисептики являются противомикробные вещества, называемые антисептиками, резко снижающие численность микробов в ране, на поверхности организма и т. д.

По химическому составу различают следующие антисептики:

галогены — препараты йода (спиртовой раствор йода, раствор Люголя, йодоформ, йодиол, йодопирин), хлора (хлорамины, хлориты);

перекись водорода, калия перманганат, обладающие, как и галогены, окислительными свойствами;

кислоты и их соли (борная, салициловая, тетраборат натрия), щелочи (аммиак и его соли, бура);

спирты (70°–80° этанол и др.);

альдегиды (формальдегид, гексаметилен-тетрамин, бета-пропиолактон);

детергенты (декамин, хлоргексидин, этоний, мирамистин и др.);

производные 8-оксихинолина (хинозол, интестопан, нитроксолин), 4-хинолона (оксолиновая кислота), хиноксалина (хиноксидин, диоксидин);

производные нитрофурана (фурацилин, фурагин, фуразолидон);

производные фенола (трикрезол, фенолрезорцин, фенолсалицилат), дегги (деготь березовый, ихтиол и др.);

красители (бриллиантовый зеленый, метиленовый синий, этакридина лактат);

соединения тяжелых металлов (дихлорид и оксицианид ртути, нитрат серебра, колларгол, протаргол, сульфат цинка).

Для дезинфекции, т. е. уничтожения возбудителей инфекций в окружающей среде, применяют разнообразные химические вещества. К наиболее распространенным дезинфици-

рующим средствам относят хлорсодержащие, фенольные, четвертичные аммониевые и перекисные соединения. К неорганическим хлорсодержащим соединениям относят хлорную известь, белильную известь, гипохлорид кальция, гипохлорит натрия. К органическим хлорсодержащим соединениям относят хлорамин Б, дезам, дихлор-1, сульфохлорантин, хлорцин, хлордезин. Фенольными соединениями являются лизол и хлор-бета-нафтол, гексахлорофен и др. Перспективной группой дезинфицирующих соединений являются поверхностно-активные вещества, относящиеся к четвертичным аммониевым соединениям и амфолитам, обладающие бактерицидными, моющими свойствами и низкой токсичностью (ниртан, амфолан и др.). К перекисным соединениям относят пергидроль (30% водный раствор перекиси водорода) и дезоксон-1. Для дезинфекции применяются также детергенты (хлоргексидин и др.), кислоты (например, 40% раствор уксусной кислоты для противогрибкового обеззараживания обуви), альдегиды (формальдегид, глютаральдегид и др.).

Для дезинфекции помещений, а также оборудования и аппаратуры используют газовую смесь из оксида этилена с метилбромидом. Дезинфекцию проводят в герметичных условиях.

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

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

ГЛАВА 8. УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ

Учение об инфекции — это учение о свойствах микробов, позволяющих им существовать в макроорганизме и оказывать на него патогенное воздействие, а также учение о защитно-приспособительных реакциях макроорганизма, препятствующих болезнетворному воздействию микробов на него. Учение об инфекции играет важную роль, так как позволяет понять, чем микробы, вызывающие инфекционный процесс, отличаются от непатогенных микробов и в чём разница между восприимчивым и невосприимчивым к микробам макроорганизмом. Это играет решающую роль в разработке препаратов для лечения и профилактики инфекционных болезней, а также в совершенствовании диагностических методов исследования. Знание особенностей развития и течения инфекционного процесса позволяет грамотно управлять им не только на молекулярном, но и на более высоких уровнях.

Термин «**инфекция**» (позднелат. *infectio* — заражение, от лат. *inficere* — вношу что-либо вредное, заражаю) или синоним **инфекционный процесс** обозначает совокупность физиологических и патологических восстановительно-приспособительных реакций, возникающих в восприимчивом макроорганизме при определенных условиях окружающей внешней среды в результате его взаимодействия с проникшими и размножающимися в нём патогенными или условно-патогенными бактериями, грибами и вирусами и направленных на поддержание постоянства внутренней среды макроорганизма (гомеостаза). Сходный процесс, но вызванный простейшими, гельминтами и насекомыми — представителями царства *Animalia*, носит название **инвазия** (от лат. *invazio* — нападение, вторжение).

В основе инфекционного процесса лежит феномен **паразитизма**, т. е. такой формы взаимоотношений между двумя организмами разных видов, при которой один из них, называемый *паразитом*, использует другого, называемого *хозяином*, в качестве источника питания и как место постоянного или временного обитания, причем оба организма находятся между собой *в антагонистических отношениях*. В отличие от сапрофитического образа существования паразитизм — это жизнь в живой среде. Неотъемлемым критерием паразитизма является патогенное воздействие паразита на организм хозяина и ответная, защитная реакция со стороны организма хозяина. Паразитизм — свойство, закрепленное за видом и передающееся по наследству. Все возбудители инфекционных и инвазионных болезней человека, животных и растений относятся к паразитам, т. е. способны к паразитической форме существования в живой системе. Так как жизнь организма хозяина всегда ограничена во времени, у паразитов является обязательной смена среды обитания и характерно наличие двух фаз жизненного цикла: паразитической фазы жизнедеятельности в живом организме и непаразитической фазы существования. При этом под непаразитической формой существования следует понимать в широком смысле этого слова сапрофитический образ жизни, а также отличные от паразитизма формы симбиоза: мутуализм, метабиоз, комменсализм и т. д., характерные для условно-патогенных бактерий. Наибольшее значение имеет та среда обитания, без которой микроб не может существовать как биологический вид. Ее называют *главной, специфической средой обитания*. Так как термин «паразитизм» это сборное понятие и популяция паразита гетерогенна, то степень выраженности паразитизма микробной популяции определяет, прежде всего, среда обитания, поэтому с популяционно-экологических

позиций выделяют **три категории паразитов**: облигатные, факультативные и случайные.

Облигатные паразиты во всех стадиях популяционного цикла тесно связаны с организмом хозяина. У них есть лишь паразитическая фаза существования, они никогда не попадают в окружающую среду, поскольку существование во внешней среде для них в принципе не возможно. Они передаются трансмиссивно, трансплацентарно или контактно-половым путем. Если паразит имеет двух хозяев — теплокровного носителя и членистоногого переносчика, то его популяция в любое время представлена двумя частями: гостальной (организменной) и векторной (в переносчике). В других случаях популяция представлена лишь гостальной частью. Они образуют замкнутую паразитарную систему.

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

К случайным паразитам относятся такие паразиты, для которых внешняя среда (вода, почва, растения, а также другие органические субстраты) является нормальной средой их автономного обитания. Они сохранили способность к сапрофитическому типу питания. Сапрофитическая фаза существования для них — основная и обязательная, а паразитическая — лишь эпизодическая. Соответственно двум средам обитания популяция паразитов состоит из двух частей: внеорганизменной (сапрофитической), которая является основной, и организменной (гостальной), которая является случайной. Трансмиссивный путь передачи у них отсутствует. Они образуют открытую паразитарную систему. К ним относятся возбудители типичных сапронозов. Случайные и факультативные паразиты яв-

ляются переходными формами от сапрофитов к облигатным паразитам. Таким образом, теснота связи с организмом уменьшается от облигатных паразитов к случайным, у которых роль внешней среды обитания возрастает. При этом, чем выше зависимость пищевых потребностей микробов от клетки хозяина, тем выше его паразитические свойства. В основе этого лежит селекция мутантов, произошедших из сапрофитов и утративших в ходе эволюции не нужные им ферменты и другие биологические системы, так как они получают все необходимые им вещества от клетки хозяина в готовом виде. Например, у хламидий не происходит синтеза АТФ, а вирусы не имеют собственных белоксинтезирующих систем.

8.1. Инфекционный процесс и инфекционная болезнь

Возникновение, течение и исход инфекционного процесса определяются тремя группами факторов: 1) количественные и качественные характеристики микроба — возбудителя инфекционного процесса; 2) состояние макроорганизма, степень его восприимчивости к микробу; 3) действие физических, химических и биологических факторов окружающей микроб и макроорганизм внешней среды, которая и обуславливает возможность установления контактов между представителями разных видов, общность территории обитания разных видов, пищевые связи, плотность и численность популяций, особенности передачи генетической информации, особенности миграции и т. д. При этом по отношению к человеку под условиями внешней среды прежде всего следует понимать *социальные условия* его жизнедеятельности. Первые два биологических фактора являются непосредственными участниками инфекционного процесса, развивающегося в макроорганизме под действием микроба. При этом микроб определяет специфичность инфекционного процесса, а **решающий интегральный вклад в форму проявления инфекционного процесса, его длительность, степень тяжести проявлений и исход вносит состояние макроорганизма**, прежде всего факторы его неспецифической резистентности, на помощь которым приходят

факторы специфического приобретенного иммунитета. Третий, экологический, фактор оказывает на инфекционный процесс опосредованное воздействие, снижая или повышая восприимчивость макроорганизма, либо снижая и повышая инфицирующую дозу и вирулентность возбудителя, активируя механизмы заражения и соответствующие им пути передачи инфекции, и т. д.

Микробы, вызывающие инфекционные болезни, общепринято называть *возбудителями* инфекционных болезней. Организм человека или животного, находящийся в состоянии инфекции, т. е. паразитирования в нем возбудителя, называют *инфицированным*, в то время как предметы внешней среды, на которые попали возбудители, целесообразно обозначать как *загрязненные* тем или иным возбудителем. Под восприимчивостью макроорганизма следует понимать способность макроорганизма реагировать на внедрение микробов развитием инфекционного процесса в его многообразных проявлениях — от носительства до инфекционной болезни.

8.1.1. Стадии и уровни инфекционного процесса

Инфекционный процесс — это одна из наиболее динамичных форм взаимодействия между микробами и макроорганизмом, сложившаяся в ходе эволюции. Процесс протекает с постоянной сменой причинно-следственных взаимоотношений. Условно его можно разделить на несколько стадий. **Первая стадия** — *проникновение микробов в макроорганизм*. Пусковым моментом инфекционного процесса является *внедрение и адаптация микробов* (от позднелат. *adaptatio* — приспособление) в месте входных ворот инфекции — *заражение (инфицирование)*, а также *адгезия (прилипание)* микробов к клеткам макроорганизма. *Входные ворота* — это ткани и органы, через которые микробы попадают в организм. В большинстве случаев микробы проникают в макроорганизм через поврежденные кожные покровы и проницаемые для микробов неповрежденные слизистые оболочки. **Второй стадией** является *колонизация* (от лат. *colonia* — поселение) — *горизонтальное засе-*

ление кожных покровов и слизистых оболочек в месте входных ворот инфекции. При инфекционном процессе распространение микробов происходит не только горизонтально, по поверхности клеток, но и в глубину клеток и тканей макроорганизма. *Способность микробов проникать внутрь клеток макроорганизма называется пенетрацией*. При этом происходит размножение микробов и образование новых поколений возбудителя при наличии благоприятных условий, а также высвобождение продуктов метаболизма микробов, их ферментов и токсинов и, кроме того, образование токсических продуктов распада клеток макроорганизма, которые оказывают местное или отдаленное повреждающее воздействие на ткани и органы. **Третья стадия** — *диссеминация* (от лат. *disseminare* — рассеивать, распространять), т. е. распространение микробов за пределы первичного очага внедрения и колонизации микробов лимфогематогенным путем, бронхогенно или периневрально, по ходу нервных стволов, что ведет к *генерализации инфекционного процесса* (генерализация — это переход от общего к частному, распространение по всему макроорганизму). **Четвертая стадия** — *мобилизация защитных факторов макроорганизма*. В ответ на проникновение микробов и их болезнетворное воздействие макроорганизм мобилизует все присущие ему первоначально неспецифические, а затем специфические факторы защиты, действие которых направлено на нейтрализацию как самих микробов, так и их токсинов и на восстановление нарушенного гомеостаза в макроорганизме. **Пятая стадия** — *окончание и исходы инфекционного процесса*. В большинстве случаев наступает *санация* макроорганизма (от англ. *sanative* — целебный, оздоравливающий), т. е. полное освобождение макроорганизма от микроба и приобретение им нового качества — *формирование иммунитета*. В ряде случаев инфекционный процесс заканчивается *летальным исходом*. В тех случаях, когда между микробом и макроорганизмом устанавливается равновесие, происходит *формирование микробоносительства*.

Инфекционный процесс в результате действия многих факторов не всегда проходит все

присущие ему стадии и может закончиться уже на ранних этапах, например, протекая в виде abortивной формы инфекционной болезни у привитых или у лиц, ранее перенесших данное заболевание. Другим примером может служить поражение слизистых оболочек уrogenитального тракта при гонорее без последующей генерализации инфекции либо микроколониализация слизистых оболочек при кишечных заболеваниях без последующей генерализации инфекции. При дифтерии инфекционный процесс также ограничивается адгезией, колонизацией и продукцией экзотоксина (гистотоксина). Проникновения бактерий в кровь не происходит. Если для внеклеточных паразитов процесс ограничивается адгезией и колонизацией, то для облигатных и факультативных внутриклеточных паразитов важным условием является проникновение их в клетку и последующее внутриклеточное размножение.

Инфекционный процесс может проявляться на всех уровнях организации биологической системы макроорганизма. При этом каждый вышестоящий уровень включает в себя нижестоящие уровни. Прежде всего, многоуровневая система инфекционного процесса включает в себя *организменный уровень* или собственно инфекционный процесс, так как инфекция — это система реакций, которые возникают в восприимчивом макроорганизме. Нижестоящими уровнями являются *тканево-органный, клеточный (взаимодействие клетки микроба и клетки организма хозяина) и субклеточный или молекулярный уровень, в основе которого лежит конкурентное взаимодействие биологических молекул микроба и макроорганизма.*

В результате взаимодействия микроба с макроорганизмом прежде всего страдает клетка, в которой микроб пробивает брешь, через которую он в последующем проникает в макроорганизм. Сам процесс взаимодействия происходит на уровне комплементарных структур макромолекул микроба и эукариотической клетки макроорганизма. Процессы, протекающие на молекулярном и клеточном уровнях, а именно взаимодействие факторов патогенности микробов с клеточными и гуморальными факторами защиты макроорганизма, отражаются на тканево-органном уровне. Тканевая дифференциация клеток хозяина обуславливает специфич-

ность инфекционного процесса и выполняет защитную роль, ограничивая зоны размножения микробов. Поэтому основные черты патогенеза инфекционного процесса формируются на тканево-органном уровне, отражаясь в последующем на организменном уровне, определяя манифестность проявлений инфекционного процесса. Особенности же патогенеза и клиники инфекционного процесса на организменном уровне отражаются на течении эпидемического процесса на экосистемном уровне, определяя характер и интенсивность реализации того или иного механизма передачи возбудителя. Таким образом, инфекционный процесс характеризуется многообразием сложных взаимодействий как на каждом уровне системы, так и между этими уровнями.

8.1.2. Понятие об инфекционной болезни

Термины «инфекция» и «инфекционная болезнь» не равнозначны. Инфекционный процесс составляет основу инфекционной болезни. В отличие от инфекционного процесса, *под инфекционной болезнью следует понимать индивидуальный случай определяемого клинически и/или лабораторно инфекционного состояния данного макроорганизма, обусловленного действием микробов и их токсинов, и сопровождающегося различными степенями нарушения гомеостаза.* Это частный случай проявления инфекционного процесса у данного конкретного индивидуума. Об инфекционной болезни говорят тогда, когда происходит нарушение функции макроорганизма, сопровождающееся формированием патологического морфологического субстрата болезни.

Возможно наличие широкого спектра отклонений от типичного течения инфекционных болезней, обусловленных как свойствами микроба, так и индивидуальными особенностями макроорганизма. В тех случаях, когда она протекает клинически выражено, можно говорить о крайней степени проявления инфекционного процесса. Инфекционный процесс не всегда заканчивается развитием болезни. У лиц с остаточным иммунитетом или врожденной естественной невосприимчивостью встреча с микробом заканчивается формированием здо-

рового микробоносительства, не сопровождающегося формированием патологического морфологического субстрата и изменениями функций макроорганизма. Другим примером может быть формирование бессимптомной вакцинной инфекции при применении живых вакцин из аттенуированных штаммов.

Как нозологическая единица (абстрактное название болезни) инфекционная болезнь вызывается отдельным, самостоятельным в видовом, а иногда и типовом отношении возбудителем. Число инфекционных (инвазионных) болезней соответствует известному науке числу возбудителей, способных заразить макроорганизм.

8.2. Свойства микробов—возбудителей инфекционного процесса

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

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

Патогенные (от греч. *pathos* — страдание и *genos* — рождение) — это возбудители инфекционных болезней человека, животных и растений. Адаптация патогенных микробов в ходе эволюции зашла так далеко, что *существование их в макроорганизме является необходимым условием сохранения микроба как биологического вида*, несмотря на то, что они могут определенное время находиться вне макроорганизма. Следовательно, болезнь для них — это результат сформировавшихся симбионтных отношений с макроорганизмом в ходе эволюции.

Сапрофиты (от греч. *sapros* — гнилой и *phyton* — растение), или непатогенные — это микробы, питающиеся мертвыми тканями растений и животных или продуктами их жизнедеятельности. Степень требовательности их к питательному субстрату различна у разных видов. Они не зависят от макроорганизма, им нужны лишь готовые органические вещества.

Некоторые микробы, например возбудитель сибирской язвы и столбняка, находясь в почве, проявляют себя как сапрофиты.

Патогенность их проявляется после случайного проникновения в макроорганизм, используемый ими в качестве источника метаболитов и среды обитания.

Условно-патогенные (син. *потенциально-патогенные* или *возбудители оппортунистических инфекций*) — это микробы, оказывающие болезнетворное воздействие на макроорганизм при определенных условиях, т. е. когда они попадают (пассивно проникают) во внутреннюю среду макроорганизма в больших количествах на фоне резкого снижения резистентности макроорганизма. Они занимают промежуточное положение между патогенными микробами и сапрофитами. К условно-патогенным микробам относятся представители нормальной микрофлоры человека или свободноживущие микробы, способные вызывать инфекционные болезни, так как эволюционно они сохранили способность как к сапрофитному, так и к паразитическому образу жизни. *В отличие от патогенных микробов, болезнь макроорганизма для них не является необходимым условием существования как биологического вида, а представляет лишь результат нарушения симбионтных отношений*. В этом состоит коренное отличие между патогенными и условно-патогенными микробами.

В настоящее время общепризнана относительность деления на патогенные и условно-патогенные микробы.

8.3. Свойства патогенных микробов

Патогенные микробы — это паразиты, которые произошли в ходе длительной сопряженной эволюции от сапрофитов. При этом они утратили ряд ферментативных систем, так как макроорганизм поставляет им многие вещества в готовом виде. Они приспособились к гетеротрофному паразитическому типу питания в различных органах, тканях и клетках. Данные микробы по способности к внутриклеточному паразитированию можно разделить на три группы: облигатные внутриклеточные паразиты, факультативные внутриклеточные паразиты и облигатные внеклеточные паразиты.

Облигатные внутриклеточные паразиты удовлетворяют свои пищевые потребности только в условиях внутриклеточного существования.

При этом следует отметить, что внутриклеточная среда отличается от внеклеточной по многим физико-химическим свойствам, она богата органическими веществами, богата АТФ, которая совсем отсутствует вне клеток. В такой среде много готовых жизненно необходимых веществ, есть белоксинтезирующие системы. Помимо обеспечения метаболических, энергетических, генетических и белоксинтезирующих потребностей микробов, клетка защищает их от действия антител, фагоцитоза, бактериофагов и антибиотиков, которые не проникают через клеточную мембрану. Внутриклеточные паразиты в целом хорошо адаптированы к переживанию и размножению в клетках. Во многих случаях развития внутриклеточной инфекции клетками-мишенями служат макрофаги, хотя эту роль могут выполнять и другие клетки. Это обусловлено тем, что макрофаги способны активно поглощать микробы, а те, в свою очередь, выработали механизмы, защищающие их от завершеного фагоцитоза. К облигатным внутриклеточным паразитам относятся вирусы, риккетсии и хламидии, возбудители лепры, малярии, токсоплазмоза. Размножение данных микробов в клетке может происходить как в цитоплазме, так и в ядре. На искусственных питательных средах они не культивируются.

Факультативные внутриклеточные паразиты способны существовать как внутри, так и вне клетки. При этом в организме хозяина преобладает внутриклеточное размножение, хотя они могут размножаться и внеклеточно, так как внутриклеточная среда в условиях организма является основным местом развития инфекционного процесса. Такая способность к внутриклеточному паразитированию может иметь значение в хронизации инфекционного процесса, так как облегчает выживание микробов и их сохранение в макроорганизме. Данные микробы культивируются на искусственных питательных средах. К ним относятся возбудители туберкулеза, бруцеллеза, туляремии, менингококковой инфекции, гонореи, шигеллы, сальмонеллы и другие микробы.

Облигатные внеклеточные паразиты — это микробы, которые не проникают внутрь клетки, а прикрепляются к ее поверхности и распространяются по межклеточным пространствам. Примером таких микробов являются

возбудители холеры, лептоспиры и другие микробы. Для внеклеточных паразитов характерна продукция экзоферментов, способствующих их агрессии и инвазии — нейраминидазы, гиалуронидазы и т. д.

Это приспособление микробов к внутриклеточному паразитированию в ходе сопряженной эволюции отразилось на дивергентном формировании и работе иммунной системы макроорганизма, которая состоит из Т-системы, защищающей макроорганизм в первую очередь от внутриклеточных паразитов, и В-системы, ответственной за продукцию антител, нейтрализующих внеклеточные расположенные микробы и их токсины.

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

Патогенность (син. болезнетворность) — это потенциальная способность микроба вызывать инфекционный процесс, т. е. проникать в макроорганизм определенного вида хозяина при естественных для данного микроба условиях заражения, размножаться в нем, вызывать различные нарушения гомеостаза и развитие ответных реакций со стороны макроорганизма.

Предложено рассматривать патогенность как функцию адаптации микроба к макроорганизму хозяина, в основе которой лежит перестройка метаболизма микроба, адекватная новым условиям его существования. В экспериментальных условиях при использовании в определенных дозах высоковирулентных микробов любой микроб при любом способе заражения может вызывать инфекционный процесс, т. е. быть патогенным, поэтому определение патогенности должно включать вид хозяина и условия заражения. Это видовой, генетически детерминированный признак, передающийся по наследству. Он характеризует лишь потенциальную способность микроба вызывать инфекционный процесс. Фенотипическая же реализация генотипа происходит лишь в определенных условиях. Для одних микробов этих условий может быть больше, а для других — меньше. В невосприимчивом макроорганизме патогенность микробов остается нереализо-

ванной, так как для этого нет условий, адгезии и колонизации не происходит, микробы утрачивают свою жизнеспособность и погибают. В восприимчивом организме происходит их активное размножение.

В качестве примера можно привести *T. pallidum* или *S. Typhi*, которые в естественных условиях вызывают заболевание только у человека. При этом, чем выше пищевая зависимость микроба от клетки хозяина, тем выше его паразитические свойства, тем выше патогенность. Патогенность микробов отличается от патогенности факторов любой другой природы своей биологической сущностью.

Для патогенных микробов характерны *нозологическая специфичность* (от греч. *nosos* — болезнь и *logos* — учение) и *органотропность*. *Нозологическая специфичность* заключается в том, что каждый вид патогенных микробов способен вызывать только для него характерный инфекционный процесс, а также симптомокомплекс патологических реакций, в какой бы восприимчивый макроорганизм они ни попали. Таким образом, *S. Typhi* вызывает только брюшной тиф, а *N. meningitidis* — менингококковую инфекцию. Такая специфичность возбудителей позволяет проводить клиническую диагностику отдельных инфекционных заболеваний, как самостоятельных нозологических форм. Такой нозологической специфичности нет у условно-патогенных бактерий. *Органотропность* — это поражение клеток, тканей и органов, наиболее подходящих по своим биохимическим свойствам для жизнедеятельности данных микробов. Например, возбудители воздушно-капельных инфекций поражают дыхательные пути, а возбудители кишечных инфекций — ЖКТ.

В основе специфичности и органотропности лежит лиганд — рецепторное взаимодействие микробов с эукариотическими клетками макроорганизма. Специфичность и органотропность объясняют хозяин-адаптированность многих микробов. Из этого правила есть исключения, например возбудители зоонозных инфекций (бруцеллеза, чумы, туляремии, сибирской язвы и т. д.), для которых характерны **полигостальность** — много хозяев, и **пантропизм**, в основе которого лежит способность к внутриклеточному паразитизму в макрофагах, расположенных

во многих тканях и органах. Для этих микробов инфекционный процесс в макроорганизме человека, являющегося их неспецифическим хозяином, не играет жизненно важного адаптивного значения. Если микробы попадают не в ту среду, к которой они адаптированы, то инфекционный процесс либо не разовьется, либо разовьется, но будет протекать атипично.

Чем меньше выражены паразитические свойства микробов, тем меньше выражена специфичность и органотропность, что характерно для условно-патогенных микробов. Чем сильнее органоспецифическая адаптация микроба и более выражены его метаболические особенности, тем патогенней микроб и уже диапазон его возможных биологических хозяев, без которых он не может существовать. Примером такого микроба со сложными метаболическими потребностями является возбудитель сифилиса.

Патогенные микробы должны проникать в макроорганизм в определенной *критической, или инфицирующей дозе* (син. *патогенной дозе*). При попадании микробов в макроорганизм в количестве ниже определенной критической дозы инфекционный процесс не разовьется. Критическая инфицирующая доза необходима для возникновения стойкой адгезии, колонизации и инвазии микробов в ткани. Если инфицирующая доза мала, то микроб погибает под действием неспецифических защитных факторов макроорганизма (кислотности желудка, ферментов и т. д.) в момент его попадания в макроорганизм, что препятствует адгезии и колонизации. Инфицирующая доза является величиной условной. Для каждого вида микробов характерна своя инфицирующая доза. Она определяет не только клинические особенности течения и проявления инфекционных болезней (продолжительность инкубационного периода, степень тяжести и т. д.), но и наиболее эффективные и вероятные факторы передачи возбудителей инфекций. Для проявления инфицирующей дозы важное значение имеет не столько абсолютное число микробов, попавших в макроорганизм, сколько *их плотность на единицу поверхности и наличие рецепторов у эукариотических клеток*. Это объясняет наличие низких заражающих доз возбудителей в целом ряде случаев возник-

новения инфекционных болезней. Помимо критической инфицирующей дозы, важную роль в развитии и проявлениях инфекционного процесса играет *скорость репродукции микробов*, определяющая возможность увеличения численности их популяции в макроорганизме.

Например, для возбудителя чумы *Y. pestis*, которая является самой патогенной из всех бактерий, характерна высокая скорость роста и размножения. Для заболевания характерен короткий инкубационный период (от нескольких часов до 9 дней) и последующее острое, тяжелое течение с высокой летальностью. В то же время для возбудителей туберкулеза и лепры характерны медленный рост и размножение, а для заболеваний, которые они вызывают, соответственно характерны длительный инкубационный период и длительное первично-хроническое течение. L-формы бактерий обладают низкой метаболической активностью и скоростью размножения. Они не накапливаются в количествах, способных вызвать типичное течение инфекционной болезни. Высокая скорость размножения и плотность популяции способствуют накоплению мутаций и отбору более адаптированных к макроорганизму мутантов.

В естественных условиях патогенные микробы должны проникать через определенные *входные ворота инфекции* — *ткани и органы, через которые микробы попадают в макроорганизм*. Например, *N. gonorrhoeae* проникает в макроорганизм через однослойный цилиндрический эпителий, расположенный в слизистой оболочке уретры, канале шейки матки, дистальных отделах прямой кишки и конъюнктиве глаза. Возбудители кишечных инфекций проникают в макроорганизм через слизистую оболочку кишечника, а возбудители воздушно-капельных инфекций — через слизистые оболочки дыхательных путей. С другой стороны, есть патогенные микробы, проникающие в макроорганизм через разные входные ворота, например возбудители зоонозов, обладающие пантропизмом. *Установлена связь между дозой микробов, путем их передачи, входными воротами инфекции и многообразием клинических проявлений инфекционных заболеваний*, что затрудняет их своевременную диагностику. Механизм заражения и характерные для него пути передачи определяют локализацию микробов в макроорганизме.

Пути и способы выделения микробов из организма, определяющие механизм передачи и распространения инфекции, также как и пути проникновения микробов в макроорганизм, специфичны, например с выдыхаемым воздухом при воздушно-капельных инфекциях, с экскрементами при кишечных инфекциях. Этой закономерности нет при генерализованных инфекциях, так как возбудитель с током крови попадает в различные ткани и органы и поэтому может выделяться всеми вероятными путями, например с мочой, калом, желчью и т. д., а также передаваться с помощью кровососущих членистоногих насекомых. При этом, как было отмечено ранее, большое значение для передачи микроба из одного восприимчивого макроорганизма в другой имеет количественное содержание микробов в экскретах.

Популяция паразитов гетерогенна. Микробы, относящиеся к одному и тому же виду, обладают генотипической и фенотипической гетерогенностью. Гетерогенность — универсальное свойство всего живого.

В связи с тем, что патогенность, являясь полифакториальным генотипическим видовым признаком, подвержена фенотипическим изменениям, для обозначения степени патогенности введено понятие «вирулентности» (от лат. *virulentus* — ядовитый). В отличие от патогенности, характеризующейся лишь *потенциальной способностью данного вида вызывать инфекционный процесс, вирулентность* — это динамичное индивидуальное свойство *данного штамма* микроба вызывать развитие инфекционного процесса. Это мера патогенности, ее качественная характеристика или фенотипическое проявление генотипа.

По этому признаку все штаммы данного вида микроба могут быть подразделены на высоко-, умеренно-, слабо- и авирулентные. Высоковирулентные штаммы, как правило, вызывают более тяжело протекающие заболевания, чем умеренно- или слабовирулентные штаммы. Тем не менее авирулентные штаммы есть даже среди возбудителей конвенционных и особо опасных инфекций.

В вирусологии вместо термина «вирулентность» применяют термин «инфекционность»

или «инфекциозность». В лабораторных условиях вирулентности микробов и силе действия их токсинов судят по величине летальной (LD) и инфицирующей (ID) доз, которые выражают в условно принятых единицах. *Летальная доза* — это наименьшее количество живого возбудителя или токсина, вызывающее в определенный срок гибель конкретного количества (%) животных, взятых в опыт. *Инфицирующая доза* — это минимальное количество живых микробов, способное вызвать инфекционное заболевание у определенного количества (%) животных, взятых в опыт. Различают:

Dcl (dosis certa letalis) — наименьшее количество живого микроба или его токсина, вызывающее в течение определенного времени гибель 100 % экспериментальных животных, взятых в опыт. *Это безусловно смертельная доза.*

Dlm (dosis letalis minima) — наименьшее количество живого микроба или его токсина, вызывающее в течение определенного времени гибель 95 % экспериментальных животных, взятых в опыт.

ID₁₀₀ — это минимальное количество живых микробов, вызывающее развитие инфекционного заболевания у 100 % зараженных экспериментальных животных, взятых в опыт.

Чаще всего используют LD₅₀ — дозу живого микроба или его токсина, вызывающую в течение определенного времени гибель 50 % экспериментальных животных, взятых в опыт, и ID₅₀ — минимальное количество живых микробов, способное вызвать развитие инфекционного заболевания у 50 % зараженных экспериментальных животных, взятых в опыт.

При постановке опыта необходимо учитывать вид, пол, возраст, вес, условия содержания и полноценность питания экспериментальных животных, что тесным образом связано с формированием и активностью работы иммунной системы у них, а также способ заражения (пероральный, интраназальный, внутривенный, внутримышечный, внутрибрюшинный, интрацеребральный и т. д.). Например, у морских свинок, которые наиболее чувствительны к *M. tuberculosis*, чем другие лабораторные животные, заболевание с летальным исходом возникает при введении через дыхательные пути 1–2 клеток микроба, тогда как при пероральном заражении летальная доза увеличивается

до нескольких тысяч клеток. Даже внутри одного и того же вида существуют внутривидовые генетические отличия. Для снижения степени влияния индивидуальных колебаний резистентности макроорганизма на результаты исследований определение вирулентности проводят на значимом количестве животных. Более однородные результаты получают при использовании генетически управляемых линий животных, например инбредных (от англ. *in* — в, внутри и *breeding* — разведение). *Инбредные животные* — это линейные, гомозиготные животные, которые получены в результате скрещивания близко родственных особей на протяжении 20 и более поколений. Такие животные генетически однородны, так как достигают 100%-й гомозиготности.

Как фенотипическое проявление генотипа, вирулентность подвержена изменениям как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения под действием физических, химических и биологических факторов. Снижение вирулентности (аттенуация) может происходить при длительном культивировании бактерий на искусственной питательной среде или в результате длительного пассирования микробов через организм маловосприимчивых животных. Полная утрата вирулентности связана с изменением генотипа. Повышение вирулентности отмечается, наоборот, при пассировании микробов через организм высоковосприимчивых животных, при лизогении, а также вследствие мутаций и рекомбинаций. Эти особенности изменения вирулентности учитываются при получении вакцинных штаммов микробов.

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

8.3.1. Факторы патогенности микробов

Факторы патогенности — это материальные носители, обуславливающие способность микробов вызывать инфекционный процесс. Изучение факторов патогенности позволяет понять, чем патогенный микроб отличается от

непатогенного и чем восприимчивый макроорганизм отличается от невосприимчивого. В отличие от сапрофитов, патогенные микробы для того, чтобы преодолеть естественные барьеры макроорганизма и существовать в нем, должны обладать способностью к *адгезии* и *колонизации*, *инвазивностью*, т. е. способностью к преодолению защитных барьеров макроорганизма, проникновению во внутреннюю среду макроорганизма за пределы входных ворот инфекции и распространению в его тканях, проникновению в клетки макроорганизма (*пенетрация*), а также обладать *агрессивностью*, т. е. способностью подавлять неспецифическую и специфическую реактивность организма за счет агрессивных, интерферирующих с защитными факторами макроорганизма, в том числе *противостоять фагоцитозу*.

В настоящее время термин «инвазивность», подразумевающий способность сохраняться в макроорганизме и размножаться в нем, применяют и в отношении внеклеточных паразитов, таких как стафилококки, стрептококки, псевдомонады и т. д. Кроме того, патогенные микробы должны оказывать *токсическое воздействие на макроорганизм*. Каждую из этих функций патогенные микробы реализуют с помощью специализированных структур, состоящих из макромолекул, которые являются материальными носителями патогенности, обуславливающими специфичность инфекционного процесса. В основе специфичности лежит механизм биологического распознавания по принципу комплементарности взаимодействующих структур. Адгезию, колонизацию и защиту от фагоцитоза осуществляют макромолекулы, входящие преимущественно в состав поверхностных морфологических структур микробов. Инвазивность и агрессивность обусловлены, в основном, действием экзоферментов, в то время как токсическое воздействие — действием токсинов, играющих ведущую роль в развитии специфических симптомов при инфекционных заболеваниях. В развитии определенных стадий инфекционного процесса принимают участие сразу несколько факторов патогенности.

Факторы патогенности, обуславливающие адгезию и колонизацию. Патогенные микробы активно преодолевают естественные защитные барьеры макроорганизма, стремясь закрепиться

на занятой ими поверхности кожи и слизистых оболочек. Поэтому адгезия и колонизация — это пусковые механизмы инфекционного процесса. Микробы, не способные преодолеть этот барьер, приобрели способность проникать в макроорганизм парентеральным путем, используя повреждения эпидермиса или прибегая к помощи кровососущих членистоногих насекомых. Адгезия характеризуется специфичностью, которая проявляется в избирательной способности микробов прикрепляться к эпителиальным клеткам определенного вида хозяина и определенных систем и органов макроорганизма (органотропность). Даже в пределах одного и того же органа или системы (дыхательной, пищеварительной, нервной и т. д.) отмечается мозаичность поражения. Специфичность адгезии обусловлена наличием комплементарных структур у микробов и чувствительных к ним эукариотических клеток макроорганизма. Структуры микроба, ответственные за прикрепление, называют *адгезинами* или *лигандами*, а структуры эукариотической клетки хозяина — *рецепторами*. Между ними происходит лиганд-рецепторное взаимодействие по принципу комплементарности. У грамотрицательных бактерий адгезины образуют органеллы — ворсинки, фимбрии или пили I типа. Роль адгезинов у них выполняют также основные белки наружной мембраны и липополисахариды. У грамположительных бактерий нет фимбрий, и роль адгезинов у них выполняют поверхностные белки и тейхоевые кислоты. У капсульных бактерий в адгезии принимают участие капсульные полисахариды и полипептиды. У микоплазм адгезины входят в состав выростов цитоплазматической мембраны (белок P1 у *M. pneumoniae*), а у вирусов адгезия осуществляется за счет белков капсида и гликопротеинов суперкапсида. В процессе колонизации слизистых оболочек бактериями помимо адгезинов определенную роль играют фрагмент A1 холерогена у *V. cholerae*, дифтерийный токсин у *C. diphtheriae*, пертуссис токсин у *B. pertussis* и т. д. Стойкая адгезия и колонизация возможны только в том случае, если микробы могут выстоять против бицидных и биостатических факторов, которые в разных сочетаниях представлены на коже и слизистых оболочках. Поэтому важную роль

в процессе колонизации эпителия слизистых оболочек играют IgA-протеазы и антилимфоцитарный фактор бактерий, продукция бактериоцинов, антиоксидантов, сидерофоров, конкурирующих с лактоферрином за ионы железа. Колонизация кожных покровов и слизистых оболочек в месте входных ворот инфекции зависит не только от дозы микробов, но и от количества рецепторов на поверхности эпителиальных клеток. Количество же и строение рецепторов эпителиальных клеток колеблется в пределах одного и того же вида вплоть до полного их отсутствия у отдельных представителей вида, что и объясняет мозаичность поражения как на популяционном уровне, так и на клеточно-тканевом и органном уровнях. Помимо нативных поверхностных структур клеток макроорганизма, в качестве рецепторов могут выступать вирусиндуцированные антигены и приобретенные рецепторы — мостики, представляющие собой альбумины, иммуноглобулины, фибронектин, ряд компонентов комплемента и другие молекулы, которые взаимодействуют с нативными рецепторами клеток макроорганизма и адгезинами микробов.

С одной стороны, если рецепторов нет, то инфекционный процесс не разовьется. Это говорит о том, что восприимчивый макроорганизм отличается от невосприимчивого макроорганизма на уровне макромолекул. Генетически детерминированное отсутствие рецепторов обуславливает наличие естественного, видового (конституционного) врожденного иммунитета к определенным микробам. С другой стороны, патогенные микробы от непатогенных также отличаются на уровне макромолекул, так как даже при наличии рецепторов микробы-мутанты, лишенные адгезинов, не обладают способностью вызывать инфекционный процесс.

Адгезия не является чисто механическим взаимодействием с клетками макроорганизма. Непосредственное взаимодействие адгезинов с рецепторами клетки, а также секреторных белков ведет к активации сигнальных систем клетки и образованию воспалительных цитокинов, которые стимулируют синтез **интегринов** на поверхности клетки, проводящих сигналы внутрь клеток макроорганизма. Таким образом, включаются механизмы, обуславливающие проникновение микробов внутрь

клетки. Белки наружной мембраны грамотрицательных бактерий и другие адгезивные молекулы, используемые ими для проникновения внутрь клетки, получили название **инвазинов**. При этом механизмы, используемые бактериями для активного проникновения как в не фагоцитирующие, так и фагоцитирующие клетки, одинаковы. Они позволяют бактериям избежать антибактериальной активности фагосом, куда бактерии попадают при традиционном фагоцитозе.

Факторы, обуславливающие адгезию и колонизацию микробов, играют ведущую роль на ранних стадиях патогенеза инфекционных заболеваний, что необходимо учитывать при разработке препаратов для профилактики этих заболеваний.

Факторы патогенности, обуславливающие инвазивность и агрессивность. Способность микробов распространяться по макроорганизму и противостоять его защитным факторам обусловлена действием образуемых микробами ферментов, что особенно характерно для облигатных внеклеточных паразитов. При этом ферменты оказывают свое действие как местно, так и на расстоянии, генерализованно. Они либо усиливают действие токсинов, разрушая клетки и волокна тканей (нейраминидаза и гиалуронидаза), а также переводя протоксин в токсины, либо сами действуют как токсины в результате образования токсических для макроорганизма веществ, как, например, фермент уреазы, гидролизующая мочевины с образованием аммиака и диоксида углерода (углекислоты), или декарбоксилазы аминокислот, образуемые бактериями в кишечнике, что ведет к образованию токсичных биогенных аминов. Токсическое воздействие на макроорганизм оказывают протеазы легионелл, аденилатциклаза возбудителя коклюша и т. д. Ряд микробов продуцирует ферменты, вызывающие гемолиз эритроцитов и разрушение лейкоцитов (гемолизины и лейкоцидины). Очевидно, грань между ферментами и токсинами в ряде случаев условна, так как у некоторых токсинов в настоящее время обнаружена ферментативная активность.

К числу ферментов, способствующих инвазии микробов по макроорганизму и их сохранению в нем, относятся:

— гиалуронидаза, расщепляющая гиалуроновую кислоту, основной компонент соединительной ткани, препятствующий проникновению в них посторонних веществ;

— нейраминидаза (син. сиалидаза), расщепляющая сиаловую кислоту, входящую в состав поверхностных рецепторов клеток, благодаря чему последние приобретают способность взаимодействовать с адгезинами микробов или их токсинами. С помощью данного фермента микробы преодолевают первый защитный барьер макроорганизма — муцинозный слой, покрывающий поверхность слизистых оболочек и содержащий большое количество сиаловых кислот. Слизь теряет коллоидные свойства и полностью разрушается, а эпителиальные клетки слизистых оболочек, которые в норме покрыты слизью, становятся доступными для колонизации. Данный фермент способствует проникновению микробов внутрь клеток и их распространению по межклеточным пространствам. Так как сиаловая кислота входит в состав разных тканей и органов, нейраминидаза обладает широким спектром действия;

— фибринолизин, растворяющий сгустки фибрина, образующиеся в тканях в результате развития воспаления, что способствует ограничению воспалительного очага и препятствует распространению микробов по макроорганизму. Лизис фибрина ведет к инвазии микробов по макроорганизму;

— плазмокоагулаза, ведущая к образованию в воспалительном очаге вокруг микробов капсулы в результате коагуляции плазмы, что препятствует их фагоцитозу и действию компонента;

— ДНКаза, деполимеризующая ДНК, выделяющаяся в среду при гибели клеток. Это ведет к снижению вязкости окружающей среды, что благоприятно сказывается на развитии микробов в тканях.

— коллагеназа, разрушающая коллаген мышечных волокон, что понижает стабильность его структуры, и лецитиназа С (фосфолипаза), действующая на лецитин и другие фосфолипиды, входящие в состав клеточных мембран мышечных волокон, и т. д. Продукты гидролиза лецитина оказывают токсическое воздействие на макроорганизм.

При этом ферменты агрессии и инвазии помимо своих агрессивных, разрушительных функций, способствующих инвазии микробов в макроорганизме, выполняют трофические функции, поставляя микробам низкомолекулярные продукты распада клеток и тканей макроорганизма, необходимых микробам для жизнедеятельности, что ведет к столь характерному для инфекционных болезней истощению макроорганизма. Так, например, фибринолизин обеспечивает не только распространение менингококков сквозь сгустки фибрина, но и обеспечивает им поставку аминокислот, продуктов распада фибрина, необходимых микробам для жизнедеятельности. Продукция микробами ферментов объясняет наличие многих симптомов при инфекционных заболеваниях, например возникновение абсцедирующих пневмоний, вызванных стафилококками; появление жидкой, а не вязкой мокроты у больных чумой, и т. д. При этом в патогенезе инфекционных болезней ведущую роль играют специализированные ферменты или ферментные системы, например, специфическая протеаза гемоглобина у возбудителей малярии, или фибринолизин — коагулазная система у возбудителя чумы, способствующая образованию чумного блока у переносчиков микроба — блох и попаданию микробов в макроорганизм и их распространению, а также специфические протеазы гонококков, вызывающие гидролиз секреторного иммуноглобулина класса А, препятствующего их адгезии на слизистых оболочках, и т. д. Продукция микробами ферментов объясняет необходимость назначения больным в ряде случаев ингибиторов ферментов. Таким образом, ферменты микробов оказывают токсическое воздействие, способствуют инвазии и агрессии микробов, выполняют трофическую функцию.

Помимо ферментов, важную роль как факторы патогенности играют жгутики, осуществляющие движение микробов и препятствующие их фагоцитозу, а также гетерофильные антигены, способствующие персистенции микробов в макроорганизме. Гетерофильные антигены — это общие антигены у представителей разных видов, имеющие сходные антигенные детерминанты, но разные носители. Такие антигены обнаружены у возбудителя чумы и у лиц с первой группой крови, к ним отно-

сятся кардиолипиновый антиген возбудителя сифилиса, капсульный полисахаридный антиген менингококков группы В, сходный с гликопептидами мозга, и ряд других антигенов. Благодаря наличию гетерофильных антигенов, макроорганизм может не распознавать такие микробы как чужеродные, что способствует их сохранению в макроорганизме. Образование данных антигенов является результатом либо случайного повторения биосинтеза конечных продуктов, либо длительной совместной эволюции представителей разных видов. Данное явление получило название антигенной мимикрии (от англ. *mimicry* — подобный). С другой стороны, наличие таких антигенов у микробов способствует развитию аутоиммунных реакций в макроорганизме, так как данные антигены имеют разные носители, что обуславливает включение запрещенных клонов клеток. Важным защитным механизмом у микробов является образование антигенных вариантов, устойчивых к действию защитных факторов макроорганизма. Формирование антигенных вариантов может происходить как в одном организме хозяина, что характерно для возбудителей малярии, эндемического клещевого и эпидемического вшивого возвратных тифов, трипаносомозов и т. д., так и на уровне популяции, что характерно для вируса гриппа типа А.

Факторы патогенности, обладающие антифагоцитарной активностью. К важным факторам патогенности, обладающим антифагоцитарной активностью у бактерий, а также других микробов, относятся капсулы, микрокапсулы, слизистые чехлы и входящие в их состав антигены. Они выполняют роль механических барьеров, экранирующих поверхностные структуры микробов, взаимодействующих с опсонинами, выполняющими роль распознающих микробы молекул и роль лигандов, связывающих их с фагоцитирующими клетками, а также непосредственно взаимодействующих с рецепторами фагоцитирующих клеток, что препятствует распознаванию микробов и их поглощению. Капсульное вещество защищает микробы от действия лизосомальных ферментов и перекисных радикалов фагоцитирующих клеток. Легкая отделяемость капсул и слизи от поверхности микробов ведет к ложному связыванию рецепторов фагоцитирующих

клеток. Капсульные варианты микробов, как правило, вызывают более тяжело протекающие заболевания, чем их бескапсульные варианты. Хорошо известна роль К-антигенов как факторов патогенности у эшерихий, шигелл и сальмонелл, Ви-антигена — у возбудителя брюшного тифа, cord-фактора — у возбудителей туберкулеза, полипептидной капсулы — у возбудителя сибирской язвы и т. д.

Микробы могут подавлять фагоцитарную активность клеток на всех стадиях фагоцитоза. Антифагоцитарные свойства у микробов обусловлены не только наличием у них капсул, микрокапсул и слизистых чехлов, но и способностью многих микробов образовывать вещества, подавляющие хемотаксис фагоцитирующих клеток, разрушающие хемоттрактанты и фагоцитирующие клетки; противодействовать внутриклеточному перевариванию, препятствуя слиянию лизосомы с фагосомой; образовывать ферменты, инактивирующие перекисные радикалы, оказывающие кислород зависимый киллерный эффект; обладать резистентностью к лизосомальным ферментам; образовывать вещества, вызывающие лизис фаголизосомы (листериолизин, сальмолизин, контактный гемолизин шигелл); покидать фаголизосому; индуцировать апоптоз фагоцитирующих клеток. С другой стороны, облигатные внутриклеточные паразиты образуют вещества, активирующие хемотаксис (N-формильные и им подобные пептиды) и фагоцитарную активность клеток (инвазивные белки), что способствует их проникновению внутрь клетки. Таким образом, механизмы внутриклеточного существования микробов и незавершенного фагоцитоза многообразны.

Эндоцитобиоз способствует сохранению микробов в макроорганизме, их распространению по макроорганизму, делает микробы неузнаваемыми и недоступными для защитных факторов иммунной системы. Способность микробов сохраняться и размножаться в фагоцитирующих клетках, а также распространяться по макроорганизму, находясь внутриклеточно, получила название механизма «тройянского коня».

Важную роль в развитии инфекции играет регуляция микробами апоптоза. Внеклеточные

паразиты активируют его. Факультативные внутриклеточные паразиты также индуцируют апоптоз, но могут и подавлять последний, что позволяет им поддерживать оптимальные условия существования, противостоять защитным силам макроорганизма. Для облигатных внутриклеточных паразитов характерно подавление апоптоза, что способствует персистенции микробов.

Преодолев входные ворота инфекции и поступив в кровь, микробы должны избегать воздействия комплемента и других микроцидных факторов крови (антител, лизоцима, В-лизинов и т. д.). В частности, они должны обладать антикомплементарной активностью. В одних случаях это достигается благодаря наличию капсул, препятствующих активации комплемента, прежде всего по альтернативному пути. В других случаях микробы поступают в кровь, располагаясь внутриклеточно или внутри микротромбов, образующихся под действием плазмокоагулазы. Это сохранение в крови создает дополнительные возможности для реализации их потенциальной патогенности.

Помимо адгезинов, ферментов, агрессивных, в том числе факторов, препятствующих фагоцитозу, важное значение имеют *токсины микробов* (от греч. *toxikon* — яд), обуславливающие развитие симптомов интоксикации при инфекционных заболеваниях. Они играют ведущую роль в патогенезе инфекционных заболеваний.

8.3.2. Токсины бактерий

Токсины бактерий — продукты метаболизма, оказывающие непосредственное токсическое воздействие на специфические клетки макроорганизма, либо опосредованно вызывающие развитие симптомов интоксикации в результате индукции ими образования биологически активных веществ.

По физико-химической структуре и биологическим свойствам токсины бактерий делятся на две группы: *белковые токсины* и *эндотоксины*.

Белковые бактериальные токсины и их биологические свойства. К данной группе токсинов

относятся термолabileльные и термостабильные белки, которые образуются как грамположительными, так и грамотрицательными аэробными и анаэробными бактериями. Обычно это ферменты, которые оказывают губительное воздействие на клетки макроорганизма в исключительно малых концентрациях. Они могут как секретироваться клеткой в окружающую среду, так и находиться с клеткой в связанном состоянии, освобождаясь в процессе автолиза клетки. По степени связи с бактериальной клеткой их подразделяют на три класса:

Класс А — секретрируемые во внешнюю среду, например гистотоксин *C. diphtheriae*.

Класс В — токсины, частично связанные с микробной клеткой и частично секретрируемые в окружающую среду. Они находятся в периплазматическом пространстве. Такие токсины называют *мезотоксинами*, как, например, тетаноспазмин *C. tetani* или нейротоксин *C. botulinum*. Клетка остается жизнеспособной. Они не имеют сигнального пептида, поэтому не секретрируются в окружающую среду. Эти токсины попадают в окружающую среду в результате слияния с мембранами клетки и затем выводятся из нее посредством эксфолиации мембран (син. отслоение, десквамация), а не автолиза, как считали ранее.

Класс С — токсины, связанные с микробной клеткой и попадающие в окружающую среду лишь в результате гибели клетки, например Шига-токсин у *S. dysenteriae* 1 серовара и другие Шигаподобные токсины.

Способность бактерий образовывать белковые токсины называется *токсигенностью*.

По строению белковые токсины делятся на **простые** и **сложные**. *Простые токсины* образуются в виде единой полипептидной цепи или протоксина, неактивного в функциональном отношении, который под действием протеаз самого микроба либо протеаз представителя нормальной микрофлоры, а также протеаз тканей и клеток макроорганизма превращается в активную бифункциональную В-А-структуру. Часть В (от англ. binding) не обладает токсичностью. Это природный *токсоид* (анатоксин), который, выполняя транспортную функцию, взаимодействует со специфическим рецептором на эукариотической клетке и, образуя ка-

нал в цитоплазматической мембране клетки, обуславливает проникновение *токсической группы А* (от англ. active) или *активатора* в цитоплазму клетки. Как правило, субъединица А обладает ферментативной активностью. Она активна только при наличии субъединицы В, которая обеспечивает специфичность и органотропность действия токсина, а также экранирует ферментативную субъединицу А, предотвращая ее взаимодействие с субстратом как в собственной клетке микроба, так и за ее пределами. *Сложные токсины* представляют собой уже готовую сложную бифункциональную структуру, состоящую из одной или нескольких В-субъединиц, соединенных с А-субъединицей, как, например холерный энтеротоксин, у которого субъединица А окружена пятью абордажными В-субъединицами. Субъединицы В и А синтезируются в клетке независимо и в последующем соединяются в единый комплекс. Часть В взаимодействует со специфическими рецепторами эукариотических клеток, а часть А под действием протеаз диссоциирует на две субъединицы: А1, или активатор, и А2, которая осуществляет транспорт активатора через цитоплазматическую мембрану клетки-мишени в цитоплазму.

Механизм действия белковых токсинов на молекулярном уровне состоит из нескольких стадий. Белковые бактериальные токсины относятся к высокомолекулярным соединениям и самостоятельно через клеточные мембраны не проникают — необходима их диссоциация. *На первой стадии* белковый токсин за счет своих абордажных молекул В фиксируется на поверхности клетки, взаимодействуя со **специфическим рецептором** ганглиозидной, гликопротеидной или гликолипидной природы, что ведет к образованию комплекса токсин — рецептор клетки. *Вторая стадия* заключается в активации токсина под действием протеаз по типу ограниченного протеолиза с последующим образованием бифункциональной В—А-структуры. У сложных токсинов роль активации сводится к переводу активаторного фрагмента А из неактивного в активное состояние. Изменение конформационной структуры молекулы токсина ведет к раскрытию у нее каталитического центра и появлению ферментативной активности.

Третья стадия заключается в трансмембранной транслокации части А или А1в цитоплазму клетки, где она нарушает жизненно важные биохимические процессы в клетке, действуя на свои мишени, что ведет к гибели клеток. Взаимодействие части В со специфическими рецепторами на поверхности клеток и высокая избирательность катализа совместно и обуславливают специфичность действия белковых бактериальных токсинов.

Знание механизма действия белковых бактериальных токсинов позволяет понять, почему применение антитоксических сывороток не всегда бывает эффективным?

При применении антитоксических сывороток необходимо помнить, что белковый токсин может быть нейтрализован антителами, когда он находится в крови или лимфе, а также на поверхности клетки, так как антитела препятствуют его взаимодействию со специфическими рецепторами и диссоциации комплекса токсин — рецептор на субъединицы и транслокации части А в цитоплазму клетки. Непосредственно через мембрану клетки антитела не проникают и нейтрализовать транслоцированную в цитоплазму часть А не могут, что объясняет отсутствие эффекта от серотерапии при несвоевременно начатом лечении.

По механизму действия белковые бактериальные токсины делятся на пять групп: повреждающие клеточные мембраны; ингибиторы синтеза белка; активирующие пути метаболизма, контролируемые вторичными посредниками (мессенджерами); протеазы; суперантигены, активирующие иммунный ответ макроорганизма.

Токсины, повреждающие клеточные мембраны. Токсины данной группы способны повреждать плазматическую мембрану эукариотических клеток с помощью ферментативного гидролиза или в результате формирования пор. Такие повреждения вызывают не только лизис клеток, но и способствуют распространению бактерий в макроорганизме. Примером ферментативного гидролиза является действие альфа-токсина *C. perfringens*, обладающего активностью фосфолипазы С.

Порообразующие токсины формируют трансмембранные поры и нарушают селективный вход и выход ионов через плазматическую мембрану, что ведет к лизису клетки. Эта группа токсинов включает гемолизин *E. coli*, лейкотоксин *P. haemolytica*, аэролизин *A. hydrophila*, О-перфринголизин *C. perfringens*, О-листериолизин *L. monocytogenes*, а также пневмолизин *S. pneumoniae*, О-стрептолизин *S. pyogenes* и альфа-токсин *S. aureus*. Последний можно рассматривать в качестве прототипа олигомеризующих порообразующих цитотоксинов. Бактерии секретируют готовый токсин (протомер), который узнает клетку-мишень по специфическим рецепторам или неспецифически сорбируется в участках плазматической мембраны, содержащих фосфатидилхолин или холестерин. На мембране семь протомерных токсинов собираются в пору, формируя грибоподобный гептамер, состоящий из трех доменов. Шляпка и ободочная область альфа-токсина располагаются на плазматической мембране, а ножка служит трансмембранным каналом. Эта пора позволяет маленьким молекулам и ионам совершать двухстороннее движение, что приводит клетку к набуханию и осмотическому лизису. Альфа-токсин обладает цитолитическим действием в отношении различных типов клеток, включая моноциты, лимфоциты, эритроциты, тромбоциты и эндотелиоциты человека. Образование поры включает каскад вторичных процессов: активацию эндонуклеаз, высвобождение цитокинов и других медиаторов воспаления, синтез эйкозаноидов.

Токсины, ингибирующие синтез белка. К данной группе токсинов относятся: гистотоксин *C. diphtheriae*, экзотоксин А *P. aeruginosa*, Шига-токсин (Stx-токсин) *S. dysenteriae* 1 серовара и Шигаподобные токсины энтеропатогенных и энтерогеморрагических *E. coli* (Stx-токсины). Субстратом для них служат факторы элонгации и 28S-рибосомальная РНК. Дифтерийный гистотоксин и экзотоксин А псевдомонад являются дифтаמיד специфическими АДФ-рибозилтрансферазами, рибозилирующими фактор элонгации 2, что ведет к его инактивации и подавлению синтеза белка в клетке. Они синтезируются в виде протоксинов.

Stx-токсин и Stx-токсины имеют типичную АВ-структуру. Энзиматическая субъединица А

нековалентно связана с 5-ю В-субъединицами. После связи пентамера В с эукариотической клеткой и интернализации, полипептид А расщепляется на энзиматическую часть А1 и фрагмент А2, связанный с В-пентамером. А1 проявляет N-гликозидазную активность. Stx-токсины инактивируют 28S-рибосомальную РНК, нарушая ее взаимодействие с аминоацил-тРНК, что ведет к подавлению синтеза белка и гибели клетки-мишени. Данные токсины нарушают синтез белка не только в эпителиоцитах, но и в других клетках, индуцируя развитие гемолитического уремического синдрома. Проникая из просвета кишечника, Stx-токсины связываются с рецепторами эндотелиальных клеток капилляров почечных гломерул Gb3, а также других органов. Это приводит к набуханию клеток, сужению просвета сосудов, агрегации тромбоцитов, развитию гемолиза эритроцитов и уремии.

Токсины, активирующие нути метаболизма вторичных мессенджеров. К данной группе относятся: цитотоксический некротизирующий фактор (CNF), термолабильный (LT) и термостабильный (ST) токсины *E. coli*; отечный фактор *B. anthracis*; коклюшный и дермотоксический (DNT) токсины *B. pertussis*; токсины А и В *C. difficile*; холерный энтеротоксин и другие токсины. Они влияют на функцию отдельных белков эукариотической клетки, не вызывая ее гибели. С этой целью токсины активируют вторичных посредников, которые усиливают или искажают клеточные реакции на внеклеточные сигналы.

CNF и DNT имеют связывающий и ферментативный домены. Они активируют Rho-субсемейство ГТФ-связывающих белков, участвующих в модификации регуляции актина цитоскелета через *дезаминирование*. Такая модификация приводит к преобладанию Rho, не способного гидролизовать связанный с ним ГТФ. Пораженные клетки приобретают характерный вид. У них наблюдается «рифление» мембраны, формируется локальное сжатие актиновых нитей, развивается воспаление с формированием некротического очага.

Токсины А и В *C. difficile*, обладая гликозилтрансферазной активностью, наоборот, инактивируют Rho ГТФ-связывающие белки. ST-энтеротоксин *E. coli*, связываясь с рецеп-

тором гуанилатциклазы, приводит к увеличению цГМФ, который обращает в обратную сторону ток электролитов, подавляя абсорбцию ионов натрия и повышая секрецию ионов хлора, что ведет к развитию диареи.

Холерный энтеротоксин (холероген) состоит из пяти В-субъединиц и субъединицы А, которая диссоциирует на А1, обладающую АДФ-рибозилтрансферазной активностью, и А2, связывающую А1 с пентамером В. А1 инактивирует G-белок, регулирующий активность аденилатциклазы клеточных мембран, что ведет к повышению активности последней и увеличению внутриклеточного содержания циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), нарушению всасывания ионов натрия, калия и воды. В отличие от ST энтеротоксина *E. coli*, LT-энтеротоксин *E. coli* сходен по строению и механизму действия с холерным энтеротоксином. Он и коклюшный токсин обладают АДФ-рибозилтрансферазной активностью. Их мишенью являются G-белки. Они извращают функции клеток, нарушая внутриклеточный гомеостаз по цАМФ. Коклюшный токсин вызывает рибозилирование трансдуцина — белка, ингибирующего клеточную аденилатциклазу, что ведет к накоплению цАМФ и последующему нарушению функции клетки-мишени.

Протеазы. Примерами данных токсинов являются ботулинический и столбнячный нейротоксины, а также летальный фактор *B. anthracis*. Ботулотоксин (BoNT) и тетаноспазмин (TeNT) относятся к цинк-металлоэндопротеазам. Это функциональные блокаторы. Они сходны по структуре, но различаются по путям проникновения в макроорганизм. Ботулотоксин проникает в макроорганизм энтерально при пищевом ботулизме и у новорожденных в виде больших комплексов, включающих нейротоксин и один или несколько белков, которые обеспечивают стабильность токсина в желудочно-кишечном тракте. Тетаноспазмин образуется в ранах вегетативными формами *S. tetani*, не формируя комплексов с белками. Оба нейротоксина синтезируются в виде крупномолекулярных неактивных полипептидов, активируемых путем протеолитического расщепления. Каждая активная молекула нейротоксинов включает тяжелую цепь, состоящую из домена, необходимого для связывания с клеткой, а также

домена, отвечающего за транслокацию, и легкой цепи, обладающей протеазной активностью. Мишенями токсинов в клетках является группа белков, необходимых для стыковки и соединения синаптических пузырьков с пресинаптическими плазматическими мембранами с последующим высвобождением нейромедиаторов. Ботулотоксин связывается с рецепторами на поверхности пресинаптической мембраны двигательных нейронов периферической нервной системы и вызывает протеолиз белков в нейронах. Это приводит к ингибированию секреции ацетилхолина, что препятствует мышечным сокращениям и проявляется развитием вялых параличей периферических нервов.

Тетаноспазмин сначала связывается с рецепторами на пресинаптической мембране мотонейронов, а затем с помощью обратного везикулярного транспорта перемещается в спинной мозг, где может внедриться в тормозные и вставочные нейроны. Расщепление везикуло-ассоциированного мембранного протеина и синаптобревина в этих нейронах приводит к блокаде секреции ингибиторных нейротрансмиттеров — глицина и гамма-аминобутировой кислоты, что вызывает перевозбуждение мотонейронов и ведет к стойким мышечным сокращениям (спастическим параличам). Он является ингибитором инактиваторов ацетилхолина.

Данные токсины относятся к супертоксинам, так как имеют максимально возможную для белков молекулярную массу и, соответственно, токсичность. Это самые сильные биологические яды.

Сибиреязвенный токсин относится к наиболее изученным трехсоставным А1-В-А2-токсинам. Основной мишенью его являются макрофаги, а также подобные им клетки, имеющие к нему высоко аффинные рецепторы. **Общая В-субъединица** токсина, являющаяся **протективным антигеном**, обеспечивает ферментативным субъединицам единый механизм проникновения в цитозоль клетки, что необходимо для синергидного действия последних. Вначале протективный антиген связывается с высоко аффинными рецепторами эукариотических клеток. Затем под действием фурина — про-

теазы клетки-мишени из него образуется активная форма, имеющая молекулярную массу 63 кД (ПА 63), которая, образуя гептамеры, связывающие **летальный фактор (A1)** и **отеchnый фактор (A2)**, участвует в формировании рН ионопроводящих (катионселективных) каналов и транслокации A1 и A2 в цитозоль клетки путем рецепторного эндоцитоза. **Летальный фактор** — металлопротеаза, мишенью которой служит митогенанактивируемая киназа протеинкиназа. Он оказывает свое действие в течение нескольких минут, перемещаясь из прелизосомного пространства в лизосому через кислотное внутриклеточное окружение. Действие летального фактора проявляется в продуцировании активных форм кислорода в макрофагах и нейтрофилах, что сопровождается увеличением перекисных соединений в макрофагах и деструкции последних (цитотоксическое действие). **Отеchnый фактор** биохимически является зависимой от кальция и кальмодулина **аденилатциклазой**, образуемой микробами в неактивной форме. Она активируется при внутриклеточном контакте с белком эукариотов — кальмодулином, отсутствующим у бактерий. Ее мишенью является АТФ. **Аденилатциклаза индуцирует синтез вторичных мессенджеров**. Повышение уровня цАМФ в клетках сопровождается угнетением фагоцитарной функции клеток, нарушением слияния фагосомы с лизосомой, обезвоживанием клеток и экскреции источников энергии в результате нарушения проницаемости клеток. Очевидно, цАМФ используется бактериями для подавления многих нормальных функций фагоцитов, что позволяет микробам дольше выживать во внутренней среде макроорганизма. При этом развитие сибиреязвенной инфекции предполагает обязательное совместное участие всех трех компонентов сибиреязвенного токсина.

Активаторы иммунного ответа. К данной группе токсинов относятся: токсин синдрома токсического шока (TSST-1), энтеротоксины и эксфолиативные токсины *S. aureus*, пирогенные экзотоксины *S. pyogenes* и ряд токсинов других микробов. Они относятся к суперантигенам (PTSAg) и могут действовать непосредственно на антигенпрезентирующие клетки иммунной системы (APC) и Т-лимфоциты.

Их иммуностимулирующий эффект является результатом способности связывать различные участки экспрессированных на поверхности APC МНС 2 класса снаружи от пептидсвязывающего участка и специфических V β -элементов на Т-клеточном рецепторе. Например, β -домен стафилококкового TSST-1 связывает α -цепь МНС 2 класса на макрофагах, в то время как А-домен специфически связывается с V β 2-элементами рецепторов Т-клеток, что ведет к массивной пролиферации Т-клеток, сопровождающейся образованием большого количества лимфоцитарных (интерлейкин-2, γ -интерферон), а также моноцитарных цитокинов (интерлейкин-1, интерлейкин-6, α -фактор некроза опухолей). Совместно эти цитокины вызывают развитие гипотензии, высокую температуру и диффузную эритематозную сыпь. Стафилококковый эксфолиативный токсин (син. эксфолиатин, эпидермолитический токсин) разрушает межклеточные контакты (десмосомы) зернистого слоя эпидермиса, что ведет к отслоению (десквамации, эксфолиации) поверхностных слоев эпидермиса и образованию лопающихся пузырей, наполненных серозным или гнойным содержимым.

Бактериальные токсины сходны по структуре и целому ряду других свойств с сигнальными молекулами макроорганизма: гормонами, нейромедиаторами, интерферонами и т. д. В ходе лиганд-рецепторного взаимодействия с клетками макроорганизма они используют уже готовые структуры, участвующие в нейро-эндокринной сигнализации. Формирование пор тоже не является их уникальным свойством. Можно предположить, что, являясь антиметаболитами сигнальных молекул макроорганизма, они первоначально имитируют их действие, а в последующем оказывают блокирующий эффект.

В отличие от эндотоксинов, белковые токсины, помимо *химической структуры* и *специфичности действия*, обладают *высокой токсичностью*. Они вызывают гибель лабораторных животных при введении им всего нескольких микрограммов токсина, тогда как эндотоксины вызывают гибель животных при введении доз, равных сотням микрограмм. Как и вирулентность, сила действия белковых токсинов измеряется величиной летальных доз (LD) — Dcl,

D_{1m} и LD₅₀. Это полноценные тимусзависимые антигены, к ним образуются антитела, нейтрализующие их — антитоксины. При этом фрагменты А и В в антигенном отношении не идентичны. Протективным действием обладают антитела к С-терминальной части фрагмента В, блокирующие прикрепление токсина к специфическому рецептору клетки. Из белковых токсинов можно получить анатоксины, т. е. токсины, лишенные своих токсических свойств, но сохранивших антигенные свойства, что используют при проведении вакцинопрофилактики. Одним из методов получения анатоксинов является формоловая детоксикация по G. Ramon (1923), приводящая к химической модификации активного центра токсина и обуславливающая жесткость структуры белковой молекулы, препятствующей ее диссоциации. Заболевания, при которых микроорганизм остается в месте входных ворот инфекции, а в основе патогенеза заболевания и его клинических проявлений лежит действие белкового токсина, называются *токсинемическими инфекциями* (анаэробная раневая инфекция, столбняк, ботулизм, дифтерия). Такое разделение заболеваний имеет важное значение как в плане проведения микробиологической диагностики, так и лечения, поскольку наиболее эффективными препаратами для специфического лечения токсинемических инфекций являются не антибиотики, а своевременно применяемые антитоксические сыворотки, в ряде случаев сочетаемые с введением анатоксинов (*пассивно-активная терапия*). Использование антибиотиков, которые действуют на бактерии, а не на их токсины, уходит на второй план. В качестве же средств специфической профилактики токсинемических инфекций для создания искусственного активного приобретенного иммунитета необходимо применять анатоксины, а для создания искусственного пассивного приобретенного иммунитета в целях экстренной профилактики токсинемических инфекций необходимо применять антитоксические сыворотки (*активно-пассивная профилактика*).

Большинство белковых токсинов разрушается пищеварительными ферментами и оказывает свое воздействие только при парентеральном введении. Исключение составляют токсины *C. botulinum*, энтеротоксины *C. perfringens*,

C. difficile, *S. aureus* и энтеротоксины грамотрицательных бактерий, проявляющих свое действие при пероральном поступлении в макроорганизм.

Синтез белковых токсинов кодируется генами, локализованными в хромосоме и сцепленными с генами, участвующими в спорообразовании или входящими в состав профага, а также генами, локализованными в плаزمиде. Это tox⁺ гены, ответственные за токсигенность. Активность tox⁺ генов контролируется белками-репрессорами микробной клетки. Первоначальной функцией этих генов у сапрофитов был синтез структурных белков фага, компонентов оболочек спор или синтез ферментов, необходимых для усвоения аминокислот. По мере закрепления паразитического образа жизни эти специализированные адаптивные ферменты превратились в яды — белковые токсины.

Способность микроорганизмов образовывать белковые токсины необходимо учитывать также при проведении микробиологической диагностики. При этом необходимо помнить, что все патогенные штаммы данного вида могут продуцировать только один тип токсина по антигенной структуре и механизму действия (*C. diphtheriae*, *C. tetani*), разные по антигенной структуре, но одинаковые по механизму действия токсины (*C. botulinum*). С другой стороны, один и тот же вид микроба может образовывать разные типы белковых токсинов, а также эндотоксины, например диареогенные *E. coli*, шигеллы и сальмонеллы, возбудитель холеры.

Эндотоксины и их биологические свойства. Свойство бактерий образовывать токсические вещества, вызывающие симптомы интоксикации, в том числе выделять в окружающую среду при их разрушении эндотоксины, называется *токсичностью*. Эндотоксины относятся к бактериальным модулинам, обладающим огромным спектром биологической активности, индуцирующим синтез цитокинов и других медиаторов. В отличие от белковых токсинов, эндотоксины *термостабильны* и образуются *грамтрицательными* бактериями, выделяясь в окружающую среду только после гибели бактериальной клетки. Это сложные *белковолиполисахаридные комплексы*, которые в лабора-

торных условиях можно получить путем экстракции трихлоруксусной кислотой по Буавену (A. Voivin) и Месробяну (L. Mesrobian). Полный антиген, антиген Буавена содержит до 10 % белка. Он входит в состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Данные комплексы состоят из белка — пептида, обуславливающего иммуногенность комплекса; фосфолипида В, включающего в свой состав фосфатидилхолин — основной компонент клеточной стенки бактерий; двухвалентных ионов Са и Mg; ЛПС, входящего в состав наружной мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий, который и является собственно эндотоксином, его основным компонентом (липополисахаридная фракция полного антигена, без белкового компонента). В наиболее чистом виде ЛПС получают путем водно-фенольной экстракции по Вестфалу (O. Westphal). Карболовая кислота разрушает белки. ЛПС состоит из липида А и собственно полисахарида, в состав которого входит базисная часть — R-ядро, образованное 3-дезоксид-Д-манно-окталонозойной кислотой и остатками гептоз, а также O-специфических олигосахаридных цепей, обуславливающих антигенную специфичность ЛПС грамотрицательных бактерий. Липид А и R-ядро полисахарида имеют одинаковое строение у всех грамотрицательных бактерий, за исключением *B. pertussis*, *B. abortus*, *B. fragilis*, *P. aeruginosa*, *C. violaceum*, *R. viridis*, *R. tenue*, у которых они обладают ярко выраженной индивидуальностью. *Синтез отдельных компонентов ЛПС происходит в бактериальной клетке независимо и контролируется генами, локализованными в хромосоме.* Вирулентные бактерии синтезируют полную структуру ЛПС и образуют S-форму микроба, у которой O-специфические цепи составляют $\frac{2}{3}$ ЛПС. Бактерии со сниженной вирулентностью не имеют O-специфических цепей и образуют R-формы микроба. Они имеют многочисленные бреши во внешней мембране, что сопровождается нарушением ее проницаемости.

За проявления биологической активности эндотоксинов ответственна вся молекула ЛПС, а не отдельные его компоненты. В отличие от белковых токсинов, они *не обладают органотропностью и специфичностью действия.* Симптомы интоксикации при заболеваниях,

вызванных грамотрицательными бактериями, однотипны, и связаны с действием образующихся медиаторов воспаления. В основе действия ЛПС лежит его неспецифическое липолипидное и специфическое, за счет рецепторов CD14, взаимодействие с мембранными компонентами разных типов клеток: тромбоцитов, гранулоцитов, эритроцитов, лимфоцитов, моноцитов и макрофагов, которые под действием ЛПС выделяют биологически активные вещества. ЛПС запускает в макроорганизме синтез более 20 различных биологически активных веществ, которые обуславливают патогенез эндотоксикоза и обладают пирогенным действием. *Основной точкой его приложения являются макрофаги.* Образование больших доз эндотоксина сопровождается угнетением фагоцитоза, явлениями выраженного токсикоза, слабостью, одышкой, диареей, нарушением сердечно-сосудистой системы, снижением давления, гипогликемией, лейкопенией, сменяющейся лейкоцитозом, агрегацией тромбоцитов, гипотермией. При образовании больших количеств эндотоксина в крови вследствие усиленного разрушения большого количества грамотрицательных бактерий возможно развитие *эндотоксического шока.* При образовании небольших доз эндотоксина отмечается слабый токсикоз и повышение температуры тела, стимуляция фагоцитоза. ЛПС относится к *тимуснезависимым антигенам* и вызывает *поликлональную стимуляцию В-лимфоцитов, активизирует систему комплемента по альтернативному пути, является адьювантом.* Небольшие дозы эндотоксина, образующиеся постоянно представителями нормальной микрофлоры тела человека в кишечнике, оказывают благоприятное стимулирующее воздействие на клетки иммунной системы макроорганизма, что ведет к повышению неспецифической резистентности макроорганизма, усилению его устойчивости к инфекционным заболеваниям, повышению радиорезистентности и увеличению противоопухолевой активности клеток. В результате поликлональной стимуляции и активации системы комплемента по альтернативному пути макроорганизм находится в постоянной готовности к встрече с самыми разнообразными микробами и может противостоять им до образования специфических факторов защиты.

С другой стороны, длительное присутствие поликлонального стимулятора в макроорганизме может вести к включению запретных клонов клеток и развитию аутоиммунных реакций. В ходе иммунного ответа первоначально на введение ЛПС образуются О-антитела, которые не обладают антитоксической активностью. Симптомы интоксикации уменьшаются после образования антител к R-ядру полисахарида и липиду А. Так как они имеют одинаковое строение у грамотрицательных бактерий, то антитела к ним пытаются применять для лечения септических процессов, вызванных данными микробами. В отличие от белковых токсинов, *из эндотоксинов нельзя получить анатоксины.*

Изучение антигенной специфичности ЛПС используется при проведении идентификации грамотрицательных бактерий.

Кроме токсинов, в ходе инфекционного процесса в результате размножения микробы образуют целый ряд других токсических продуктов метаболизма, такие как ядовитые амины, холин, нейрин, высшие жирные кислоты и т. д. Одновременно с их действием происходит отравление организма токсическими продуктами распада собственных клеток и тканей, что играет важную роль в развитии интоксикации.

Таким образом, патогенность носит сложный полидетерминантный характер. Основными материальными носителями патогенности микробов являются *морфологические структуры клетки, ферменты и токсины.* В макроорганизме они оказывают не изолированное, а комплексное воздействие. Например, нейраминидаза холерного вибриона способствует адгезии возбудителя к эпителиальным клеткам слизистой оболочки тонкого кишечника и взаимодействию его энтеротоксина с ганглиозидными рецепторами клеток, а гемо-цитоллизин, образуя каналы в мембране клеток, ведет к их осмотическому повреждению и делает аденилатциклазу клеточных мембран более доступной. Показана относительность деления факторов патогенности по их функциям. Один и тот же фактор патогенности может участвовать в различных фазах инфекционного процесса, а в одной и той же фазе могут участвовать различные факторы патогенности. Например, капсулы

бактерий способствуют их адгезии, препятствуют фагоцитозу и экранируют компоненты клетки, активирующие комплемент по альтернативному пути. Эндотоксины и инвазивные белки грамотрицательных кишечных бактерий не только способствуют их инвазии и развитию симптомов интоксикации, но и защищают бактерии от действия соляной кислоты и ферментов в желудке. В основе действия всех факторов патогенности лежат одни и те же принципиальные закономерности, связанные со способностью активных биомолекул возбудителя (лигандов) к распознаванию на клетках-мишенях комплементарных структур, связывание с которыми ведет к инициации развития инфекционного процесса, патологические проявления которого связаны с синтезом тех или иных ферментов и токсинов. Факторы патогенности используются микробами не только в макроорганизме, но и при их попадании в окружающую среду с целью колонизации ее объектов и сохранения жизнеспособности в борьбе с конкурентами.

8.3.3. Генетическая регуляция факторов патогенности

Патогенность бактерий носит полидетерминантный характер и контролируется группой генов. Большинство генетических детерминант факторов патогенности располагается *на хромосомах отдельными кластерами из функционально связанных групп генов.* Эти последовательности отличаются от большей части генома, что позволило выдвинуть предположение об их чужеродном происхождении. Подобные им структуры были также найдены *на плазмидах.*

При этом наблюдается своеобразное разделение функций между хромосомой и плазмидами. Например, у шигелл и энтероинвазивных кишечных палочек плазмидные гены обуславливают взаимодействие возбудителей с эпителием, а хромосомные — существование и размножение бактерий в просвете кишки и тканях. Эти данные позволили выдвинуть концепцию о ведущей роли «островов» (*islands*)

или «островков» (*islets*) патогенности и системе секреции факторов патогенности 3-го типа.

Под «островками» патогенности принято понимать как не стабильные, так и стабильные участки ДНК, обнаруженные только у патогенных бактерий, включающие дискретные (разобщенные, состоящие из отдельных групп) гены вирулентности. Они отсутствуют у непатогенных близкородственных видов¹.

Эти фрагменты ДНК отличаются по процентному содержанию G+C от основного генома, фланкированы малыми прямыми повторами нуклеотидных последовательностей. Такие «островки» патогенности нередко несут криптические или функционирующие гены фаговых интеграз, транспозаз и других фрагментов транспозонов или IS-элементов, относимых к мобильным генетическим элементам. Структурная организация «островков» может быть различной, так как гены вирулентности часто включены в состав транспозонов, IS-элементов или генома бактериофагов. Детерминанты «островков» патогенности способны распространяться среди одного или родственных видов бактерий путем конъюгации, трансдукции и трансформации. Интеграция, стабилизация и экспрессия этих генов лежат в основе формирования новых свойств, в том числе вирулентных, у родственных непатогенных видов. Известны «островки» патогенности, несущие гены *адгезинов*, *инвазинов*, различного типа *токсинов*, *генов лекарственной устойчивости*, *белков системы секреции* и т. д.

Прежде чем достичь своей потенциальной мишени, факторы патогенности преодолевают два основных барьера — цитоплазматическую мембрану и клеточную стенку микробов-продуцентов. При этом большая часть их после секреции становится функционально активной. Поэтому большое значение придается системе секреции третьего типа.

Система секреции 3-го типа ответственна за одноэтапный транспорт эффекторных молекул патогенности из цитоплазмы бактерий в цитозоль эукариотической клетки макроорганизма, где они осуществляют модификацию цитоплазматических белков поражаемых клеток макроорганизма.

Данная система также обеспечивает сборку на поверхности бактериальной клетки супермолекулярных структур, участвующих в транспорте протеинов в эукариотическую клетку макроорганизма. Секреция эффекторных белков данной системой происходит непосредственно после контакта возбудителя с клеткой хозяина, поэтому ее называют **контакт-зависимой системой секреции**.

«Островки» патогенности могут включать несколько различающихся фрагментов. Экспрессия генов вирулентности носит индуцибельный характер и зависит от условий внешней среды, вне- или внутриклеточного расположения возбудителя. Описано несколько систем регуляции фенотипического проявления факторов патогенности у бактерий. Гены, детерминирующие их синтез, обычно репрессированы. Включение или выключение их происходит под действием сигналов, поступающих из внешней среды. Такими сигналами являются изменившийся биохимический состав среды, ее pH, температура, осмотическое давление и т. д. Микробы адаптируются к новым условиям и в зависимости от своего внутри или внеклеточного расположения изменяют свой метаболизм. Обычно они используют один или несколько из этих сигналов для того, чтобы понять, в какой микросреде и на какой стадии развития инфекционного процесса они находятся. Например, гены инвазии обычно включаются на ранней стадии инфекционного процесса, но подавляются, когда бактерии проникают в клетку. Процесс адаптации микроба к новым, меняющимся условиям контролируется *двухкомпонентной*

¹ В геноме непатогенных бактерий также обнаружены чужеродные блоки генов. Они кодируют не факторы патогенности, а различные вспомогательные функции бактерий, такие как дополнительные метаболические активности, способность к симбиозу и т. д. Это дает основание объединить все чужеродные блоки генов под одним названием «геномные острова».

регуляторными системами. Эти системы состоят из двух типов белков: *сенсорного белка клеточной мембраны*, воспринимающего и передающего сигналы из внешней среды внутрь клетки, и *регуляторного цитоплазматического белка*, который непосредственно регулирует транскрипцию генов хромосомы и плазмиды, являясь активатором или репрессором транскрипции. Внутриклеточный домен сенсорного белка представлен гистидинкиназой. В качестве соответствующего сигнала может выступать аутофосфорилирование сенсора. Перенос фосфат-остатка на аминокислотную группу белка-регулятора изменяет способность последнего связывать специфические последовательности ДНК, с которых иницируется транскрипция. Эти последовательности содержат консервативные начальные участки для связывания с белком-регулятором. Включение и активация группы вирулентных генов (регулона) на общий сигнал происходит в несколько стадий и носит каскадный принцип. В ряде случаев каждый из этих генов может экспрессироваться независимо.

Помимо двухкомпонентных регуляторных систем существуют также **системы регуляторов транскрипции**. Наиболее полно изучено *Ago A*-семейство регуляторов транскрипции, получивших свое название благодаря продукту *ara C* гена *E. coli*, контролирующего функцию арабинозного оперона. Белки этой группы содержат изгибы, которые связываются с началом специфических ДНК-фрагментов генов, что активирует транскрипцию последних.

К регуляторному механизму относят также топологию ДНК, рассматриваемую в качестве глобальной регуляторной системы, используемой и для экспрессии вирулентности. Реализуется указанное через топоизомеразы и гистонподобные ДНК-связывающие белки, регулирующие уровень суперскрученности молекулы и реагирующие на определенные сигналы извне. Эти же сигналы влияют на транскрипцию соответствующих генов.

Все эти механизмы регуляции взаимосвязаны между собой. Значимость каждого из них постоянно меняется.

Нестабильность «островков» патогенности, как и их стабильность, способна создать бактериям определенные адаптивные преимущества. Высокая вирулентность может

оказаться невыгодной для бактерий на определенной стадии инфекционного процесса. Нестабильность «островков» патогенности будет способствовать снижению вирулентности всей популяции возбудителя инфекции. Их делеция может усилить экспрессию других, рядом расположенных генов.

В то же время отдельные факторы патогенности являются адаптивными для бактерий, поэтому должны кодироваться на стабильных «островках» патогенности. Чужеродность последних придает им большую стабильность, так как чужеродная ДНК, интегрированная в хромосому, не вовлекается в рекомбинацию с ДНК близкородственных микроорганизмов, поэтому они могут длительно поддерживаться в бактериальных популяциях.

Циклические фенотипические или модификационные изменения вирулентности происходят при смене организменной и внеорганизменной стадии существования микробов. В иммунном организме и вне организма сохраняются маловирулентные резервационные штаммы. Попадая в макроорганизм, из них формируются высоковирулентные эпидемические штаммы. По мере формирования иммунитета из последних снова происходит формирование резервационных штаммов. Стойкие изменения вирулентности возникают в случае мутаций и рекомбинаций и связаны с изменениями генотипа микроба.

Реорганизация генов, кодирующих факторы патогенности, в ходе инфекционного процесса происходит на молекулярном уровне, но на популяционном уровне создаются условия для естественного отбора эпидемических, или резервационных, штаммов. Благодаря принципу распознавания кворума бактерии обладают способностью «разговаривать». *Кворум сенсинг* — это химический сигнальный механизм бактерий, благодаря которому, попав в новую среду обитания, они считают себе подобных. Чем больше в округе бактерий, тем больше химических сигналов они выделяют. Чем больше концентрация химического сигнала, тем больше воспринимающих его рецепторов у бактерии работает. В том случае если бактерий много (кворум), они начинают синтезировать факторы патогенности и принимают воинственную вирулентную форму, которая может справиться

с иммунной системой макроорганизма. Если же сил не хватает, то армия бактерий будет отсиживаться в засаде и ждать благоприятного момента. Знание механизмов кворум-сесинга позволяет по-новому подойти к лечению инфекционных заболеваний, в том числе вызванных антибиотико-резистентными штаммами бактерий.

8.4. Влияние факторов окружающей среды на реактивность организма

8.4.1. Роль реактивности макроорганизма в возникновении и развитии инфекционного процесса

Если микроб определяет специфичность инфекционного процесса, то особенности его течения и форма проявления определяются состоянием макроорганизма. Для борьбы с возбудителями инфекций макроорганизм мобилизует весь комплекс генетически предопределенных (видовых) и индивидуально приобретенных механизмов, препятствующих проникновению и размножению в нем патогенных и условно-патогенных микробов, а также действию образуемых ими факторов патогенности. Основными свойствами макроорганизма, определяющими возникновение, течение и исход инфекционного процесса, являются *резистентность* и *восприимчивость*.

Резистентность (от лат. *resistentia* — сопротивление, противодействие) — это *устойчивость* организма к воздействию различных повреждающих факторов. *Восприимчивость* к инфекции — это способность макроорганизма реагировать на внедрение микробов развитием разных форм инфекционного процесса.

Различают *видовую* и *индивидуальную* восприимчивость, а также *видовую* и *индивидуальную* резистентность соответственно. *Видовая восприимчивость* присуща всем особям данного вида. По отношению к различным микробам она генетически обусловлена и в значительной мере определяется особенностями химического состава клеток и тканей, наличием рецепторов и т. д. Даже если микроб попал во внутреннюю среду макроорганизма,

инфекционный процесс развивается далеко не всегда, так как состояние его восприимчивости является одним из основных факторов, определяющих возможность проявления патогенного действия. При этом разные виды обладают неодинаковой чувствительностью к одному и тому же микробу. Например, *подынные* крысы, зайцы, домовые мыши и хомяки являются высоковосприимчивыми и высокочувствительными к возбудителю туляремии. Они заболевают и погибают при заражении минимальными дозами этого микроба. В отличие от них кошки, лисицы и хорьки маловосприимчивы и практически нечувствительны к данному микроорганизму, так как даже при заражении массивными дозами возбудителя заболевание у них может протекать легко и быстро заканчиваться выздоровлением. К *вирусу* ящура высоковосприимчив крупный рогатый скот, а человек редко заболевает ящуром.

Восприимчивость к определенному возбудителю может меняться не только в процессе эволюции инфекционного агента, но и в процессе эволюции данного вида-реципиента.

Под *индивидуальной восприимчивостью* принято понимать предрасположенность отдельных индивидов к возникновению у них разных форм инфекционного процесса под действием микробов. Степень индивидуальной восприимчивости определяется той или иной степенью иммунитета, приобретенного в результате перенесения инфекционного заболевания той же этиологии, а также профилактических прививок, наличием сопутствующих заболеваний, изменяющих реактивность макроорганизма.

Как *мера чувствительности вида или индивидуума* к определенным микробам в количественном отношении восприимчивость может быть *полной, высокой, умеренной, слабой* или же *совсем не проявляться*. В зависимости от этого патогенные свойства микробов будут проявляться полностью, частично или не будут проявляться совсем, а инфекционный процесс будет протекать типично, атипично (стерто и субклинически) или не будет возникать.

Восприимчивость и резистентность макроорганизма тесным образом связаны с его *общей физиологической реактивностью* или способностью отвечать изменениями жизнедеятельности на воздействия извне, в том числе противоосто-

ять действию микробов. К числу факторов, влияющих на реактивность макроорганизма, помимо принадлежности к определенному виду, относятся: принадлежность к определенному полу и возраст, нарушения питания, состояние нервной, эндокринной и связанной с ними иммунной системы, а также действие биологических и социальных факторов внешней среды.

Различная возрастная устойчивость к инфекциям зависит от особенностей обмена веществ, функций органов внутренней секреции и состояния иммунной системы. Известно, что дети до 6 месяцев не восприимчивы к кори, дифтерии и т. д., что связано с пассивной передачей специфических антител, относящихся к иммуноглобулинам класса G, от матери к плоду в эмбриональном периоде через плаценту. При этом новорожденные, находящиеся на естественном грудном вскармливании, более устойчивы к возбудителям кишечных инфекций, чем дети, находящиеся на искусственном вскармливании, так как они получают с молоком матери антитела, относящиеся к иммуноглобулинам класса A и M, которые не передаются трансплацентарно и играют важную роль в местном антибактериальном иммунитете. У взрослых и детей старшего возраста чаще развивается дифтерия зева и глотки, а у детей грудного возраста — дифтерия гортани, носа и других, редких локализаций. Эта возрастная разница объясняется анатомо-физиологическими особенностями детского организма. Редкое развитие дифтерии зева и глотки у детей грудного возраста обусловлено недоразвитием миндалин, а также отсутствием у них нервных рецепторов в слизистой оболочке и лимфатическом аппарате зева. Чем меньше возраст ребенка, тем атипичней протекает инфекционное заболевание. Говоря о возрасте, следует отметить, что мыши, наследственно иммунные к желтой лихорадке во взрослом состоянии, чрезвычайно восприимчивы к ней в молодом возрасте. Полностью беззащитны к данному вирусу 3-недельные мышата. Незрелые крольчата могут безболезненно переносить внутривенное введение стафилококкового токсина в таких количествах, которые являются, безусловно, смертельными для кроликов старше 4 месяцев. Новорожденные мышата и крольчата появляются на свет в недоразвитом состоянии и устойчивы к столб-

нячному токсину, тогда как взрослые мыши и кролики поражаются им. Старение сопровождается снижением резистентности макроорганизма в связи с истощением ресурсов иммунной системы, что связано как с изменением клеточного микроокружения, так и с изменениями самих клеток иммунной системы. Процесс старения сопровождается инволюцией тимуса, изменением количества и функциональной активности лимфоцитов, активацией клеток с супрессорной активностью, снижением микрообидной активности фагоцитирующих клеток, нарушением местного иммунитета, чему способствуют хронические прогрессирующие заболевания кожи и слизистых оболочек, сопровождающиеся атрофией последних.

У девочек раньше, чем у мальчиков, происходит формирование иммунной системы, поэтому они более устойчивы к действию неблагоприятных факторов. С другой стороны, несмотря на то, что женский организм более устойчив к длительному воздействию неблагоприятных факторов, чем мужской, у женщин во время менструации, беременности и родов вследствие повышения продукции гормонов-иммунодепрессантов отмечается повышенная восприимчивость к возбудителям гноеродных инфекций, возбудителям туберкулеза и другим микробам.

Голодание или недоедание (алиментарная дистрофия), белковая и витаминная недостаточность оказывают неблагоприятное влияние на механизмы, которые препятствуют размножению и распространению микробов в его внутреннюю среду. Они вызывают резкое снижение реактивности макроорганизма в результате утраты не только индивидуально приобретенного, но и видового иммунитета. Происходит ослабление защитной функции кожных покровов и слизистых оболочек, воспалительная реакция протекает более вяло, резко угнетается фагоцитарная активность клеток, антителообразование падает, ослабляется высшая нервная деятельность, исчезают аллергические реакции, изменяется клиническая картина многих заболеваний. Нарушение питания ведет к дефициту продукции не только антител, но и многих молекул метаболитических циклов (ферментов, кислот, витаминов и аминокислот, АТФ, НАД и НАДФ и т. д.), которые являются участниками

иммунных молекулярных циклов и нарушают биохимические процессы у микробов, оказывая микробиостатическое действие. Возникает порочный круг, так как развивающаяся болезнь будет способствовать дальнейшему ухудшению питания. Особенно важен дефицит витаминов и незаменимых аминокислот. Исследования показывают, что устойчивость макроорганизма к патогенным бактериям при дефектном питании чаще снижается, в то время как к вирусам, которые являются облигатными внутриклеточными паразитами на генетическом уровне, она, наоборот, усиливается, так как они не имеют собственных белоксинтезирующих систем и поэтому более зависимы от физиологического состояния клетки. Таким образом, голодающий организм может быть более устойчивым к одним инфекционным агентам и менее устойчивым к другим.

Не менее важную роль играет состояние нервной, эндокринной и иммунной систем. Как и нервная система, иммунная система является одной из молодых систем макроорганизма, которая устроена и работает по тому же принципу, что и нервная система, но конечные эффекты будут иммунными, а не нейрогуморальными. Клетки иммунной системы имеют рецепторы к сигнальным молекулам макроорганизма — гормонам и нейромедиаторам. Иммунная система является составной комплексной частью защиты макроорганизма. Она имеет обратную связь с нервной и эндокринной системами. Показано, что реактивность макроорганизма у животных к заражению микробами, действию их токсинов и антигенов зависит от типа высшей нервной деятельности. После отравления стафилококковым, стрептококковым и дифтерийным токсином у крыс со слабым типом высшей нервной деятельности наблюдаются явления разлитого коркового торможения более длительное время, чем у животных с сильной, уравновешенной и подвижной высшей нервной деятельностью. Кора головного мозга играет иммуномодулирующую роль, проявляющуюся в том, что левое полушарие осуществляет контроль за деятельностью Т-лимфоцитов, активность которых подавляется при ее разрушении, а правое полушарие контролирует деятельность В-лимфоцитов и макрофагов. У левшей чаще развиваются ауто-

иммунные заболевания. Психоэмоциональные и посттравматические депрессии, стресс и переутомление ведут к угнетению иммунных реакций в результате повышенного выброса глюкокортикоидов, одна из функций которых заключается в защите макроорганизма от гиперактивности иммунной системы и развитии аутоиммунных процессов. С другой стороны, по каналам обратной связи активация иммунной системы запускает механизмы ЦНС. Клинической иллюстрацией этого являются невротические и психиатрические побочные эффекты при лечении интерфероном.

Все иммунные процессы протекают в нейроэндокринном окружении. Эндокринная система также работает по принципу обратной связи. Заболевания эндокринной системы ведут к значительным изменениям реактивности макроорганизма. Так, у больных сахарным диабетом отмечается повышенная восприимчивость к возбудителям гнойных инфекций, что связано с отсутствием стимулирующего влияния на иммунную систему инсулина, нарушением обмена веществ и подавлением фагоцитоза. Дефицит продукции соматотропного гормона — гормона роста, образуемого передней долей гипофиза и участвующего в регуляции всех видов обмена веществ в организме человека и животных, ведет к недоразвитию тимуса, относящегося к центральным органам иммунной системы, и соответственно к ослаблению иммунных реакций в результате развития иммунодефицита. Глюкокортикоиды, андрогены, эстрогены и прогестерон подавляют иммунные реакции макроорганизма, а гормон роста, тироксин и инсулин обладают стимулирующим действием.

Важную роль в формировании индивидуальной реактивности организма имеет *генетический полиморфизм*. Резистентность и восприимчивость носят полигенный характер. Резистентность включает не только устойчивость к непосредственному возникновению инфекции, но и к дальнейшему ее развитию, удержанию в латентном состоянии. В ряде случаев предполагается наличие фазовой устойчивости к определенным стадиям развития микроба. Генетическая устойчивость к микробам может реализоваться как через иммунную систему, так и минуя ее. Среди генетических факторов иммунной системы в развитии инфекции на-

иболее изучена роль антигенов МНС, а также мутаций генов, регулирующих фагоцитоз, дифференциацию Т- и В-лимфоцитов, продукцию интерферона и т. д. Среди генетических факторов, не реагирующих через иммунную систему, можно отметить: мутации в рецепторах, нарушающих лиганд-рецепторное взаимодействие; мутации в субстратах, метаболизируемых узкоспециализируемыми микробами, и т. д.

Устойчивость к микробам у отдельных индивидуумов, популяции, этнических групп и рас всегда носит относительный характер.

Таким образом, разнообразие проявлений инфекционного процесса, клинический полиморфизм инфекционных болезней являются следствием не только биологических свойств возбудителей данного инфекционного процесса, но и особенностей индивидуальной реактивности поражаемого ими макроорганизма. При этом факторы, ослабляющие защитные функции макроорганизма, способствуют распространению инфекции, а факторы, повышающие резистентность макроорганизма, наоборот, препятствуют ее развитию. В отличие от иммунокомпетентного макроорганизма, в иммунодефицитном макроорганизме резистентность является предопределяющей в возникновении инфекционного процесса. При этом в более чувствительном иммунодефицитном макроорганизме происходит селекция высоковирулентных штаммов микробов, а в иммунном макроорганизме — маловирулентных.

8.4.2. Влияние биологических и социальных факторов окружающей среды на реактивность макроорганизма

Развитие и исход инфекционного процесса во многом определяются условиями окружающей среды, в которой происходит взаимодействие микробов с восприимчивым макроорганизмом. *Внешняя среда играет важную роль в активации механизма передачи инфекции и развитии эпидемического процесса.*

Разнообразные физические, химические и биологические факторы оказывают свое неблагоприятное воздействие не только на микробы, но и на макроорганизм. Классические работы Л. Пастера показали, что даже естественный видовой врожденный иммунитет не является абсолютным. Куры, которые в естественных

условиях не восприимчивы к возбудителю сибирской язвы, в его экспериментах утрачивали свою видовую невосприимчивость в результате переохлаждения после погружения конечностей в холодную воду. В настоящее время этого можно достигнуть путем применения жаропонижающих препаратов. Перегревание, как и переохлаждение, влечет за собой нарушение биохимических процессов в макроорганизме, что способствует снижению устойчивости к микробам. Влияние температуры на сопротивляемость макроорганизма во многом связано со снижением активности фагоцитоза и активности иммунной системы в целом.

На роль температуры и влажности окружающей среды указывают сезонные подъемы заболеваемости различными инфекциями дыхательных путей. Низкая температура и высокая относительная влажность, наблюдающаяся в осенне-зимний период, оказывают неблагоприятное воздействие на реактивность макроорганизма, снижая барьерфиксирующую функцию тканей носоглотки, что сопровождается повышением восприимчивости к различным возбудителям, вызывающим заболевания верхних дыхательных путей.

Помимо температуры и влажности, определенную роль играет действие таких природных факторов, как ультрафиолетовое излучение, ионизирующая радиация и т. д. Действие солнечных лучей на макроорганизм зависит от длины волны, интенсивности и длительности воздействия. Солнечный свет благоприятно действует на макроорганизм и в значительной степени повышает устойчивость к инфекциям. В то же время длительное и интенсивное облучение сопровождается понижением устойчивости макроорганизма к патогенным микробам. Большое значение в нарушении сопротивляемости организма придается действию ионизирующей радиации. Установлено, что небольшие дозы рентгеновских лучей повышают резистентность животных к различным заболеваниям, а повышенные дозы снижают ее, способствуя активации нормальной микрофлоры, развитию бактериемии и септицемии. При этом нарушается проницаемость слизистых оболочек, уменьшается их барьерфиксирующая способность, снижаются функциональная активность фагоцитов и защитные свойства крови. Особую опасность для человека представляют возрастающие дозы ионизирующих излучений,

вызывающие глубокие изменения кроветворной функции костного мозга — поставщика клеток иммунной системы.

У некоторых людей в периоды солнечных вспышек повышается нервная возбудимость, обостряется течение хронических заболеваний и т. д. В эти периоды усиливается также интенсивность взаимодействий в экологических системах микроб-жертва. В своих исследованиях А. Л. Чижевский, разработавший учение о биокосмической природе эпидемических катастроф, и С. Т. Вельховер обнаружили, что патогенность возбудителей инфекционных болезней в такие критические периоды изменяется в сторону повышения их активности (эффект Чижевского—Вельховера). В отличие от этого, защитные силы макроорганизма ослабевают под влиянием пертурбаций магнитосферы и усиления интенсивности излучений Солнца. Природа магнитоэлектрических сил дает основания полагать, что они влияют непосредственно на конформацию молекулярных компонентов живых существ, в том числе и молекул, обеспечивающих взаимодействие в системах микроб-жертва.

Рассматривая действие факторов внешней среды на организм человека, прежде всего следует помнить об огромном влиянии воздействия на него социальных антропогенных факторов, таких как прием антибиотиков и иммунодепрессантов, антиметаболитов и цитостатиков, способствующих снижению реактивности макроорганизма в результате развития иммунодефицита, применение с лечебной целью облучения, интенсивные испытания ядерного оружия, применение пестицидов и т. д. Существенное влияние на развитие и течение инфекционного процесса оказывает проведение профилактических прививок. Вакцинация ведет не только к формированию искусственного активного приобретенного иммунитета, но и созданию *вакуума вирулентности* за счет вытеснения высоковирулентных диких штаммов микробов не вирулентными вакцинными штаммами. Такое нарушение баланса между микробами и макроорганизмом приводит к его восстановлению за счет проникновения в популяцию других, ранее неизвестных патогенов.

Исследования по воздействию антропогенных факторов, проведенные под руководс-

твом А. А. Воробьева, показали, что у работников химических предприятий и лиц, проживающих на территории, граничащей с ними, отмечается тотальное снижение основных показателей иммунитета. Другим примером антропогенного воздействия внешней среды на организм человека может служить аральская зона экологического бедствия, у 80 % жителей которой выявлены серьезные различные нарушения иммунной системы.

Обычно экологические факторы ускоряют появление инфекционных болезней у людей путем создания контакта людей с естественным резервуаром или хозяином инфекции. Значение социально-бытовых условий проявляется в распространении инфекционных заболеваний среди лиц, проживающих на определенной территории и занимающихся определенным производственным видом деятельности. Так, например, в силу профессиональных особенностей зоонозами чаще болеют лица, работающие с животными и проживающие в сельской местности: ветеринары, доярки, охотники, работники мясокомбинатов и т. д. Роль производственных факторов отражена в образных названиях инфекционных болезней, таких как сибирская язва («болезнь тряпичников»), туберкулез («болезнь пролетариата» или «слезы нищеты, выплаканные внутрь»), брюшной тиф («болезнь коммунальщиков») и т. д.

Важную роль в распространении инфекционных заболеваний играют материально-бытовые условия жизни, уровень развития общества, его санитарной культуры, национальные и религиозные обычаи, политическая и экономическая ситуация в обществе и т. д. Например, в развивающихся тропических странах существует обычай прикладывать к пуповине новорожденных (для ее обработки) навоз, землю, глину, помет птиц, порошки, приготовленные из различных субстратов и продуктов, которые часто содержат споры *S. tetani*, что способствует развитию столбняка у новорожденных. Во Вьетнаме встречается фарингеальная форма чумы, что связано с обычаем у маленьких ростом вьетнамок собирать зубами друг у друга в волосах блох, являющихся переносчиками возбудителя чумы, и раздавливать их. В ряде стран, в силу религиозных и национальных

обычаев, существуют ограничения на употребление определенных продуктов питания, что ведет к обеднению и без того скудного пищевого рациона и неблагоприятно сказывается на состоянии макроорганизма. В силу национальных особенностей и традиций источником ботулизма в США служат растительные консервы, в странах Европы — мясные консервы, а в России — рыба и рыбные консервы.

В качестве примера влияния природных факторов через социальные условия на распространение инфекционных болезней можно привести весенне-летнюю сезонность подъема заболеваемости клещевым энцефалитом. Благоприятная температура окружающей среды способствует повышению активности клещей, являющихся резервуаром и источником вируса клещевого энцефалита. Изменение климатических условий обуславливает и сезонный характер работы человека, а именно сбор трав, грибов и ягод, охота и рыболовство, что ведет к усилению контакта с клещами, активации трансмиссивного механизма передачи вируса и росту заболеваемости клещевым энцефалитом. Другим примером влияния социальных факторов является рост заболеваемости воздушно-капельными инфекциями у школьников после начала учебного года. Начало занятий в школах ведет к обновлению и перемешиванию коллектива детей, увеличению не иммунной прослойки, скученности большого количества людей в закрытых помещениях и активации воздушно-капельного механизма передачи инфекций при заносе микробов извне.

Возникновению новых и активации старых инфекционных болезней способствуют такие социальные факторы, как изменение технологии производства, особенно пищевых продуктов; технологии разведения домашних и сельскохозяйственных животных; развитие международного туризма и коммерции; изменение поведения людей и т. д.

В индустриально развитых странах приблизительно 50 % взрослого населения переносят первичное инфицирование вирусом Эпштейна—Барр в детском или подростковом возрасте. Первый пик подъема антител к данному вирусу отмечается у детей, второй пик — у подростков, что связано с повышением их социальной и половой активности.

Максимальная частота инфекционного мононуклеоза отмечается у девочек в возрасте 14—16 лет, а у мальчиков в 16—18 лет. К окончанию подросткового периода большинство лиц являются сероположительными.

Необходимо помнить, что инфекционные болезни это, прежде всего, социальные заболевания (социальная проблема общества). Рост их свидетельствует об экономическом неблагополучии в обществе. Классическим примером социальных заболеваний являются туберкулез и лепра, трахома и сифилис, протозойные инвазии и кишечные инфекции. Особенно резко проявляется влияние социальных факторов во время политической и экономической нестабильности, сочетающейся с природными катаклизмами. Национальные бедствия, военные действия ведут к значительной гибели людей, уничтожению природных и экономических ресурсов, неконтрольной миграции населения, обусловленной отсутствием безопасности для жизни, ухудшением материальных, а также санитарно-бытовых условий жизни. Все это препятствует своевременному проведению эффективных лечебно-профилактических мероприятий, так как помимо медицинских задач надо одновременно решать массу других, более важных экономических проблем.

8.5. Характерные особенности инфекционных болезней

Инфекционная болезнь — это специфическое инфекционное состояние, вызванное отдельным, самостоятельным в видовом, а иногда и типовом отношении возбудителем. Непосредственной причиной возникновения инфекционных болезней является внедрение в макроорганизм патогенных микробов и/или их токсинов, которые вступают во взаимодействие с клетками и тканями макроорганизма. Возбудителями инфекционных болезней являются патогенные бактерии, вирусы и грибы. Болезни, вызванные простейшими, гельминтами и насекомыми, относятся к *инвазионным*, или *паразитарным*, болезням.

Инфекционные болезни в отличие от других заболеваний имеют ряд особенностей.

1. Инфекционные болезни характеризуются *нозологической специфичностью*, которая

заключается в том, что каждый патогенный микроб вызывает «свою», присущую только ему, инфекционную болезнь и локализуется в том или ином органе или ткани. Этой нозологической специфичности нет у условно-патогенных микробов.

По этиологическому принципу инфекционные болезни подразделяют на: а) бактериозы (бактериальные инфекции), б) вирусные инфекции; г) микозы и микотоксикозы.

Инвазионные или паразитарные болезни подразделяют на: а) протозоозы (протозойные инвазии); б) гельминтозы; в) инфестации (заболевания, вызванные членистоногими).

2. Инфекционные болезни характеризуются *контагиозностью* (син. инфекционностью, заразительностью). Это, прежде всего, заразные болезни. Под контагиозностью (от лат. *contagiosus* — заразный, заразительный) подразумевается легкость, с которой возбудитель передается от зараженного организма незараженному, или быстрота распространения микробов среди восприимчивой популяции с помощью цепной реакции или веерообразной передачи.

Для инфекционных болезней характерно наличие *заразительного периода* — промежутка времени в течении инфекционной болезни, когда возбудитель может распространяться прямо или опосредованно от больного макроорганизма к восприимчивому макроорганизму, в том числе с участием членистоногих переносчиков. Продолжительность и характер этого периода специфичны для данной болезни и обусловлены особенностями патогенеза и экскреции микроба из макроорганизма. Этот период может охватывать все время болезни или ограничиваться определенными периодами болезни и, что важно с эпидемиологической точки зрения, начинаться уже в ходе инкубационного периода.

Для качественной оценки степени контагиозности применяют *индекс контагиозности*, определяемый как процент заболевших из числа лиц, подвергшихся опасности заражения за определенный период времени. Индекс контагиозности зависит от таких переменных величин, как вирулентность штамма микроба; интенсивность и продолжительность времени его выделения из организма хозяина; доза и способ распространения; выживаемость микроба в

окружающей среде; степень восприимчивости макроорганизма. Степень контагиозности не одинакова. Так, корь относится к высококонтагиозным болезням, поскольку корью заболевают практически 100 % лиц, контактировавших с больным и не имеющих иммунитета к вирусу (индекс контагиозности 0,98). В то же время эпидемическим паротитом переболевает менее половины лиц, подвергшихся опасности заражения (индекс контагиозности 0,35–0,40).

3. Инфекционным болезням свойственна *цикличность течения*, которая заключается в наличии последовательно сменяющихся периодов исходя из патогенеза заболевания. Длительность периодов зависит как от свойств микроба, так и от резистентности макроорганизма, особенностей иммуногенеза. Даже при одном и том же заболевании у разных лиц длительность этих периодов может быть разной.

Различают следующие периоды развития болезни: инкубационный (скрытый); продромальный (начальный); период основных или выраженных клинических проявлений болезни (период разгара); период угасания симптомов болезни (ранний период реконвалесценции); период выздоровления (реконвалесценции).

Период с момента внедрения микроба (заражения, инфицирования) в макроорганизм до начала первых клинических проявлений болезни получил название *инкубационного* (от лат. *incubo* — покоюсь или *incubatio* — без внешних проявлений, скрытое). В течение инкубационного периода происходит адаптация возбудителя к внутренней среде зараженного макроорганизма и преодоление им защитных механизмов последнего. Помимо адаптации микробов происходит их размножение и накопление в макроорганизме, движение и избирательное накопление в определенных органах и тканях (тканевой и органной тропизм), которые в наибольшей степени подвержены повреждению. Со стороны макроорганизма уже в инкубационном периоде происходит мобилизация его защитных сил. Признаков болезни в этом периоде еще нет, однако при специальных исследованиях можно обнаружить начальные проявления патологического процесса в виде характерных морфологических изменений, обменных и иммунологических сдвигов, циркуляции микробов и их антигенов

в крови. В эпидемиологическом плане важно, что макроорганизм в конце инкубационного периода может представлять эпидемиологическую опасность вследствие выделения из него микробов в окружающую среду.

Длительность инкубационного периода имеет определенную продолжительность, подверженную колебаниям как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения. При одних инфекционных болезнях длительность инкубационного периода исчисляется часами, как, например, при гриппе; при других — неделями и даже месяцами, как, например, при вирусном гепатите В, бешенстве, медленных вирусных инфекциях. Для большинства инфекционных болезней длительность инкубационного периода равна 1–3 неделям.

Продромальный, или начальный, период (от греч. *prodromos* — предвестник) начинается с появления первых клинических симптомов болезни общего характера в результате интоксикации макроорганизма (недомогание, озноб, повышение температуры, головная боль, тошнота и т. д.). Характерных специфических клинических симптомов, на основании которых можно было бы поставить точный клинический диагноз, в этот период нет. На месте входных ворот инфекции нередко возникает воспалительный очаг — **первичный аффект**. Если при этом в процесс вовлекаются регионарные лимфатические узлы, то говорят о **первичном комплексе**.

Продромальный период наблюдается не при всех инфекционных болезнях. Обычно он длится 1–2 суток, но может укорачиваться до нескольких часов или удлиняться до 5–10 дней и более.

Продромальный период сменяется *периодом основных или выраженных клинических проявлений болезни* (период разгара), который характеризуется максимальной выраженностью общих неспецифических симптомов болезни и появлением специфических или абсолютных (облигатных, решающих, патогномичных), свойственных только данной инфекции симптомов болезни, которые позволяют поставить точный клинический диагноз. Именно в этом периоде находят свое наиболее полное выражение специфические патогенные свойства микробов и ответная реакция макроорганиз-

ма. Этот период нередко подразделяется на три стадии: 1) стадия нарастания клинических проявлений (*stadium incrementi*); 2) стадия максимальной выраженности клинических проявлений (*stadium fastigii*); 3) стадия ослабления клинических проявлений (*stadium decrementi*). Длительность этого периода существенно различается при разных инфекционных болезнях, а также при одном и том же заболевании у разных лиц (от нескольких часов до нескольких суток и даже месяцев). Данный период может закончиться летально, или болезнь переходит в следующий период, который называется *периодом угасания симптомов болезни (ранний период реконвалесценции)*.

В период угасания происходит исчезновение основных симптомов болезни, нормализация температуры. Этот период сменяется *периодом реконвалесценции* (от лат. *re* — обозначающего повторность действия и *convalescentia* — выздоровление), который характеризуется отсутствием клинических симптомов, восстановлением структуры и функции органов, прекращением размножения возбудителя в макроорганизме и гибелью микроба, либо процесс может перейти в микробоносительство. Длительность периода реконвалесценции также широко варьирует даже при одной и той же болезни и зависит от ее формы, тяжести течения, иммунологических особенностей макроорганизма, эффективности проводимого лечения.

Выздоровление может быть полным, когда все нарушенные функции восстанавливаются, или неполным, когда сохраняются остаточные (резидуальные) явления, представляющие собой более или менее стабильные изменения тканей и органов, возникающие на месте развития патологического процесса (деформации и рубцы, параличи, атрофия тканей и т. д.). Различают: а) клиническое выздоровление, при котором исчезают только видимые клинические симптомы болезни; б) микробиологическое выздоровление, сопровождающееся освобождением макроорганизма от микроба; в) морфологическое выздоровление, сопровождающееся восстановлением морфологических и физиологических свойств пораженных тканей и органов. Обычно клиническое и микробиологическое выздоровление не совпадают с полным восстановлением

морфологических повреждений, длящихся продолжительное время. Помимо полного выздоровления, исходом инфекционной болезни может быть формирование микробоносительства, переход в хроническую форму течения болезни, летальный исход.

В клинических целях инфекционную болезнь принято делить по типу, тяжести и течению. Под *типом* принято понимать выраженность признаков, свойственных данной нозологической форме. К *типичным формам* относят такие случаи болезни, при которых имеются все ведущие клинические симптомы и синдромы, свойственные данной болезни. К *атипичным формам* относят стертые, инаппарантные, а также молниеносные и абортивные формы.

При *стертых формах* отсутствует один или несколько характерных симптомов, а остальные симптомы, как правило, слабо выражены.

Инаппарантные (син.: субклинические, скрытые, бессимптомные) формы протекают без клинических симптомов. Они диагностируются с помощью лабораторных методов исследования, как правило, в очагах инфекции.

Молниеносные (син. фульминантные, от лат. *fulminare* — убивать молнией, молниеносная, или гипертоксические) формы характеризуются очень тяжелым течением с быстрым развитием всех клинических симптомов. В большинстве случаев эти формы заканчиваются летально.

При *абортивных* формах инфекционная болезнь с самого начала развивается типично, но внезапно обрывается, что характерно, например, для брюшного тифа у привитых.

Течение инфекционных болезней различают по характеру и длительности. По характеру течение может быть гладким, без обострений и рецидивов, или негладким, с обострениями, рецидивами и осложнениями. По длительности течение инфекционной болезни может быть *острым*, когда процесс заканчивается в течение 1–3 месяцев, затяжным или *подострым* с продолжительностью до 4–6 месяцев и *хроническим* — свыше 6 месяцев.

Осложнения, возникающие при инфекционных болезнях, можно условно разделить на специфические, вызванные действием основного возбудителя данной инфекционной болезни, и неспецифические.

4. В ходе инфекционных болезней происходит *формирование иммунитета*, что является характерной чертой инфекционного процесса. Напряженность и длительность приобретенного иммунитета существенно различаются при разных инфекционных болезнях — от выраженного и стойкого, практически исключающего возможность повторного заражения в течение всей жизни (например, при кори, чуме, натуральной оспе и т. д.) до слабого и кратковременного, обуславливающего возможность повторного заболевания даже спустя короткий промежуток времени (например, при шигеллезах). При большинстве инфекционных болезней формируется стойкий, напряженный иммунитет.

Интенсивность формирования иммунитета в процессе инфекционной болезни во многом определяет особенности течения и исход инфекционной болезни. *Характерной чертой патогенеза инфекционных болезней является развитие вторичного иммунодефицита*. В ряде случаев неадекватно выраженная иммунная реакция, направленная на локализацию и элиминацию микроба, принимает иммунопатологический характер (гиперергические реакции), что способствует переходу инфекционного процесса в хроническую форму и может поставить макроорганизм на грань гибели. При низком уровне иммунитета и наличии микробов в макроорганизме возможно возникновение обострений и рецидивов. **Обострение** — это усиление симптомов заболевания в период угасания или период реконвалесценции, а **рецидив** — это возникновение повторных приступов заболевания в период выздоровления после исчезновения клинических симптомов болезни. Обострения и рецидивы наблюдаются преимущественно при длительно протекающих инфекционных болезнях, например при брюшном тифе, роже, бруцеллезе, туберкулезе и т. д. Они возникают под действием факторов, снижающих резистентность макроорганизма, и могут быть связаны с естественным циклом развития микробов в макроорганизме, как, например, при малярии или возвратных тифах. Обострения и рецидивы могут быть как клиническими, так и лабораторными.

5. Для постановки диагноза при инфекционных болезнях применяются *специфические микробиологические и иммунологические методы*

диагностики (микроскопическое, бактериологическое, вирусологическое и серологическое исследования, а также постановка биопробы и кожных аллергических проб), которые нередко являются единственным достоверным способом подтверждения диагноза. Эти методы делятся на *основные* и *вспомогательные* (дополнительные), а также методы *экспресс-диагностики*.

К основным методам диагностики относятся методы, которые применяются для постановки диагноза у каждого обследуемого больного комплексно в динамике заболевания в обязательном порядке.

Дополнительные методы позволяют более детально оценить состояние больного, а методы экспресс-диагностики — поставить диагноз на ранних сроках, в первые дни болезни.

Выбор методов диагностики определяется первичным клинико-эпидемиологическим диагнозом и особенностями предполагаемой нозологической формы.

6. Для лечения и профилактики инфекционных болезней, помимо этиотропных препаратов, к которым относятся антибиотики и другие противомикробные препараты, применяют *специфические препараты*, направленные непосредственно против данного микроба и его токсинов. К специфическим препаратам относят вакцины, сыворотки и иммуноглобулины, бактериофаги, эубиотики и иммуномодуляторы.

8.6. Формы инфекционного процесса

Проявления инфекционного процесса разнообразны. По происхождению различают *экзогенную инфекцию*, возникающую в результате заражения микробами извне, и *эндогенную инфекцию* (син. парентеральная инфекция, аутоинфекция), вызванную микробами, находящимися в самом макроорганизме и относящимися к условно-патогенным представителям нормальной микрофлоры. Возникновение эндогенной инфекции связано с ослаблением защитных сил макроорганизма под влиянием факторов, ведущих к снижению резистентности макроорганизма и развитию вторичного иммунодефицита.

В зависимости от локализации возбудителя различают *очаговую инфекцию* (син. локальная инфекция, местная инфекция), при которой

возбудитель остается в месте входных ворот инфекции и не распространяется по макроорганизму, и *генерализованную инфекцию*, при которой микроб распространяется по макроорганизму различными путями, а именно лимфогенно, гематогенно, бронхогенно и перинеурально. Это деление условно, так как при снижении резистентности макроорганизма очаговая инфекция может трансформироваться в генерализованную. Местный очаговый воспалительный процесс часто является лишь этапом патогенеза общего генерализованного инфекционного процесса. В том случае, если микроб короткий промежуток времени находится в крови, не размножаясь в ней (в данном случае кровь выполняет функцию транспортной среды), говорят о бактериемии, риккетсиемии, спирохетемии, вирусемии или паразитемии. *Бактериемия, вирусемия и т. д. — обязательный этап патогенеза всех инфекционных и инвазивных болезней с трансмиссивным механизмом заражения.* Распространяясь по макроорганизму с током крови, микробы могут быть ассоциированы с клеточными элементами либо находиться в свободном виде в плазме. Клеточная мембрана защищает микробы от неблагоприятных воздействий. Более широким понятием, чем бактериемия, вирусемия и т. д. является *антигенемия*, которая обозначает наличие антигенов в крови в форме комплексов, представляющих целиком клетку микроба, или отдельных антигенов микробов в крови, например O- или K-антигенов бактерий. Антигенемия есть даже в тех случаях, когда микробы в ток крови не проникают, например при холере или шигеллезах. При наличии токсинов в крови говорят о *токсинемии*. Инфекции, при которых микроб остается в месте входных ворот инфекции, а все основные клинические симптомы заболевания связаны с действием белковых бактериальных токсинов, получили название *токсинемических инфекций* (дифтерия, столбняк, ботулизм, газовая гангрена). В тех случаях, когда кровь и лимфа являются местом постоянного обитания и размножения микробов, говорят о *сепсисе* (от греч. *sepsis* — гниение) или *септицемии*, представляющей собой форму сепсиса, при которой входные ворота инфекции неизвестны. При возникновении вторичных

отдаленных гнойных очагов во внутренних органах возникает *септикопиемия*.

Инфекции, вызванные одним видом микробов, получили название *моноинфекции*, а вызванные одновременно несколькими видами микробов — *смешанной* или *микст-инфекции*. От микст-инфекции следует отличать *вторичную инфекцию*, при которой к уже развившемуся инфекционному процессу, вызванному каким-либо одним видом микроба, присоединяется новый инфекционный процесс, вызванный другим микробом или микробами, вследствие снижения резистентности макроорганизма под действием первого микроба. Чаще всего вторичную инфекцию вызывают представители собственной микрофлоры, например, развитие бактериальной пневмонии при гриппе. От микст-инфекции и вторичной инфекции следует отличать *суперинфекцию* — повторное заражение тем же микробом, что ведет к усилению клинической картины того периода болезни, при котором произошло это заражение, и *реинфекцию* — повторное заражение тем же микробом, но после полного выздоровления.

Инфекционный процесс может сопровождаться развитием болезни с полным набором характерных для нее клинических симптомов, что получило название *манифестной формы инфекции* (от лат. *manifestus* — явный), или же не проявляться клинически, что называют *инаппарантной* (син. скрытой, бессимптомной) *формой инфекции*.

По длительности взаимодействия микроба с макроорганизмом можно условно выделить два типа инфекционного процесса.

Первый тип характеризуется *непродолжительным пребыванием микроба в макроорганизме*. К нему относятся:

острая продуктивная инфекция длительностью до 3 месяцев, которая в ряде случаев переходит в *затяжную форму инфекции*, длящуюся от 3 до 6 месяцев. Затяжная (или подострая) форма характеризуется увеличением периода разгара и периода реконвалесценции болезни и нередко является переходом от острой к хронической инфекции;

инаппарантная, субклиническая инфекция, которая характеризуется отсутствием клинических симптомов и сопровождается развити-

ем характерного комплекса иммунологических, функциональных и структурных изменений в макроорганизме, которые развиваются циклически и соответствуют острой форме инфекционного процесса. Данная форма заканчивается формированием иммунитета и полным освобождением макроорганизма от микроба. Диагностика инаппарантных форм инфекции возможна лишь в очагах инфекционных заболеваний на основании специфических методов исследования (изменение нарастания титров антител в динамике, морфологические исследования, постановка аллергических проб и т. д.).

Второй тип характеризуется длительным пребыванием микроба в макроорганизме, или *персистенцией* (от лат. *persistentia* — сохранение предыдущего состояния, упорство, постоянство). Персистенция говорит о неспособности общества и макроорганизма справиться с микробом и о способности последнего выжить в макроорганизме. Механизмы развития персистенции разнообразны. Важную роль играют: образование морфологически измененных или дефектных форм микробов (L-форм бактерий, цист, дефектных вирусных частиц); формирование лекарственной устойчивости; способность микробов к внутриклеточному паразитированию (возбудители малярии и лейшмании, вирусы, хламидии и т. д.); блокирование апоптоза клеток хозяина; наличие как врожденных, так и приобретенных иммунодефицитов, в том числе под действием микробов; развитие иммунологической толерантности, а также аутоиммунных и аллергических реакций в макроорганизме и т. д. Отличительной чертой персистенции является то, что она развивается на фоне приобретенного иммунитета, который оказывается неэффективным, а также то, что для ряда микробов она является патогенетической нормой (вирусы, риккетсии и хламидии, микобактерии, трепонема, бруцеллы, возбудитель четырехдневной малярии). Персистенция может проявляться в форме:

микробоносительства (бактерио-, паразито-, вирусо- или миконосительства), представляющего собой инфекционный процесс на субклиническом уровне, при котором микроб короткий или длительный промежуток времени, а в ряде случаев пожизненно сохраняется

в макроорганизме, не вызывая клинических проявлений, и выделяется в окружающую среду. Микробоносительство сопровождается иммунологическими изменениями в макроорганизме. Морфологические и функциональные изменения в макроорганизме слабо выражены. Исключение составляет здоровое микробоносительство, при котором морфофункциональных и иммунологических изменений нет. Носительство может формироваться как в результате перенесенного заболевания (брюшной тиф, сальмонеллез, дифтерия), так и являться одной из стадий инфекционного процесса, предшествуя его генерализации (менингококковая инфекция);

латентной инфекции (син. дремлющая инфекция), являющейся своеобразной формой микробоносительства, при которой микроб длительно находится в макроорганизме, но не выделяется в окружающую среду. Как правило, латентная инфекция является закономерной стадией инфекционного процесса при заболеваниях, склонных к хроническому течению (бруцеллез, сифилис, герпетическая инфекция, токсоплазмоз);

хронической инфекции, которая длится свыше 6 месяцев и может протекать в виде непрерывной или рецидивирующей формы, характеризующейся сменой периодов ремиссий и обострений, при которых микробы выделяются в окружающую среду в течение многих месяцев и даже лет. К первично-хроническим заболеваниям относятся бруцеллез, туберкулез, лепра, малярия и сифилис.

В вирусологии в отдельную группу выделены *медленные вирусные инфекции*.

8.7. Особенности формирования патогенности у вирусов. Формы взаимодействия вирусов с клеткой. Особенности вирусных инфекций

В отличие от других представителей мира микробов, вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами на генетическом (молекулярном) уровне. Среди них нет непатогенных, поэтому применительно к ним термин «патогенность» обычно не применяют, а вирулентность обозначают как *инфекционность* или *инфекциозность*. В связи с вы-

шеизложенным инфекционный процесс при вирусных инфекциях связан прежде всего с поражением клеток, в которых они размножаются, и всегда является взаимодействием двух геномов — вирусного и клеточного.

Патогенные свойства вирусов складываются из следующих компонентов: способности вируса проникать в организм и адсорбироваться на клеточных мембранах, проникать в чувствительные к ним клетки; способности этих клеток депротенинировать вирусный геном и делать его функционально активным; перmissивности клеток или возможности этих клеток обеспечить транскрипцию и репликацию генетического материала, полноценную сборку вирионов; возможности воспроизведения в клетках нескольких циклов репродукции вирусов, цитопатического действия вируса; способности вирусов распространяться на новые клетки, расположенные рядом с пораженными; распространения вирусов за пределы первичного очага поражения по всему организму; способности вызывать местные и общие патологические процессы, лежащие в основе клинических проявлений вызываемых ими заболеваний; способности вируса к переходу в новый организм и обеспечение его эстафетной передачи.

Все эти свойства необходимы, но в то же время сами по себе они могут быть недостаточными для патогенного действия вируса. Некоторые из этих свойств обусловлены клетками, в которых они размножаются, что получило название *хозяйного* или *хозяйского ограничения клеткой*.

Многие вирусы проникают в организм непосредственно через слизистые оболочки, которые служат входными воротами инфекции и защищены целым рядом неспецифических факторов резистентности, поэтому вирусы должны быть устойчивы к действию данных неблагоприятных факторов, что детерминруется генами вирусов. Например, кишечные вирусы обычно устойчивы к кислым значениям pH, детергентному действию солей желчных кислот и к разрушающему их действию протеолитических ферментов.

Способность вирусов адсорбироваться на мембранах чувствительных к вирусам клеток является специфическим процессом для вирусов. Этот процесс протекает при участии *прикрепительных белков (антирецепторов)* у вирусов и чувствительных к ним *клеточных рецепторов*. Простые вирусы содержат прикрепительные белки в составе капсида, а сложноустроенные вирусы — в составе суперкапсида. Такие сложные вирусы, как вирус осповакцины и вирус простого герпеса, могут иметь прикрепительные белки нескольких видов. Способность вирусов менять круг хозяев и адаптироваться к новому хозяину обусловлена изменением первичной структуры в области участка прикрепительного белка, узнающего клеточный рецептор. Эти участки консервативны по своему строению и расположены в углублениях-каньонах, которые чрезвычайно малы по своим размерам, благодаря чему недоступны для активных центров антител, реагирующих лишь с окружающими эти углубления гипервариабельными участками, что позволяет вирусам избежать иммунологического пресса. Мутации в генах, кодирующих антирецепторы, иногда приводят к полной потере способности вирусов взаимодействовать с клеточными рецепторами.

Сама по себе адсорбция вирусов на поверхности клетки далеко не всегда приводит к проникновению вирусов в клетки. Многие вирусы, имеющие гемагглютинин на своей поверхности, адсорбируются на эритроцитах, особенно на безъядерных эритроцитах млекопитающих, но не проникают в них, поскольку последние лишены способности к эндоцитозу. Это же в значительной степени справедливо и для сохранивших ядра птичьих эритроцитов. Но если одновременно с эндоцитозом не произойдет *слияния клеточных и вирусных мембран* при заражении сложными вирусами, имеющими суперкапсид, и *сходного взаимодействия вирусного капсида с клеточной мембраной* при заражении простыми вирусами, то только лишь эндоцитоза будет недостаточно, так как эндоцитозная вакуоль станет «кладбищем» для вирионов. Эта стадия взаимодействия чрезвычайно важна и специфична для разных вирусов. В ней принимают участие специальные *белки слияния*, которые есть у

многих оболочечных вирусов, или их *функциональные участки*. Белки слияния приводят к нарушению функции клеточных мембран, изменению их проницаемости. Белки слияния не идентичны прикрепительным белкам вирусов. Наиболее хорошо изучен белок слияния у парамиксовирусов, получивший название F-белка (от англ. *fusion* — слияние). Область F-белков, участвующая в слиянии, обладает высоким консерватизмом. Мутации в этой области блокируют процесс слияния. Слияние может происходить извне и изнутри. При высокой множественности заражения происходит слияние извне, которое появляется почти сразу же после заражения и не требует синтеза кодируемых вирусом белков. Слияние изнутри обнаруживается при низкой множественности заражения. Оно обусловлено вновь синтезированными белками слияния и появляется на поздних стадиях инфекционного процесса. Для проявления инфекционной активности вирусов необходим *посттрансляционный процессинг белков слияния*, заключающийся в протеолитическом нарезании белка-предшественника в результате точечного или ограниченного протеолиза, что ведет к его активации и образованию фрагмента, взаимодействующего с клеточной мембраной. Этим белки слияния вирусов напоминают протоксинны бактерий. Для нарезания вирусных белков требуются протеазы определенной специфичности. Эти протеазы могут иметь как клеточное, так и вирусное происхождение. Мутации в участке нарезания ведут к блокированию протеолиза и продукции неинфекционных вирусов, не способных осуществлять многоцикловую инфекцию, поэтому инфекционный процесс будет носить *абортивный характер*. Степень протеолиза имеет большое значение для генерализации вирусной инфекции в организме. Посттрансляционная модификация вирусных белков в результате протеолитического нарезания является критическим моментом в окончательном приобретении вирусами инфекционной активности и представляет уязвимую мишень для ингибиторов протеолиза. Белки слияния вирусов выводят из строя не только зараженные, но и не зараженные вирусами клетки, входящие в состав синцития. Они обуславливают возможность перехода вирусов

из клетки в клетку по образовавшимся межклеточным мостикам, благодаря чему вирусы не попадают в межклеточное пространство и становятся недоступными для вируснейтрализующих антител.

В отличие от парамиксовирусов, у вирусов гриппа белком слияния является гемагглютинин, обуславливающий также адсорбцию вирусов к клетке. Однако функции прикрепления и слияния разделены между разными его участками большой (НА1) и малой (НА2) субъединицами соответственно. Важным фактором патогенности у вирусов гриппа является нейраминидаза, которая, удаляя остатки сиаловой кислоты с вирусного гемагглютинина, делает его доступным для протеолитического расщепления, необходимого для проявления инфекционности вирусов.

Очевидно, что сходный по функции с белками слияния сложных вирусов белок существует в составе капсида простых вирусов, и один из поверхностно расположенных белков капсида вызывает дестабилизацию клеточной мембраны, что способствует проникновению модифицированного капсида из эндоцитарной вакуоли в цитоплазму.

Взаимодействие вируса и клетки — это всегда взаимодействие вирусного и клеточного генома. В результате адсорбции вируса, его проникновения в клетку и раздевания происходит освобождение генетического материала вирусов, который становится функционально активным, так как освобождается от внешних защитных оболочек, препятствующих его экспрессии. Степень активности генома обусловлена разной степенью депротенинизации у вирусов разных семейств. Депротенинизация осуществляется либо клеточными протеазами, либо поверхностно-активными структурами клетки (хозяйное ограничение клетки). Исключение составляют вирусы оспы. При этом для сложноустроенных вирусов **минимальной инфицирующей структурой** оказались внутренние компоненты вирусной частицы — сердцевинки и нуклеокапсиды с модифицированными белками и измененной конформацией, а для простых вирусов — нуклеиновые кислоты, тесным образом соединенные с внутренними или геномными белками, функция которых связана с функциями генома и их регуляцией. *Ключевым моментом в репликации*

вирусов является использование для синтеза вирусных белков хозяйских структур клетки, синтезирующих белки. Эукариотическая клетка навязывает вирусу два **ограничения**. *Во-первых*, так как клетка синтезирует в ядре свою собственную мРНК путем транскрипции своей ДНК и последующего посттранскрипционного процессинга транскрипта, ни в ядре, ни в цитоплазме нет ферментов, необходимых для транскрипции мРНК с вирусного РНК-генома, а в цитоплазме нет ферментов, способных транскрибировать вирусную ДНК. Поэтому клеточную транскриптазу могут использовать только ДНК-геномные вирусы, способные проникать в ядро. Все другие вирусы *должны создавать собственные ферменты для синтеза мРНК*. Для транскрипции ДНК-геномных вирусов в цитоплазме клетки необходим специальный фермент — вирусная РНК-полимераза, которая является структурным вирусным белком. У РНК-геномных вирусов транскрипция осуществляется вирусоспецифическими транскриптазами, которые могут быть как структурными (эндогенная транскриптаза), так и неструктурными белками. У сложноустроенных РНК-геномных вирусов транскрипция происходит не на голой матрице РНК, а в составе вирусных нуклеокапсидов или сердцевин (*транскриптивные комплексы*). Связанные с геномом капсидные белки необходимы для транскрипции, так как они обеспечивают правильную конформацию тяжа РНК, защиту его от клеточных протеаз, связь отдельных фрагментов генома друг с другом, а также регуляцию транскрипции. *Во-вторых*, синтезирующий аппарат эукариотической клетки приспособлен для трансляции только моноцистронных мРНК, так как он не распознает внутренних участков инициации в мРНК. В результате вирусы вынуждены синтезировать либо отдельные мРНК для каждого гена, либо мРНК, включающие несколько генов и кодирующие большой полипротеин, который затем разрезается на индивидуальные белки. Транскрипция вирусного генома строго регулируется на протяжении инфекционного процесса многочисленными вирусоспецифическими и клеточными факторами. Со степенью транскрипции нередко связан характер инфекции, ее тип (от продуктивной до abortивной инфекции).

Важную роль в регуляции процессов транскрипции играют *гены усилители и трансаktиваторы*. Они расположены в специальной области генома вирусов и содержат гены, усиливающие и активирующие экспрессию структурных генов. **Усилители** — это генетические элементы, усиливающие транскрипцию. Структура вирусных усилителей не отличается от структуры клеточных. Факторы транскрипции, связывающиеся с промотором и усилителем, выполняют одну и ту же функцию и могут представлять собой как *клеточные*, так и *вирусные белки*. Усилители, контролирующие уровень экспрессии генов, обнаружены у паповавирусов, гепаднавирусов, герпесвирусов, ретровирусов и ряда других вирусов.

Белки **трансаktиваторы** не обладают специфичностью действия. Они связываются с регуляторными областями генов и одновременно активируют усиленную транскрипцию *всех генов*, в том числе и других вирусов, что сопровождается взрывной продукцией вирусных частиц, а также включают экспрессию бактериальных генов и клеточных онкогенов. Они действуют не только на стадии транскрипции, но и на посттранскрипционном уровне. Взаимодействие вирусных и клеточных трансаktиваторов может приводить к переходу латентной инфекции в литическую, а также к онкогенной трансформации зараженных клеток. Как и усилители, трансаktиваторы содержат две важные для их функции области. Одна из них определяет *транспорт и связывание* белка с мишенью, а другая представляет собой *активный центр* и выполняет основную, активирующую, функцию белка. Блокировка функции трансаktиваторов на основе конкуренции с белками-мутантами или пептидами, соответствующими функциональным областям трансаktиваторов является перспективным направлением в противовирусной терапии. Трансаktиваторы обнаружены у вируса иммунодефицита человека, вируса гепатита В, герпесвирусов, аденовирусов, паповавирусов.

Усилители и трансаktиваторы являются необходимым атрибутом вирусов как генетических паразитов, конкурирующих с клеточным геномом. Неравные шансы небольших по размерам вирусов на победу уравниваются возникшими в ходе эволюции генетическими

элементами, позволяющими гораздо меньшей по величине молекуле вирусного генома успешно завершить экспрессию своих генов и создать вирусное потомство. При этом вирусы широко используют механизмы клеточного происхождения, которые теперь обращены против клетки хозяина.

Важную роль в формировании патогенности сложных вирусов, помимо посттрансляционной модификации вирусных белков, играет синтез М-белка (матриксного белка), участвующего в сборке вирусной частицы. Включение М-белка в плазматическую мембрану является лимитирующим событием, определяющим возможность почкования вирусных частиц. Синтез М-белка жестко регулируется как вирусоспецифическими, так и клеточными механизмами. Количество М-белка в зараженных клетках во многом определяет особенности репродукции вируса в данной клеточной системе. Аберрантный синтез М-белка и его нарушенный внутриклеточный транспорт служат одной из частых причин abortивных и персистентных вирусных инфекций. Экспрессия гена М значительно варьирует в клетках разного происхождения.

Патогенность вирусов обусловлена также их белковыми продуктами, блокирующими апоптоз клетки и изменяющими защитные реакции в макроорганизме, подавляя продукцию цитокинов, что способствует репродукции вирусов и их распространению по макроорганизму. Например, вирусы натуральной оспы образуют TNF-связывающий белок, белки, подавляющие созревание антигенов МНС I класса и аналог рецепторов γ -интерферона. Вирус иммунодефицита человека, наоборот, усиливает продукцию цитокинов пораженными им клетками, что ведет к усилению воспалительной реакции и развитию нейротоксического действия. Как и другие микробы, вирусы, благодаря наличию внешней липидсодержащей оболочки, образованной из мембраны клетки хозяина, вариативности структуры поверхностных антигенов, интеграции в геном клетки, гибели Т-лимфоцитов и т. д., обладают способностью уходить от воздействия иммунной системы макроорганизма.

Заражение восприимчивых клеток вовсе не означает, что в клетках неизбежно будет

происходить размножение вируса, так как восприимчивость не идентична перmissивности клеточной системы. Это одна из главных концепций в вирусологии. Многие стадии взаимодействия вируса с клеткой имеют не столько вирусоспецифическую, сколько опосредованную клеткой природу (эндоцитоз, депротеинизация, синтез вирусоспецифических белков и т. д.). Клетка принимает активное участие в формировании патогенных вирусов лишь в перmissивной клеточной системе, содержащей весь набор необходимых факторов, используемых вирусами на разных стадиях инфекционного процесса, а репликативный цикл завершается и приводит к образованию инфекционного потомства, что не будет происходить в полуперmissивных и неперmissивных клеточных системах (*хозяйинная или хозяйская рестрикция*).

Патогенность вирусов имеет адресный характер. Каждый вирус занимает свою экологическую нишу. Одни из них поражают широкий круг хозяев, другие — более или менее близкие между собой виды, третьи — единственный вид, хотя экспериментальными моделями могут быть разные виды животных. В пределах вида хозяина вирус поражает определенные клетки, которые имеют рецепторы к данному вирусу, что и определяет тканевую тропизм вирусов. При этом разные вирусы могут взаимодействовать с различными клеточными рецепторами, так как одни и те же клетки могут иметь рецепторы для разных вирусов. С другой стороны, рецепторы для одного и того же вируса могут иметь разные клетки. Чаще всего наличие на клетках рецепторов для вирусов является и показателем возможности репродукции в них вирусов.

Тканевой тропизм определяется не только наличием на клетках рецепторов, но и возможностью осуществления в клетках *вирусоспецифических синтезов*. В зависимости от перmissивности клеточной системы инфекция восприимчивых клеток может быть **продуктивной, ограниченной и abortивной**. *Продуктивная инфекция* происходит в перmissивных клетках и характеризуется полным циклом репродукции, который заканчивается формированием инфекционного потомства. Перmissивность клеточной системы обуслов-

ливает и многократную цикличность размножения в ней вирусов.

Abortивной называется инфекция, которая не завершается образованием инфекционных вирусных частиц или при которой они образуются в гораздо меньшем количестве, чем при продуктивной инфекции. Abortивная инфекция может наступить в силу двух обстоятельств. Во-первых, несмотря на восприимчивость к заражению, клетки могут оказаться неперmissивными, так как в них могут экспрессироваться не все, а лишь некоторые гены вирусов. В основе механизмов генетически обусловленной неперmissивности клеток лежит либо отсутствие клеточных факторов, необходимых для репродукции, либо наличие факторов, нарушающих процессы репродукции вирусов. Во-вторых, abortивная инфекция может быть результатом заражения как перmissивных, так и неперmissивных клеток **дефектными вирусами**, у которых отсутствует полный набор вирусных генов, необходимых для репродукции. Дефектные вирусы представляют собой крайнюю форму паразитизма, так как они используют генные продукты, образованные другими, часто не родственными им, не гомологичными вирусами. Примером таких вирусов являются аденоассоциированные вирусы и вирус гепатита D, помощником которого служит вирус гепатита В. Abortивную инфекцию вызывают также **дефектные интерферирующие вирусные частицы**, которые тоже лишены части генетического материала. В отличие от дефектных вирусов, в ходе репликации они интерферируют с гомологичными инфекционными вирусами, в связи с чем их назвали дефектными интерферирующими вирусными частицами (ДИ-частицами). Образование ДИ-частиц играет важную роль в ослаблении летального действия полноценных вирусов в силу интерференции и предрасполагает некоторые клетки к формированию в них длительной персистентной инфекции.

Наконец, клетки могут быть только временно перmissивными, вследствие чего вирус либо сохраняется в клетках до момента, когда они становятся перmissивными, либо в любой данный момент вирусное потомство образуется только в немногих клетках популяции. Этот вид инфекции одними иссле-

дователями был определен как *рестриктивный* (restrictive), другими — как *ограниченный* (restringent). В ряде случаев цитолитические вирусы могут только лишь изменять функциональную активность клеток, не вызывая их морфологических повреждений (изменять синтез гормонов, холестерина и т. д.), или вызывать опухолевую трансформацию клеток. Дополнительным следствием как ограниченной, так и abortивной инфекции является сохранение в клетке вирусного генома.

Если геном вируса реплицируется независимо от клеточного генома, такая инфекция называется *автономной*. Если вирусный геном интегрирует в состав генома клетки и реплицируется вместе с ним, то такая инфекция называется *интегративной* (*виrogenия*). Интегрировать может как полный геном, так и часть его. Например, при гепатите В возможна интеграция полного генома, при аденовирусной или герпесвирусной инфекциях обычно интегрирует часть генома, при заражении онковирусами может интегрировать как полный геном, так и часть его. Вирусные последовательности, входящие в состав генома клетки, называются *провирусом* или *провирусной ДНК*. Интеграционный тип инфекционного процесса возможен при заражении адено-, папиллома-, герпесвирусами, вирусом гепатита В и обязателен для ретровирусов, имеющих фермент — обратную транскриптазу. Возникшая интеграция может явиться причиной ряда хронических и аутоиммунных заболеваний.

По исходу взаимодействия с клеткой инфекция может быть *цитолитической* и *нецитолитической*. Инфекция, завершающаяся гибелью клетки, называется цитолитической. Инфекция, которая непосредственно не приводит к лизису клетки, в результате чего клетка еще может функционировать в течение определенного периода времени, продуцируя вирусные частицы, называется нецитолитической. Инфицирование клетки запускает механизмы ее запрограммированной гибели, что препятствует репродукции и распространению вирусов. Поэтому ряд вирусов, например поксвирусы, имеют в своем составе гены, белковые продукты которых ингибируют апоптоз. Вирусы могут изменять только лишь функциональную активность клеток,

без изменения их морфологии, или вызывать опухолевую трансформацию клеток.

Взаимодействие вируса с клеткой может носить как острую, так и хроническую форму. *Острой* называется такая форма инфекции при которой после образования вирусного потомства клетка либо погибает, либо выздоравливает и не содержит вирусных компонентов. *Хронической* называется такая форма инфекции, при которой клетка длительное время продолжает продуцировать вирусные частицы или вирусные компоненты и передает эту способность дочерним клеткам. Следует отметить, что для вирусных инфекций характерна гетерогенность вирусной популяции и изменение ее в динамике инфекционного процесса, формирование отдельных клонов, в том числе агрессивных, смена антигенной специфичности.

В результате разрушения клеток вирионы и вирусные компоненты, а также продукты распада клеток, образовавшиеся в результате автолиза клеток, поступают в ток крови, вызывая развитие симптомов интоксикации в виде лихорадки, а также вызывают развитие симптомов воспаления. Одновременно развиваются иммунные реакции как клеточного, так и гуморального типа.

Повреждение клеток вирусами, их отмирание и распад переносят вирусную инфекцию с клеточного уровня на *органный* и *организменный уровень*. Распространение инфекции может происходить путем контакта с клетками, в том числе и по межклеточным мостикам, образовавшимся в результате слияния мембран изнутри; с выделениями слизистых оболочек как в близлежащие, так и более отдаленные ткани и органы; по ходу нервных стволов. Но чаще всего вирусы распространяются с током крови — гематогенно. Именно этим путем вирусы разносятся по организму и нередко принимают *вторичную локализацию*. Классическим примером служит полиомиелит, при котором вирус первично локализуется в эпителии тонкой кишки. В подавляющем большинстве случаев инфекционный процесс здесь и заканчивается, однако в ряде случаев развивается вирусемия, в результате которой вирус может вторично локализоваться в ЦНС, а именно в клетках передних рогов спинного мозга, а также в продолговатом мозге, что ве-

дет к возникновению параличей и летальному исходу. Основную роль в распространении вирусов по макроорганизму играет состояние резистентности макроорганизма.

На **организменном уровне** вирусные инфекции можно разделить на *очаговые инфекции*, при которых действие вирусов проявляется в месте входных ворот инфекции, и *генерализованные инфекции*, при которых после ограниченного периода репродукции вирусов в первичном очаге происходит генерализация инфекционного процесса и вирус достигает чувствительных тканей макроорганизма, формируя в них вторичные очаги. По длительности взаимодействия с макроорганизмом инфекция может быть *острой* и *персистентной*. Острая инфекция соответствует продуктивной инфекции на уровне клетки. Она может протекать как в клинически выраженной, так и инapparантной форме и завершается либо выздоровлением, либо гибелью организма. Персистентная инфекция в зависимости от выделения вируса в окружающую среду и появления симптомов заболевания проявляется в виде *вирусоносительства, латентной, хронической* или *медленной вирусной инфекции*.

Медленной вирусной инфекцией называется такое взаимодействие вирусов с организмом, которое характеризуется длительным инкубационным периодом, длящимся многие месяцы и годы, последующим медленным и прогрессирующим течением заболевания с неизбежным летальным исходом, поражением какой-либо одной системы макроорганизма (как правило, ЦНС).

Большинство вирусов человека и животных способны персистировать в макроорганизме, что ведет к проэпидимичиванию населения и сохранению вирусов как биологического вида. Способность к персистенции выработалась у многих вирусов как механизм длительного сохранения в организме теплокровного хозяина или членистоногого-переносчика. Персистенция вирусов может быть итогом действия многих причин, связанных как с вирусом, так и с клеткой хозяина, например в результате изменения репликации и транскрипции вируса при заражении неполным или дефектным вирусом, образования мутантов, изменения экспрессии вирусных генов, нарушения функции иммуно-

цитов, приводящего к супрессии иммунного ответа. Способность к персистенции определяется во многом перmissивностью клеточной системы. Так, в эпителиальных и других интенсивно делящихся клетках происходят полные многократные циклы репродукции герпесвирусов. В нервных же клетках, которые, как известно, не делятся, герпесвирусы не размножаются, а существуют в виде плазмиды, так как в этих клетках нет ферментов, обуславливающих клеточно-зависимый синтез вирусных ДНК.

8.8. Понятие об эпидемическом процессе

Эпидемический процесс — это процесс возникновения и распространения среди населения специфических инфекционных состояний — от бессимптомного носительства до манифестных заболеваний, вызванных циркулирующим в коллективе возбудителем.

Условия и механизмы формирования эпидемического процесса, методы его изучения, а также совокупность противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение и снижение инфекционных заболеваний, являются предметом изучения специальной наукой — эпидемиологией.

Биологической основой эпидемического процесса является паразитарная система, т.е. взаимодействие популяций паразита и хозяина. В процессе такого взаимодействия при любой инфекции или инвазии происходит взаимное влияние популяций паразита и хозяина, которые в результате этого взаимно адаптационно изменяются. Взаимодействие паразитарной системы с социальными условиями жизни населения превращает ее в эпидемический процесс.

Эпидемический процесс обуславливает непрерывность взаимодействия трех его элементов:

- 1) источник инфекции;
- 2) механизмы, пути и факторы передачи;
- 3) восприимчивость коллектива.

Выключение любого из этих звеньев приводит к прерыванию эпидемического процесса.

Первый элемент эпидемического процесса представляет собой источник инфекции. Понятие «источник возбудителя инфекции» означает живой или абиотический объект,

являющийся местом естественной жизнедеятельности патогенных микробов, из которого происходит заражение людей или животных. Источником инфекции могут быть организм человека (больного или носителя), организм животного и абиотические объекты окружающей среды.

Инфекции, при которых источником инфекции служит только человек, называются антропонозными, а инфекции, при которых источником инфекции служат больные животные, но может болеть и человек, — зоонозными. Кроме того, выделяют группу сапронозов, при которых источником инфекции служат объекты окружающей среды. Сапронозы — это болезни, возбудители которых имеют не только позвоночного хозяина, но и место развития, и резервуар неживого происхождения (органические вещества, в том числе пища, почва, растения).

Возбудители сапронозов являются псевдопаразитами человека и животных. Они постоянно и естественно обитают в окружающей среде (вода, почва) и для поддержания своего существования в природе не обязательно нуждаются в эпидемическом процессе. В связи с этим эпидемический процесс сапронозов представляет собой процесс заражения людей в результате лишь автономного «выброса» возбудителей из объектов окружающей среды в человеческий коллектив без последующего воспроизводства одного случая заболевания в другие. Эпидемический процесс при сапронозах представляет собой проявление способности их возбудителей к ложному паразитизму, а каждый случай заболевания человека является, как и при зоонозах, биологическим тупиком. Возбудители сапронозов, прежде чем вызвать заражение людей, нередко концентрируются на объектах окружающей среды в условиях, имитирующих (по крайней мере, по температуре и влажности) среду живого зараженного организма человека или животного: легионеллы — в испарителях кондиционеров или в душевых установках, иерсинии — на гниющих овощах в овощехранилищах и т. д. В результате образуется масса микробов, достаточ-

ная для формирования инфицирующей дозы (которая должна быть очень большой, как во всех случаях, когда речь идет об условно-патогенных микроорганизмах), обеспечивающей преодоление защитных иммунологических барьеров организма. При этом происходит не просто механическая концентрация микробов, но и их размножение, сопровождающееся процессами изменчивости, в частности повышение вирулентности. Происходит своеобразное явление, которое можно обозначить как «феномен преадаптации» возбудителей сапронозов к переходу от сапрофитического существования в окружающей среде к паразитическому образу жизни в организме.

Второй элемент эпидемического процесса составляют механизмы, пути и факторы передачи инфекции. Русским ученым-эпидемиологом Л. В. Громашевским был сформулирован закон соответствия механизма передачи и локализации возбудителя в организме, согласно которому механизмы, пути и факторы передачи инфекции можно представить следующим образом (табл. 8.1).

Третий элемент эпидемического процесса составляет восприимчивость коллектива. Замечено, что если иммунная прослойка в популяции составляет 95 % и выше, то в данном коллективе достигается состояние эпидемического благополучия и циркуляция возбудителя прекращается. Поэтому задачей по предупреждению эпидемий является создание в коллективах данной иммунной прослойки путем проведения вакцинации против соответствующих возбудителей.

В соответствии с этим противоэпидемические мероприятия, проводимые в коллективе, могут быть направлены на различные звенья эпидемического процесса. Мероприятия 1-й группы направлены на источник инфекции, мероприятия 2-й группы — на разрыв механизмов и путей передачи, мероприятия 3-й группы — на восприимчивый коллектив.

К мероприятиям 1-й группы относится комплекс мер, направленных на ликвидацию источника инфекции: больных необходимо выявлять, изолировать и лечить; носителей — выявлять, ставить на учет и санировать; больных животных, как правило, уничтожают.

ГЛАВА 8. Учение об инфекции

Таблица 8.1. Механизмы, пути и факторы передачи инфекции для разных групп инфекционных болезней

| Локализация возбудителей в организме | Механизм передачи | Пути передачи | Факторы передачи |
|--------------------------------------|----------------------------|---|---|
| ЖКТ | Фекально-оральный | Алиментарный Водный Контактно-бытовой | Пища Вода Грязные руки Мухи Посуда и т. п. |
| Респираторный тракт | Аэрогенный (респираторный) | Воздушно-капельный Воздушно-пылевой | Воздух Пыль |
| Кровь | Кровяной | Через укусы кровососущих эктопаразитов Парентеральный Половой | Эктопаразиты Кровь Шприцы Хирургический инструментарий Инфузионные растворы и т. п. |
| Наружные покровы | Контактный | 1) раневой 2) контактно-половой | Пули и т. д. Режущие предметы и т. п. |
| Зародышевые клетки | Вертикальный | Вертикальный | |

Мероприятия 2-й группы, направленные на разрыв механизмов и путей передачи, включают в себя комплекс санитарно-гигиенических мероприятий по благоустройству населенных пунктов (например, централизованное водоснабжение и канализация), разукрупнение организованных коллективов, карантинные мероприятия, санитарный надзор за объектами пищевой промышленности и общепита, соблюдение правил асептики, антисептики, дезинфекции и стерилизации в больничных учреждениях и др. Это наиболее трудоемкие и, к сожалению, наименее эффективные мероприятия, особенно при инфекциях, характеризующихся множественностью механизмов, путей и факторов передачи, как, например, зоонозные или внутрибольничные инфекции (ВБИ).

Мероприятия 3-й группы, направленные на восприимчивый коллектив, включают в себя, если это возможно, мероприятия по созданию искусственного приобретенного иммунитета — активного (путем проведения вакцинации) или пассивного (с помощью сывороток и иммуноглобулинов). При отсутствии в арсенале врача специфических профилактических иммунобиологических препаратов мероприятия 3-й группы сво-

дятся к санитарно-просветительной работе среди населения.

В соответствии с вышеизложенным, инфекции можно подразделить на *управляемые*, при которых имеются эффективные меры воздействия на одно или несколько звеньев эпидемического процесса (например, вакцинация), и *неуправляемые*, при которых такие меры отсутствуют. Поэтому конечной целью эпидемиологии по борьбе с управляемыми инфекциями является их ликвидация в глобальном, мировом масштабе. К 1980 г. усилиями мирового сообщества, координируемыми ВОЗ, удалось ликвидировать особо опасную инфекцию — натуральную оспу. В ближайших планах ВОЗ — ликвидация ряда других управляемых инфекций, таких как полиомиелит, корь и др.

Интенсивность эпидемического процесса выражается в интенсивных показателях заболеваемости (смертности): количество заболевших (умерших) на 10 000 или 100 000 населения, с указанием названия болезни, территории и исторического отрезка времени. Эпидемиологи различают три степени интенсивности эпидемического процесса:

- спорадическая заболеваемость — это обычный уровень заболеваемости данной но-

зологической формой на данной территории в данный исторический отрезок времени;

- эпидемия — это уровень заболеваемости данной нозологической формой на данной территории в конкретный отрезок времени, резко превышающий уровень sporadicской заболеваемости;

- пандемия — это уровень заболеваемости данной нозологической формой на данной территории в конкретный отрезок времени, резко превышающий уровень обычных эпидемий. Как правило, такой уровень заболеваемости трудно удержать в рамках определенного географического региона и заболеваемость обычно быстро распространяется, захватывая новые и новые территории (например, пандемии чумы, холеры, гриппа, ВИЧ-инфекции и др.). Не исключена возможность пандемии какого-либо заболевания в строгих географических рамках, например пандемия сыпного тифа в период Гражданской войны в России (1918–1922 гг.), которая не вышла за границы России.

Эндемия не характеризует интенсивность эпидемического процесса, она включает в себя относительную частоту заболеваемости данной нозологической формой на данной географической территории. Различают *эндемию природно-очаговую*, связанную с природными условиями и ареалом распространения в природе резервуаров инфекции и переносчиков (например, природные очаги чумы), и *эндемию статическую*, обусловленную комплексом климатогеографических и социально-экономических факторов (например, холера в Индии и Бангладеш).

В соответствии с распространенностью инфекционные болезни можно разделить на:

1. Кризисные — заболеваемость свыше 100 случаев на 100 000 населения, например СПИД.

2. Массовые — заболеваемость 100 случаев на 100 000 населения, например острые респираторные заболевания (ОРЗ), острая кишечная инфекция (ОКИ), гнойно-воспалительные заболевания (ГВЗ).

3. Распространенные управляемые — заболеваемость менее 20 случаев на 100 000 населения, например газовая гангрена, псевдотуберкулез.

5. Sporadicские — единичные случаи на 100 000 населения, например сыпной тиф.

8.8.1. Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней

С учетом изложенных выше особенностей эпидемического процесса разработана современная эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней человека (табл. 8.2).

Первичное эколого-эпидемиологическое разделение всех инфекционных болезней человека должно учитывать в своей основе главную среду обитания (резервуар) возбудителя в природе, с которой так или иначе связано заражение человека. Существуют три главные специфические среды обитания возбудителя: организм человека (антропонозы), организм животного (зоонозы), внешняя среда (сапронозы). Сочетание двух резервуаров возбудителя свойственно переходным формам. При антропонозах человек — единственный резервуар возбудителя в природе и источник заражения. Во главу угла классификации здесь ставится характер взаимоотношений возбудителя с организмом человека (локализация) либо с человеческой популяцией (механизм передачи). При более детальной классификации антропонозов придерживаются общепринятого деления на кишечные, кровяные, респираторные, наружных покровов и «вертикальные» (от матери плоду).

Принципиально другая картина наблюдается у инфекций, возбудители которых имеют внечеловеческие резервуары в природе. При этих инфекциях локализация возбудителя в организме человека или механизм его передачи от человека человеку есть вовсе не причина, а следствие процессов, обеспечивающих нормальную жизнедеятельность патогенного микроба.

При зоонозах основным резервуаром возбудителя в природе служат животные, преимущественно млекопитающие, и членистоногие. Именно они обеспечивают существование возбудителя как биологического вида и вызывают эпизодическое заражение человека, тогда как роль человека биологически недетерминирована и несущественна для па-

Таблица 8.2. Эколого-эпидемиологическая классификация инфекционных болезней

| Классы инфекционных болезней | Группы внутри классов | Основной резервуар возбудителя | Репрезентативные болезни |
|------------------------------|--|--------------------------------|--|
| Антропонозы | Кишечные Респираторные Кровяные Наружных покровов «Вертикальные» | Человек | Брюшной тиф, гелатит А, полиомиелит, корь, краснуха, дифтерия, паротит, ветряная оспа, сыпной тиф, возвратный тиф вшивый, сифилис, гонорея и др. |
| Зоонозы | Домашних и синантропных животных | Животные | Бруцеллез, ящур, Ку-лихорадка, орнитоз, трихофития и др. |
| | Диких животных (природно-очаговые) | | Туляремия, клещевой риккетсиоз, клещевые боррелиозы, арбовирусные инфекции, обезьянья оспа, бешенство, лихорадка Ласа и др. |
| Сапронозы | Почвенные | Почва | Клостридиозы, актиномикоз, аспергиллез, гистоплазмоз, бластомикоз, кокцидиоидомикоз и др. |
| | Водные | Вода | Легионеллез, холера, мелиоидоз, НАГ-инфекция и др. |
| | Зоофильные (сапрозоонозы) | Внешняя среда + животные | Сибирская язва, лептоспирозы, иерсинеозы, листериоз, столбняк и др. |

разита. Зоонозы делятся на две эколого-эпидемиологические группы: болезни домашних (сельскохозяйственных, пушных, домашних) и синантропных (в основном грызуны) животных; болезни диких животных.

При сапронозах основной резервуар возбудителя — субстраты внешней среды (почва, вода и др.), которые способны сами по себе обеспечить устойчивое его существование в природе. Для возбудителей типичных сапронозов внешняя среда служит практически единственной или основной средой обитания возбудителя. Другие сапронозы представляют длинный и плавный переход к зоонозным инфекциям, в ходе которых постепенно возрастает роль животных как резервуара возбудителя. Их называют сапрозоонозами.

Классификация сапронозов по механизму передачи невозможна. Человек и теплокровные животные являются биологическим «тупиком» для возбудителя, поэтому закономерной цепной передачи его от особи к особи не существует. Эпидемический процесс носит качественно иной — веерообразный — ха-

рактер, будучи представлен независимыми заражениями людей от общего резервуара — субстратов внешней среды. С эпидемиологических позиций сапронозы подразделяются по природным резервуарам на почвенные и водные.

«Чистые» сапронозы — природно-очаговые заболевания: их возбудители являются компонентами естественных наземных или водных экосистем. Доказано автономное существование легионелл в природных водоемах; клостридий и грибов — возбудителей глубоких микозов в почве.

Сапрозоонозы — болезни, возбудители которых, помимо сапрофитического существования, ведут паразитический образ жизни, причем связи их с животными закономерны, хотя подчас и неспецифичны (широкий круг различных хозяев). Эта группа инфекций экологически близка к зоонозам, отличаясь, однако, возможностью длительного автономного обитания возбудителей во внешней среде. Заражение человека возможно как от почвы, воды, растительных субстратов, так и от животных.

8.8.2. Понятие о конвенционных (карантинных) и особо опасных инфекциях

Настоящее время характеризуется бурным ростом международных связей. Активации межгосударственной миграции населения в значительной степени способствует развитие современных транспортных средств. Попытки предотвращения распространения инфекционных болезней путем установления разного рода карантинных мер известны с XIV в. Накопленный опыт международных мер по предупреждению распространения карантинных инфекций позволил прийти к принципиальному выводу: без наличия быстрой и централизованной системы обмена эпидемиологической информацией между государствами невозможно своевременно принять соответствующие меры национальной и международной безопасности.

Конвенционная (карантинная) болезнь — это болезнь, система информации и меры профилактики которой обусловлены международными соглашениями (конвенцией).

1 октября 1952 г. вступили в действие Международные медико-санитарные правила, которые касались чумы, холеры, желтой лихорадки и натуральной оспы. Основная цель этих Правил заключалась в обеспечении противоэпидемической защиты государств от заноса инфекций. Правила обязывают национальные органы здравоохранения немедленно уведомлять ВОЗ о возникновении карантинных болезней и регулярно сообщать об эпидемиологической ситуации в стране. В свою очередь, на ВОЗ возлагается ответственность за быстрое распространение получаемой информации.

При возникновении в любой точке планеты случаев карантинных инфекций вступает в силу, согласно Правилам, следующая система:

- 1) страна направляет в ВОЗ информацию о возникших случаях;
- 2) ВОЗ обрабатывает данные и направляет их всем странам мира;
- 3) страны мира, получив информацию, принимают решение относительно проведения

каких-либо особых противоэпидемических мероприятий и информируют об этом ВОЗ;

4) ВОЗ обрабатывает полученную информацию и направляет ее всем странам мира.

Аналогичным образом осуществляется обмен информацией после ликвидации случая заболевания в пораженном районе. Главным каналом передачи информации является еженедельный эпидемиологический бюллетень «Weekly epidemiological Record» (WER), а также автоматическая телексная связь накопления и передачи информации, по которой распространяется дневная сводка по карантинным болезням.

Наиболее эффективный контроль за международным распространением инфекционных болезней может быть основан на постоянно действующей системе глобального эпидемиологического надзора, направленного, с одной стороны, на выявление и уменьшение размеров пораженных болезнью территорий, а с другой — на совершенствование противоэпидемических мероприятий, снижающих риск распространения заболевания в случае его завоза извне. Глобальный эпидемиологический надзор за заразными болезнями предусматривает изучение распространения инфекции не только в пределах одной страны, но и циркуляцию ее между странами. В России действуют Правила по санитарной охране территории, которые распространяются на особо опасные инфекционные и паразитарные болезни: холеру, чуму, желтую лихорадку (карантинные болезни); вирусные геморрагические лихорадки Ласса, Марбург и Эбола; малярию и другие опасные для человека инфекционные болезни, передаваемые комарами (лихорадки денге, Чинкунгуны, Рифт-валли, Западного Нила, энцефаломиелиты — западный, восточный, венесуэльский; энцефалиты — японский, калифорнийский, Сан-Луи, долины Муррей). Санитарная охрана территории России представляет собой систему общегосударственных мероприятий, направленных на предотвращение заноса из-за рубежа и распространения на территории России особо опасных инфекций, ограничение и ликвидацию очагов этих болезней при их выявлении.

Часть II

ОБЩАЯ ИММУНОЛОГИЯ

ГЛАВА 9. УЧЕНИЕ ОБ ИММУНИТЕТЕ И ФАКТОРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

9.1. Введение в иммунологию

Организм каждого человека окружает и вместе с ним сосуществует в тех или иных взаимных отношениях не только мир микробов и другие представители живой природы (насекомые, червеобразные, земноводные, пресмыкающиеся, рыбы, млекопитающие, растения), но и огромное число макромолекул, обладающих биологически активным воздействием на организм. Эти макромолекулы, к которым относятся белки, полисахариды, липиды, нуклеиновые кислоты и их комплексы, имеют как природное происхождение, т. е. являются продуктами жизнедеятельности или распада представителей животного и растительного мира, так и искусственно синтезированные человеком, поскольку они необходимы для обеспечения его жизнедеятельности (лекарственные препараты, пищевые белки, ферменты, сахара и пр.).

Биологически активные вещества, макромолекулы, попадая в организм, могут вмешиваться в биологические процессы и нарушать их. Поскольку многочисленные биологически активные макромолекулы являются чужеродными для организма, они объединены в единую группу, получившую название «антигены». Для защиты от антигенов эволюция создала у теплокровных да и у низших представителей живой природы специальную систему противодействия им. Эта система получила название иммунной, а ее функция защиты от антигенов именуется иммунитетом.

9.1.1. Сущность и роль иммунитета

Термин «**иммунитет**» (от лат. *immunitas* — освобождение от чего-либо, неприкосновенность) применялся уже в средние века при освобождении, например, крестьян от податей, а в наше время он нашел употребление у дипломатов (дипломатический иммунитет, т. е.

неприкосновенность). Биологический смысл термина «иммунитет» очень точно соответствует смысловому значению тех процессов, которые направлены на защиту, неприкосновенность, освобождение организма от биологически активных веществ — антигенов.

Следует подчеркнуть, что антигенами, в первую очередь, могут быть только вещества, генетически чужеродные именно для данного организма, т. е. генетически, структурно отличающиеся от биополимеров, входящих в структуры данного организма; далее, они должны представлять собой макромолекулы веществ определенного класса, т. е. белки, полисахариды, липиды, нуклеиновые кислоты и их комплексы, которые, несмотря на отличие по своей структуре и другим свойствам от макромолекул данного организма, могут воздействовать на течение биологических макромолекулярных процессов этого организма и вызывать функциональные и органические нарушения, т. е. изменять гомеостаз — постоянство внутренней среды организма.

Мир антигенов чрезвычайно разнообразен и многочислен. Антигены могут проникать в организм через дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, кожу и слизистые оболочки (экзогенные антигены) или формироваться в результате мутаций клеток и молекул или других процессов в самом организме (эндогенные антигены). Для защиты от антигенов эволюция создала сложную систему защиты, получившую название «система иммунитета». Эта система у теплокровных представлена лимфоидной тканью, имеющей присущие ей анатомическое строение, формы и механизмы реагирования, специфические, а также физиологические функции.

Основная функция иммунной системы — распознать антиген, т. е. установить его гене-

тическую чужеродность, генетическое отличие от собственных антигенов, и комплексом реакций и механизмов, присущих иммунной системе, устранить его влияние на биологические процессы, протекающие в организме, с целью сохранения гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма, а также сохранить специфическую память об этом антигене, иногда на всю жизнь.

Помимо этого иммунная система охраняет и поддерживает антигенную индивидуальность собственных биополимеров организма, поскольку каждый человек на планете (кроме однойцовых близнецов) имеет присущие только ему генетически детерминированные антигенные особенности биополимеров. В случае возникновения антигенно отличных молекул или клеток (в результате мутационных или патологических процессов, например появления клеток злокачественных опухолей) иммунная система распознает их и уничтожает.

Таким же образом биополимеры всех видов животного и растительного мира, в том числе и микробов, генетически отличаются по антигенной структуре, т. е. имеют видовую антигенную особенность.

Следовательно, **иммунитет** — это способ защиты организма от генетически чужеродных веществ — антигенов экзогенного и эндогенного происхождения, направленный на поддержание и сохранение гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма, биологической (антигенной) индивидуальности каждого организма и вида в целом.

9.1.2. Иммунология как общебиологическая и общемедицинская наука

Иммунитет как общебиологическое и общемедицинское явление, его функцию в организме, анатомические структуры и механизмы, осуществляющие иммунитет, изучает специальная наука — иммунология.

Иммунология как наука возникла более 100 лет назад, и по мере ее развития и прогресса (см. разд. 1.3.) менялись взгляды на иммунитет, на его роль в организме, на механизмы иммунных реакций, расширялась сфера практического ис-

пользования иммунологии, а в соответствии с этим менялось определение иммунологии науки. Нередко, даже в современной учебной литературе, иммунологию трактуют как науку, которая изучает специфическую невосприимчивость к возбудителям инфекционных болезней, разрабатывает способы защиты от антигенов, поддержания гомеостаза и т. д., т. е. не дает всестороннего, всеобъемлющего определения иммунологии исходя из сущности и механизмов иммунитета и его роли в жизнедеятельности организма. На современном этапе развития учения об иммунитете иммунологию можно определить как общебиологическую и общемедицинскую науку, которая изучает способы и механизмы защиты организма от генетически чужеродных веществ — антигенов экзогенного и эндогенного происхождения с целью поддержания гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма, а также генетически детерминированной антигенной индивидуальности каждого индивидуума и вида в целом.

Такое определение подчеркивает: а) что иммунология изучает способы и механизмы защиты от любых генетически чужеродных для данного организма антигенов, будут ли они микробного, животного, растительного или другого происхождения; б) что механизмы иммунитета направлены против антигенов, которые могут проникать в организм, как извне, так и формироваться в самом организме; в) что система иммунитета направлена на сохранение и поддержание генетически детерминированной антигенной индивидуальности каждой особи, каждого индивидуума, а также вида в целом.

Это определение иммунологии свидетельствует также о том, что иммунология как наука едина, независимо от того, изучает ли она иммунитет человека, животных или растений. Конечно, анатомио-физиологическая основа, набор механизмов и реакций, а также способов защиты от антигенов у разных представителей животного и растительного мира будет отличаться и варьировать, однако принципиальная сущность иммунитета от этого меняться не будет. В связи с этим в иммунологии можно выделить три направления: медицинская иммунология (гомоиммунология), зооиммунология и фитоиммунология, изучающие иммунитет соответственно у человека, животных и растений.

Таблица 9.1. Классификация медицинской иммунологии

| Иммунология | |
|--------------------------|-----------------------------------|
| Общая | Частная |
| Молекулярная | Иммунопрофилактика (вакцинология) |
| Клеточная | Аллергология |
| Физиология иммунитета | Иммуноонкология |
| Иммунохимия | Трансплантационная иммунология |
| Иммуногенетика | Иммунология репродукции |
| Эволюционная иммунология | Иммунопатология |
| | Иммунобиотехнология |
| | Иммунофармакология |
| | Экологическая иммунология |
| | Клиническая иммунология |

Каждое из этих направлений в иммунологии дифференцируется по методам и по объекту изучения, т. е. в них можно выделить общую и частную иммунологию. Классификация медицинской иммунологии представлена в табл. 9.1.

Иммунология относится к числу разветвленных наук, имеет множество направлений и разделов, сформировавшихся практически в самостоятельные дисциплины, охватывающие как теоретические, фундаментальные, так и профилактические и клинические проблемы медицины.

Иммунология решает такие важные проблемы медицины, как диагностика, профилактика и лечение инфекционных болезней (иммунопрофилактика или вакцинология), аллергических состояний (аллергология), злокачественных опухолей (иммуноонкология), болезней, в механизме которых играют роль иммунопатологические процессы (иммунопатология), иммунные взаимоотношения матери и плода на всех стадиях репродукции (иммунология репродукции); изучает иммунные механизмы и вносит практический вклад в решение проблемы трансплантации органов и тканей (трансплантационная иммунология); можно также выделить иммуногематологию, изучающую иммунные взаимоотношения донора и реципиента при переливании крови; иммунофармакологию, изучающую влияние на иммунные процессы лекарственных веществ. Самостоятельным важным разделом, возникшим в результате интеграции имму-

нологии и биотехнологии, является иммунобиотехнология, разрабатывающая принципы и методы создания иммунобиологических диагностических, профилактических и лечебных препаратов. Наконец, в последние годы выделились клиническая и экологическая иммунология. Клиническая иммунология изучает и разрабатывает проблемы диагностики и лечения болезней, возникающих в результате врожденных (первичных) и приобретенных (вторичных) иммунодефицитов, а экологическая иммунология изучает влияние на иммунную систему всевозможных экологических факторов (климатогеографических, социальных, профессиональных и т. д.).

Практически каждое направление иммунологии решает присущие ему задачи на молекулярном, клеточном, организменном уровне, т. е. пользуются данными общей иммунологии. Все большее значение по мере развития фундаментальных наук приобретает иммуногенетика, основной целью которой является разработка генодиагностики, генотерапии и генопрофилактики болезней, иммунокардиология, изучающая иммунологические аспекты атеросклероза кровеносных сосудов, и другие направления.

Таким образом, иммунология пронизывает буквально все профилактические и клинические дисциплины и решает исключительно важные проблемы медицины, такие как снижение частоты и ликвидация инфекционных болезней, диагностика и лечение аллергий, онкологических заболеваний, иммунопато-

логических состояний, иммунопатология репродукции, пересадка органов и тканей, генодиагностика и генотерапия врожденных и приобретенных иммунодефицитов и т. д.

9.1.3. История развития иммунологии

Наблюдения, свидетельствующие о том, что люди повторно не заболевают после того, как перенесли некоторые болезни, были известны с глубокой древности. Такая невосприимчивость человека к болезням объяснялась, например, Гиппократом как «природа (фюзис) организма», «целебные силы» организма, Галеном — как «жизненная сила», Парацельсом — как «залечивающая сила». Термин «иммунитет» как «освобождение от болезней» стал впервые входить в медицинскую литературу с конца XIX в. и закреплен во французском словаре Литтре (1869), хотя и до этого он иногда употреблялся в быту, а также в некоторых средневековых трактатах по медицине.

Хронологически иммунология как наука прошла два больших периода (Т. И. Ульянкина): период протоиммунологии (от античного периода до 80-х годов XIX в.), связанный со стихийным, эмпирическим познанием защитных реакций организма, и период зарождения экспериментальной и теоретической иммунологии (с 80-х годов XIX в. до второго десятилетия XX в.). В течение второго периода завершилось формирование классической иммунологии, которая носила в основном характер инфекционной иммунологии.

Можно также выделить и третий период: начиная с середины XX в. и до наших дней. В этот период быстрыми темпами развивалась молекулярная и клеточная иммунология, а также иммуногенетика, так что этот этап можно назвать молекулярно-генетическим периодом в развитии иммунологии.

Основателями научной иммунологии по праву считаются французский ученый-химик Луи Пастер, открывший принцип вакцинации, русский ученый-зоолог И. И. Мечников — автор учения о фагоцитозе и немецкий врач-биохимик Пауль Эрлих, сформулировавший гипотезу об антителах.

Справедливости ради следует отметить, что возможность предохранения от заболевания натуральной оспой путем прививки человеку коровьей оспы открыл более 200 лет назад английский врач Э. Дженнер, однако это наблюдение носило чисто эмпирический характер.

Таким образом, на рубеже XIX и XX вв. сформировалась новая наука иммунология, которая в течение XX в. ознаменовалась принципиальными открытиями, сделавшими ее общепризнанной биологической и общемедицинской наукой. Основные открытия в области иммунологии приведены в табл. 9.2. О важности открытий в иммунологии для биологии в целом и особенно для медицины свидетельствует то обстоятельство, что авторы многих из них отмечены Нобелевской премией. Так, лауреатами Нобелевской премии в области иммунологии стали: И. И. Мечников, П. Эрлих, Р. Кох, Э. Беринг, Ж. Борде, К. Ландштейнер, Ш. Рише, Д. Снелл, Н. Эрне, Ф. Бернет, П. Медовар, Р. Портер, Д. Эдельман, Ж. Доссе, У. Мильштейн, Д. Келлер, С. Тонегава, С. Прусинер и др. Основатель иммунологии Л. Пастер, который вполне достоин Нобелевской премии, не получил ее, поскольку при его жизни она еще не была учреждена.

Следует отметить, что в XIX в. и первой половине XX в. иммунология успешно развивалась в странах Европы, прежде всего во Франции. В 1888 г. за выдающиеся заслуги Л. Пастера перед человечеством на народные пожертвования был учрежден Институт иммунологии (ныне Институт Пастера), который явился научной школой, вокруг которой группировались иммунологи многих стран. Российские ученые активно участвовали в становлении и развитии иммунологии. Более 25 лет И. И. Мечников являлся заместителем директора по науке Института Пастера, т. е. был ближайшим помощником и единомышленником Луи Пастера.

В Пастеровском институте работали многие выдающиеся русские ученые: М. Безредка, Н. Ф. Гамалея, Л. А. Тарасевич, Г. Н. Габричевский, И. Г. Савченко, С. В. Коршун, Д. К. Заболотный, В. А. Барыкин, Н. Я. и Ф. Я. Чистовичи и многие другие. Эти ученые продолжали развивать традиции Пастера и Мечникова в иммунологии и, по существу, создали русскую школу иммунологов.

ГЛАВА 9. Учение об иммунитете и факторы неспецифической резистентности

Таблица 9.2. Важнейшие даты из истории иммунологии

| Открытие | Год | Авторы |
|---|-----------|-----------------------------|
| Вакцинация людей коровьей оспой | 1796 | Э. Дженнер |
| Фагоцитоз. Клеточный иммунитет | 1884 | И. И. Мечников* |
| Вакцинация против бешенства | 1885 | Л. Пастер |
| Ретикуло-эндотелиальная система и ее роль в иммунитете | 1886 | В. К. Высокович |
| Гиперчувствительность замедленного типа | 1980 | Р. Кох* |
| Хемотаксис лейкоцитов | 1889–1891 | Г. Н. Габричевский |
| Пассивная иммунизация | 1891 | Э. Беринг* |
| Теория боковых цепей | 1897 | П. Эрлих* |
| Комплемент | 1899 | Ж. Борде* |
| Группы крови | 1900 | К. Ландштейнер* |
| Анафилаксия. Гиперчувствительность немедленного типа | 1902–1905 | Ш. Рише*, М. Сахаров |
| Феномен Артюса | 1903 | М. Артюс |
| Сывороточная болезнь. Аллергия | 1905 | К. Пирке |
| Эффект ревакцинации | 1915 | М. Райский |
| Анатоксины, адьюванты | 1923–1930 | Г. Рамон |
| Живая вакцина против желтой лихорадки | 1933–1936 | М. Тейлер* |
| Иммунофлюоресценция | 1942 | А. Кунс |
| Антиглобулиновый тест | 1945 | Р. Кумбс |
| Иммунодиффузия | 1946 | Дж. Уден, Э. Оухтерлони |
| Система H-2 | 1948 | Д. Снелл* |
| Изучение антигенов опухолей | 1948 | Л. Зильбер |
| Интерферон | 1957 | А. Айзекс, Ж. Линдеман |
| Идиотип-антиидиотипическая теория | 1955–1977 | Н. Эрне* |
| Клонально-селекционная теория | 1958 | Ф. Бернет* |
| Иммунологическая толерантность | 1958 | П. Медовар*, М. Гашек |
| Структура иммуноглобулинов | 1958–1968 | Р. Портер*, Д. Эдельман* |
| Система HLA | 1958 | Ж. Доссе* |
| Доказательство роли тимуса как центрального органа иммунитета | 1961 | Ж. Миллер |
| Секреторный IgA | 1963 | Т. Томази |
| Обоснование физиологических основ иммунитета | 1937–1969 | П. Ф. Здродовский |
| Гены иммунного ответа | 1963 | Б. Бенацерафф |
| Лимфокины | 1969 | Д. Дьюмонд |
| Моноклональные антитела | 1975 | У. Мильштейн*, Д. Келлер* |
| Межклеточная кооперация | 1973 | Б. Бенацерафф, Р. В. Петров |
| Имуногенетическая теория образования антител | 1980 | С. Тонегава* |
| Открытие прионов — патогенных белков | 1997 | С. Прусинер* |

*Лауреаты Нобелевской премии.

Российским ученым принадлежат многие выдающиеся открытия в области иммунологии. И. И. Мечников — автор учения о фагоцитозе, В. К. Высокович — одним из первых сформулировал роль ретикулоэндотелиальной системы в иммунитете, Г. Н. Габричевский обосновал явление хемотаксиса лейкоцитов, Н. Я. Чистович стоял у истоков открытия тканевых антигенов, харьковский исследователь М. Райский уже в 1915 г. установил феномен ревакцинации, т. е. иммунологической памяти; М. Сахаров — один из основоположников учения об анафилактики; академик Л. А. Зильбер — стоял у истоков учения об антигенах опухолей, академик П. Ф. Здродовский обосновал физиологическое направление в иммунологии, академик Р. В. Петров внес весомый вклад в развитие неинфекционной иммунологии и в проблему кооперативного взаимодействия клеток иммунной системы, академик А. А. Воробьев — в учение об адьювантах, неспецифических стимуляторах иммуногенеза.

Российские ученые являются лидерами в разработке фундаментальных и прикладных проблем вакцинологии и иммунопрофилактики в целом. Хорошо известны в нашей стране и за рубежом имена создателей вакцин против туляремии (Б. Я. Эльберт и Н. А. Гайский), сибирской язвы (Н. Н. Гинзбург), полиомиелита (М. П. Чумаков, А. А. Смородинцев), кори, паротита, гриппа (А. А. Смородинцев и сотр.), Кулихорадки и сыпного тифа (П. Ф. Здродовский и ученики), полианатоксинов против раневых инфекций и ботулизма (А. А. Воробьев, Г. В. Выгодчиков, П. Н. Бургасов и сотр.), стафилококковых инфекций (Г. В. Выгодчиков и сотр.). Российские ученые много сделали для разработки массовых непарентеральных способов вакцинации: аэрозольного (Н. И. Александров, Н. Е. Гефен, В. А. Лебединский и др.), перорального (А. М. Безредка, А. Н. Мещалова, А. А. Воробьев и сотр.). Активное участие российские ученые принимали в разработке стратегии и тактики иммунопрофилактики, глобальной ликвидации инфекций и снижении заболеваемости инфекционными болезнями; по их инициативе и с их помощью ликвидирована натуральная оспа на земном шаре (В. М. Жданов, С. С. Маренникова, О. Г. Анджапаридзе и др.), успешно ликвидируется полиомиелит

(М. П. Чумаков, С. Г. Дроздов и др.), снижена заболеваемость дифтерией, столбняком, корью, коклюшом и др. инфекциями (Г. Г. Онищенко).

В России, особенно в бывшем СССР, созданы крупные научные институты, занимающиеся проблемами фундаментальной и прикладной иммунологии: Центр иммунологии Министерства здравоохранения, Институт клинической иммунологии в Новосибирске, Институт прикладной иммунологии в пос. Любучаны Московской области, Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, Центральный институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова, Институт вирусологии им. И. И. Ивановского; создана сеть крупных институтов и центров, разрабатывающих проблемы иммуобиотехнологии иммунологических препаратов в городах Пермь, Уфа, Томск, Ставрополь, С.-Петербург и в других городах, а также успешно работает система противочумных институтов, занимающихся особо опасными инфекциями.

В нашей стране в 1980 г. создано Всесоюзное общество иммунологов. Первым его президентом стал академик Р. В. Петров. С 1983 г. издается журнал «Иммунология», учреждены также «Русский иммунологический журнал» и журнал «Вакцинология». Проблемы иммунологии освещаются во многих центральных журналах, в частности в «Журнале микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии», «Вестнике Российской академии медицинских наук» и др.

Подготовка иммунологов ведется в медицинских вузах, а также в университетах и научно-исследовательских институтах.

9.1.4. Достижения иммунологии в медицине

Иммунология за сравнительно короткий исторический период добилась существенных результатов в снижении и ликвидации болезней человека, сохранении и поддержании здоровья населения нашей планеты.

Значительные успехи достигнуты в области профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней:

— благодаря вакцинации ликвидирована натуральная оспа на земном шаре, в ближай-

шее время будет ликвидирован полиомиелит, снижена до единичных случаев заболеваемость корью, коклюшем, дифтерией и другими инфекциями; в перспективе возможно с помощью вакцинации предотвращение эпидемий таких грозных заболеваний, как вирусные парентеральные гепатиты, ВИЧ-инфекция; резко снижена заболеваемость столбняком, паротитом, туляремией, сибирской язвой, бруцеллезом и другими инфекциями;

- разработана и внедрена в медицинскую практику иммунодиагностика практически всех инфекционных болезней, в том числе таких опасных, как ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты, чума, холера и др.;

- для лечения многих инфекционных болезней применяются иммуномодуляторы (интерферон, пептиды тимуса, интерлейкины, органические и неорганические адьюванты и др.), а также специфические иммуноглобулины (особенно при токсинемических инфекциях — ботулизме, столбняке, газовой гангрене).

В области онкологии — установлены антигены опухолей человека и на их основе разработаны способы дифференциальной диагностики опухолей; широко применяются в онкологии для лечения и профилактики в комплексе с другими традиционными способами иммуномодуляторы (интерлейкины, интерфероны, фактор некроза опухолей и др.), а также адаптогены.

В области трансплантологии — благодаря прогрессу в изучении антигенов гистосовместимости, явлений толерантности и применения иммунодепрессантов значительно снижен риск отторжения трансплантатов при пересадках сердца, почек и других органов, а также тканей.

В результате установления иммунологически совместимых групп крови решена проблема переливания крови.

Изучение иммунных взаимоотношений между матерью и плодом на всех стадиях репродукции позволило разработать иммунологические методы выявления причин бесплодия, аномалий в развитии плода, заболеваний и осложнений в здоровье ребенка и матери. В частности, решена проблема иммунологической диагностики резус-гемолитической болезни новорожденных.

Установлены причины и иммунные механизмы поражения многих внутренних органов (печени, сердца, легких и др.), что открыло новые возможности для диагностики и лечения таких поражений.

Установлен комплекс параметров, характеризующих состояние иммунной системы (иммунный статус), в результате чего стало возможным выявление врожденных и приобретенных иммунодефицитов; влияние на иммунную систему экологических, социальных, профессиональных и других факторов послужило основанием для разработки патогномичной иммунотерапии многих болезней.

Значительный прогресс достигнут в выявлении причин и механизмов аллергических состояний, в разработке способов лечения и профилактики аллергий. Разработана большая группа иммунобиологических препаратов, которая используется для профилактики, лечения и диагностики как инфекционных, так и неинфекционных заболеваний (вакцины, анатоксины, иммуноглобулины, иммуномодуляторы, адаптогены, диагностикумы). Намечены пути и методы генодиагностики и генотерапии заболеваний, в основе которых лежат врожденные поражения иммунной системы.

На ближайшее будущее перед иммунологией стоят огромные задачи. Основными из них являются:

- ликвидация и ограничение инфекционной заболеваемости путем иммунопрофилактики принципиально новыми и более качественными вакцинами (генно-инженерные, синтетические, полиантигенные, непарентеральные);

- иммунодиагностика, иммунотерапия и иммунопрофилактика злокачественных новообразований;

- на основе структурного и функционального изучения антигенов гистосовместимости реализация толерантности для устранения иммунологической несовместимости при пересадках органов и тканей;

- поиск эффективных путей профилактики и лечения иммунопатологических состояний и аллергий различного генеза;

- изучение и разработка методов устранения иммунологических конфликтов между матерью и плодом на всех стадиях репродукции;

Таблица 9.3. Процессинг антигена в макроорганизме

| Происхождение антигена | Входные ворота | Факторы иммунной защиты | | Механизмы защиты | Исход |
|--------------------------|---|--|---|--|---|
| | | врожденные | приобретенные | | |
| Экзогенное Эндогенное | Кожа Слизистые ЖКТ Дыхательные пути Урогенитальный тракт Кровь Лимфа | Механические барьеры (кожа, слизистые) Физико-химические барьеры (ферменты, pH и др.) Биологические барьеры (фагоцитоз, комплемент, интерфероны, защитные белки сыворотки крови и др.) | Антителообразование Иммунный фагоцитоз Киллерная функция лимфоцитов ГЗТ ГНТ Толерантность Иммунологическая память | Инактивация Деструкция Выведение антигена Ареактивность | Восстановление гомеостаза Формирование иммунологической памяти Формирование иммунологической толерантности Формирование аллергии |

— изучение путей устранения неблагоприятного влияния на иммунный статус экологических, социальных, профессиональных и других факторов;

— поиск новых эндогенных и экзогенных иммуномодуляторов для использования в иммунопрофилактике и иммунотерапии;

— генотерапия и генодиагностика врожденных иммунодефицитов.

Безусловно, решение этих грандиозных практических задач, стоящих перед иммунологией, возможно только при интенсивном развитии фундаментальной иммунологии.

9.1.5. Основные принципы и механизмы функционирования иммунной системы

Функцию специфической защиты от антигенов выполняет иммунная система, представляющая собой лимфоидную ткань, способную комплексом клеточных и гуморальных реакций, осуществляемых с помощью набора иммунореагентов, нейтрализовать, обезвредить, удалить, разрушить генетически чужеродный антиген, попавший в организм извне или образовавшийся в самом организме.

Специфическая функция иммунной системы в обезвреживании антигенов дополняется комплексом механизмов и реакций неспецифического характера, направленных на обеспечение резистентности организма к воздействию любых чужеродных веществ, в том числе и антигенов.

В табл. 9.3 приведены основные факторы неспецифической резистентности организма и специфические факторы иммунитета и их взаимодействие.

Неспецифическая резистентность организма обеспечивается: а) механическими барьерами, препятствующими проникновению в организм чужеродных веществ (кожа, слизистые дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мерцательный эпителий и слизь дыхательного тракта); б) физико-химическими барьерами (ферменты, в первую очередь пищеварительные, pH среды, органические кислоты и др.), обеспечивающими деструкцию антигенов; в) иммунобиологическими барьерами (фагоциты, комплемент, интерфероны, ингибиторы свертывания крови, фибронектин), которые участвуют в поглощении и деструкции антигена как чужеродного вещества, а также во взаимодействии со специфическими факторами защиты.

К специфическим факторам защиты относятся антитела, иммунный фагоцитоз, цитотоксическая функция лимфоцитов, ГНТ и ГЗТ, толерантность, иммунологическая память.

Обычно специфические формы реагирования иммунной системы включаются как вторая линия защиты организма от антигенов в тех случаях, когда антиген преодолевает первую линию защиты, обусловленную факторами неспецифической резистентности,

т. е. эти две линии обороны функционируют во взаимодействии и взаимосвязи. При этом для обезвреживания того или иного антигена не обязательно должны включаться все факторы неспецифической резистентности или специфического иммунитета. Например, для нейтрализации токсина (столбнячного, ботулинического) основным фактором специфической защиты являются антитела (анти-токсины), для предупреждения проникновения в организм из области «входных ворот» бактерий сибирской язвы основную роль в защите играет фагоцитоз; в формировании специфического иммунитета при туберкулезе — ГЗТ и т. д.

Однако чаще всего в процессе защиты организма от антигенов принимает участие комплекс специфических и неспецифических реакций иммунитета.

Основными биореагентами иммунной системы, осуществляющими функцию защиты от антигенов, являются: иммуноглобулины (специфические, рецепторные, естественные), фагоцитирующие клетки (естественные и иммунные), цитотоксические лимфоциты, осуществляющие киллерную функцию, ферменты деструкции антигена (лизоцим и др.), комплемент, защитные белки сыворотки крови (пропердин, β -лизин, фибронектин и др.), иммуноцитокины (интерлейкины, интерфероны, пептиды тимуса, миелопептиды, факторы переноса, миграции и др.), рецепторы иммунокомпетентных клеток, антигены МНС-системы.

Процессуальная схема (см. табл. 9.3) иммунитета представляет собой ряд взаимосвязанных, последовательно протекающих, саморегулирующихся с помощью иммунореагентов процессов, направленных на устранение действия антигена, на сохранение в неприкосновенности или восстановление гомеостаза.

Пусковым механизмом для иммунной системы является проникновение антигена во внутреннюю среду организма любым путем (через кожу, слизистые, дыхательные пути, ЖКТ) или образование его в самом организме. Вслед за этим следует распознавание антигена как генетически чужеродного вещества: вначале первичное неспецифическое распознавание на стадии фагоцита, затем вторичное специфическое распознавание Т-лимфоцита-

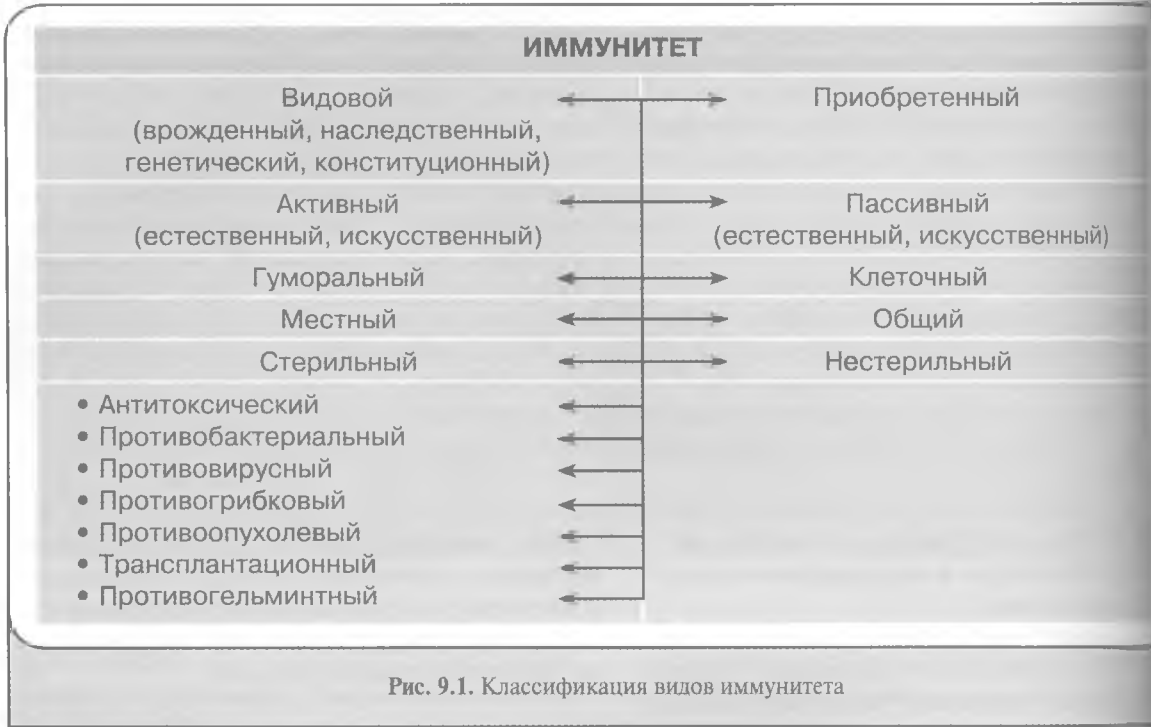
ми. Следующим этапом является включение неспецифических и специфических факторов защиты в зависимости от природы и характера антигена и особенностей его патогенного воздействия на организм. В результате взаимодействия иммунных факторов и иммунореагентов с антигеном происходит деструкция или нейтрализация, или выведение последнего из организма. Иногда организм в результате встречи с антигеном приобретает состояние ареактивности, толерантности к этому антигену. Иммунный процесс в случае благоприятного исхода приводит к восстановлению гомеостаза, при этом довольно часто и на длительное время сохраняется иммунитет (невосприимчивость) организма к этому антигену, иммунологическая память о встрече организма с антигеном, иногда толерантность к антигену, а может возникать состояние повышенной чувствительности (аллергия) к нему как нежелательное явление.

9.1.6. Виды иммунитета

У человека, теплокровных животных, в том числе у птиц, в процессе эволюции сформировалась иммунная система, специально предназначенная для защиты от генетически чужеродных веществ — антигенов, а также для сохранения и поддержания антигенных особенностей тканей и биомолекул, присутствующих каждому виду и каждому индивиду данного вида.

Элементарные системы защиты от любых чужеродных веществ имеют и низшие организмы, в частности беспозвоночные (губки, кишечнорастворимые, черви). Способность к распознаванию чужеродных структур присуща уже одноклеточным организмам, например амебам.

Однако анатомическое строение, физиологические функции и иммунологические реакции, осуществляемые иммунной системой, у отдельных видов животных, у человека и низших организмов в соответствии с их уровнем эволюционного развития существенно отличаются. Так, фагоцитоз и аллогенная ингибция, как одни из ранних филогенетических защитных реакций, присущи всем многоклеточным организмам; дифференцированные лейкоцитоподобные клетки, выполняющие функции



клеточного иммунитета, появляются уже у кишечнорастворимых, кольчатых червей, моллюсков; у круглоротых (миноги) появляются зачатки тимуса, Т-лимфоциты, иммуноглобулины, отмечается иммунологическая память, у рыб появляются типичные для высших животных лимфоидные органы — тимус и селезенка, плазматические клетки и антитела класса М; у птиц уже формируется центральный орган иммунной системы в виде сумки Фабрициуса, осуществляется кооперация клеточного и гуморального иммунитета, появляется способность реагировать в виде ГНТ; наконец, у млекопитающих иммунная система достигает наиболее высокого уровня развития, формируются Т-, В- и А-системы иммунных клеток, осуществляется их кооперативное взаимодействие, появляется способность синтеза иммуноглобулинов всех пяти классов, способность иммунной системы осуществлять все формы иммунологических реакций.

В зависимости от уровня эволюционного развития, вида особенностей и сложности сформировавшейся иммунной системы, способностей последней отвечать теми или иными реакциями на антигены, в иммунологии

принято выделять отдельные виды иммунитета. Так, введено понятие о врожденном и приобретенном иммунитете (рис. 9.1).

Врожденный, или видовой, иммунитет, он же наследственный, генетический, конституциональный — это выработанная в процессе филогенеза генетически закрепленная, передающаяся по наследству невосприимчивость данного вида и его индивидов к какому-либо антигену (или микроорганизму), обусловленная биологическими особенностями самого организма, свойствами данного антигена, а также особенностями их взаимодействия.

Примером может служить невосприимчивость человека к некоторым возбудителям, в том числе к особо опасным для сельскохозяйственных животных (чума крупного рогатого скота, болезнь Ньюкасла, поражающая птиц, оспа лошадей и др.), нечувствительность человека к бактериофагам, поражающим клетки бактерий. К генетическому иммунитету можно также отнести отсутствие взаимных иммунных реакций на тканевые антигены у однояйцовых

близнецов; различают чувствительность к одним и тем же антигенам у различных линий животных, т. е. животных с различным генотипом. Объяснить видовой иммунитет можно с разных позиций, прежде всего отсутствием у того или иного вида рецепторного аппарата, обеспечивающего первый этап взаимодействия данного антигена с клетками или молекулами-мишенями, определяющими запуск патологического процесса или активацию иммунной системы. Не исключены также возможность быстрой деструкции антигена, например, ферментами организма или же отсутствие условий для приживания и размножения микроба (бактерий, вирусов) в организме. В конечном итоге это обусловлено генетическими особенностями вида, в частности отсутствием генов иммунного ответа к данному антигену.

Видовой иммунитет может быть абсолютным и относительным. Например, нечувствительные к столбнячному токсину лягушки могут реагировать на его введение, если повысить температуру их тела. Белые мыши, не чувствительные к какому-либо антигену, приобретают способность реагировать на него, если воздействовать на них иммунодепрессантами или удалить у них центральный орган иммунитета — тимус.

Приобретенный иммунитет — это невосприимчивость к антигену чувствительного к нему организма человека, животных и пр., приобретаемая в процессе онтогенеза в результате естественной встречи с этим антигеном организма, например, при вакцинации или после перенесенного инфекционного заболевания.

Примером естественного приобретенного иммунитета у человека может служить невосприимчивость к инфекции, возникающая после перенесенного заболевания, так называемый постинфекционный иммунитет (например, после брюшного тифа, дифтерии и других инфекций), а также «проиммунизация», т. е. приобретение невосприимчивости к ряду микроорганизмов, обитающих в окружающей среде и в организме человека и постепенно воздействующих на иммунную систему своими антигенами. Известно, что в крови каждого человека

можно обнаружить антитела к непатогенным и условно-патогенным бактериям, обитающим в кишечнике человека; у некоторых лиц в крови присутствуют антитела — реагены на растительные антигены (например, пыльцу, тополиный пух); у работников биологической промышленности, например занятых в производстве кормового белка, биоконцентратов и т. д., в результате постоянных контактов с антигеном появляются антитела к нему в крови. Такая «скрытная», не преднамеренная иммунизация зачастую не только нецелесообразна, но и может привести к нежелательным последствиям, как-то: появление иммунодефицитов, аллергических состояний и другой иммунопатологии.

В отличие от приобретенного иммунитета в результате перенесенного инфекционного заболевания или «скрытной» иммунизации, на практике широко используют преднамеренную иммунизацию антигенами для создания к ним невосприимчивости организма. С этой целью применяют вакцинацию, а также введение специфических иммуноглобулинов, сывороточных препаратов или иммунокомпетентных клеток (см. гл. 14). Приобретаемый при этом иммунитет называют поствакцинальным, и служит он для защиты от возбудителей инфекционных болезней, а также других чужеродных антигенов.

Приобретенный иммунитет может быть активным и пассивным. *Активный* иммунитет обусловлен активной реакцией, активным вовлечением в процесс иммунной системы при встрече с данным антигеном (например, поствакцинальный, постинфекционный иммунитет), а *пассивный* иммунитет формируется за счет введения в организм уже готовых иммунореагентов, способных обеспечить защиту от антигена. К таким иммунореагентам относятся антитела, т. е. специфические иммуноглобулины и иммунные сыворотки, а также иммунные лимфоциты. Иммуноглобулины широко используют для пассивной иммунизации, а также для специфического лечения при многих инфекциях (дифтерия, ботулизм, бешенство, корь и др.). Пассивный иммунитет у новорожденных детей создается иммуноглобулинами при плацентарной внутриутробной передаче антител от матери ребенку и играет существенную

роль в защите от многих детских инфекций в первые месяцы жизни ребенка.

Поскольку в формировании иммунитета принимают участие клетки иммунной системы и гуморальные факторы, принято активный иммунитет дифференцировать в зависимости от того, какой из компонентов иммунных реакций играет ведущую роль в формировании защиты от антигена. В связи с этим различают клеточный, гуморальный, клеточно-гуморальный и гуморально-клеточный иммунитет.

Примером клеточного иммунитета может служить противоопухолевый, а также трансплантационный иммунитет, когда ведущую роль в иммунитете играют цитотоксические Т-лимфоциты-киллеры; иммунитет при токсемических инфекциях (столбняк, ботулизм, дифтерия) обусловлен в основном антителами (антитоксинами); при туберкулезе ведущую роль играют иммунокомпетентные клетки (лимфоциты, фагоциты) с участием специфических антител; при некоторых вирусных инфекциях (натуральная оспа, корь и др.) роль в защите играют специфические антитела, а также клетки иммунной системы.

Следует отметить, что клеточные и гуморальные факторы иммунитета функционируют в тесном взаимодействии, всегда в виде комплекса иммунных реакций, причем какая-либо одна или несколько из них играют ведущую роль, поскольку наиболее эффективно и целенаправленно обеспечивают защиту организма от данного антигена.

В инфекционной и неинфекционной патологии и иммунологии для уточнения характера иммунитета в зависимости от природы и свойств антигена пользуются также такой терминологией: антитоксический, противовирусный, противогрибковый, противобактериальный, противопротозойный, трансплантационный, противоопухолевый и другие виды иммунитета.

Наконец, иммунное состояние, т. е. активный иммунитет, может поддерживаться, сохраняться либо в отсутствие, либо только в присутствии антигена в организме. В первом случае антиген играет роль пускового фактора, а иммунитет называют стерильным. Во

втором случае иммунитет трактуют как нестерильный. Примером стерильного иммунитета является поствакцинальный иммунитет при введении убитых вакцин, а нестерильного — иммунитет при туберкулезе, который сохраняется только в присутствии в организме микобактерий туберкулеза.

Иммунитет (резистентность к антигену) может быть системным, т. е. генерализованным, и местным, при котором наблюдается более выраженная резистентность отдельных органов и тканей, например слизистых верхних дыхательных путей (поэтому иногда его называют мукозальным).

9.2. Факторы неспецифической резистентности организма

В неспецифической защите от микробов и антигенов важную роль, как указывалось выше, играют три барьера: механический, физико-химический и иммунобиологический. Основными защитными факторами этих барьеров являются кожа и слизистые оболочки, ферменты, фагоцитирующие клетки, комплемент, интерферон, ингибиторы сыворотки крови.

9.2.1. Кожа и слизистые оболочки

Многослойный эпителий здоровой кожи и слизистых оболочек обычно непроницаем для микробов и макромолекул. Однако при малозаметных микроповреждениях, воспалительных изменениях, укусах насекомых, ожогах и травмах через кожу и слизистые могут проникать микробы и макромолекулы. Вирусы и некоторые бактерии могут проникать в макроорганизм межклеточно, клеточно и с помощью фагоцитов, переносимых поглощенных микробов через эпителий слизистых оболочек. Свидетельством этому является инфицирование в естественных условиях через слизистые верхних дыхательных путей, легких, желудочно-кишечного тракта и урогенитального тракта, а также возможность пероральной и ингаляционной иммунизации живыми вакцинами, когда вакцинный штамм бактерий и вирусов проникает через слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей.

9.2.2. Физико-химическая защита

На чистой и неповрежденной коже обычно содержится мало микробов, так как потовые и сальные железы постоянно выделяют на ее поверхность вещества, обладающие бактерицидным действием (уксусная, муравьиная, молочная кислоты).

Желудок также является барьером для проникающих перорально бактерий, вирусов, антигенов, так как последние инактивируются и разрушаются под влиянием кислого содержимого желудка (рН 1,5–2,5) и ферментов. В кишечнике инактивирующими факторами служат ферменты и бактериоцины, образуемые нормальной микробной флорой кишечника, а также трипсин, панкреатин, липаза, амилазы и желчь.

9.2.3. Иммунобиологическая защита

9.2.3.1. Фагоцитоз

Фагоцитоз (от греч. *phagos* — пожираю, *cytos* — клетка), открытый и изученный И. И. Мечниковым, является одним из основных мощных факторов, обеспечивающих резистентность организма, защиту от инородных веществ, в том числе микробов. Это наиболее древняя форма иммунной защиты, которая появилась уже у кишечнополостных.

Механизм фагоцитоза состоит в поглощении, переваривании, инактивации инородных для организма веществ специализированными клетками — фагоцитами.

И. И. Мечников к фагоцитирующим клеткам отнес макрофаги и микрофаги. В настоящее время все фагоциты объединены в единую мононуклеарную фагоцитирующую систему. В нее включены тканевые макрофаги (альвеолярные, перитонеальные и др.), клетки Лангерганса и Гренштейна (эпидермоциты кожи), клетки Купфера (звездчатые ретикулоэндотелиоциты), эпителиоидные клетки, нейтрофилы и эозинофилы крови и некоторые другие.

Основные функции фагоцитов. Функции фагоцитов очень обширны: 1) удаляют из организма отмирающие клетки и их структуры

(эритроциты, раковые клетки); 2) удаляют неметаболизируемые неорганические вещества, попадающие во внутреннюю среду организма тем или иным путем (например, частички угля, минеральную и другую пыль, проникающую в дыхательные пути); 3) поглощают и инактивируют микробы (бактерии, вирусы, грибы), их останки и продукты; 4) синтезируют разнообразные биологически активные вещества, необходимые для обеспечения резистентности организма (некоторые компоненты комплемента, лизоцим, интерферон, интерлейкины и др.); 5) участвуют в регуляции иммунной системы; 6) осуществляют «ознакомление» Т-хелперов с антигенами, т. е. участвуют в кооперации иммунокомпетентных клеток.

Следовательно, фагоциты являются, с одной стороны, своеобразными «мусорщиками», очищающими организм от всех инородных частиц независимо от их природы и происхождения (неспецифическая функция), а с другой стороны, участвуют в процессе специфического иммунитета путем представления антигена иммунокомпетентным клеткам (Т-лимфоцитам) и регуляции их активности.

Стадии фагоцитоза. Процесс фагоцитоза, т. е. поглощения инородного вещества клетками, имеет несколько стадий: 1) приближение фагоцита к объекту поглощения (хемотаксис); 2) адсорбция поглощаемого вещества на поверхности фагоцита; 3) поглощение вещества путем инвагинации клеточной мембраны с образованием в протоплазме фагосомы (вакуоли, пузырьки), содержащей поглощенное вещество; 4) слияние фагосомы с лизосомой клетки с образованием фаголизосомы; 5) активация лизосомальных ферментов и переваривание вещества в фаголизосоме с их помощью.

Особенности физиологии фагоцита. Для осуществления своих функций (рис. 9.2) фагоциты располагают обширным набором литических ферментов, а также продуцируют перекисные и NO[•] ион-радикалы, которые могут поражать мембрану (или стенку) клетки на расстоянии или после фагоцитирования. На цитоплазматической мембране находятся

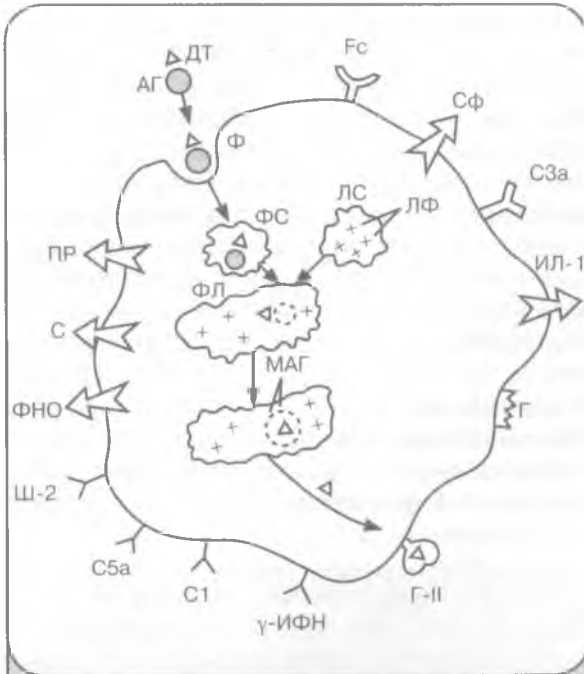


Рис. 9.2. Функциональные структуры макрофага (схема):

АГ — антиген; ДТ — антигенная детерминанта; ФС — фагосома; ЛС — лизосома; ЛФ — лизосомальные ферменты; ФЛ — фаголизосома; МАГ — метаболизированный антиген; Г-II — антиген гистосовместимости II класса (МНС II); Fc — рецептор для Fc-фрагмента молекулы иммуноглобулина; C1, C3a, C5a — рецепторы для компонентов комплемента; ИЛ-2 — рецептор для ИЛ-2; γ-ИФН — рецептор для γ-ИФН; Г — рецептор для гистамина; С — секреция компонентов комплемента; ПР — секреция перекисных радикалов; ИЛ-1 — секреция ИЛ-1; СНО — секреция фактора некроза опухоли; СФ — секреция ферментов

рецепторы к компонентам комплемента, Fc-фрагментам иммуноглобулинов, гистамину, а также антигены гистосовместимости I и II класса. Внутриклеточные лизосомы содержат до 100 различных ферментов, способных «переварить» практически любое органическое вещество.

Фагоциты имеют развитую поверхность и очень подвижны. Они способны активно перемещаться к объекту фагоцитоза по градиенту концентрации особых биологически активных веществ — *хемоаттрактантов*. Такое передвижение получило название *хемотаксис* (от греч. *chuteia* — искусство сплавания

металлов и *taxis* — расположение, построение). Это АТФ-зависимый процесс, в котором участвуют сократительные белки актин и миозин. К числу хемоаттрактантов относятся, например, фрагменты компонентов комплемента (C3a и C5a), лимфокины ИЛ-8 и др. продукты распада клеток и бактерий.

Адсорбция вещества на поверхности фагоцита осуществляется за счет слабых химических взаимодействий и происходит либо спонтанно, неспецифически, либо путем связывания со специфическими рецепторами (к иммуноглобулинам, компонентам комплемента). «Захват» фагоцитом вещества вызывает выработку большого количества перекисных радикалов («кислородный взрыв») и NO, которые вызывают необратимые, летальные повреждения как цельных клеток, так и отдельных молекул.

Поглощение адсорбированного на фагоците вещества происходит путем *эндоцитоза*. Это энергозависимый процесс, связанный с преобразованием энергии химических связей молекулы АТФ в сократительную активность внутриклеточного актина и миозина. Окружение фагоцитируемого вещества бислоем цитоплазматической мембраны и образование изолированного внутриклеточного пузырька — *фагосомы* напоминает «стегивание молнии». Внутри фагосомы продолжается атака поглощенного вещества активными радикалами. После слияния фагосомы и лизосомы и образования в цитоплазме *фаголизосомы* происходит активации лизосомальных ферментов, которые разрушают поглощенное вещество до элементарных составляющих, пригодных для дальнейшей утилизации для нужд самого фагоцита. Непереваренные остатки вещества «хоронятся» вместе с погибшим от старости фагоцитом. Ферментативное расщепление вещества может также происходить внеклеточно при выходе ферментов за пределы фагоцита.

Фагоциты, как правило, «переваривают» захваченные бактерии, грибы, вирусы, осуществляя таким образом *завершенный фагоцитоз*. Однако в ряде случаев фагоцитоз носит незавершенный характер: поглощенные бактерии (например, иерсинии) или вирусы (например, возбудитель ВИЧ-инфекции, на-

туральной оспы) блокируют ферментативную активность фагоцита, не погибают, не разрушаются и даже размножаются в фагоцитах. Такой процесс получил название *незавершенный фагоцитоз*.

Небольшой олигопептид может быть эндоситирован фагоцитом и после процессинга (т. е. ограниченного протеолиза) включен в состав молекулы антигена *гистосовместимости II класса*. В составе сложного макромолекулярного комплекса олигопептид выставляется (экспрессируется) на поверхности клетки для «ознакомления» с ним Т-хелперов.

Фагоцитоз активируется под влиянием антител-опсоинов, адьювантами, комплементом, иммуноцитокинами (ИЛ-2) и другими факторами. Механизм активирующего действия опсоинов основан на связывании комплекса антиген-антитело с рецепторами к Fc-фрагментам иммуноглобулинов на поверхности фагоцитов. Аналогичным образом действует комплемент, который способствует связыванию на специфических для него рецепторах фагоцита (С-рецепторах) комплекса антиген-антитело. Адьюванты укрупняют молекулы антигена и таким образом облегчают процесс его поглощения, так как интенсивность фагоцитоза зависит от величины поглощаемой частицы.

Активность фагоцитов характеризуется фагоцитарными показателями и опсоно-фагоцитарным индексом. Фагоцитарные показатели оцениваются числом бактерий, поглощенных или «переваренных» одним фагоцитом в единицу времени, а опсонофагоцитарный индекс представляет отношение фагоцитарных показателей, полученных с иммунной, т. е. содержащей опсоины, и неиммунной сывороткой. Эти показатели используются в клинической практике для определения иммунного статуса индивидуума.

9.2.3.2. Тромбоциты

Тромбоциты также играют важную роль в иммунитете. Они возникают из мегакариоцитов, пролиферацию которых усиливает ИЛ-11. Тромбоциты имеют на своей поверхности рецепторы к IgG и IgE, к компонентам комплемента (C1 и C3), а также антигены гистосовместимости I класса. На тромбоциты оказыва-

ют влияние образующиеся в организме иммунные комплексы антиген + антитело (АГ+АТ), активированный комплемент. В результате такого воздействия тромбоциты выделяют биологически активные вещества (гистамин, лизоцим, β-лизины, лейкоплакины, простагландины и др.), которые принимают участие в процессах иммунитета и воспаления.

9.2.3.3. Комплемент

Природа и характеристика комплемента. Комплемент является одним из важных факторов гуморального иммунитета, играющим роль в защите организма от антигенов. Он был открыт в 1899 г. французским иммунологом Ж. Борде, назвавшим его «алексином». Современное название комплементу дал П. Эрлих. Комплемент представляет собой сложный комплекс белков сыворотки крови, находящийся обычно в неактивном состоянии и активирующийся при соединении антигена с антителом или при агрегации антигена. В состав комплемента входят 20 взаимодействующих между собой белков, девять из которых являются основными компонентами комплемента; их обозначают цифрами: C1, C2, C3, C4... C9. Важную роль играют также факторы В, D и Р (пропердин). Белки комплемента относятся к глобулинам и отличаются между собой по ряду физико-химических свойств. В частности, они существенно различаются по молекулярной массе, а также имеют сложный субъединичный состав: C1—C1q, C1r, C1s; C3—C3a, C3b; C5—C5a, C5b и т. д. Компоненты комплемента синтезируются в большом количестве (составляют 5—10 % от всех белков крови), часть из них образуют фагоциты.

Функции комплемента многообразны: а) участвует в лизисе микробных и других клеток (цитотоксическое действие); б) обладает хемотаксической активностью; в) принимает участие в анафилактии; г) участвует в фагоцитозе. Следовательно, **комплемент является компонентом многих иммунолитических реакций, направленных на освобождение организма от микробов и других чужеродных клеток и антигенов** (например, опухолевых клеток, трансплантата).

Механизм активации комплемента очень сложен и представляет собой каскад ферментативных протеолитических реакций, в

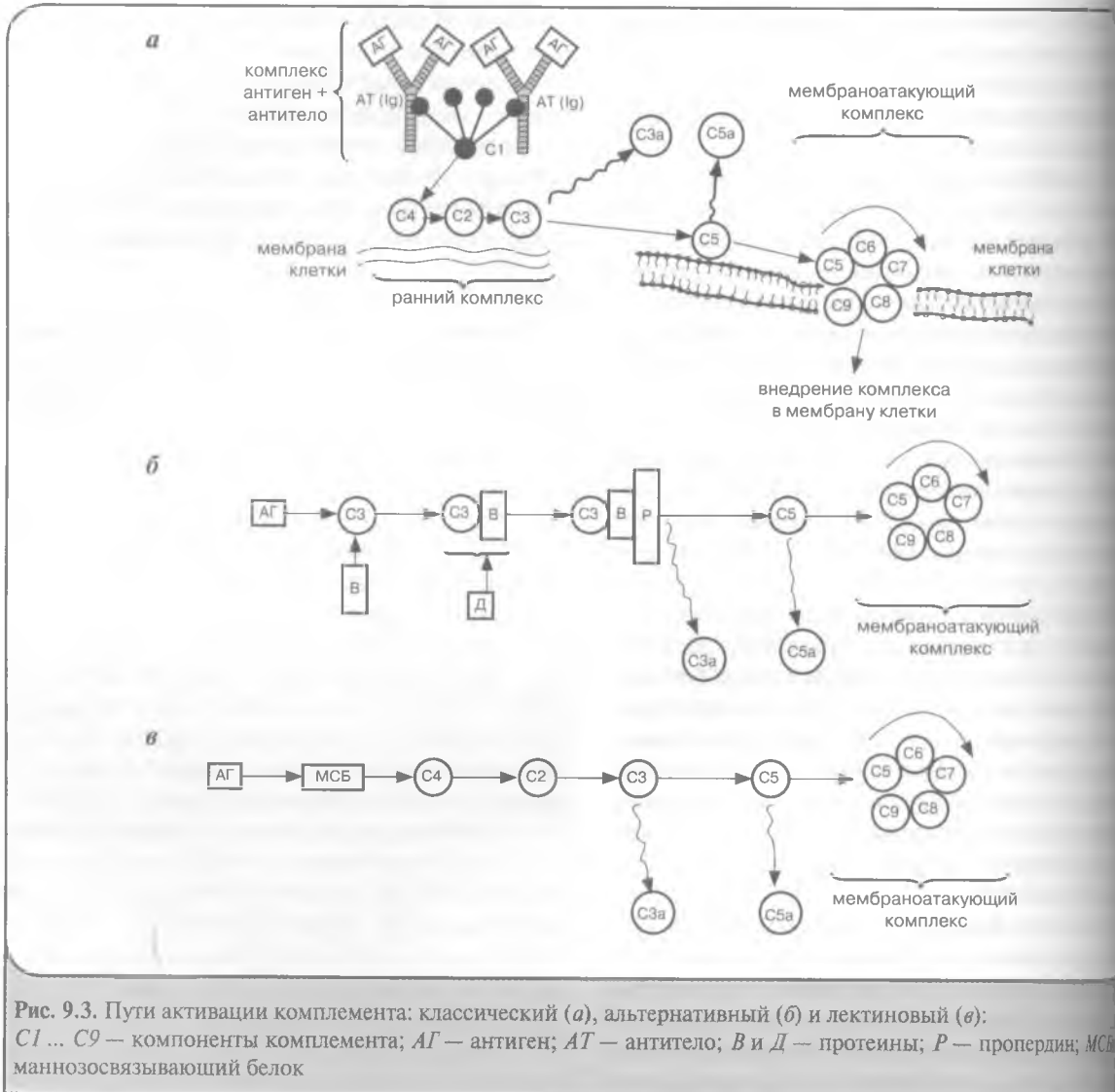


Рис. 9.3. Пути активации комплемента: классический (а), альтернативный (б) и лектиновый (в); C1 ... C9 — компоненты комплемента; АГ — антиген; АТ — антитело; В и Д — протеины; P — пропердин; МСБ — маннозсвязывающий белок

результате которого образуется активный цитолитический комплекс, разрушающий стенку бактерии и других клеток. Известны три пути активации комплемента: классический, альтернативный и лектиновый (рис. 9.3). По классическому пути комплемент активируется комплексом антиген-антитело. Для этого достаточно участия в связывании антигена одной молекулы IgM или двух молекул IgG. Процесс начинается с присоединения к комплексу АГ+АТ компонента C1, который распадается на субъединицы C1q, C1r и C1s. Далее в реакции участвуют последовательно активированные «ранние» компоненты ком-

племента в такой последовательности: C4, C2, C3. Эта реакция имеет характер усиливающегося каскада, т. е. когда одна молекула предыдущего компонента активирует несколько молекул последующего. «Ранний» компонент комплемента C3 активирует компонент C5, который обладает свойством прикрепляться к мембране клетки. На компоненте C5 путем последовательного присоединения «поздних» компонентов C6, C7, C8, C9 образуется литический или мембраноатакующий комплекс, который нарушает целостность мембраны (образует в ней дефект), и клетка погибает в результате осмотического лизиса.

Альтернативный путь активации комплемента проходит без участия антител. Этот путь характерен для защиты от грамотрицательных микробов. Каскадная цепная реакция при альтернативном пути начинается с взаимодействия антигена (например, полисахарида) с протеинами В, D и пропердином (Р) с последующей активацией компонента С3. Далее реакция идет так же, как и при классическом пути — образуется мембраноатакующий комплекс.

Лектиновый путь активации комплемента также происходит без участия антител. Он инициируется особым *маннозосвязывающим белком* сыворотки крови, который после взаимодействия с остатками маннозы на поверхности микробных клеток катализирует С4. Дальнейший каскад реакций сходен с классическим путем.

В процессе активации комплемента образуются продукты протеолиза его компонентов — субъединицы С3а и С3b, С5а и С5b и другие, которые обладают высокой биологической активностью. Например, С3а и С5а принимают участие в анафилактических реакциях, являются хемоаттрактантами, С3b — играет роль в опсонизации объектов фагоцитоза, и т. д. Сложная каскадная реакция комплемента происходит с участием ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} .

9.2.3.4. Лизоцим

Особая и немаловажная роль в естественной резистентности принадлежит *лизоциму*, открытому в 1909 г. П. Л. Лашенко и выделенному и изученному в 1922 г. А. Флемингом.

Лизоцим — это гидролитический фермент мурамидаза (от лат. *muris* — стенка) с молекулярной массой 14–16 кДа, синтезируемый макрофагами, нейтрофилами и другими фагоцитирующими клетками и постоянно поступающий в жидкости и ткани организма. Фермент содержится в крови, лимфе, слезах, молоке, сперме, уrogenитальном тракте, на слизистых оболочках дыхательных путей, ЖКТ, в мозге. Отсутствует лизоцим лишь только в спинномозговой жидкости и передней камере глаза. В сутки синтезируется несколько десятков граммов фермента. Механизм действия лизоцима сводится к разрушению гликопротеидов (мурамилдипептида) клеточной стенки бактерий, что ведет к их лизису и способствует фагоцитозу поврежденных клеток. Следовательно,

лизоцим обладает бактерицидным и бактериостатическим действием. Кроме того, он активирует фагоцитоз и образование антител.

Нарушение синтеза лизоцима ведет к снижению резистентности организма, возникновению воспалительных и инфекционных заболеваний; в таких случаях используют для лечения препарат лизоцима, получаемый из яичного белка или путем биосинтеза, так как он продуцируется некоторыми бактериями (например, *Bacillus subtilis*), растениям семейства крестоцветных (редис, репа, хрен, капуста и т. д.). Химическая структура лизоцима известна, и он синтезирован химическим способом.

9.2.3.5. Интерферон

Интерферон относится к важным защитным белкам иммунной системы. Открыт в 1957 г. А. Айзексом и Ж. Линдеманом при изучении интерференции вирусов (лат. *inter* — между и *ferens* — несущий), т. е. явления, когда животные или культуры клеток, инфицированные одним вирусом, становились нечувствительными к заражению другим вирусом. Оказалось, что интерференция обусловлена образующимся при этом белком, обладающим защитным противовирусным свойством. Этот белок назвали интерфероном. В настоящее время интерферон достаточно хорошо изучен, известны его структура и свойства, и он широко используется в медицине как лечебное и профилактическое средство.

Интерферон представляет собой семейство белков-гликопротеидов с молекулярной массой от 15 до 70 кДа, которые синтезируются клетками иммунной системы и соединительной ткани. В зависимости от того, какими клетками синтезируется интерферон, выделяют три типа: α , β и γ -интерфероны.

Альфа-интерферон вырабатывается лейкоцитами и он получил название лейкоцитарного; *бета-интерферон* называют фибробластным, поскольку он синтезируется фибробластами — клетками соединительной ткани, а *гамма-интерферон* — иммунным, так как он вырабатывается активированными Т-лимфоцитами, макрофагами, естественными киллерами, т. е. иммунными клетками.

Интерферон синтезируется в организме постоянно, и его концентрация в крови держится на уровне примерно 2 МЕ/мл (1 международная единица — МЕ — это количество интерферона, защищающее культуру клеток от 1 ЦПД₅₀ вируса). Выработка интерферона резко возрастает при инфицировании вирусами, а также при воздействии индукторов интерферона, например РНК, ДНК, сложных полимеров. Такие индукторы интерферона получили название *интерфероногенов*.

Помимо противовирусного действия интерферон обладает противоопухолевой защитой, так как задерживает пролиферацию (размножение) опухолевых клеток, а также иммуномодулирующей активностью, стимулируя фагоцитоз, естественные киллеры, регулируя антителообразование В-клетками, активируя экспрессию главного комплекса гистосовместимости.

Механизм действия интерферона сложен. Интерферон непосредственно на вирус вне клетки не действует, а связывается со специальными рецепторами клеток и оказывает влияние на процесс репродукции вируса внутри клетки на стадии синтеза белков.

Действие интерферона тем эффективнее, чем раньше он начинает синтезироваться или поступать в организм извне. Поэтому его используют с профилактической целью при многих вирусных инфекциях, например гриппе, а также с лечебной целью при хронических вирусных инфекциях, таких как парентеральные гепатиты (В, С, D), герпес, рассеянный склероз и др. Интерферон дает положительные результаты при лечении злокачественных опухолей и заболеваний, связанных с иммунодефицитами.

Интерфероны обладают видоспецифичностью, т. е. интерферон человека менее эффективен для животных и наоборот. Однако эта видоспецифичность относительна. Получают интерферон двумя способами: а) путем инфицирования культуры лейкоцитов или лимфоцитов крови человека безопасным вирусом, в результате чего инфицированные клетки синтезируют интерферон, который затем выделяют и конструируют из него препараты интерферона; б) генно-инженерным способом — путем выращивания в производственных условиях рекомбинантных штаммов бактерий, способных продуцировать интер-

ферон. Обычно используют рекомбинантные штаммы псевдомонад, кишечной палочки, встроенными в их ДНК генами интерферона. Интерферон, полученный генно-инженерным способом, носит название рекомбинантного. В нашей стране рекомбинантный интерферон получил официальное название «Реаферон». Производство этого препарата во многом эффективнее и дешевле, чем лейкоцитарного.

Рекомбинантный интерферон нашел широкое применение в медицине как профилактическое и лечебное средство при вирусных инфекциях, новообразованиях и при иммунодефицитах.

9.2.3.6. Защитные белки сыворотки крови

К защитным белкам сыворотки крови относятся ряд протеинов, принимающих участие в защите организма от микробов и других антигенов: белки острой фазы, опсонины, пропердин, бета-лизин, фибронектин и др.

К *белкам острой фазы* относятся С-реактивный белок, провоспалительные и другие белки, которые вырабатываются в печени в ответ на повреждение тканей и клеток. С-реактивный белок способствует опсонизации бактерий и является индикатором воспаления.

Маннозосвязывающий белок — нормальный протеин сыворотки крови. Способен прочно связываться с остатками маннозы, находящимися на поверхности микробных клеток, опсонизировать их. Способствует фагоцитозу, активирует систему комплемента по лентинному пути.

Пропердин — представляет собой гамма-глобулин нормальной сыворотки крови. Способствует активации комплемента по альтернативному пути и таким образом участвует во многих иммунологических реакциях.

Фибронектин — универсальный белок плазмы и тканевых жидкостей, синтезируемый макрофагами. Обеспечивает опсонизацию антигенов и связывание клеток с чужеродными веществами, например фагоцитов с антигенами и микробами, экранирует дефекты эндотелия сосудов, препятствуя тромбообразованию.

Бета-лизины — белки сыворотки крови, синтезируемые тромбоцитами. Оказывают повреждающее действие на цитоплазматическую мембрану бактерий.

ГЛАВА 10. АНТИГЕНЫ И ИММУННАЯ СИСТЕМА ЧЕЛОВЕКА

10.1. Антигены

10.1.1. Общие представления

Онтогенез каждого макроорганизма проходит в непосредственном контакте с чужеродными для него клетками, доклеточными формами жизни, а также отдельными молекулами биологического происхождения. Все эти объекты, будучи чужеродными, таят в себе огромную опасность: контакт с ними может нарушить гомеостаз, повлиять на течение биологических процессов и даже повлечь гибель макроорганизма. Поэтому чужеродные биологические объекты представляют собой эволюционно сформировавшийся ранний сигнал опасности для иммунной системы: они являются основным раздражителем и конечной точкой приложения системы приобретенного иммунитета. Совокупность таких объектов, как явления биологического мира, получила название *антиген* (от греч. *anti* — против и *genos* — создавать).

Антиген — это биополимер органической природы, генетически чужеродный для макроорганизма, который при попадании в последний распознается его иммунной системой и вызывает иммунные реакции, направленные на его устранение.

Теоретически антигеном может быть молекула любого органического вещества, как вредного для макроорганизма, так и безвредного. В частности, антигенами являются компоненты и продукты жизнедеятельности бактерий, грибов, простейших, вирусных частиц, организмов животных и растений.

Антигены имеют самое разнообразное происхождение. В сущности, они являются продуктом природного биологического синтеза любого чужеродного организма. В ряде случаев антигены могут образовываться в собственном организме при структурных изменениях

уже синтезированных молекул при биодegradации, нарушении их нормального биосинтеза (эпигенетическая мутация) или генетической мутации клеток. Кроме того, антигены могут быть получены искусственно в результате научной или производственной деятельности человека, в том числе путем направленного химического синтеза. Однако в любом случае молекулу антигена будет отличать генетическая чужеродность по отношению к макроорганизму, в который она попала.

Антигены могут проникать в макроорганизм самыми различными путями: через кожные покровы или слизистые, непосредственно во внутреннюю среду организма, минуя покровы, — или образовываясь внутри него. Антигены распознаются иммунокомпетентными клетками и вызывают каскад разнообразных иммунных реакций, направленных на их инактивацию, разрушение и удаление.

По современным представлениям, учение об антигенах является ключевым для понимания основ молекулярно-генетических механизмов иммунной защиты макроорганизма, а также принципов иммунотерапии и иммунопрофилактики.

10.1.2. Свойства антигенов

Антигены обладают рядом характерных свойств: *антигенностью*, *специфичностью* и *иммуногенностью*.

10.1.2.1. Антигенность

Под *антигенностью* понимают потенциальную способность молекулы антигена активировать компоненты иммунной системы и специфически взаимодействовать с факторами иммунитета (антитела, клон эффекторных лимфоцитов). Иными словами, антиген должен выступать специфическим раздражителем по отношению к иммунокомпетентным клеткам. При этом взаимодействие с компонентами иммунной системы происходит не со всей

молекулой одновременно, а только с ее не-большим участком, который получил название «*антигенная детерминанта*», или «*эпитоп*».

Различают *линейные*, или *секвенциальные*, антигенные детерминанты (например, первичная аминокислотная последовательность пептидной цепи) и *поверхностные*, или *конформационные* (расположенные на поверхности молекулы антигена и возникшие в результате вторичной или более высокой конформации). Кроме того, существуют *концевые эпитопы* (расположенные на концевых участках молекулы антигена) и *центральные*. Определяют также «*глубинные*», или *скрытые*, антигенные детерминанты, которые проявляются при разрушении биополимера.

Размер антигенной детерминанты невелик, но может варьировать. Он определяется особенностями антиген-рецепторной части фактора иммунитета, с одной стороны, и видом эпитопа — с другой. Например, антигенсвязывающий участок молекулы иммуноглобулина (как сывороточного, так и рецептора В-лимфоцита) способен распознать линейную антигенную детерминанту, образованную всего лишь 5 аминокислотными остатками. Конформационная детерминанта по сравнению с линейной несколько больше — для ее образования требуется 6–12 аминокислотных остатков. Рецепторный аппарат Т-лимфоцитов ориентирован на иные по строению и размеру антигенные детерминанты. В частности, Т-киллеру для определения чужеродности требуется нанопептид, включенный в состав МНС I класса; Т-хелперу при распознавании «свой-чужой» необходим олигопептид размером 12–25 аминокислотных остатков в комплексе с МНС II класса.

Структура и состав эпитопа имеют критическое значение. Замена хотя бы одного структурного элемента молекулы приводит к образованию принципиально новой антигенной детерминанты с иными свойствами. Нужно также отметить, что денатурация приводит к полной или частичной потере антигенных детерминант или появлению новых, при этом теряется специфичность антигена.

Так как молекулы большинства антигенов имеют довольно большие размеры, в их структуре определяется множество антигенных де-

терминант, которые распознаются разными по специфичности антителами и клонами лимфоцитов. Поэтому антигенность вещества зависит от наличия и числа антигенных детерминант в структуре его молекулы.

Чужеродность является обязательным условием для реализации антигенности. По этому критерию система приобретенного иммунитета дифференцирует потенциально опасные объекты биологического мира, синтезированные с чужеродной генетической матрицы. Понятие «чужеродность» относительное, так как иммунокомпетентные клетки не способны напрямую анализировать чужеродный генетический код. Они воспринимают лишь опосредованную информацию, которая, как в зеркале, отражается в молекулярной структуре вещества.

В норме иммунная система невосприимчива к собственным биополимерам. Если на какой-либо биополимер в макроорганизме возникла реакция, то, соответственно, он приобрел черты чужеродности и перестал восприниматься иммунной системой как «свой». Подобное событие может возникнуть при некоторых патологических состояниях как результат нарушения регуляции иммунного ответа (см. «аутоантигены», «аутоантигены», «аутоиммунитет», «аутоиммунные болезни»).

Чужеродность находится в прямой зависимости от «эволюционного расстояния» между организмом-реципиентом и донором антигенов. Чем дальше в филогенетическом развитии организмы отстоят друг от друга, тем большей чужеродностью и, следовательно, иммуногенностью обладают их антигены по отношению друг к другу. Это свойство используют биологи и палеонтологи (при изучении филогенеза, уточнении классификации и т. д.), судебно-медицинские эксперты и криминалисты (установление кровного родства, принадлежности улик, фальсификации пищевых продуктов и т. д.).

Чужеродность заметно проявляется даже между особями одного вида. Отмечено, что единичные замены аминокислот, составляющих основу внутривидового полиморфизма, эффективно распознаются антителами в серологических реакциях.

Вместе с тем антигенные детерминанты даже генетически неродственных животных или

структурно различных биополимеров могут иметь определенное подобие. В этом случае их антигены оказываются способными специфически взаимодействовать с одними и теми же факторами иммунитета. Такие антигены получили название *перекрестно реагирующих*. Описанное явление характерно, например, для альбуминов, коллагенов, миоглобинов различных видов животных. Обнаружено также сходство антигенных детерминант стрептококка, сарколеммы миокарда и базальной мембраны почек, *Treponema pallidum* и липидной вытяжки из миокарда крупного рогатого скота, возбудителя чумы и эритроцитов человека 0 (I) группы крови. Явление, когда один микроб маскируется антигенами другого микроба или макроорганизма для «защиты» от факторов иммунитета, получило название *антигенная мимикрия*.

10.1.2.2. Имуногенность

Имуногенность — потенциальная способность антигена вызывать по отношению к себе в макроорганизме специфическую защитную реакцию. Степень имуногенности зависит от ряда факторов, которые можно объединить в три группы:

1. Молекулярные особенности антигена;
2. Клиренс антигена в организме;
3. Реактивность макроорганизма.

К первой группе факторов отнесены природа, химический состав, молекулярный вес, структура и некоторые другие характеристики.

Имуногенность в значительной степени зависит от *природы* антигена. Известно, что наиболее выраженными имуногенными свойствами обладают белки и полисахариды, а нуклеиновые кислоты и липиды, напротив, слабоимуногенны. В то же время их сополимеры: ЛПС, гликопротеиды, липопротеиды, — способны в достаточной мере активировать иммунную систему и поэтому занимают промежуточное положение по степени имуногенности.

Определенное влияние на степень имуногенности оказывает *химический состав* молекулы антигена. В частности, для имуногенности белков важно разнообразие их аминокислотного состава. Отмечено также, что сополимеры, состоящие из нескольких аминокислот, имуногеннее, чем из одной аминокислоты. «Монотонные» полипептиды, пост-

роенные из одной аминокислоты, практически не активируют иммунную систему. Наличие в структуре молекулы белка ароматических аминокислот, таких как тирозин, триптофан, существенно повышает имуногенность.

Важна также оптическая изомерия аминокислот, составляющих молекулу белка. Пептиды, построенные из L-аминокислот, легко поддаются ферментативной деградации и высокоимуногенны. Полипептидная цепочка, построенная из правовращающих изомеров аминокислот, напротив, медленно расщепляется ферментами макроорганизма и может проявлять лишь ограниченную имуногенность при введении в очень малых дозах, так как высокие дозы таких соединений быстро приводят к развитию иммунологической толерантности (см. гл. 11, разд. 11.6).

Несмотря на кажущуюся равноценность антигенных детерминант по имуногенности, в их спектре существует определенная иерархия. Она проявляется тем, что эпитопы различаются по способности индуцировать иммунный ответ. Поэтому при иммунизации некоторым антигеном в полученном спектре антител будут преобладать имуноглобулины, специфичные к отдельным антигенным детерминантам. Это явление получило название *имунодоминантности*. По современным представлениям, имунодоминантность обусловлена различиями в сродстве эпитопов к антигенпрезентирующим комплексам гистосовместимости.

Большое значение имеет *размер и молекулярная масса* антигена. Несмотря на то, что белки хорошо стимулируют иммунную систему, небольшие полипептидные молекулы с молекулярной массой менее 5 кДа, как правило, низкоимуногенны. Минимальный расчетный размер олигопептида, способный индуцировать иммунный ответ, 6–12 аминокислотных остатков с молекулярной массой около 450 Да. С увеличением размера пептида возрастает его имуногенность. Теоретически существует определенная зависимость между этими параметрами, однако на практике она не всегда выполняется из-за влияния посторонних факторов. Так, например, при равной молекулярной массе (около 70 кДа) альбумин является более сильным антигеном, чем гемоглобин.

Для полисахаридов сохраняются примерно те же зависимости, что и для пептидных анти-

генов. Например, практически не проявляет никакой иммуногенности декстран, который используют в клинике для трансфузионной терапии — его молекулярная масса составляет около 75 кДа. В то же время полисахарид с молекулярной массой 600 кДа достаточно хорошо индуцирует в организме человека иммунную реакцию. Примечательно, что на нуклеиновые кислоты описанные закономерности практически не распространяются.

На степень иммуногенности также оказывает влияние *пространственная структура* антигена. Чрезвычайно важным оказалось наличие в структуре антигена α -спирали, разветвленных боковых цепей, а также высокой плотности идентичных по строению эпитопов.

Опытным путем было доказано, что высокодисперсные коллоидные растворы антигена плохо индуцируют иммунный ответ. Гораздо большей иммуногенностью обладают агрегаты молекул и корпускулярные антигены — цельные клетки (эритроциты, бактерии и т. д.). Это связано с тем, что корпускулярные и высокоагрегированные антигены лучше фагоцитируются, чем отдельные молекулы.

Важность пространственной структуры антигена подчеркивает и тот факт, что фибриллярный белок коллаген, имеющий большую молекулярную массу (около 330 кДа), обладает значительно меньшей иммуногенностью по сравнению с таким глобулярным белком, как альбумин, который почти в 5 раз его легче.

Оказалась также существенной стерическая стабильность молекулы антигена. При денатурации коллагена до желатина вместе с конформационной «жесткостью» структуры молекулы практически полностью исчезает и ее иммуногенность. Поэтому растворы желатина широко используются для парентерального введения.

Еще одним важным условием иммуногенности является *растворимость* антигена. Например, такие высокомолекулярные белки, как кератин, меланин, натуральный шелк, как и другие высокополимерные соединения, не могут быть получены в виде коллоидного раствора в нормальном состоянии, и они не являются иммуногенами. Благодаря этому свойству конский волос, шелк, кетгут и другие применяются в клинической практике для восстановления целостности органов и

тканей. Поэтому воспалительную реакцию в месте шва или репозиции не следует рассматривать как иммунологический конфликт, спровоцированный шовным материалом.

Вторая группа факторов связана с динамикой поступления антигена в организм и его выведения. Так, хорошо известна зависимость иммуногенности антигена от *способа его введения*. Это свойство обусловлено анатомо-топографическими особенностями строения и развития иммунной системы в местах аппликации антигена, а также биологической природой иммуногена и в обязательном порядке учитывается при вакцинации или иммунизации. Например, учитывают тропизм антигена, вакцину против полиомиелита вводят перорально, против сибирской язвы — накожно, БЦЖ — внутрикожно, АКДС — подкожно, против столбняка — внутримышечно.

На иммунный ответ влияет *количество* поступающего антигена: чем его больше, тем более выражен иммунный ответ. Однако передозировка антигена вызывает обратную реакцию — иммунологическую толерантность. Между количеством антигена и силой иммунного ответа в определенном отрезке (интервале) доз существует логарифмическая зависимость, выражаемая *уравнением антигенности* (А. А. Воробьев, А. В. Маркович):

$$\lg H = a + \beta \lg D,$$

где α и β — коэффициенты, характеризующие соответственно природу антигена и иммунореактивность макроорганизма; H — сила иммунного ответа; D — количество антигена.

Третья группа объединяет факторы, определяющие зависимость иммуногенности от состояния макроорганизма. В этой связи на первый план выступают наследственные факторы. Хорошо известно, что результат иммунизации в определенной мере связан с генотипом особи. Существуют чувствительные и нечувствительные к определенным антигенам роды и виды животных, которых используют в лабораторной работе. Например, кролики и крысы практически не реагируют на некоторые бактериальные антигены, которые могут вызывать у морской свинки или мыши чрезвычайно бурный иммунный ответ.

Даже внутри вида можно выделить группы близкородственных особей (например, индустриальные и дикорастущие).

бредные линии животных), которые по-разному будут отвечать на вводимый антиген. В ходе гибридологического исследования установлено, что сила иммунного ответа на простой антиген у мышей детерминируется одним геном и имеет доминантный модус наследования. Иммунное реагирование на сложные по строению антигены имеет мультигенный контроль. Причем у мышей и морских свинок четко прослеживается ассоциация силы иммунного ответа с генами главного комплекса гистосовместимости. В популяции людей также известны значительные (в десятки и сотни раз) межиндивидуальные различия в чувствительности к вакцинам — выделяют иммунологически реактивных и иммунологически инертных индивидуумов.

Однако, как показали исследования, наряду с генетической предрасположенностью немаловажное значение имеет также функциональное состояние макроорганизма — его психоэмоциональный и гормональный фон, интенсивность обменных процессов и пр. От этого зависит различный уровень чувствительности к одному и тому же антигену, как у одного индивидуума в разные возрастные периоды, так и популяционная гетерогенность в целом.

Таким образом,

Иммуногенность является важным свойством антигена, которое необходимо учитывать не только в научных исследованиях. С иммуногенностью, а точнее с индивидуальной реактивностью макроорганизма на введение антигена, связаны популяционные проблемы вакцинации. Ввиду сложности подбора индивидуальной дозы вакцинного препарата, применяют те дозы, способы и формы его введения, которые обеспечивают наибольший процент положительных реакций в популяции в целом. Считается, что для предотвращения или прекращения развития эпидемического процесса необходимо, чтобы иммунитетом в коллективе располагало 95 % привитых.

Иммуногенностью антигена можно управлять, модифицируя перечисленные выше факторы. Существуют группы веществ:

адъювантов и иммуномодуляторов, — которые способны неспецифически усиливать это свойство антигена. Такой эффект широко используется при создании вакцин, в иммунотерапии, иммунопрофилактике и научно-исследовательской работе.

10.1.2.3. Специфичность

Специфичностью называют способность антигена индуцировать иммунный ответ к строго определенному эпитопу. Это свойство обусловлено особенностями формирования иммунного ответа — необходима комплементарность рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток к конкретной антигенной детерминанте. Поэтому специфичность антигена во многом определяется свойствами составляющих его эпитопов. Однако при этом следует учитывать условность границ эпитопов, их структурное разнообразие и гетерогенность клонов антигенреактивных лимфоцитарной специфичности. В результате этого организм на антигенное раздражение всегда отвечает поликлональным иммунным ответом. Подсчитано, что на отдельные антигенные детерминанты одновременно реагирует до ста различных клонов эффекторных лимфоцитов. Это обуславливает широкий спектр варьирования аффинности специфических иммуноглобулинов, и такие иммуноглобулины называют поликлональными.

10.1.3. Классификация антигенов

Основываясь на отдельных характерных свойствах, все многообразие антигенов может быть подразделено на несколько классификационных групп:

- по происхождению;
- по природе;
- по молекулярной структуре;
- по степени иммуногенности;
- по степени чужеродности;
- по направленности активации и обеспеченности иммунного реагирования.

По происхождению различают экзогенные (возникшие вне организма) и эндогенные (возникшие внутри организма) антигены. Среди эндогенных особого внимания заслуживают *ауто- и неоантигены*.

Аутогенные антигены (аутоантигены), или антигены собственного организма, — это

структурно неизменные молекулы, синтезируемые в организме в физиологических условиях. В норме аутоантигены не вызывают реакцию иммунной системы вследствие сформировавшейся *иммунологической толерантности* (невосприимчивости) либо их недоступности для контакта с факторами иммунитета — это так называемые *забарьерные* антигены. При срыве толерантности или нарушении целостности биологических барьеров (наиболее частая причина — травма) компоненты иммунной системы начинают специфически реагировать на аутоантигены выработкой специфических факторов иммунитета (аутоантитела, клон аутореактивных лимфоцитов).

От аутоантигенов следует отличать *неоантигены*, которые возникают в организме в результате мутаций. После модификации молекулы приобретают черты чужеродности.

По природе: биополимеры белковой (протеиды) и небелковой природы (полисахариды, липиды, липополисахариды, нуклеиновые кислоты и пр.).

По молекулярной структуре: глобулярные (молекула имеет шаровидную форму) и фибриллярные (форма нити).

По степени иммуногенности: полноценные и неполноценные. *Полноценные* антигены обладают выраженной антигенностью и иммуногенностью — иммунная система чувствительного организма реагирует на их введение выработкой факторов иммунитета. Такие вещества, как правило, имеют достаточно большую молекулярную массу (более 10 кДа), большой размер молекулы (частицы) в виде глобулы и хорошо взаимодействуют с факторами иммунитета.

Неполноценные антигены, или *гаптены* (термин предложен К. Ландштейнером), напротив, не способны при введении в нормальных условиях индуцировать в организме иммунный ответ, так как обладают крайне низкой иммуногенностью. Однако свойство антигенности они не утратили, что позволяет им специфически взаимодействовать с уже готовыми факторами иммунитета (антителами, лимфоцитами). Чаще всего гаптенами являются низкомолекулярные соединения (молекулярная масса меньше 10 кДа).

При определенных условиях удается заставить иммунную систему макроорганизма

специфически реагировать на гаптен как на полноценный антиген и вырабатывать факторы иммунитета. Для этого необходимо искусственно укрупнить молекулу гаптена и соединить ее прочной связью с достаточно большой белковой молекулой. Молекула белка-носителя получила название *шлеппер* (нем. schlepper — буксир). Синтезированный таким образом конъюгат будет обладать всеми свойствами полноценного антигена и вызывать при введении в организм выработку антител или клон лимфоцитов, специфичных к гаптенной части комплекса. При этом специфичность в составе молекулы конъюгата определяется гаптенной частью, а иммуногенность — белком-носителем.

Используя для иммунизации конъюгаты, получают антитела к гормонам, лекарственным препаратам и другим низкоиммуногенным соединениям. Созданные на основе антител к низкомолекулярным веществам диагностикумы, диагностические наборы и иммуносорбенты позволили значительно расширить возможности и повысить эффективность лабораторной диагностики и фармакотерапии, а также синтеза и выделения особо чистых биоорганических соединений.

По степени чужеродности: ксено-, алло- и изоантигены. *Ксеногенные* антигены (или гетерологичные) — общие для организмов, стоящих на разных ступенях эволюционного развития, например, относящиеся к разным родам и видам. Впервые феномен общности ряда антигенов у животных различных видов был отмечен Д. Форсманом (1911). Ученый иммунизировал кролика суспензией органов морской свинки. Оказалось, что полученная в ходе эксперимента иммунная сыворотка была способна взаимодействовать не только с антигенами морской свинки, но также агглютинировать эритроциты барана. Позже было установлено, что морская свинка и баран имеют ряд структурно сходных антигенных детерминант, дающих перекрестное реагирование. В дальнейшем перечень подобных ксеногенных антигенов был расширен десятками и сотнями пар и даже триплетов, которые формировали между собой как теплокровные, так и холоднокровные животные, растения и микробы. Все эти антигены получили обобщен-

ное название *антигены Форсмана*. В настоящее время антигены Форсмана рассматривают в историческом аспекте, а исследование гетероантигенов широко применяется в судебно-медицинской экспертизе, палеонтологии и других областях медицины и естествознания.

Аллогенные антигены (или групповые) — общие для генетически неродственных организмов, но относящихся к одному виду. На основании аллоантигенов общую популяцию организмов можно подразделить на отдельные группы. Примером таких антигенов у людей являются антигены групп крови (системы АВО и др.) и многие другие. Аллогенные ткани при трансплантации иммунологически несовместимы — они отторгаются или лизируются реципиентом. Микробы на основании групповых антигенов могут быть подразделены на серогруппы. Это имеет большое значение для микробиологической диагностики (например, классификация сальмонелл Кауфмана—Уайта) и эпидемиологического прогнозирования.

Изогенные антигены (или индивидуальные) — общие только для генетически идентичных организмов, например для однояйцовых близнецов, инбредных линий животных. Изотрансплантаты обладают практически полной иммунологической совместимостью и не отторгаются реципиентом при пересадке. Примером таких антигенов в популяции людей являются антигены гистосовместимости, а у бактерий — типовые антигены, не дающие дальнейшего расщепления.

В пределах отдельного организма в определенных анатомо-морфологических образованиях (например, органах или тканях) обнаруживаются специфичные для них антигены, которые в других органах и тканях больше не встречаются. Это, например, раковоэмбриональные антигены (альфа-фетопротеин, трансферрин). Такие антигены получили обобщенное название *органо- и тканеспецифических*.

Отдельным критерием классификации является направленность активации и обеспеченность иммунного реагирования в ответ на внедрение антигена. В зависимости от физико-химических свойств вещества, условий его внедрения, характера реакции и реактивности макроорганизма различают *иммуногены, толерогены и аллергены*.

Иммуногены при попадании в организм способны индуцировать продуктивную реакцию иммунной системы, которая заканчивается выработкой факторов иммунитета (антитела, антигенореактивные клоны лимфоцитов). В клинической практике иммуногены используют для иммунодиагностики, иммунотерапии и иммунопрофилактики многих патологических состояний.

Толероген является полной противоположностью иммуногену. При взаимодействии с системой приобретенного иммунитета он вызывает включение альтернативных механизмов, приводящих к формированию иммунологической толерантности или неответственности на эпитопы данного толерогена (см. разд. 11.6). Толерогену, как правило, присуща мономерность, низкая молекулярная масса, высокая эпитопная плотность и высокая дисперсность (безагрегатность) коллоидных растворов. Толерогены используют для профилактики и лечения иммунологических конфликтов и аллергии путем наведения искусственной неответственности на отдельные антигены.

Аллерген также воздействует на систему приобретенного иммунитета. Однако, в отличие от иммуногена, производимый им эффект формирует патологическую реакцию организма в виде *гиперчувствительности* немедленного или замедленного типа (см. разд. 11.4). По своим свойствам аллерген не отличается от иммуногена. В клинической практике аллергены применяют для диагностики инфекционных и аллергических заболеваний.

Среди иммуногенов выделяют две группы антигенов, различающихся по необходимости вовлечения Т-лимфоцитов в индукцию иммунного ответа. Это — *Т-зависимые* и *Т-независимые* антигены. Иммунная реакция в ответ на введение Т-зависимого антигена реализуется при обязательном участии Т-лимфоцитов (Т-хелперов). К Т-зависимым относится большая часть известных антигенов. В то же время для развития иммунного ответа на Т-независимые антигены не требуется привлечение Т-хелперов. Эти антигены способны непосредственно стимулировать В-лимфоциты к антителопродукции, дифференцировке и пролиферации, а также вызывать иммунный ответ у бести-

мусных животных. Т-независимые антигены имеют относительно простое строение. Это крупные молекулы с молекулярной массой более 10^3 кДа, они поливалентны и имеют монотонно повторяющиеся последовательности с многочисленными однотипными эпитопами. Т-независимые антигены обладают митогенным действием и способны индуцировать поликлональную реакцию. В качестве примера можно привести полимерную форму флагеллина (сократительный белок жгутиков бактерий), ЛПС, туберкулин, сополимеры D-аминокислот и др.

От Т-независимых антигенов следует отличать *суперантигены*. Это условный термин, введенный для обозначения группы веществ, в основном, микробного происхождения, которые могут неспецифически вызывать поликлональную реакцию. В организме в обход естественного процесса антигена цельная молекула суперантигена способна вмешиваться в кооперацию антигенпрезентирующей клетки и Т-хелпера и нарушать распознавание «свой-чужой». Установлено, что молекула суперантигена самостоятельно связывается с межклеточным комплексом «антиген гистосовместимости II класса — Т-клеточный рецептор» и формирует ложный сигнал распознавания чужеродной субстанции. В процесс неспецифической активации одновременно вовлекается огромное количество Т-хелперов (до 20 % от общей массы и более), возникает гиперпродукция цитокинов, за которой следует поликлональная активация лимфоцитов, их массовая гибель вследствие апоптоза и развитие вторичного функционального иммунодефицита.

На сегодняшний день свойства суперантигена обнаружены у стафилококкового энтеротоксина, белков вирусов Эпштейна—Барр, бешенства, ВИЧ и некоторых других микробных субстанций.

10.1.4. Антигены организма человека

Начало изучению аллоантигенных свойств тканей было положено К. Ландштайнером, который в 1900 г. открыл систему групповых антигенов эритроцитов (ABO). В организме человека выделяют множество разнообразных антигенов. Как биологические объекты, они нужны не только для полноценного развития и функционирования всего организма в целом,

но также несут важную информацию, необходимую для клинико-лабораторной диагностики при определении иммунологической совместимости органов и тканей в трансплантологии, а также в научных исследованиях.

С позиций клинической медицины наибольший интерес и важность из числа группоспецифических (аллогенных) антигенов представляют антигены групп крови, среди индивидуальных специфических (изогенных) — антигены гистосовместимости, а в группе органо- и тканеспецифических — раковоэмбриональные антигены.

10.1.4.1. Антигены групп крови человека

Антигены групп крови человека легко определяются на мембране эритроцитов, поэтому они получили название «*эритроцитарные антигены*». На сегодняшний день известно более 250 различных эритроцитарных антигенов.

Наиболее важное клиническое значение имеют антигены системы ABO и Rh (резус-фактор): их необходимо учитывать при проведении гемотрансфузионной терапии, пересадке органов и тканей, предупреждении и лечении иммуноконфликтных осложнений беременности и т. д.

Антигены системы ABO располагаются на наружной мембране всех клеток крови и тканей человека, но наиболее выражены на эритроцитах. Кроме того, у большинства людей (80 %) эти антигены обнаруживаются в плазме крови, лимфе, секретах слизистых и других биологических жидкостях. Антигены системы ABO синтезируются ядродержащими предшественниками эритроцитов и многими другими клетками организма. Они свободно секретируются в межклеточное пространство и поэтому могут появиться на мембране клетки либо как продукт клеточного биосинтеза, либо в результате сорбции из межклеточных жидкостей.

Антигены системы ABO представляют собой высокогликозилированные пептиды: 85 % приходится на углеводную часть и 15 % — на полипептидную. Пептидный компонент состоит из 15 аминокислотных остатков. Он постоянен для всех групп крови ABO и иммунологически инертен. Иммуногенность молекулы антигена системы ABO определяется его углеводной частью.

В системе антигенов АВ0 выделяют три варианта антигенов, различающихся по строению углеводной части: Н, А и В. Базовой молекулой является антиген Н, специфичность которого определяют три углеводных остатка. Антиген А имеет в структуре дополнительный, четвертый углеводный остаток — N-ацетил-D-галактозу, а антиген В — D-галактозу. Антигены системы АВ0 имеют независимое аллельное наследование, что определяет наличие в популяции 4 групп крови: 0 (I), А (II), В (III) и АВ (IV). Кроме того, антигены А и В имеют несколько аллотипов (например, А₁, А₂, А₃... или В₁, В₂, В₃...), которые встречаются в популяции людей с различной частотой.

Определяют групповую принадлежность пациента по системе антигенов АВ0 в реакции агглютинации — эритроциты пациента тестируются специфическими групповыми антисыворотками. Однако, учитывая высокий популяционный полиморфизм данной антигенной системы, перед гемотрансфузией в обязательном порядке проводят биологическую пробу на совместимость реципиента и препарата донорской крови. Ошибка в определении групповой принадлежности и переливание пациенту несовместимой по группе крови, как правило, приводит к развитию острого состояния — внутрисосудистого гемолиза вплоть до гемолитического шока и гибели пациента.

Второй важнейшей системой эритроцитарных антигенов является *система резус (Rh)* — так называемые *резус-антигены* или *резус-факторы*. Эти антигены синтезируются предшественниками эритроцитов и обнаруживаются главным образом на эритроцитах, так как они нерастворимы в биологических жидкостях. По химической структуре резус-антиген представляет собой термолабильный липопротеид. Выделяют 6 разновидностей этого антигена. Генетическая информация о его строении находится в многочисленных аллелях трех сцепленных между собой локусов (D/d, C/c, E/e). В зависимости от наличия или отсутствия резус-антигена, в популяции людей различают две группы: резус-положительные и резус-отрицательные индивидуумы.

Совпадение по резус-антигену важно не только при переливании крови, но также для течения и исхода беременности.

При беременности «резус-отрицательной» матери «резус-положительным» плодом может развиваться «резус-конфликт». Это патологическое состояние связано с выработкой антирезусных антител, способных вызвать иммунологический конфликт: невынашивание беременности или желтуху новорожденного (внутрисосудистый иммунный лизис эритроцитов).

Эпитопная плотность антигена на мембране эритроцитов невысока. Кроме того, его молекула недостаточно удобна для взаимодействия с антителами. Поэтому «резус-антигены» определяют на мембране эритроцитов в реакции не прямой агглютинации (реакция Кумбса).

10.1.4.2. Антигены гистосовместимости

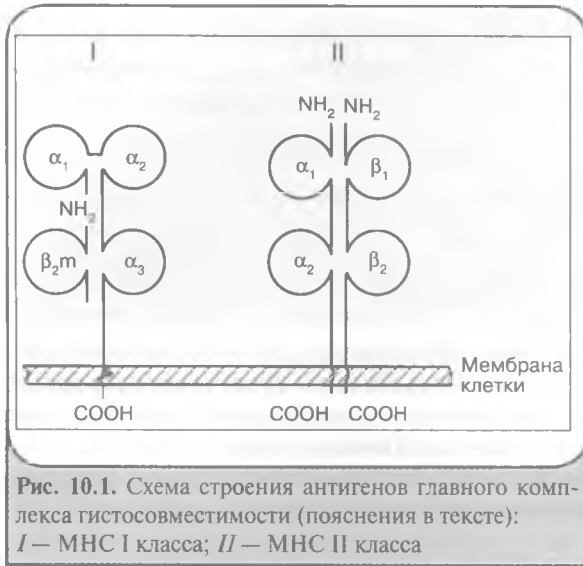
На цитоплазматических мембранах практически всех клеток макроорганизма обнаруживаются *антигены гистосовместимости*. Большая часть из них относится к системе *главного комплекса гистосовместимости*, или *МНС* (аббр. от англ. *Main Hystocompatibility Complex*).

Антигены гистосовместимости играют ключевую роль в осуществлении специфического распознавания «свой-чужой» и индукции приобретенного иммунного ответа. Они определяют совместимость органов и тканей при трансплантации в пределах одного вида, генетическую рестрикцию (ограничение) иммунного реагирования и другие эффекты.

Большая заслуга в изучении МНС, как явления биологического мира, принадлежит Дж. Доссе, П. Догерти, П. Гореру, Г. Снеллу, Р. Цинкернагелю, Р. В. Петрову, ставшим основоположниками *иммуногенетики*.

Впервые МНС был обнаружен в 60-х годах XX в. в опытах на генетически чистых (инбредных) линиях мышей при попытке межлинейной пересадки опухолевых тканей (П. Горер, Г. Снелл). У мышей этот комплекс получил название Н-2 и был картирован в 17-й хромосоме.

У человека МНС был описан несколько позже в работах Дж. Доссе. Его обозначили как *HLA* (аббр. от англ. *Human Leukocyte Antigen*), так как он ассоциирован с лейкоцитами. Биосинтез HLA определяется генами,



локализованными сразу в нескольких локусах короткого плеча 6-й хромосомы.

МНС имеет сложную структуру и высокую полиморфность. По химической природе антигены гистосовместимости представляют собой гликопротеиды, прочно связанные с цитоплазматической мембраной клеток. Их отдельные фрагменты имеют структурную гомологию с молекулами иммуноглобулинов и поэтому относятся к единому *суперсемейству*. Различают два основных класса молекул МНС. Условно принято, что МНС I класса индуцирует преимущественно клеточный иммунный ответ, а МНС II класса — гуморальный. Основные классы объединяют множество сходных по структуре антигенов, которые кодируются множеством аллельных генов. При этом на клетках индивидуума могут экспрессироваться не более двух разновидностей продуктов каждого гена МНС, что важно для поддержания популяционной гетерогенности и выживания как отдельной особи, так и всей популяции в целом.

МНС I класса состоит из двух нековалентно связанных полипептидных цепей с разной молекулярной массой: тяжелой альфа-цепи и легкой бета-цепи (рис. 10.1). Альфа-цепь имеет внеклеточный участок с доменным строением (α_1 -, α_2 - и α_3 -домены), трансмембранный и цитоплазматический. Бета-цепь представляет собой бета-2-микроглобулин, который «налипает» на α_3 -домен после экспрессии альфа-цепи на цитоплазматической мембране клетки.

Альфа-цепь обладает высокой сорбционной способностью по отношению к пептидам. Это свойство определяется α_1 - и α_2 -доменами, формирующими так называемую «щель Бьоркмана» — гипервариабельный участок, ответственный за сорбцию и презентацию молекул антигена. «Щель Бьоркмана» МНС I класса вмещает нанопептид, который в таком виде легко выявляется специфическими антителами.

Процесс формирования комплекса «МНС I класса-антиген» протекает внутриклеточно непрерывно. В его состав включаются любые эндогенно синтезированные пептиды, в том числе вирусные. Комплекс изначально собирается в эндоплазматическом ретикулуме, куда при помощи особого белка, *протеосомы*, переносятся пептиды из цитоплазмы. Включением в комплекс пептид придает структурную жесткость МНС I класса. В его отсутствие функцию стабилизатора выполняет *шаперон* (*калнексин*).

Для МНС I класса характерна высокая скорость биосинтеза — процесс завершается за 6 часов. Этот комплекс экспрессируется на поверхности практически всех клеток, кроме эритроцитов (в безъядерных клетках отсутствует биосинтез) и клеток ворсинчатого трофобласта («профилактика» отторжения плода). Плотность МНС I класса достигает 7000 молекул на клетку, и они покрывают около 1% ее поверхности. Экспрессия молекул заметно усиливается под влиянием цитокинов, например γ -интерферона.

В настоящее время у человека различают более 200 различных вариантов HLA I класса. Они кодируются генами, картированными в трех основных сублокусах 6-й хромосомы и наследуются и проявляются независимо: HLA-A, HLA-B и HLA-C. Локус А объединяет более 60 вариантов, В — 130, а С — около 40.

Типирование индивидуума по HLA I класса проводится на лимфоцитах серологическими методами — в реакции микролимфоцитолитиза со специфическими сыворотками. Для диагностики используют поликлональные специфические антитела, обнаруживаемые в сыворотке крови многорожавших женщин, пациентов, получавших массивную гемотрансфузионную терапию, а также моноклональные.

Учитывая независимое наследование генов сублокусов, в популяции формируется бесконечное множество неповторяющиеся комбинаций HLA I класса. Поэтому каждый человек строго уникален по набору антигенов гистосовместимости, исключение составляют только однояйцовые близнецы, которые абсолютно похожи по набору генов. Основная биологическая роль HLA I класса состоит в том, что они определяют биологическую индивидуальность («биологический паспорт») и являются маркерами «своего» для иммунокомпетентных клеток. Заражение клетки вирусом или мутация изменяют структуру HLA I класса. Содержащая чужеродные или модифицированные пептиды молекула MHC I класса имеет нетипичную для данного организма структуру и является сигналом для активации Т-киллеров (CD8⁺-лимфоциты). Клетки, отличающиеся по I классу, уничтожаются как чужеродные.

В структуре и функции MHC II класса есть ряд принципиальных отличий. Во-первых, они имеют более сложное строение. Комплекс образован двумя нековалентно связанными полипептидными цепочками (альфа-цепь и бета-цепь), имеющими сходное доменное строение (рис. 10.1). Альфа-цепь имеет один глобулярный участок, а бета-цепь — два. Обе цепи как трансмембранные пептиды состоят из трех участков — внеклеточного, трансмембранного и цитоплазматического.

Во-вторых, «щель Бьоркмана» в MHC II класса образована одновременно обеими цепочками. Она вмещает больший по размеру олигопептид (12–25 аминокислотных остатков), причем последний полностью «скрывается» внутри этой щели и в таком состоянии не обнаруживается специфическими антителами.

В-третьих, MHC II класса включает в себя пептид, захваченный из внеклеточной среды путем эндоцитоза, а не синтезированный самой клеткой.

В-четвертых, MHC II класса экспрессируется на поверхности ограниченного числа клеток: дендритных, В-лимфоцитах, Т-хелперах, активированных макрофагах, тучных, эпителиальных и эндотелиальных клетках. Обнаружение MHC II класса на нетипичных клетках расценивается в настоящее время как иммунопатология.

Биосинтез MHC II класса протекает в эндоплазматическом ретикулуме, образующийся димерный комплекс затем встраивается в цитоплазматическую мембрану. До включения в него пептида комплекс стабилизируется шапероном (калнексином). MHC II класса экспрессируется на мембране клетки в течение часа после эндоцитоза антигена. Экспрессия комплекса может быть усилена γ -интерфероном и снижена простагландином E₂.

У мыши антиген гистосовместимости получил название Ia-антиген, а у человека, по аналогии, — HLA II класса.

По имеющимся данным, человеческому организму свойственен чрезвычайно высокий полиморфизм HLA II класса, который в большей степени определяется особенностями строения бета-цепи. В состав комплекса входят продукты трех основных локусов: HLA DR, DQ и DP. При этом локус DR объединяет около 300 аллельных форм, DQ — около 400, а DP — около 500.

Наличие и тип антигенов гистосовместимости II класса определяют в серологических (микролимфоцитотоксический тест) и клеточных реакциях иммунитета (смешанная культура лимфоцитов, или СКЛ). Серологическое типирование MHC II класса производят на В-лимфоцитах с использованием специфических антител, обнаруживаемых в сыворотке крови многорожавших женщин, пациентов, получавших массивную гемотранфузионную терапию, а также синтезированных методами генной инженерии. Тестирование в СКЛ позволяет выявить минорные компоненты MHC II класса, не определяемые серологически. В последнее время все чаще применяют ПЦР.

Биологическая роль MHC II класса чрезвычайно велика. Фактически этот комплекс участвует в индукции приобретенного иммунного ответа. Фрагменты молекулы антигена экспрессируются на цитоплазматической мембране особой группы клеток, которая получила название *антигенпрезентирующих клеток (АПК)*. Это еще более узкий круг среди клеток, способных синтезировать MHC II класса. Наиболее активной АПК считается дендритная клетка, затем — В-лимфоцит и макрофаг. Структура MHC II класса с вклю-

ченным в него пептидом в комплексе с кофакторными молекулами CD-антигенов воспринимается и анализируется Т-хелперами (CD4⁺-лимфоциты). В случае принятия решения о чужеродности включенного в МНС II класса пептида Т-хелпер начинает синтез соответствующих иммуоцитоклинов, и включается механизм специфического иммунного реагирования. В итоге активируется пролиферация и окончательная дифференцировка антигенспецифичных клонов лимфоцитов и формирование иммунной памяти.

Помимо описанных выше антигенов гистосовместимости, идентифицирован III класс молекул МНС. Локус, содержащий кодирующие их гены, вклинивается между I и II классом и разделяет их. К МНС III класса относятся некоторые компоненты комплемента (C2, C4), белки теплового шока, факторы некроза опухоли и др.

10.1.4.3. Опухольассоциированные антигены

Первые указания на наличие в опухолях специфических антигенов датируются 40-ми годами XX в. В 1948–1949 гг. Л. А. Зильбер, видный отечественный микробиолог и иммунолог, при разработке вирусной теории рака доказал существование антигена, специфичного для опухолевой ткани. Позже, в 60-х годах XX в., Г. И. Абелев (в опытах на мышах) и Ю. С. Татаринев (при обследовании людей) обнаружили в сыворотке крови больных первичным раком печени эмбриональный вариант сывороточного альбумина — *альфа-фетопротейн*. К настоящему моменту опухольассоциированные антигены обнаружены и охарактеризованы для многих опухолей, и были даже клонированы их гены. Однако не все опухоли содержат специфические маркерные антигены, и не все маркеры обладают строгой тканевой специфичностью.

Опухольассоциированные антигены классифицируют по локализации и генезу. По местонахождению различают *сывороточные*, секретруемые опухолевыми клетками в межклеточную среду, и *мембранные*. Последние получили название *опухолеспецифических трансплантационных антигенов*, или TSTA (аббр. от англ. *Tumor-specific transplantation antigen*).

В зависимости от природы выделяют *опухолевые, эмбриональные, нормальные гиперэкспрессируемые и мутантные* антигены, ассоциируемые с опухолями. *Вирусные* опухольассоциированные антигены, по сути, являются белками онковирусов. *Эмбриональные* антигены в норме синтезируются в зародышевом периоде. Это, например, альфа-фетопротейн (см. выше); нормальный протеин тестикулы MAGE 1, 2, 3 и др. — маркеры нормальных семенников, а также меланомы, рака молочной железы и пр.; хорионический гонадотропин — в норме синтезируется в плаценте и также при хориокарциноме и других опухолях. В меланоме в большом количестве синтезируется нормальный фермент тирозиназа.

Из *мутантных* белков следует отметить характерный для многих опухолей протеин Ras — ГТФ-связывающий белок, участвующий в трансмембранном проведении сигнала. Маркерами рака молочной и поджелудочной желез, карцином кишечника являются молифицированные муцины (MUC 1, 2 и др.).

Из общих свойств опухольассоциированных антигенов необходимо отметить, что в большинстве своем они представляют собой продукты экспрессии генов, в норме включаемых только в эмбриональном периоде. Они являются слабыми иммуногенами, хотя в отдельных случаях могут индуцировать реакцию цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеров) и распознаваться в составе молекул МНС (HLA) I класса. Направленные против опухольассоциированных антигенов специфические антитела, в сущности, не угнетают рост опухолей, а, наоборот, вызывают иммунодепрессию.

10.1.4.4. CD-антигены

На мембране клеток обнаруживаются групповые антигены, объединяющие клетки, имеющие сходные морфофункциональные характеристики или находящиеся на определенной стадии развития. Эти маркерные молекулы получили название антигенов кластеров дифференцировки клетки, или CD-антигенов (аббр. от англ. *Cell Differentiation Antigens*, или *Cluster Definition*). По структуре они представляют собой гликопротеиды, многие из которых относятся к суперсемейству иммуноглобулинов.

CD-антигены используют для выявления отличий в группах клеток, из которых наиболее широкое распространение получили маркеры иммунокомпетентных клеток. Например, CD3 экспрессируется на популяции Т-лимфоцитов, CD4 характерен для субпопуляции Т-хелперов, а CD8 — цитотоксических Т-лимфоцитов Т-киллеров. CD11a обнаруживается на цитоплазматических мембранах моно- и гранулоцитов, а CD11b — на естественных киллерах. CD19—22 являются маркерами В-лимфоцитов.

Список CD-маркеров довольно обширный, он насчитывает около 200 вариантов. Основные CD-маркеры клеток, участвующих в иммунном ответе, представлены в табл. 10.1. Информация о структуре закодирована в различных участках генома, а экспрессия зависит от стадии дифференцировки клетки и ее функционального состояния.

CD-антигены имеют диагностическое значение в клинике иммунодефицитных состояний, а также в научно-исследовательской работе. Типирование CD-маркеров осуществляется в серологических реакциях с использованием моноклональных антител (реакция иммунофлюоресценции, цитотоксический тест и др.).

10.1.5. Антигены микробов

В структуре микробов определяется несколько типов антигенов. При этом антигенный состав микроба во многом зависит от его эволюционного и таксономического положения. Принципиальные различия имеют антигены бактерий, вирусов, грибов и простейших.

Вместе с тем микробные антигены могут быть общими для отдельных систематических категорий. Так, существуют антигены, характерные для целых семейств, родов и видов. Внутри видов могут быть выделены серологические группы (серогруппы), варианты (серовары) или типы (серотипы). Антигены микробов используют для получения вакцин и сывороток, необходимых для диагностики, профилактики и лечения инфекционных или аллергических заболеваний, а также в диагностических реакциях.

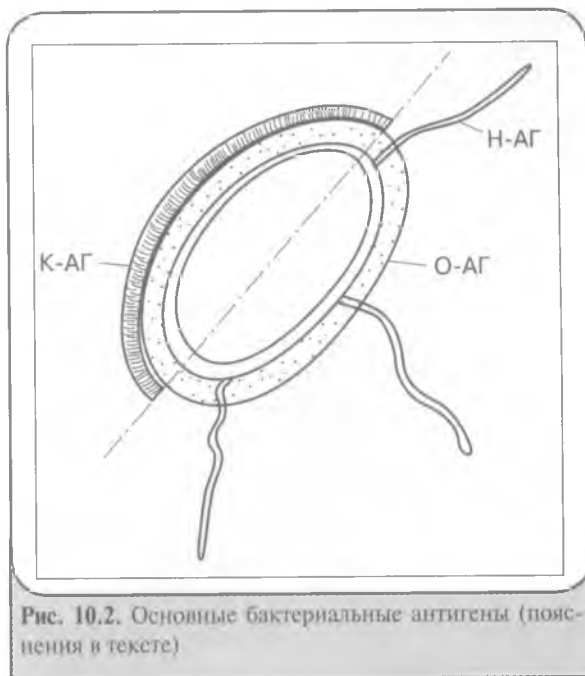


Рис. 10.2. Основные бактериальные антигены (пояснения в тексте)

10.1.5.1. Антигены бактерий

В структуре бактериальной клетки различают жгутиковые, соматические, капсульные и некоторые другие антигены (рис. 10.2). *Жгутиковые*, или *Н-антигены*, локализуются в локомоторном аппарате бактерий — их жгутиках. Они представляют собой эпитопы сократительного белка флагеллина. При нагревании флагеллин денатурирует, и Н-антиген теряет свою специфичность. Фенол не действует на этот антиген.

Соматический, или *О-антиген*, связан с клеточной стенкой бактерий. Его основу составляют ЛПС. О-антиген проявляет термостабильные свойства — он не разрушается при длительном кипячении. Однако соматический антиген подвержен действию альдегидов (например, формалина) и спиртов, которые нарушают его структуру.

Если проиммунизировать животное живыми бактериями, имеющими жгутики, то будут вырабатываться антитела, направленные одновременно против О- и Н-антигенов. Введение животному прокипяченной культуры стимулирует биосинтез антител к соматическому антигену. Культура бактерий,

обработанная фенолом, вызовет образование антител к жгутиковым антигенам.

Капсульные, или *K-антигены*, располагаются на поверхности клеточной стенки. Встречаются у бактерий, образующих капсулу. Как правило, K-антигены состоят из кислых полисахаридов (уроновые кислоты). В то же время у *бациллы сибирской язвы* этот антиген построен из полипептидных цепей. По чувствительности к нагреванию различают три типа K-антигена: А, В, и L. Наибольшая термостабильность характерна для типа А, он не денатурирует даже при длительном кипячении. Тип В выдерживает непродолжительное нагревание (около 1 часа) до 60 °С. Тип L быстро разрушается при этой температуре. Поэтому частичное удаление K-антигена возможно путем длительного кипячения бактериальной культуры.

На поверхности возбудителя брюшного тифа и других энтеробактерий, которые обладают высокой вирулентностью, можно обнаружить особый вариант капсульного антигена. Он получил название *антигена вирулентности*, или *Vi-антигена*. Обнаружение этого антигена или специфичных к нему антител имеет большое диагностическое значение.

Антигенными свойствами обладают также бактериальные *белковые токсины*, *ферменты* и некоторые другие белки, которые секретируются бактериями в окружающую среду (например, туберкулин). При взаимодействии со специфическими антителами токсины, ферменты и другие биологически активные молекулы бактериального происхождения теряют свою активность. Столбнячный, дифтерийный и ботулинический токсины относятся к числу сильных полноценных антигенов, поэтому их используют для получения анатоксинов для вакцинации людей.

В антигенном составе некоторых бактерий выделяется группа антигенов с сильно выраженной иммуногенностью, чья биологическая активность играет ключевую роль в формировании патогенности возбудителя. Связывание таких антигенов специфическими антителами практически полностью инактивирует вирулентные свойства микроорганизма и обеспечивает иммунитет к нему. Описываемые антигены получили название *протективных*. Впервые протективный антиген был обнаружен в гной-

ном отделяемом карбункула, вызванного *бациллой сибирской язвы*. Это вещество является субъединицей белкового токсина, которая ответственна за активацию других, собственно вирулентных субъединиц — так называемых *отечного и летального факторов*.

10.1.5.2. Антигены вирусов

В структуре вирусной частицы различают несколько групп антигенов: *ядерные* (или *коровые*), *капсидные* (или *оболочечные*) и *суперкапсидные*. На поверхности некоторых вирусных частиц встречаются особые *V-антигены* — гемагглютинин и фермент нейраминидаза. Антигены вирусов различаются по происхождению. Часть из них — вирусспецифические. Информация об их строении картирована в нуклеиновой кислоте вируса. Другие антигены вирусов являются компонентами клетки хозяина (углеводы, липиды), они захватываются во внешнюю оболочку вируса при его рождении путем почкования.

Антигенный состав вириона зависит от строения самой вирусной частицы. Антигенная специфичность простоорганизованных вирусов связана с рибо- и дезоксирибонуклеопротеинами. Эти вещества хорошо растворяются в воде и поэтому обозначаются как *S-антигены* (от лат. *solutio* — раствор). У сложноорганизованных вирусов часть антигена связана с нуклеокапсидом, а другая — локализуется во внешней оболочке — суперкапсиде.

Антигены многих вирусов отличаются высокой степенью изменчивости. Это связано с постоянным мутационным процессом, который претерпевает генетический аппарат вирусной частицы. Примером могут служить вирусы гриппа, вирусы иммунодефицитов человека.

10.1.6. Процессы, происходящие с антигеном в макроорганизме

Процесс проникновения антигена и его контакт с иммунной системой протекают поэтапно и имеют свою динамику во времени. При этом на каждом этапе появления и распространения в макроорганизме антиген сталкивается с мощным противодействием развитой сети разнообразных факторов иммунитета (см. табл. 9.3).

Существуют разнообразные пути проникновения и распространения антигена в мак-

роорганизме. Они могут появляться внутри самого макроорганизма (эндогенное происхождение) или поступать извне (экзогенное происхождение). Экзогенное происхождение предполагает, что антиген может проникнуть в макроорганизм:

1) через дефекты кожных покровов и слизистых (как результат ранений, микротравм, укусов насекомых, расчесов и др.);

2) путем всасывания в желудочно-кишечном тракте (эндоцитоз эпителиальными клетками);

3) межклеточно (при незавершенном фагоцитозе, облигатном или факультативном внутриклеточном паразитировании микроб может разноситься по всему организму);

4) чресклеточно (так распространяются облигатные внутриклеточные паразиты, например, вирусы).

В организме антиген разносится лимфой (лимфогенный путь) и кровью (гематогенный путь) по различным органам и тканям. При этом он распределяется не хаотично — антиген чаще всего фильтруется в лимфатических узлах, а также в лимфоидной ткани печени, селезенки, легких и других органов, где вступает в контакт с разнообразными факторами иммунной защиты.

Ответная реакция этих факторов заключается в инактивации и удалении (элиминации) антигена из макроорганизма. Первыми вступают в действие факторы врожденного иммунитета, так как эта система, несмотря на ее многообразие и сложность отдельных ее компонентов, не требует длительного времени для активации. Если антиген не был инактивирован или элиминирован в течение 4 ч, в активную работу включается система факторов приобретенного иммунитета. Эффективность их действия обеспечивается путем специфического распознавания «свой-чужой» и выработки соответствующих факторов регуляции и иммунной защиты (специфические антитела, клоны антигенореактивных лимфоцитов).

Совокупный эффект всех звеньев и уровней иммунной защиты макроорганизма, независимо от степени их вовлечения в процесс, направлен на:

1) связывание и блокирование биологически активных участков молекулы антигена;

2) разрушение или отторжение антигена;

3) полную утилизацию, изоляцию (инкапсуляции) или выведение остатков антигена из макроорганизма.

В итоге достигается полное или частичное восстановление гомеостаза. Параллельно формируется иммунная память, толерантность или аллергия.

10.2. Иммунная система человека

Для осуществления специфической функции надзора за генетическим постоянством внутренней среды, сохранения биологической и видовой индивидуальности в организме человека существует *иммунная система*. Эта система достаточно древняя, ее зачатки обнаружены еще у круглоротых.

Принцип действия иммунной системы основан на распознавании «свой-чужой», а также постоянной рециркуляции, воспроизводстве и взаимодействии ее клеточных элементов.

10.2.1. Структурно-функциональные элементы иммунной системы

Иммунная система — это специализированная, анатомически обособленная лимфоидная ткань. Она разбросана по всему организму в виде различных лимфоидных образований и отдельных клеток. Суммарная масса этой ткани составляет 1–2 % от массы тела. В анатомическом плане иммунная система подразделена на *центральные* и *периферические органы*. К центральным органам иммунитета относятся костный мозг и тимус (вилочковая железа), к периферическим — лимфатические узлы, скопления лимфоидной ткани (групповые фолликулы, миндалины), а также селезенку, печень, кровь и лимфу.

С функциональной точки зрения можно выделить следующие органы иммунной системы:

- воспроизводства и селекции клеток иммунной системы (костный мозг, тимус);

- контроля внешней среды или экзогенной интервенции (лимфоидные системы кожи и слизистых);

- контроля генетического постоянства внутренней среды (селезенка, лимфатические узлы, печень, кровь, лимфа).



Рис. 10.3. Органы иммунной системы человека

Основными функциональными клетками являются лимфоциты. Их число в организме достигает 10^{12} . Кроме лимфоцитов, к числу функциональных клеток в составе лимфоидной ткани относят мононуклеарные и гранулярные лейкоциты, тучные и дендритные клетки. Часть клеток сосредоточена в отдельных органах иммунной системы, другие — свободно перемещаются по всему организму. Схематическое строение иммунной системы приведено на рис. 10.3.

10.2.1.1. Центральные органы иммунной системы

Центральными органами иммунной системы являются *костный мозг* и *вилочковая железа* (*тимус*). Это органы воспроизведения и селекции клеток иммунной системы. Здесь происходит *лимфопоэз* — рождение, размножение (пролиферация) и дифференцировка лимфоцитов до стадии предшественников или зрелых неиммунных (наивных) клеток, а также их

«обучение». Внутри тела человека эти органы имеют как бы центральное расположение.

У птиц к центральным органам иммунной системы относят сумку Фабрициуса (*Vesica Fabricii*), локализованную в области клоака. В этом органе происходит созревание и размножение популяции лимфоцитов — производство антител, вследствие чего они получили название *B-лимфоциты* (см. разд. 10.2.1.3). У млекопитающих этого анатомического образования нет, и его функции в полной мере выполняет костный мозг. Однако традиционное название «B-лимфоциты» сохранилось.

Костный мозг локализуется в губчатом веществе костей (эпифизы трубчатых костей, грудина, ребра и др.). В костном мозге находятся полипотентные стволовые клетки, которые являются родоначальницами всех форменных элементов крови и, соответственно, иммунокомпетентных клеток. В строме костного мозга происходит дифференцировка и размножение популяции B-лимфоцитов, которые затем разносятся по всему организму кровотоком. Здесь же образуются предшественники лимфоцитов, которые впоследствии мигрируют в тимус, — это популяция T-лимфоцитов. Фагоциты и некоторые дендритные клетки также образуются в костном мозге. В нем можно обнаружить и плазматические клетки. Они образуются на периферии в результате терминальной дифференцировки B-лимфоцитов, а затем мигрируют назад, в костный мозг.

Вилочковая железа, или *тимус*, или *зобная железа*, располагается в верхней части грудной полости. Этот орган отличается особой динамикой морфогенеза. Тимус появляется в период внутриутробного развития. К моменту рождения человека его масса составляет 10–15 г, окончательно он созревает к пятилетнему возрасту, а максимального размера достигает к 10–12 годам жизни (масса 30–40 г). После периода полового созревания начинается инволюция органа — происходит замещение лимфоидной ткани жировой и соединительной.

Тимус имеет дольчатое строение. В его структуре различают мозговую и корковую слои. В строме коркового слоя находится большое количество эпителиальных клеток коры, названных «клетки-няньки», которые своими отростками образуют мелкочаечистую сеть, где располагаются «созревающие» лимфоциты.

фоциты. В пограничном, корково-мозговом слое располагаются дендритные клетки тимуса, а в мозговом — эпителиальные клетки мозгового слоя.

Предшественники Т-лимфоцитов, которые образовались из стволовой клетки в костном мозге, поступают в корковый слой тимуса. Здесь под влиянием тимических факторов они активно размножаются и дифференцируются (превращаются) в зрелые Т-лимфоциты, а также «учатся» распознавать чужеродные антигенные детерминанты.

Процесс «обучения» состоит из двух этапов, разделенных по месту и времени, и включает «положительную» и «отрицательную» селекцию. Критерием «обученности» является качество Т-клеточной антигенной рецепции (специфичность и аффинность) и жизнеспособность клетки.

«Положительная» селекция происходит в корковом слое при помощи эпителиальных клеток. Суть ее заключается в «поддержке» клонов Т-лимфоцитов, рецепторы которых эффективно связались с экспрессированными на эпителиальных клетках собственными молекулами МНС, независимо от структуры инкорпорированных собственных олигопептидов. Активировавшиеся в результате контакта клетки получают от эпителиоцитов коры сигнал на выживание и размножение (ростовые факторы тимуса), а нежизнеспособные или ареактивные клетки погибают.

«Отрицательную» селекцию осуществляют дендритные клетки в пограничной, корково-мозговой зоне тимуса. Ее основная цель — «выбраковка» аутореактивных клонов Т-лимфоцитов. Клетки, позитивно реагирующие на комплекс МНС-аутологичный пептид, подвергаются уничтожению путем индукции у них апоптоза.

Итоги селекционной работы в тимусе весьма драматичны: более 99 % Т-лимфоцитов не выдерживают испытаний и погибают. Лишь менее 1 % клеток превращается в зрелые неиммунные формы, способные распознать в комплексе с аутологичными МНС только чужеродные биополимеры. Ежесуточно около 10^6 зрелых «обученных» Т-лимфоцитов поки-

дают тимус с кровотоком и лимфотоком и мигрируют в различные органы и ткани.

Созревание и «обучение» Т-лимфоцитов в тимусе имеют важное значение для формирования иммунитета. Отмечено, что эссенциальное отсутствие или недоразвитие тимуса ведет к резкому снижению эффективности иммунной защиты макроорганизма. Такое явление наблюдается при врожденном дефекте развития вилочковой железы — аплазии или гипоплазии органа (см. разд. 12.4), ее хирургическом удалении или радиационном поражении в детском или юношеском возрасте. Между тем тимэктомия у взрослых практически не приводит к серьезным дефектам в иммунитете.

10.2.1.2. Периферические органы иммунной системы

К периферическим органам иммунной системы относят *селезенку, аппендикс, печень, миндалины глоточного кольца, групповые лимфоидные фолликулы, лимфатические узлы, кровь, лимфу* и др. В этих органах локализируются иммунокомпетентные клетки, которые непосредственно осуществляют иммунный надзор. Здесь также проходит иммуногенез — размножение и окончательная дифференцировка их предшественников. В функциональном плане периферические органы иммунной системы могут быть подразделены на *органы контроля жидких сред организма* (лимфатические узлы, селезенка), *контроля его кожных и слизистых покровов* (лимфатические фолликулы) и *контроля внутренней среды* (тканевые мигрирующие клетки).

Лимфатические узлы — мелкие округлые анатомические образования бобовидной формы, которые располагаются по ходу лимфатических сосудов. Каждый участок тела имеет регионарные лимфоузлы. В общей сложности в организме человека насчитывается до 1000 лимфоузлов. Лимфатические узлы выполняют функцию биологического сита — через них фильтруется лимфа, происходящая из всех покровных тканей, задерживаются и концентрируются антигены. Через лимфоузел проходит в среднем около 10^9 лимфоцитов в час.

В строении лимфоузла различают корковое и мозговое вещество. Соединительно-тканевыми трабекулами кора разделена на сектора. В ней выделяют поверхностный корковый слой и

паракортикальную зону. В секторах поверхностного коркового слоя расположены лимфатические фолликулы с центрами размножения В-лимфоцитов (герминативные центры). Здесь же обнаруживаются фолликулярные дендритные клетки, способствующие созреванию В-лимфоцитов. Паракортикальный слой — это зона Т-лимфоцитов и интердигитальных дендритных клеток, потомков клеток Лангерганса. Мозговое вещество образовано тяжами соединительной ткани, между которыми располагаются макрофаги и плазматические клетки.

В пределах лимфоузла происходит антигенная стимуляция иммунокомпетентных клеток и включается система специфического иммунного реагирования, направленная на обезвреживание антигена.

Селезенка — это орган, через который фильтруется вся кровь. Располагается в левой подвздошной области и имеет дольчатое строение. Лимфоидная ткань образует белую пульпу. В ее строении различают первичные лимфоидные фолликулы, которые окружают артерии по их ходу, и вторичные, располагающиеся на границах первичных фолликулов. Периартериальные лимфоидные скопления преимущественно заселены Т-лимфоцитами, а вторичные — В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Кроме того, в строме селезенки обнаруживают фагоциты и ретикулярные дендритные клетки.

В селезенке, как в селезенке, задерживаются антигены, оказавшиеся в кровотоке, сорбированные не эритроцитах и «состарившиеся» эритроциты. Поэтому этот орган еще называют «кладбищем эритроцитов». Здесь происходит антигенная стимуляция иммунокомпетентных клеток, развитие специфической иммунной реакции на антиген и его обезвреживание.

Печень играет особую роль в иммунной системе. В ней находится более половины всех тканевых макрофагов и большая часть естественных киллеров. Лимфоидные популяции печени обеспечивают толерантность к пищевым антигенам, а макрофаги утилизируют иммунные комплексы, в том числе сорбированные на «стареющих» эритроцитах.

Групповые лимфатические фолликулы (пейеровы бляшки) являются скоплением лимфо-

идной ткани в слизистой оболочке тонкой кишки. Такие образования также находятся в червеобразном отростке слепой кишки — *аппендиксе*. Кроме того, на всем протяжении желудочно-кишечного тракта, начиная с пищевода и кончая анальным отверстием, располагаются единичные лимфатические фолликулы. Они обеспечивают местный иммунитет слизистой кишки и ее просвета, регулируют видовой и количественный состав ее микрофлоры.

Скопление лимфоидных элементов в *миндалине глоточного кольца* обеспечивает местный иммунитет в носоглотке, ротовой полости и верхних дыхательных путях, защищает слизистые от внедрения микробов и других генетически чужеродных агентов воздуха. Также каплевым или воздушно-пылевым путем регулирует локальную нормофлору.

Лимфа — жидкая ткань организма, которая содержится в лимфатических сосудах и узлах. Она включает в себя все соединения поступающие из межтканевой жидкости. Основными и практически единственными клетками лимфы являются лимфоциты. В составе эти клетки осуществляют кругооборот в организме.

Кровь. В ней циркулируют предшественники и зрелые Т- и В-лимфоциты, полиморфноядерные лейкоциты, моноциты. Лимфоциты составляют 30 % от общего числа лейкоцитов. Одновременно в крови присутствует менее 2 % от общего числа лимфоцитов.

10.2.1.3. Клеточные популяции иммунной системы

Специфическую функцию иммунной защиты непосредственно осуществляет многочисленный пул клеток миелоидного и лимфоидного ростков крови: *лимфоциты, фагоциты и дендритные клетки*. Это основные клетки иммунной системы. Кроме них в иммунном ответе может вовлекаться множество других клеточных популяций (эпителий, эндотелий, фибробласты и др.). Перечисленные клетки различаются не только морфологически, но и по своей функциональной направленности по маркерам (специфические молекулярные метки), по рецепторному аппарату и продуктам биосинтеза. Тем не менее большую

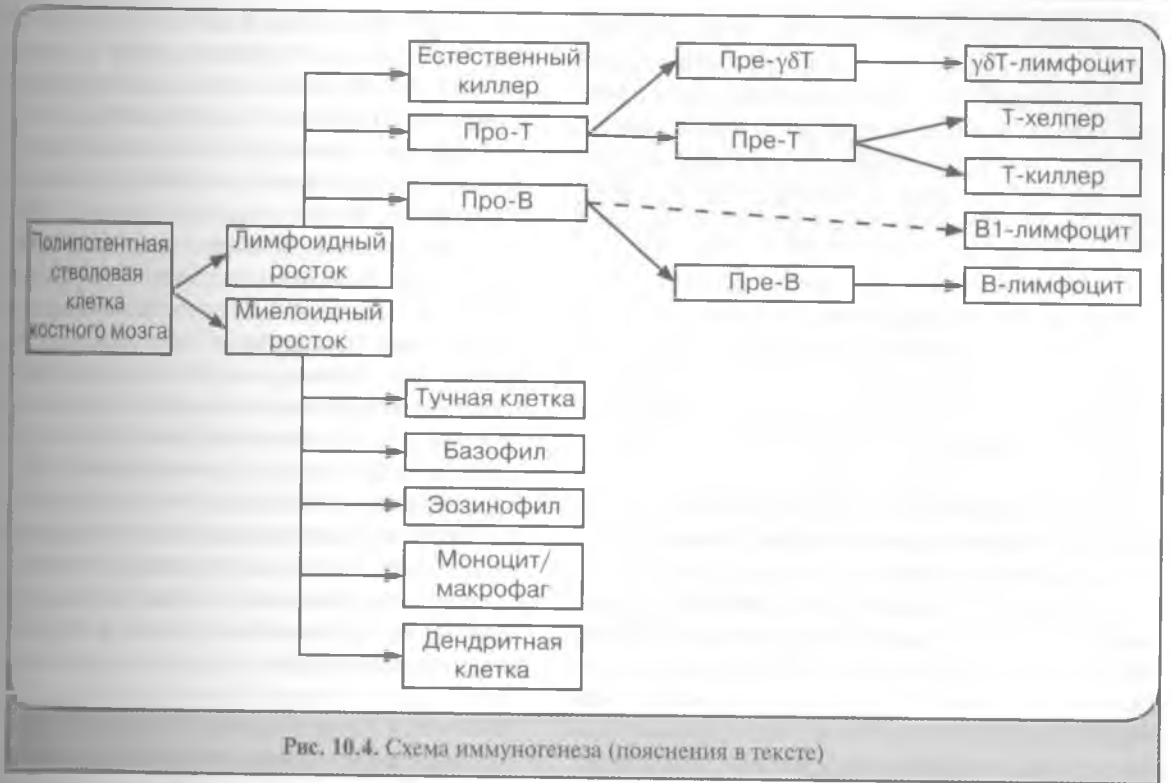


Рис. 10.4. Схема иммуногенеза (пояснения в тексте)

часть клеток иммунной системы объединяет близкое генетическое родство — они имеют общего предшественника, полипотентную стволовую клетку костного мозга (рис. 10.4).

На поверхности цитоплазматической мембраны клеток иммунной системы существуют особые молекулы, которые служат их маркерами. С помощью специфических антител против этих молекул удалось разделить клетки на отдельные субпопуляции. В 1980-х годах была принята международная номенклатура мембранных маркеров лейкоцитов человека. Они получили название *CD-антигены* (аббр. от англ. *Cluster of Differentiation*, или *Definition*). В настоящее время важнейшие субпопуляции клеток иммунной системы идентифицируют серологически при помощи моноклональных антител или в генетическом анализе.

По функциональной активности клетки-участники иммунного ответа подразделяют на регуляторные (индукторные), эффекторные и АПК. *Регуляторные* клетки управляют функционированием компонентов иммунной системы путем выработки медиаторов — им-

муноцитокинов и лигандов. Эти клетки определяют направление развития иммунного реагирования, его интенсивность и продолжительность. *Эффекторы* являются непосредственными исполнителями иммунной защиты. Они воздействуют на объект либо непосредственно, либо путем биосинтеза биологически активных веществ со специфическим эффектом (антитела, токсические субстанции, медиаторы и пр.).

АПК выполняют несложную, но очень ответственную задачу. Они захватывают, процессируют (перерабатывают путем ограниченного протеолиза) и представляют антиген иммунокомпетентным клеткам (Т-хелперам) в составе комплекса с МНС II класса. АПК лишены специфичности в отношении самого антигена. За счет спонтанной сорбции молекула МНС II класса может включать в себя любые эндоцитированные олигопептиды, как свои собственные, так и чужие. Установлено, что большая часть комплексов МНС II класса содержит аутогенные молекулы и лишь малая доля — чужеродный материал.

Наличие на мембране МНС II класса является обязательным, но не единственным признаком АПК. Для осуществления профессиональной деятельности необходима экспрессия ко-стимулирующих факторов (CD40, 80, 86), а также множества молекул адгезии.

Последние обеспечивают тесный, пространственно стабильный и продолжительный контакт АПК с Т-хелпером. Помимо МНС II класса АПК экспрессируют молекулы CD1. С их помощью клетки могут презентовать липосодержащие или полисахаридные антигены.

Наиболее типичными АПК, относящимися к разряду «профессиональных», являются (по активности) дендритные клетки костномозгового происхождения, В-лимфоциты и макрофаги. Дендритные клетки почти в 100 раз эффективнее макрофагов. Функцию «непрофессиональных» АПК могут также выполнять некоторые другие клетки в состоянии активации — это, в первую очередь, эпителиальные и эндотелиоциты.

Осуществление целенаправленной функции по иммунной защите макроорганизма возможно благодаря наличию на клетках иммунной системы специфических антигенных рецепторов (иммунорецепторов). По механизму рецепции они подразделяются на прямые и непрямые. *Прямые иммунорецепторы* непосредственно связываются с молекулой антигена. Так функционируют антигенспецифические рецепторы большинства субпопуляций лимфоцитов. *Непрямые иммунорецепторы* взаимодействуют с молекулой антигена опосредованно — через Fc-фрагмент молекулы иммуноглобулина (см. разд. 11.1.2). Это так называемый *Fc-рецептор* (FcR).

Существуют особенности в механизме рецепции в зависимости от аффинности FcR. Высокоаффинный рецептор может связываться с интактными молекулами IgE или IgG4 и образовывать рецепторный комплекс, в котором антигенспецифическую ко-рецепторную функцию выполняет молекула иммуноглобулина. Такой рецептор есть у базофилов и тучных клеток. Низкоаффинный FcR «распознает» молекулы иммуноглобулина, уже образовавшие иммун-

ные комплексы. Это самый распространенный тип FcR, который обнаруживается на макрофагах, естественных киллерах, эпителиальных дендритных и множестве других клеток.

Иммунное реагирование основано на тесном взаимодействии различных клеточных популяций. Это достигается при помощи синтеза клетками иммунной системы широкого спектра иммуоцитоклинов. Подавляющее большинство клеток иммунной системы постоянно перемещается во внутренних органах организма, широко используя возможности лимфатической и кровеносной систем, а также свои функциональные возможности.

Клеточно-элементальный состав иммунной системы постоянно возобновляется. Состарившиеся, выработавшие свой биологический ресурс, долго активированные, зараженные и генетически трансформированные клетки уничтожаются. Клеточный дефицит восполняется за счет деления стволовых клеток.

10.2.1.3.1. Лимфоциты

Лимфоциты — подвижные мононуклеарные клетки. Они имеют определенные морфологические особенности и отличаются онтогенезом и функциональной принадлежностью. В зависимости от места созревания в организме, эти клетки подразделяются на две гетерогенные популяции Т- (тимус) и В- (бурсы Фабрициуса, костный мозг) *лимфоцитов*.

Лимфоциты играют ключевую роль в обеспечении приобретенного (адаптивного) иммунитета. Они осуществляют специфическое распознавание антигена, индукцию клеточного и гуморального иммунного ответов, различные формы иммунного реагирования.

В организме непрерывно идет рециркуляция и возобновление популяций лимфоцитов. С кровотоком и лимфотокком, а также за счет амфибоидной подвижности клетки активно мигрируют между различными органами и тканями. Вместе с тем миграция и расселение лимфоцитов в тканях не являются хаотическими процессами. Они имеют направленный характер и строго регулируются рядом факторов, в том числе обусловлены экспрессией на мембране

лимфоцитов, эндотелия сосудов и клеточных элементах стромы особых молекул адгезии (интегрины, селектины и пр.). Так, незрелые Т-лимфоциты активно мигрируют в тимус. Зрелые неиммунные («наивные») лимфоциты тропны к периферическим лимфоидным органам и тканям. При этом Т- и В-лимфоциты заселяют только «свои» области — это так называемый эффект «хоминговой рецепции» (от англ. *home* — дом). Зрелые иммунные (активированные) лимфоциты распознают эпителий в очаге воспаления. Клетки иммунологической памяти всегда возвращаются в места своего происхождения.

Продолжительность жизни неиммунных клеток достаточно большая. У Т-лимфоцитов она достигает нескольких месяцев или лет, а у В-клеток — недель или месяцев. Дольше всех живут клетки иммунологической памяти (см. разд. 11.5) — до 10 лет и более. Однако активированные или терминально дифференцированные лимфоциты имеют короткую продолжительность жизни (несколько суток). Клеточный дефицит постоянно восполняется за счет пролиферативных процессов, как в центральных органах иммунной системы, так и в периферических лимфоидных образованиях, и регулируется ростовыми факторами клеток самой иммунной системы. Численность лимфоидных популяций находится под жестким контролем. Состарившиеся, ложно активированные и аутореактивные (реагирующие на аутоантигены) лимфоциты подвергаются уничтожению путем индукции у них апоптоза.

Для выполнения специфической функции лимфоциты несут на своей поверхности прямые антигенные рецепторы. Поэтому лимфоциты являются иммунокомпетентными клетками. Иммунорецептор В-лимфоцита (BCR — от англ. **B**-cell receptor) и особого γ Т-лимфоцита распознают нативный эпитоп, т. е. отличают собственно чужеродные субстанции. Иммунорецептор традиционного Т-лимфоцита (TCR — от англ. **T**-cell receptor) ориентирован на олигопептиды в составе МНС, т. е. распознают «измененное свое».

Антигенспецифические рецепторы лимфоцитов имеют сложное молекулярное строение, уникальное для каждой клетки. Они состоят из нескольких полипептидных субъ-

единиц, имеющих полигенное кодирование. Например, число генов, детерминирующих структуру V-области (вариабельный участок, ответственный за специфическое распознавание), в незрелой клетке достигает 100. При созревании лимфоцита в V-генах возникают перестройки. В результате рекомбинационных процессов образуется бесконечно большое число вариантов антигенной специфичности рецептора, которое достигает 10^{12} , что сопоставимо с общей численностью лимфоидных популяций.

В итоге в организме постоянно содержатся лимфоциты с широким «репертуаром» специфической направленности, готовые в любой момент ответить защитной реакцией на любой возможный антиген. Появляющиеся случайно клоны, реактивные к антигенам собственного организма, элиминируются на ранних этапах развития. Поэтому различают «первичный» и «вторичный антигенраспознающий репертуар» лимфоидных популяций. «Первичный» — представляет собой совокупный набор рецепторных специфичностей, формирующийся при созревании лимфоцитов в какой-либо особи. «Вторичный, или клональный, репертуар» является совокупностью вариантов рецептора после отбраковки аутореактивных клонов клеток.

Антигенспецифическая рецепция в лимфоцитах имеет стандартные механизмы реализации. Полученный внеклеточной частью рецептора сигнал от взаимодействия с антигеном передается по трансмембранному участку на его внутриклеточную часть, которая уже активирует некоторые внутриклеточные ферменты (тирозинкиназу, фосфорилазу и др.).

Для запуска продуктивной реакции лимфоцита необходима суммация сигнала от его антигенспецифических рецепторов, что достигается агрегацией последних. Кроме того, для стабилизации рецептор-лигандного взаимодействия и восприятия ко-стимулирующего сигнала требуются вспомогательные молекулы.

Среди лимфоцитов встречаются клетки без отличительных признаков Т- и В-лимфоцитов. Они получили название *нулевых клеток*. В костном мозге на их долю приходится около 50 % всех лимфоцитов, а в крови — примерно 5 %. Функциональная активность остается неясной.

10.2.1.3.1.1. В-лимфоциты

В-лимфоциты — это преимущественно эффекторные иммунокомпетентные клетки, на долю которых приходится около 15 % всей численности лимфоцитов. Выделяют две субпопуляции В-лимфоцитов: «обычные» В-клетки, не имеющие маркера CD5, и CD5⁺ В1-лимфоциты.

При электронной микроскопии В-лимфоциты имеют шероховатую поверхность, на которой определяются маркеры CD19–22 и некоторые другие. Функцию антигенспецифического рецептора (BCR) выполняют

особые мембранные формы иммуноглобулинов. Клетки экспрессируют МНС II класс ко-стимулирующие молекулы CD40, 80, а также низкоаффинные FcR (к иммунным комплексам и нативным молекулам иммуноглобулина класса G), рецептор к эритроцитам и рецепторы к иммуноцитокинам и др.

Зрелые В-лимфоциты и их потомки — плазматические клетки (плазмоциты) являются антителопродуцентами. Их основным продуктом являются иммуноглобулины. Кроме того, В-лимфоциты являются профессиональными АПК. Они участвуют в формировании гуморального иммунитета, В-клеточной иммунологической памяти и гиперчувствительности немедленного типа.

Дифференцировка и созревание В-лимфоцитов (рис. 10.5) происходят сначала в периферическом мозге, а затем в периферических органах иммунной системы, куда они отселяются на стадии предшественников. Потомками В-лимфоцитов являются клетки иммунологической памяти и плазматические клетки. Основные морфологические признаки плазматических клеток — обширная цитоплазма, развитый эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи с большим количеством рибосом. Активно синтезирующий плазмоцит живет недолго, не более 2–3 суток.

В1-лимфоциты считают филогенетически наиболее древней ветвью антителопродуцирующих клеток. Предшественники этих клеток очень рано мигрируют в ткани слизистых, где автономно от центральных органов иммунной системы поддерживают численность своей популяции. Клетки несут на своей мембране маркер CD5. Они синтезируют низкоаффинные IgA и IgM к полисахаридным и липидным антигенам микробов и обеспечивают иммунную защиту слизистых от условно-патогенных бактерий.

Функциональной активностью В-лимфоцитов управляют растворимые антигены и иммуноцитокины Т2-хелпера, макрофагов и других клеток, например ИЛ-4, 5, 6.

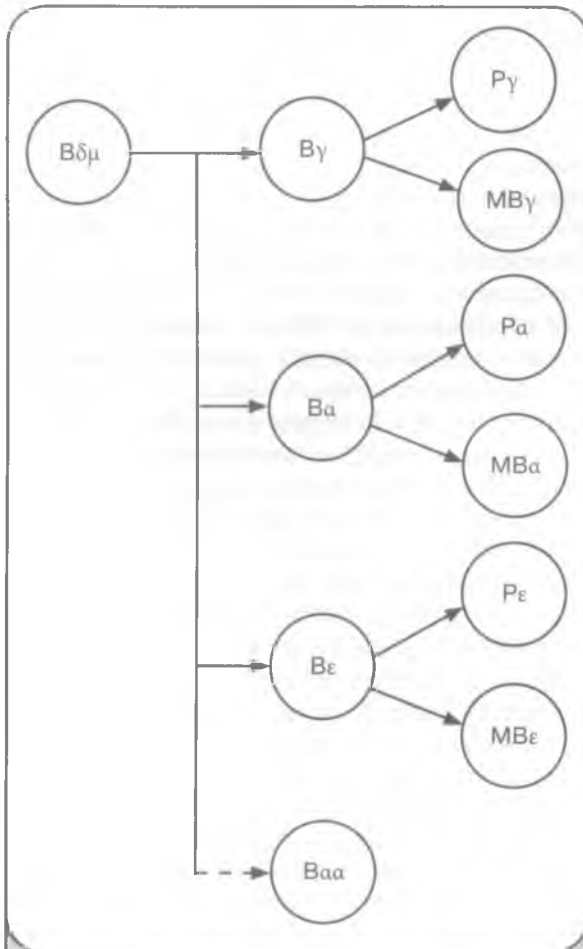


Рис. 10.5. Схема дифференцировки В-лимфоцита: Р — плазматическая клетка; МВ — В-лимфоцит иммунологической памяти; Вαα — синтезирует полимерный иммуноглобулин класса А в слизистых

10.2.1.3.1.2. Т-лимфоциты

Т-лимфоциты — это сложная по составу группа клеток, которая происходит от полипотентной стволовой клетки костного мозга, а созревает

и дифференцируется в тимусе из предшественников (*пре-Т-лимфоциты*). На долю этих клеток приходится около 75 % всей лимфоидной популяции. Отмечено, что на электроннограмме все Т-лимфоциты имеют гладкую поверхность, их общим маркером является CD3, а также рецептор к эритроцитам барана. В зависимости от строения Т-клеточного антигенного рецептора (TCR) и функциональной направленности сообщество Т-лимфоцитов может быть разделено на отдельные группы.

Различают два типа TCR: $\alpha\beta$ и $\gamma\delta$. Первый тип — гетеродимер, который состоит из двух полипептидных цепей — α и β ; он характерен для традиционных Т-лимфоцитов, известных как Т-хелперы и Т-киллеры. Второй тип обнаруживается на поверхности особой популяции $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов.

Профессионально Т-лимфоциты также разделяются на две субпопуляции: иммунорегуляторы и эффекторы. Задачу регуляции иммунного ответа (в основном активирующую) выполняют Т-хелперы. Предполагалось существование Т-супрессоров, которым приписывали функцию торможения развития иммунной реакции (супрессия). Однако до сих пор клетка морфологически не идентифицирована, хотя сам супрессорный эффект существует. Эффекторную функцию осуществляют цитотоксические лимфоциты: Т-киллеры и естественные киллеры.

В организме Т-лимфоциты обеспечивают клеточные формы иммунного ответа (гиперчувствительность замедленного типа, трансплантационный иммунитет, противоопухолевый иммунитет и т. д.), определяют силу и продолжительность иммунной реакции. Их созреванием, дифференцировкой и активностью управляют цитокины.

10.2.1.3.1.2.1. Т-хелперы

Т-хелперы, или Т-помощники, — субпопуляция Т-лимфоцитов, которые выполняют регуляторную функцию. На долю этих клеток приходится около 75 % всей популяции Т-лимфоцитов. На наружной поверхности их цитоплазматической мембраны определяются молекулы CD4, а также $\alpha\beta$ TCR к антигену, представленному в комплексе с МНС II класса. При помощи специфического рецептора

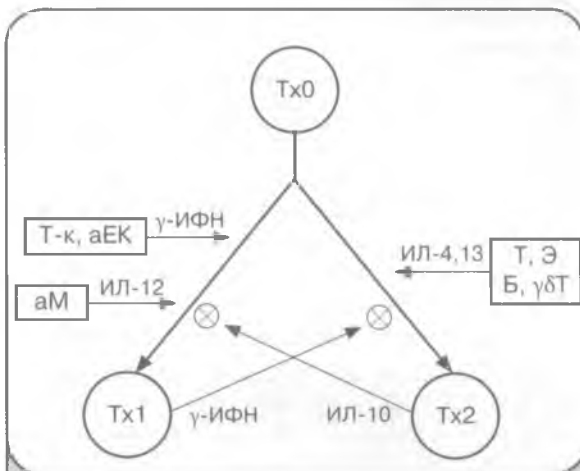


Рис. 10.6. Схема дифференцировки Т-хелпера:

Тх — Т-хелпер; *аМ* — активированный макрофаг; *Т-к* — Т-киллер; *аЕК* — активированный естественный киллер; *Э* — эозинофил; *Б* — базофил; *Т* — тучная клетка; *γδТ* — $\gamma\delta$ -Т-лимфоцит; \otimes — блокада дифференцировки

Т-хелпер анализирует информацию, передаваемую ему АПК.

Рецепция антигена Т-хелпером, т. е. анализ его чужеродности, — это весьма сложный процесс, требующий высокой точности. Ему способствует множество факторов (рис. 10.6):

- Молекула CD3, комплексирующая с TCR;
- Ко-рецепторные молекулы CD4, имеющие сродство к молекулярному комплексу МНС II класса;
- Молекулы адгезии, стабилизирующие межклеточный контакт;
- Рецепторы, взаимодействующие с ко-стимулирующими факторами АПК (CD28, 40L).

Продуктивная рецепция стимулирует Т-хелпер к продукции широкого спектра иммуноцитоклинов, при помощи которых он управляет биологической активностью множества клеток, вовлеченных в иммунный ответ.

Установлена гетерогенность популяции Т-хелперов. Активированный CD4⁺ Т-лимфоцит (Т0-хелпер) дифференцируется в одного из своих потомков: Т1- или Т2-хелпер (рис. 10.7). Эта дифференцировка является альтернативной, ее направление определяют цитокиновые стимулы. Т1- или Т2-хелперы различаются лишь функционально — по спектру продуцируемых цитокинов.

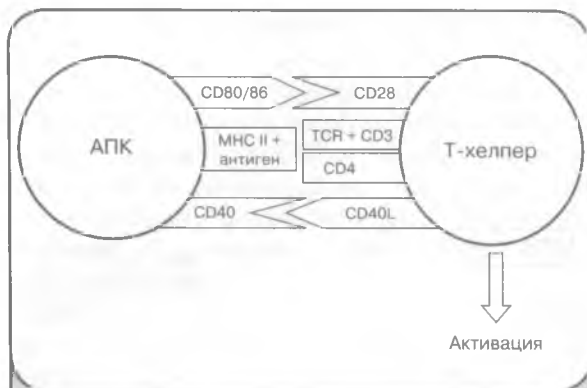


Рис. 10.7. Схема активации Т-хелпера (пояснения в тексте)

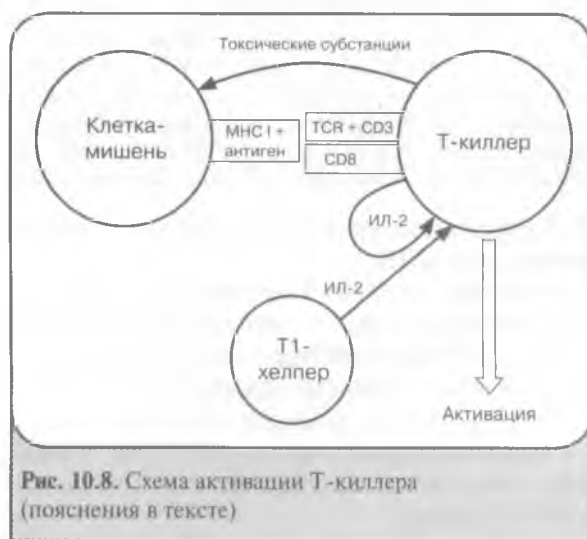


Рис. 10.8. Схема активации Т-киллера (пояснения в тексте)

Т1-хелпер образует ИЛ-2, -3, γ -ИФН, фактор некроза опухолей (ФНО) и другие, необходимые для развития клеточного иммунного ответа, гиперчувствительности замедленного типа, иммунного воспаления. Потребность в этой клетке определяет активированный макрофаг, естественный и Т-киллеры, синтезирующие ИЛ-12 и γ -ИФН.

Т2-хелпер продуцирует ИЛ-4, 5, 6, 9, 10, 13 и др., которые поддерживают гуморальный иммунный ответ, а также гиперчувствительность немедленного типа. Дифференцировку в сторону Т2-хелпера потенцируют $\gamma\delta$ Т-клетки, базофилы, тучные клетки и эозинофилы, синтезирующие ИЛ-4 и 13.

В организме поддерживается баланс Т1-/Т2-хелперов. Он необходим для развития адекватного

иммунного ответа. Сами клетки находятся в конкурентных взаимоотношениях, они опозитно тормозят клональное развитие друг друга. Установлено, что в организме новорожденных преобладают Т2-хелперы. Нарушение заселения желудочно-кишечного тракта нормальной микрофлорой тормозит развитие субпопуляции Т1-хелперов и ведет к алергизации организма.

10.2.1.3.1.2.2. Т-киллеры

Т-киллер — субпопуляция Т-лимфоцитов-эффекторов. На их долю приходится примерно 25% всей популяции Т-лимфоцитов. На поверхности цитоплазматической мембраны Т-киллера определяются молекулы CD8, а также $\alpha\beta$ TCR к антигену в комплексе с MHC I класса, по которому «свои» клетки отличаются от «чужих». В рецепции принимают участие молекула CD3, комплексирующая с TCR, и ко-рецепторные молекулы CD8, тропные к MHC I класса (рис. 10.8).

Т-киллер анализирует клетки собственного организма в поисках измененной, т.е. отличной от собственной, структуры комплекса антиген—MHC I класса. Мутантные клетки, клетки, пораженные вирусом, или клетки аллогенного трансплантата несут на своей поверхности такие признаки генетической чужеродности. Поэтому они являются мишенью Т-киллера.

Т-киллер устраняет клетки-мишени путем антителонезависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (см. разд. 11.3.2), для чего синтезирует ряд токсических субстанций: перфорин, гранзимы и гранулизин.

Перфорин — токсический белок, который синтезируют цитотоксические лимфоциты — Т-киллеры и естественные киллеры. Обладает неспецифическим действием. Вырабатывается только зрелыми активированными клетками, незрелые неиммунные клетки перфорин не синтезируют.

Перфорин образуется в виде растворимого белка-предшественника и накапливается в цитоплазме в гранулах, которые сосредотачиваются около TCR, связавшегося с клеткой-мишенью. «Ориентированность» по TCR необходима для обеспечения локального, «адресного» эффекта — повреждения только пораженных или измененных клеток-мишеней.

Содержимое гранул высвобождается в узкую щель, образованную тесным контактом

цитотоксического лимфоцита и клетки-мишени. За счет гидрофобных участков перфорин встраивается в цитоплазматическую мембрану клетки-мишени, где в присутствии ионов Ca^{2+} полимеризуется в трансмембранную пору диаметром 16 нм. Образовавшийся дефект цитоплазматической мембраны подобно действию комплемента может вызвать осмотический лизис клетки-мишени (некроз) и/или обеспечить проникновение в нее гранзимов гранулизына.

Гранзимы — это обобщающее название сериновых протеаз, синтезируемых зрелыми активированными цитотоксическими лимфоцитами. Различают три типа гранзимов: А, В и С. После синтеза гранзимы накапливаются в гранулах подобно перфоруину и вместе с ним выделяются из клетки в синаптическую щель. В клетку-мишень проникают через поры, образованные перфоруином.

Мишенью для гранзимов являются внутриклеточные специальные ферменты, инициирующие апоптоз, которые обладают широкой нуклеазной активностью, в том числе разрушают нуклеиновые кислоты внутриклеточных паразитов. Таким образом, гранзимы индуцируют гибель клетки путем апоптоза и санацию организма от зараженных клеток.

Гранулизын — эффекторное вещество с ферментативной активностью, синтезируемое цитотоксическими лимфоцитами. Способно запускать в клетках-мишенях апоптоз, повреждая мембрану их митохондрий.

Т-киллер обладает огромным биологическим потенциалом — его называют «серийным убийцей». За короткий срок он может уничтожить несколько клеток-мишеней, затрачивая на каждую около 5 минут. Эффекторную функцию Т-киллера стимулирует Т1-хелпер, хотя в ряде случаев его помощь не требуется.

Т-киллеры обеспечивают в организме антителонезависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, формирование Т-клеточной иммунологической памяти и гиперчувствительности замедленного типа. Кроме того, активированный Т-киллер синтезирует γ -ИФН и ФНО, стимулирующие макрофаг и потенцирующие иммунное воспаление.

10.2.1.3.1.2.3. Естественные киллеры

Естественные, или нормальные, киллеры (NK-клетки — аббр. от англ. *Natural Killer*)

изначально были описаны как большие гранулярные лимфоциты, способные распознать в организме некоторые виды раковотрансформированных клеток и уничтожить их без предварительной подготовки. Этот факт обусловил название клеток. Рецепторный аппарат и механизм действия естественных киллеров (ЕК) долгое время оставались неясными.

Сейчас установлено, что ЕК имеют морфологию малых лимфоцитов, на их долю приходится около 15 % всех лимфоцитов. Они происходят из общей лимфоидной клетки-предшественницы, мигрируют с кровотоком, но отсутствуют в лимфе. Обнаруживаются в печени, селезенке, слизистых, матке. По маркерам, местам типичной локализации и эффекторным механизмам выделяют две субпопуляции ЕК: «кровяную» и «тканевую».

ЕК — главный защитник макроорганизма от внутриклеточных паразитов. Он срабатывает задолго до активации адаптивного иммунитета. Вместе с тем, биологические возможности ЕК весьма ограничены.

«Кровяные» ЕК — это активно циркулирующие в кровотоке клетки. Обнаруживаются в красной пульпе селезенки. Несут на себе маркер $CD16^+CD56^{\text{мало}}$, низкоаффинный FcR к иммуноглобулину класса G, связанному в иммунный комплекс, и рецептор к МНС I класса. При цитокиновой активации синтезирует, накапливая в гранулах, перфорин, гранзимы и гранулизын. Эффекторная функция «кровяных» ЕК в отношении «меченных» иммуноглобулинами клеток реализуется в антителонезависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (см. разд. 11.3.1). «Мишенями» являются клетки, инфицированные внутриклеточными паразитами (бактерии, вирусы, простейшие), и аллогенные клетки трансплантата.

Рецептор к МНС I класса анализирует плотность экспрессии этого маркера на мембране клетки. Дефицит этих молекул, наблюдающийся при раковой трансформации клеток, также потенцирует цитотоксичность ЕК.

«Тканевые» ЕК ведут более оседлый образ жизни и обнаруживаются в большом количестве в печени и децидуальной оболочке беременной матки. Несут маркер $CD16^+CD56^{\text{много}}$ и много Fas-лиганда. Реализуемый эффекторный механизм — антителонезависимая клеточно-опосредованная цитоток-

сичность (см. разд. 11.3.2). Клетками-мишенями являются лимфоциты, активированные пищевыми антигенами или аллоантигенами плода.

Помимо цитотоксических функций, ЕК вырабатывают цитокины (ИЛ-5, -8, γ -ИФН, ФНО, гранулоцит-моноцит-колониестимулирующий фактор — ГМ-КСФ и др.), активирующие макрофагально-фагоцитарное звено, развитие иммунного ответа и иммунного воспаления. Эффекторная функция ЕК усиливается цитокинами (ИЛ-2, -4, -10, -12, γ -ИФН и др.).

10.2.1.3.1.2.4. $\gamma\delta$ T-лимфоциты

Среди Т-лимфоцитов существует малочисленная популяция клеток с фенотипом, преимущественно CD4⁺CD8⁻, которые несут на своей поверхности особый TCR $\gamma\delta$ -типа. Это *$\gamma\delta$ T-лимфоциты*. Они практически полностью локализованы в эпидермисе и слизистой желудочно-кишечного тракта. Их общая численность невелика — менее 1% от общего пула Т-лимфоцитов, однако в покровных тканях может достигать 10%.

Антигенный рецептор $\gamma\delta$ T-лимфоцита сходен с VCR, его активный центр непосредственно связывается с эпитопом антигена. В отличие от $\alpha\beta$ -типа, $\gamma\delta$ TCR не требует для рецепции процессинга антигена, а также его презентации в комплексе с молекулами МНС. Антигенные детерминанты могут быть представлены, например, молекулами CD1.

Иммунорецептор $\gamma\delta$ T-лимфоцита обладает узким «репертуаром» специфичности. Клетки ориентированы на распознавание некоторых широко распространенных микробных антигенов (липопротеинов, белков теплового шока, бактериальных суперантигенов и др.). Клетки принимают участие в удалении патогенов на ранних этапах противoinфекционной защиты.

$\gamma\delta$ T-лимфоциты могут быть как эффекторными, цитотоксическими клетками, так и регуляторами иммунореактивности. Они синтезируют цитокины, активирующие местный иммунитет и локальную воспалительную реакцию, в том числе усиливают образование Т2-хелперов. Кроме того, $\gamma\delta$ -клетки продуцируют ИЛ-7 и контролируют тем самым численность собственной популяции.

Установлено, что $\gamma\delta$ T-лимфоциты происходят из автономного ростка в покровных

тканях, образованного стволовыми клетками, мигрировавшими туда на ранних этапах эмбриогенеза. В созревании минуют тимус. Активируются клетками поврежденного эпителия ЖКТ и эпидермиса. Размножение $\gamma\delta$ -клеток усиливается под действием ИЛ-

10.2.1.3.2. Другие клетки иммунной системы

Помимо лимфоцитов, в развитии иммунного ответа участвует множество различных клеточных популяций, относящихся, в основном, к миелоидному ростку. Особого внимания заслуживают гранулоциты, тучные и дендритные клетки.

Фагоциты (см. разд. 9.2.3.1) — самая многочисленная фракция иммунокомпетентных клеток, гетерогенная по морфологическим свойствам. Обладают регуляторной и эффекторной активностями. Вырабатывают иммунореактивные цитокины, ферменты, ион-радикалы и другие биологически активные вещества. Осуществляют вне- и внутриклеточный киллинг и фагоцитоз. Макрофаги обеспечивают переработку и представление антигена Т-клеткам.

Эозинофилы — гранулярные лейкоциты крови. Содержатся в крови, рыхлой соединительной ткани. В большом количестве накапливаются в очагах местных воспалений, вызванных гельминтами, и выполняют функцию киллеров (антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность).

Эозинофилы несут на мембране низкоаффинные FcR к IgA или IgE, «распознающие» паразитов, «отмеченных» такими антителами. Активированная клетка выделяет ряд токсических субстанций, губительно действующих на гельминты:

- ферменты (эозинофильная пероксидаза и коллагеназа);
- белковые токсины (главный щелочной протеин, эозинофильный катионный белок и нейротоксин).

Эозинофилы также синтезируют цитокины (ИЛ-3, -5, -8, ГМ-КСФ и др.), стимулирующие клеточное звено иммунитета и образование Т2-хелпера, и липидные медиаторы (лейкотриены, тромбоцитарноактивирующий фактор и др.), потенцирующие воспалительную реакцию в месте внедрения гельминта.

Тучные клетки — немигрирующие морфологические элементы неясного происхождения, располагающиеся оседло вдоль барьерных тканей (*lamina propria* слизистых оболочек, в подкожной соединительной ткани) и в соединительной ткани кровеносных сосудов. По набору синтезируемых биологически активных соединений и локализации выделяют две разновидности тучных клеток: клетки *слизистых оболочек* и клетки *соединительной ткани*.

Базофилы — гранулоциты, происходящие от костномозговой стволовой клетки. Имеют общую клетку-предшественник с эозинофилами, дифференцировка которых альтернативно определяется цитокинами. Постоянно мигрируют с кровотоком, привлекаются в очаг воспаления анафилотоксинами (C3a, C4a и C5a) и задерживаются там при помощи соответствующих хоминговых рецепторов.

Базофил и тучная клетка синтезируют сходный набор биологически активных веществ. Они вырабатывают, накапливая в гранулах, vasoактивные амины (гистамин у человека и серотонин у грызунов), сульфатированные глюкозаминогликаны (хондроитинсульфат, гепарин), ферменты (сериновые протеазы и др.), а также α -ФНО. В межклеточное пространство клетки синтезируют лейкотриены (C4, D4, E4), простагландины (PGD₂, PGE₂), цитокины (ИЛ-3, -4, -5, -13 и ГМ-КСФ) и фактор активации тромбоцитов.

На поверхности базофил и тучная клетка несут высокоаффинный FcR, связывающий IgE и G4 и использующий их как ко-рецепторный фактор специфического взаимодействия с эпителином аллергена. Эти клетки также экспрессируют низкоаффинный FcR к IgG в составе иммунного комплекса, который тормозит биологическую активность клеток. Базофил и тучная клетка активируются аллергенами, анафилотоксинами, медиаторами активированных нейтрофилов, норадреналином и другими веществами; ингибируются они иммунными комплексами.

Связывание аллергена с рецепторным комплексом вызывает дегрануляцию базофила и тучной клетки — залповый выброс биологически активных соединений, содержащихся в гранулах, в межклеточное пространство, которые вызывают развитие гиперчувствительности немедленного типа (аллергической реакции I типа).

Базофил и тучная клетка стимулируют клеточное звено иммунитета. Вырабатываемые ими цитокины направляют дифференцировку Т-хелперов в сторону T2-субпопуляции, а также усиливают эозинофилогенез.

Дендритные клетки — отростчатые клетки костномозгового происхождения, локализуются в лимфоидных органах и барьерных тканях. Экспрессируют на своей поверхности MHC II класса и ко-стимулирующие факторы (CD40, 80, 86). Способны поглощать путем эндоцитоза, перерабатывать (процессировать) и представлять (презентировать) антиген Т-хелперам в комплексе с MHC II класса. Является наиболее активной АПК. Из числа дендритных клеток хорошо известны клетки Лангерганса (в эпидермисе), интердигитальные клетки (в лимфатических узлах), дендритные клетки тимуса.

10.2.2. Организация функционирования иммунной системы

Как следует из представленного выше материала, иммунная система имеет сложную организацию. Для осуществления специфической функции, направленной на распознавание и уничтожение генетически чужеродных веществ, регуляцию функционирования компонентов иммунной системы и поддержания генетического постоянства внутренней среды организма задействовано множество различных клеточных популяций и растворимых факторов. Клетки постоянно циркулируют в организме, погибают в процессе жизнедеятельности и заново нарождаются.

В зависимости от конкретной потребности специфическая функция иммунной системы может быть активирована либо подавлена (супрессирована). Независимо от направленности любое реагирование иммунной системы осуществляется при постоянном взаимодействии практически всех типов ее клеток, т. е. в условиях межклеточной кооперации. Раздражителями (активирующим сигналом) являются антиген, непосредственный межклеточный контакт и растворимые факторы (цитокины, продукты деградации клеток макроорганизма или микроба). В развитии любого иммунного реагирования прослеживается каскад его последовательно сменяющихся этапов.

10.2.2.1. Взаимодействие клеток иммунной системы

Как было указано ранее, необходимым условием функционирования иммунной системы является тесная межклеточная кооперация. Для связи между собой клетки используют различные растворимые факторы, действующие дистантно, а также прямой контакт. Основу механизма межклеточной кооперации составляет рецептор-лигандное взаимодействие.

Синтез растворимых факторов является одним из универсальных способов коммутации клеток иммунной системы между собой и с другими клетками всего организма. К таковым относятся цитокины, коих в настоящее время известно более 50. Цитокины представляют собой гетерогенное семейство разнообразных по структуре и функции биологически активных молекул. Для них характерен ряд общих свойств:

- Как правило, цитокины не депонируются в клетке, а синтезируются после соответствующего стимула;
- Для восприятия цитокинового сигнала клетка экспрессирует соответствующий рецептор, который может взаимодействовать с несколькими различными цитокинами;
- Цитокины синтезируются клетками разных ростков, уровней и направлений дифференцировки;
- Субпопуляции клеток иммунной системы различаются по спектру синтезируемых цитокинов и их рецепторов;
- Цитокины обладают универсальностью, множественностью эффектов и синергизмом;
- Цитокины могут воздействовать как на рядом расположенную клетку (паракринная регуляция), так и на сам продуцент (аутокринная регуляция);
- Цитокиновая регуляция носит каскадный характер: активация клетки одним цитокином вызывает синтез другого;
- В отличие от гормонов внутренней секреции, в подавляющем большинстве это короткодистантные медиаторы — их эффекты проявляются на месте выработки. Вместе с тем ряд провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, -6, α -ФНО и др.) может оказывать системное действие.

Цитокины можно классифицировать в зависимости от их ведущей функциональной направленности:

- Медиаторы доиммунного воспаления (ИЛ-1, -6, -12, α -ФНО и др.);
- Медиаторы иммунного воспаления (ИЛ-5, -9, -10, γ -ИФН и др.);
- Регуляторы пролиферации и дифференцировки лимфоцитов (ИЛ-2, -4, -13, β -трансформирующий фактор роста (β -ТФР) и др.);
- Факторы роста клеток, или колонизирующие факторы (ИЛ-3, -7, ГМ-КСФ и др.);
- Хемокины, или клеточные хемотаксисы (ИЛ-8 и др.).

Краткая характеристика основных цитокинов приведена в табл. 10.2 (на с. 233).

Прямое межклеточное взаимодействие основано на рецепции структур, экспрессированных на мембране клетки-опонента. Это возможно при достаточной пространственной стабильности адгезирования клеток. Такой способ коммутации используют АПК в общении с Т-хелперами при презентации антигена и Т-киллеры при анализе комплекса МНС I класса на клетке-мишени. Механизм действия ко-стимулирующих факторов (например, CD40—CD40-лиганд, CD28—CD80, 86) также требует непосредственного контакта.

Другим примером является взаимодействие естественных киллеров или высокодифференцированных Т-лимфоцитов (Т1-хелперы и Т-киллеров), экспрессирующих Fas-лиганда с активированными лимфоцитами, обладающими много Fas-рецептора (CD95). Контакт Fas-рецептора с соответствующим лигандом оказывается губительным для активированного лимфоцита — в последнем включается механизм апоптотического уничтожения.

10.2.2.2. Активация иммунной системы

Активация иммунной системы подразумевает развитие продуктивной иммунной реакции в ответ на появление аллогенных факторов (антигенов) и продуктов деструкции тканей макроорганизма.

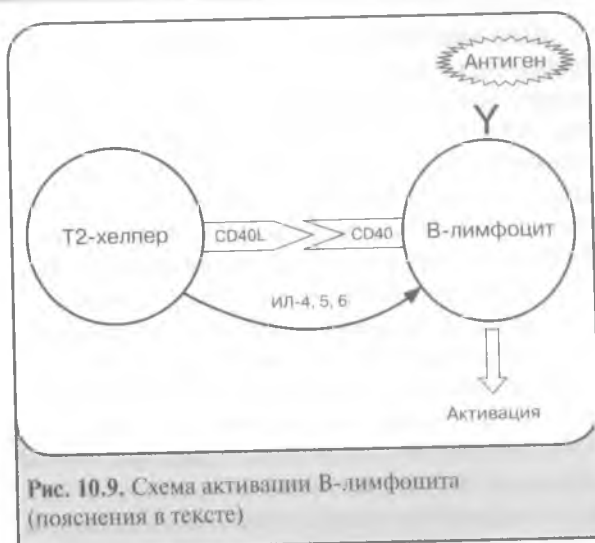
Это сложный многоступенчатый процесс, требующий продолжительного периода времени для своей индукции — около 4 суток. Критическим событием является невозможность элиминации антигена факторами неспецифической резистентности в течение указанного срока.

Пусковым механизмом адаптивного иммунитета является распознавание «свой-чужой», которое осуществляют Т-лимфоциты при помощи своих прямых иммунорецепторов — TCR. В случае установления чужеродности биологической молекулы включается второй этап реагирования — запускается интенсивное тиражирование клона высокоспецифичных к антигену лимфоцитов-эффекторов, способных прервать аллогенную интервенцию, а также накопление Т- и В-клеток иммунологической памяти — гарантии будущего выживания. Это явление получило название *экспансия клона*. Параллельно, но несколько позже пролиферации стимулируется дифференцировка иммунных лимфоцитов.

Таким образом, продуктивная активация иммунной системы связана с размножением и дифференцировкой антигенореактивных клонов иммунокомпетентных клеток. Антигену в этом процессе отведена роль индуктора и фактора клональной селекции. Механизмы основных этапов активации иммунной системы рассмотрены ниже.

Активация Т-хелпера. В этом процессе (рис. 10.9) в обязательном порядке принимают участие АПК, в роли которых в подавляющем большинстве случаев выступают дендритные клетки, В-лимфоциты и макрофаги. АПК эндцитирует молекулярный антиген (пептид), процессирует (ограниченный протеолиз) его во внутриклеточных везикулах, встраивает образовавшийся олигопептид в молекулу МНС II класса и выставляет полученный комплекс на наружной мембране. На поверхности АПК также экспрессируются ко-стимулирующие факторы — молекулы CD40, 80, 86. Их мощным индуктором являются соединения, образующиеся на ранних этапах неспецифической антимикробной защиты (доиммунное воспаление), — продукты альтерации покровных тканей.

Т-хелпер при помощи молекул адгезии прочно соединяется с поверхностью АПК. Иммунорецептор Т-хелпера совместно с молекулой CD3 при поддержке ко-рецепторной молекулы CD4 взаимодействует с комплексом антиген—МНС II класса и анализирует аутогенность его структуры. Продуктивность рецепции зависит от ко-стимулирующих воздействий. Поэтому молекула CD28 Т-хелпера



связывается с CD80/86 АПК (афферентный сигнал), а CD40-лиганд — со своей парой CD40 (эфферентный сигнал).

В случае признания чужеродности комплекса антиген—МНС II класса (а точнее «не своего») Т-хелпер активируется. Он экспрессирует рецептор к ИЛ-2 и начинает синтезировать ИЛ-2 и другие цитокины. Итогом активации Т-хелпера является его размножение и дифференцировка в одного из своих потомков — Т1- или Т2-хелпера (см. рис. 10.7). Параллельно стимулируются клетки-эффекторы. Любое изменение условий рецепции abortирует активацию Т-хелпера и может индуцировать в нем апоптоз.

Активация В-лимфоцита. Для активации В-лимфоцита (см. рис. 10.8) необходима суммация трех последовательных сигналов. Первый поступает от молекулы антигена через BCR. Оказавшись рядом с чужеродной молекулой, специфичный к ней В-лимфоцит связывается с эпитопом антигена при помощи своего иммунорецептора.

Второй и третий сигналы формируются при контакте с активированным Т2-хелпером: интерлейкиновый стимул (ИЛ-4, -5, -6) и ко-стимулирующий — взаимодействие CD40 с CD40-лигандом передает В-лимфоциту афферентный сигнал. Стабильность контакта двух клеток обеспечивают множественные связи молекул адгезии.

Активация инициирует размножение и дифференцировку специфичного к конкретному антигену В-лимфоцита (см. рис. 10.5). В итоге в пределах зародышевых (герминативных) центров лимфоидных фолликулов появляется клон специфических антителопродуцентов. Дифференцировка позволяет переключить биосинтез иммуноглобулинов с классов М и D на более экономные: G, А или Е (редко) — повысить аффинность синтезируемых антител и образовать В-клетки иммунологической памяти. В случае терминальной дифференцировки появляется плазматическая клетка.

Активация В-лимфоцита — весьма тонкий процесс. Отсутствие хотя бы одного из стимулов (нарушение межклеточной кооперации, неспецифичность рецептора В-лимфоцита или элиминация антигена) блокирует развитие антительного иммунного ответа.

Активация Т-киллера. Т-киллер (клетки αβ-типа) постоянно мигрирует во внутренних средах организма в поисках клеток с признаками аллогенности — чужеродных, генетически трансформированных или зараженных. Критерием оценки является структура «биологического паспорта» клетки, т. е. комплекса МНС I класса.

Исполнение надзорной функции требует скрупулезной точности, поэтому Т-киллер вступает в тесный и прочный контакт с потенциальной клеткой-мишенью, используя молекулы адгезии (рис. 10.11). Затем иммунорецептор Т-киллера (αβTCR) совместно с молекулой CD3 при поддержке ко-рецепторной молекулы CD8 взаимодействует с антигенным комплексом МНС I класса и анализирует его структуру. Обнаружение отклонений в пользу аллогенности активирует Т-киллер к экспрессии рецептора к ИЛ-2 и синтезу ИЛ-2 и специальных токсических субстанций (перфорин, гранзимы, гранулизин). Последние вызывают гибель клетки-мишени (см. разд. 10.2.1.3.1.2.2). Аутогенный ИЛ-2 стимулирует пролиферацию Т-киллера и формирование Т-клеток иммунологической памяти.

Т-киллер может функционировать автономно — самостоятельно инициируя и поддерживая клонообразование. Однако это свойство реализуется редко. В подавляющем большинс-

тве случаев для адекватного развития клеточной формы иммунного ответа требуются мощные стимулы со стороны Т1-хелпера.

10.2.2.3. Супрессия иммунного ответа

Супрессия, или *подавление иммунного ответа*, является физиологической реакцией организма, которая в норме завершает иммунный ответ. Иммуносупрессия развивается при устранении из организма антигенного раздражителя и направлена на торможение экспансии антигенспецифичных клонов лимфоцитов. В отличие от иммунологической толерантности, супрессии подвергается уже инициированное иммунное реагирование. Различают три механизма иммуносупрессии:

- уничтожение клонов иммунокомпетентных клеток путем апоптоза,
- торможение активности иммунокомпетентных клеток цитокинами,
- элиминация антигенного стимула.

Апоптотической элиминации подвергаются следующие группы клеток:

- терминально дифференцированные лимфоциты, завершившие свою биологическую программу;
- активированные лимфоциты, не получившие антигенного стимула;
- «изношенные» лимфоциты;
- аутореактивные клетки.

Факторами, инициирующими апоптоз, являются глюкокортикоидные гормоны, Fas-лиганд, ФНО и другие иммуноцитокнины, а также гранулы. Апоптотическое уничтожение клеток-мишеней может активировать Т-киллеры, естественные киллеры с фенотипом CD16 CD56^{много} и Т1-хелперы.

Функциональная активность иммунокомпетентных клеток может быть ингибирована растворимыми факторами их конкурентов или потомков. Ведущую роль в этом явлении принадлежит иммуноцитокнинам с множественными эффектами. Известно, например, что Т2-хелперы, γδТ-лимфоциты и тучные клетки при помощи ИЛ-4, -13 препятствуют дифференцировке Т0-хелпера в Т1-клетку. Последний, в свою очередь, может блокировать образование Т2-хелпера, синтезируя γ-ИФН. Пролиферацию Т- и В-лимфоцитов ограничивает β-ТФР, который продуцируют терминально дифференцированные Т-хелперы. Уже упомянутые продукты Т2-хелпера (ИЛ-4, -13)

β -ТФР) подавляют биологическую активность макрофагов.

Помимо цитокинов, супрессия гуморального звена иммунитета может быть вызвана иммуноглобулинами. Избыточные концентрации иммуноглобулина класса G, связываясь со специальными рецепторами на мембране В-лимфоцита, тормозит биосинтетическую активность клетки и ее способность дифференцироваться в плазмоцит.

На мембране клеток были также обнаружены особые «негативные» ко-рецепторы. Их раздражение также вызывает супрессорный эффект.

Развитие иммунного ответа можно приостановить, устранив из организма антиген. В природе это событие наблюдается при полном освобождении организма от патогена (стерильный иммунитет). На практике эффект достигается очищением организма плазмо- или лимфосорбцией, а также нейтрализацией антигена антителами, специфичными к высокоиммуногенным эпитопам.

10.2.2.4. Онтогенез клональной структуры иммунной системы

В развитии иммунной системы четко прослеживаются два этапа. *Первый* — антигенезависимый. Он охватывает эмбриональный и ранний постнатальный периоды развития и частично продолжается всю жизнь. В течение этого периода образуются стволовые клетки ветвей позза и широкое разнообразие антиген-специфичных клонов лимфоцитов. Предшественники $\gamma\delta$ T- и V δ 1-лимфоцитов мигрируют в покровные ткани и формируют автономные лимфоидные ростки.

Второй этап, антигензависимый, начинается сразу же после рождения особи и продолжается до ее гибели. В течение всей жизни идет «ознакомление» клеточных элементов иммунной системы с многообразием состава окружающего нас мира антигенов. По мере накопления биологического опыта, т. е. количества и качества продуктивных контактов с антигенами, происходит селекция и тиражирование отдельных клонов иммунокомпетентных клеток.

Особенно интенсивная экспансия клонов характерна для детского возраста. В течение первых 5 лет жизни иммунной системе ребенка приходится усваивать примерно 90 % биологической информации. Еще 9 % воспринимается до наступления пубертата, на взрослое состояние остается лишь около 1 %.

Совершенно очевидно, что иммунной системе ребенка приходится справляться с чудовищными

нагрузками, которые, в основном, падают на гуморальное звено иммунитета. В местах с повышенной плотностью населения и частыми межиндивидуальными контактами (крупные города), где создаются условия для длительной персистенции высокой концентрации патогенов, дети часто болеют. Это закономерное явление, однако создается впечатление о тотальном иммунодефиците, порожденном крайним экологическим неблагополучием. Между тем эволюционно заложенные механизмы иммунной защиты позволяют организму ребенка успешно справиться с трудным естественным испытанием на жизнеспособность и адекватно отреагировать на вакцинопрофилактику.

С возрастом возникают структурно-функциональные изменения в иммунной системе. В отличие от детского организма, у взрослого до 50 % всего лимфоидного пула представлено клонами клеток, прошедших антигенную стимуляцию. Накопление иммунной системой биологического опыта реализуется в образовании узкой «библиотеки» жизненно важных («актуальных») клонов лимфоцитов, специфичных к основным патогенам. Однако при этом в организме сохраняется широкий набор не востребуемых «наивных» клеток. Благодаря долгоживучести клеток иммунологической памяти «актуальные» клоны со временем становятся самодостаточными. Они приобретают способность к самоподдержанию и независимость от центральных органов иммунной системы. Функциональная нагрузка на тимус снижается, что проявляется его возрастной инволюцией.

Структура популяции Т-лимфоцитов также претерпевает возрастные изменения. Установлено, что в организме новорожденных преобладают Т2-хелперы, необходимые для развития антительной защиты. Однако со временем перед организмом все острее встает проблема внутриклеточного паразитизма и различных инвазий. Кроме того, самостоятельная жизнедеятельность в условиях воздействия разнообразных факторов среды обитания требует надежного и хорошо организованного иммунологического надзора за морфогенетическим постоянством клеточных элементов организма. Поэтому после рождения начинает усиленно развиваться система адаптивного клеточного иммунитета, а вместе с ним — образование клонов Т1-хелперов и Т-киллеров. Нарушение постнатальной колонизации желудочно-кишечного тракта тормозит процесс адекватной активности последних оборачивается аллергизацией детских организмов.

Продуктивный иммунный ответ после своего завершения (нейтрализации и элиминации антигена из организма) также сопровождается изменениями клональной структуры антигенореактивных лимфоцитов. В отсутствие активирующих стимулов клон инволюционирует. Невостребованные клетки со временем погибают от старости, причем этот процесс начинается с наиболее дифференцированных лимфоцитов-эффекторов. Продолжительность инволюции лимитирована численностью клона и проявляется постепенным угасанием иммунного ответа. Однако в организме длительно персистируют клетки иммунологической памяти.

Старческий период жизни имеет свои отличительные черты. Доминирование в иммунной системе «туальных» клонов антигенспецифичных лимфоцитов сочетается с нарастающей иммунодепрессией на фоне снижения общей реактивности. Несмотря на всю мощь иммунологической памяти, инфекции, вызванные условно-патогенными микробами, зачастую приобретают затяжной или угрожающий характер. Надзорная функция, как и иммунитет против внутриклеточных паразитов, также теряет эффективность. Клеточный иммунитет не справляется с нарастающим объемом злокачественно трансформированных клеток. Поэтому у пожилых людей часто встречаются новообразования.

Таблица 10.1. CD-маркеры T-клеток, участвующих в иммунном ответе

| CD-маркер | Тип клетки | Функция |
|-----------|---------------------|---|
| CD1 | T-лимфоцит | Молекула МНС I класса, связанная с β-микроглобулином, участвует в представлении антигена |
| CD2 | T-лимфоцит | Осуществляет адгезию цитотоксических T-лимфоцитов к клеткам-мишеням, T-лимфоцитов к эндотелию, тимоцитов к тимическим эпителиальным клеткам |
| CD3 | T-лимфоцит | Молекулы, ассоциированные с рецептором T-лимфоцитов. Участвуют в проведении сигнала от рецептора путем активации цитоплазматической тирозинкиназы. Маркер абсолютного большинства всех зрелых T-лимфоцитов |
| CD4 | T-лимфоцит | Маркер T-хелперов Ко-рецептор для T-клеточного рецептора |
| CD5 | T- и B-лимфоцит | Маркер B1-лимфоцитов |
| CD8 | T-лимфоцит | Маркер цитотоксических T-лимфоцитов Ко-рецептор для T-клеточного рецептора |
| CD11d | Лейкоциты | αD субъединица интегрин α, связанная с CD18 |
| CD14 | Моноциты | Рецептор для ЛПС |
| CD16 | Естественный киллер | Участвуют в антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности Является Fc-рецептором |
| CD18 | Лейкоциты | Интегрин β, вовлекаемый в процесс взаимодействия между клетками и клетками с матриксом |
| CD19 | B-лимфоцит | Ко-рецептор для B-клеточного иммунорецептора |
| CD20 | B-лимфоцит | Регулирует активацию B-клеток, формируя кальциевые каналы |
| CD21 | Зрелые B-лимфоциты | Ко-рецептор для B-клеточного иммунорецептора Рецептор для C3d компонента комплемента и вируса Эпштейна—Барр |
| CD22 | B-лимфоцит | Маркер зрелых B-лимфоцитов Осуществляет адгезию B-клеток к эритроцитам, T-клеткам, моноцитам и нейтрофилам |
| CD25 | T-лимфоцит | Маркер активированного лимфоцита Рецептор для ИЛ-2 |
| CD28 | T-лимфоцит | Рецептор T-хелпера для взаимодействия с костимулирующим фактором (CD80/86) АПК |

ГЛАВА 10. Антигены и иммунная система человека

| CD-маркер | Тип клетки | Функция |
|-----------|---|---|
| CD30 | Активированные Т- и В-лимфоциты, естественный киллер и моноциты | Усиливает пролиферацию Т- и В-клеток после связывания с лигандом |
| CD40 | В-лимфоцит | Участвует в В-клеточной активации, пролиферации и дифференцировке после связывания CD40-лиганда |
| CD56 | Естественный киллер | Активация цитотоксичности и цитокиновой продукции |
| CD64 | Моноциты, макрофаги | Высокоаффинный рецептор для IgG (IgG3>IgG1>IgG4>>>IgG2) |
| CD94 | Естественный киллер | Ингибция/активация цитотоксичности естественных киллеров |
| CD95 | Разные клетки | Маркер апоптоза клетки |

Таблица 10.2. Характеристики основных цитокинов

| Цитокин | Размер молекулы (аминокислотных остатков) | Клетка-продуцент | Рецептор | Биологический эффект |
|----------|---|--|----------------|--|
| ИЛ-1 (β) | 153 | Макрофаг | CD121 | Локальный эффект: Активация Т-лимфоцитов и макрофагов Системный эффект: Развитие симптомов септического шока (лихорадка и пр.) |
| ИЛ-2 | 133 | Активированный Т1-хелпер | CD25, 122, 132 | Потенцирует выживание клеток Стимулирует пролиферацию Т-, В-лимфоцитов и естественных киллеров |
| ИЛ-3 | 133 | Т-лимфоцит | CD123 | Мультиколониестимулирующий фактор |
| ИЛ-4 | 129 | Т-лимфоцит, естественный киллер, тучная клетка | CD124, 132 | Направляет дифференцировку Т0-хелпера в сторону Т2-клетки Активация В-лимфоцитов Переключение синтеза иммуноглобулинов на класс Е Противовоспалительное действие |
| ИЛ-5 | 115 | Т2-хелпер, тучная клетка | CD125 | Активирует эозинофилы Стимулирует синтез иммуноглобулина класса Е |
| ИЛ-6 | 184 | Т-лимфоцит, макрофаг | CD126, 130 | Локальный эффект: Стимуляция пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов Усиление биосинтеза иммуноглобулина класса А Системный эффект: Индукция лихорадки Стимуляция биосинтеза в печени белков острой фазы |
| ИЛ-7 | 152 | Клетки костного мозга, γδТ-лимфоцит | CD127, 132 | Поддерживает размножение преТ-, преВ- и γδТ-лимфоцитов |
| ИЛ-9 | 125 | Т2-хелпер | CD132 | Активация тучных клеток |
| ИЛ-10 | 160 | Т2-хелпер, макрофаг, В-лимфоцит | IL-10R | Стимулирует переключение синтеза иммуноглобулинов на класс G4 Мощный ингибитор активности макрофага и Т-киллера |

| Цитокин | Размер молекулы (аминокислотных остатков) | Клетка-продуцент | Рецептор | Биологический эффект |
|---------------|---|---|---------------------------------|--|
| ИЛ-11 | 178 | Фибробласт | CD130 | Синергист ИЛ-3 |
| ИЛ-12 | 503 | Макрофаг, В-лимфоцит | CD132 | Направляет дифференцировку Т0-хелпера в сторону Т1-клетки Стимулирует созревание Т-киллеров Активирует естественные киллеры |
| ИЛ-13 | 132 | Т2-хелпер | CD132 | Направляет дифференцировку Т0-хелпера в сторону Т2-клетки Активация В-лимфоцитов Стимулирует переключение синтеза иммуноглобулинов на класс Е Противовоспалительное действие |
| ИЛ-15 | 114 | Т-лимфоцит | CD122, 132 | Стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов и естественных киллеров |
| ИЛ-16 | 130 | Т-лимфоцит, тучная клетка, эозинофил | CD4 | Хемоаттрактант для Т-хелперов, моноцитов, эозинофилов Блокирует апоптоз в Т-лимфоцитах |
| ИЛ-17 | 150 | CD4 ⁺ Т-лимфоциты иммунологической памяти | IL-17R | Стимулирует эпителиальные, эндотелиальные клетки и фибробласты к продукции цитокинов |
| ИЛ-18 | 157 | Активированный макрофаг | IL-18R α (гомолог CD121) | Индукция синтеза γ -ИФН Т-лимфоцитами и естественными киллерами |
| γ -ИФН | 143 | Т1-хелпер, Т-киллер, естественный киллер | CD119 | Активирует макрофаг и естественный киллер Индукция экспрессии на клетках МНС I и II классов Потенцирует образование Т1-хелпера Стимулирует в В-лимфоцитах переключение биосинтеза изотипов иммуноглобулинов Обладает противовирусным действием |
| ГМ-КСФ | 127 | Т-лимфоцит, макрофаг | CD116 | Поддержка роста миелопоэза в костном мозге |
| β -ТФР | 112 | Активированные Т-лимфоциты и моноциты | β -TGF-R | Мощный иммуносупрессор: ингибирует активацию Т-киллеров, макрофагов и гранулоцитов и пролиферацию лимфоцитов Стимулирует ангиогенез |
| ФНО- α | 157 | Активированные макрофаг, нейтрофил, естественный киллер и тучная клетка | CD120 | Локальный эффект: Создает очаг местного воспаления в покровных тканях при инфицировании Активирует биосинтез ИЛ-1, -6 Стимулирует синтез белков острой фазы Системный эффект: Индукция симптомов септического шока (лихорадка, коллапс, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания и др.) |
| МИФ | 115 | Т-лимфоцит | MIF-R | Тормозит миграцию моноцитов из очага воспаления Стимулирует дифференцировку моноцита в макрофаг Активирует макрофаг |

ГЛАВА 11. ОСНОВНЫЕ ФОРМЫ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ

Свою биологическую функцию иммунная система осуществляет с помощью сложного комплекса взаимосвязанных реакций, в которых задействованы все ее структурные и функциональные элементы. В зависимости от конкретного проявления этот комплекс можно подразделить на отдельные формы. Основными из них являются: антителообразование, иммунный фагоцитоз, опосредованный клетками киллинг, реакции гиперчувствительности, формирование иммунологической памяти, формирование иммунологической толерантности.

Все элементы иммунной системы имеют единый принцип активации и практически одновременно реагируют на изменение гомеостаза. Однако в зависимости от характера антигенного воздействия наблюдается неравномерное стимулирование — одна или несколько форм становятся ведущими, в то время как другие могут практически не проявляться. Например, при токсинемической инфекции преимущественно активируется продукция антител, так как организму необходимы иммуноглобулины-антитоксины, которые способны нейтрализовать активный центр молекулы токсина. При туберкулезной инфекции, наоборот, антитела практически не имеют значения. В этом случае основную функциональную нагрузку выполняют факторы клеточного иммунитета (Т-киллеры, естественные киллеры, фагоциты) и т. д.

11.1. Антитела и антителообразование

11.1.1. Природа антител

Одной из форм реагирования иммунной системы в ответ на внедрение в организм антигена является биосинтез *антител* — белков, специфически реагирующих с антигенами. Антитела, также как и фагоцитоз, — это одна из наиболее филогенетически древних форм

иммунной защиты. Антительный ответ обнаруживается уже у некоторых видов рыб.

Антитела относятся к γ -глобулиновой фракции белков сыворотки крови. На долю γ -глобулинов приходится 15–25 % белкового содержания сыворотки крови, что составляет примерно 10–20 г/л. Поэтому антитела получили название *иммуноглобулинов*, и их обозначают символом *Ig*. Следовательно, антитела — это γ -глобулины, способные специфически связываться с антигеном и участвовать во многих иммунологических реакциях. Антитела синтезируются В-лимфоцитами и их потомками — плазматическими клетками.

Имуноглобулины существуют в циркулирующей форме, в виде рецепторных молекул на иммунокомпетентных клетках и миеломных белков. Циркулирующие антитела подразделяются на сывороточные и секреторные. К антителам могут быть также отнесены *белки Бенс-Джонса*, которые являются фрагментами молекулы *Ig* (его легкая цепь) и синтезируются в избытке при миеломной болезни.

Строение и функцию антител изучали многие видные ученые. П. Эрлих (1885) предложил первую теорию гуморального иммунитета. Э. Беринг и С. Китагато (1887) получили первые антитоксические сыворотки к дифтерийному и столбнячному токсинам. А. Безредка (1923) разработал метод безопасного введения пациентам лечебных иммунных сывороток. Уже в наши дни большая заслуга в расшифровке строения молекулы *Ig* принадлежит Д. Эдельману и Р. Портеру (1959), а разгадка многообразия антител — трудам Ф. Бернета (1953) и С. Тонегавы (1983).

Вследствие высокой специфичности и значимости в формировании гуморального иммунитета, антитела используют для диагностики, профилактики и лечения соматических и ин-

фекционных заболеваний, выделения и очистки биологически активных веществ. Для этого на основе специфических иммуноглобулинов созданы соответствующие иммунобиологические препараты (лечебные и диагностические сыворотки, диагностикумы и пр.).

11.1.2. Молекулярное строение антител

Иммуноглобулины являются гликопротеидами. Их молекула состоит из нескольких соединенных вместе полипептидных цепей, стабилизированных сахаридными остатками. При нагревании выше 60 °С молекула Ig денатурируется. Иммуноглобулины различаются по структуре, антигенному составу, а также по выполняемым функциям.

Молекулы Ig, несмотря на их видимое разнообразие, имеют универсальное строение (рис. 11.1). Если молекулу Ig обработать 2-меркаптоэтанолом, то она распадется на 2 пары полипептидных цепей: две тяжелых (550–660 аминокислотных остатков, молекулярный вес 50 кДа) и две легких (220 аминокислотных остатков, молекулярный вес — 20–25 кДа). Обозначают их как H- (от англ. *heavy* — тя-

желый) и L- (от англ. *light* — легкий) цепи. Тяжелые и легкие цепи связаны между собой попарно дисульфидными связями (-S-S-).

Между тяжелыми цепями также есть дисульфидная связь. Это так называемый «шарнирный» участок. Такой тип межпептидного соединения придает структуре молекулы динамичность — он позволяет легко менять конформацию в зависимости от окружающих условий и состояния. Шарнирный участок ответствен за взаимодействие с первым компонентом комплемента (C1) и активацию его по классическому пути.

Легкие и тяжелые полипептидные цепи молекулы Ig имеют определенные варианты структуры или типы. Они определяются первичной аминокислотной последовательностью цепей и степенью их гликозилирования. Легкие цепи бывают 2 типов: κ и λ (каппа и лямбда). Тяжелых цепей известно 5 типов: α, γ, μ, ε и δ (альфа, гамма, мю, эpsilon и дельта), — которые имеют также и внутреннее подразделение. Среди многообразия цепей α-типа выделяют α1- и α2- подтипы, а μ-цепей — μ1- и μ2-. Для γ-цепи известны 4 подтипа: γ1-, γ2-, γ3- и γ4-.

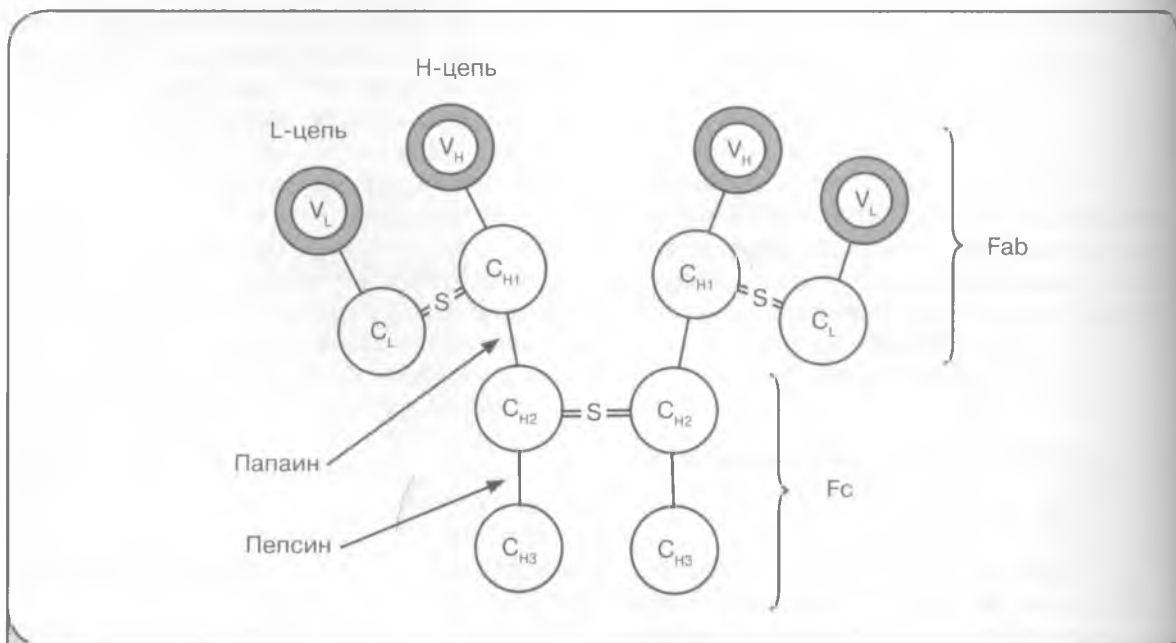


Рис. 11.1. Схема строения молекулы иммуноглобулина класса G:
 V — вариабельный домен; C — константный домен; S — дисульфидная связь

Вторичная структура полипептидных цепей молекулы Ig обладает доменным строением. Это означает, что отдельные участки цепи свернуты в глобулы (домены), которые соединены линейными фрагментами. Домены стабилизированы внутренней дисульфидной связью. Таких доменов в составе тяжелой цепи Ig бывает 4–5, а в легкой — 2. Каждый домен состоит примерно из 110 аминокислотных остатков.

Домены различаются по постоянству аминокислотного состава. Выделяют *C-домены* (от англ. *constant* — постоянный), с неизменной, или постоянной, структурой полипептидной цепи, и *V-домены* (от англ. *variable* — изменчивый), с переменной структурой. В составе легкой цепи есть по одному V- и C-домену, а в тяжелой — один V- и 3–4 C-домена. Примечательно, что не весь вариабельный домен изменчив по своему аминокислотному составу, а лишь его незначительная часть — *гипервариабельная область*, на долю которой приходится около 25 %.

Вариабельные домены легкой и тяжелой цепи совместно образуют участок, который специфически связывается с антигеном. Это *антигенсвязывающий центр* молекулы Ig, или *паратоп*.

Гипервариабельные области тяжелой и легкой цепи определяют индивидуальные особенности строения антигенсвязывающего центра для каждого клона Ig и многообразие их специфичностей.

Обработка ферментами молекулы Ig приводит к ее гидролизу на определенные фрагменты. Так, папаин разрывает молекулу выше шарнирного участка и ведет к образованию трех фрагментов (см. рис. 11.1). Два из них способны специфически связываться с антигеном. Они состоят из цельной легкой цепи и участка тяжелой (V- и C-домен), и в их структуру входят антигенсвязывающие участки. Эти фрагменты получили название *Fab* (от англ. «фрагмент, связывающийся с антигеном»). Третий фрагмент, способный образовывать кристаллы, получил название *Fc* (от англ. «фрагмент кристаллизующийся»). Он ответствен за связывание с рецепторами на мем-

бране клеток макроорганизма (Fc-рецепторы) и некоторыми микробными суперантигенами (например, белком А стафилококка). Пепсин расщепляет молекулу Ig ниже шарнирного участка и ведет к образованию 2 фрагментов: Fc и двух сочлененных Fab, или F(ab)₂.

Помимо вышеописанных, в структуре молекул Ig обнаруживают дополнительные полипептидные цепи. Так, полимерные молекулы IgM и IgA содержат *J-nenmud* (от англ. *join* — соединяю). Он объединяет отдельные мономеры в единое макромолекулярное образование (см. разд. 11.1.3) и обеспечивает превращение полимерного Ig в секреторную форму.

Молекулы секреторных Ig в отличие от сывороточных обладают особым *S-nenmudom* (от англ. *secret* — секрет). Это так называемый *секреторный компонент*. Его молекулярная масса составляет 71 кДа, и он является β-глобулином. Секреторный компонент — продукт деградации рецептора эпителиальной клетки к J-пептиду. Он обеспечивает перенос молекулы Ig через эпителиальную клетку в просвет органа (транцитоз) и предохраняет ее в секрете слизистых от ферментативного расщепления.

Рецепторный Ig, который локализуется на цитоплазматической мембране В-лимфоцитов и плазматических клеток, имеет дополнительный гидрофобный трансмембранный *M-nenmud* (от англ. *membrane* — мембрана). Благодаря гидрофобным свойствам он удерживается в липидном бислое цитоплазматической мембраны, прочно, как якорь, фиксирует рецепторный Ig на мембране иммунокомпетентной клетки и проводит рецепторный сигнал через цитоплазматическую мембрану внутрь клетки.

J- и M-пептиды присоединяются к молекуле Ig в процессе ее биосинтеза. S-пептид является продуктом эпителиальной клетки — он присоединяется к полимерной молекуле Ig при ее транслокации через эпителиальную клетку.

11.1.3. Структурно-функциональные особенности иммуноглобулинов различных классов

В зависимости от особенностей молекулярного строения тяжелой цепи (т. е. наличия изотипических, или групповых антигенных детерми-

нант) различают 5 классов, или изоטיפов Ig (рис. 11.2). Молекулы, содержащие тяжелую цепь α -типа, относят к изоטיפу A (сокращенно IgA); IgD обладает δ -цепью, IgE — ϵ -цепью, IgG — γ -цепью и IgM — μ -цепью. Соответственно особенностям строения подтипов тяжелых цепей различают и подклассы Ig.

В структуре молекул Ig разных классов прослеживается общая закономерность — все они построены из одних и тех же элементов, которые были описаны в разд. 9.5.1.2. Однако для каждого изоטיפа характерны свои особенности. В частности, IgD, IgE и IgG имеют мономерное строение, IgM — практически всегда является пентамером, а молекула IgA может быть моно-, ди- и тримером. Наиболее характерные черты, присущие различным изоטיפам Ig, приведены в табл. 11.1 на с. 256.

Имуноглобулин класса G. Изоטיפ G составляет основную массу Ig сыворотки крови. На его долю приходится 70–80 % всех сывороточных Ig, при этом 50 % содержится в тканевой жидкости. Среднее содержание IgG в сыворотке крови здорового взрослого человека 12 г/л. Этот уровень достигается к 7–10-летнему возрасту. Период полураспада IgG — 21 день.

IgG — мономер, имеет 2 антигенсвязывающих центра (может одновременно связать 2 молекулы антигена, следовательно, его валентность равна 2), молекулярную массу около 160 кДа и константу седиментации 7S. Различают подтипы G1, G2, G3 и G4. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами (В₂) и плазматическими клетками. Хорошо определяется в сыворотке крови на пике первичного и при вторичном иммунном ответе.

Обладает высокой аффинностью. IgG1 и IgG3 связывают комплемент, причем G3 активнее, чем G1. IgG4, подобно IgE, обладает цитотропностью (тропностью, или сродством, к тучным клеткам и базофилам) и участвует в развитии аллергической реакции I типа (см. разд. 11.4). В иммунодиагностических реакциях IgG может проявлять себя как неполное антитело (см. далее).

Легко проходит через плацентарный барьер и обеспечивает гуморальный иммунитет новорожденного в первые 3–4 месяца жизни. Способен также выделяться в секрет слизистых, в том числе в молоко путем диффузии.

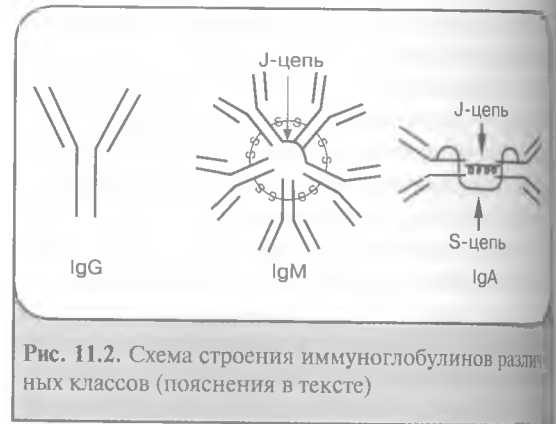


Рис. 11.2. Схема строения иммуноглобулинов разных классов (пояснения в тексте)

IgG обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск комплемент-опосредованного цитолиза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Имуноглобулин класса M. Наиболее крупная молекула из всех Ig. Это пентамер, который имеет 10 антигенсвязывающих центров, т. е. его валентность равна 10. Молекулярная масса его около 900 кДа, константа седиментации 19S. Различают подтипы M1 и M2. Тяжелые цепи молекулы IgM в отличие от других изоטיפов построены из 5 доменов. Период полураспада IgM — 5 дней.

На его долю приходится около 5–10 % всех сывороточных Ig. Среднее содержание IgM в сыворотке крови здорового взрослого человека составляет около 1 г/л. Этот уровень у человека достигается уже к 2–4-летнему возрасту.

IgM филогенетически — наиболее древний иммуноглобулин. Синтезируется предшественниками и зрелыми В-лимфоцитами (В₁). Образуется в начале первичного иммунного ответа, также первым начинает синтезироваться в организме новорожденного — определяется уже на 20-й неделе внутриутробного развития.

Обладает высокой avidностью, наиболее эффективный активатор комплемента по классическому пути. Участвует в формировании сывороточного и секреторного гуморального иммунитета. Являясь полимерной молекулой, содержащей J-цепь, может образовывать секреторную форму и выделяться в секрет слизистых, в том числе в молоко (механизм — см.

IgA). Большая часть нормальных антител и изоагглютининов относится к IgM.

Не проходит через плаценту. Обнаружение специфических антител изотипа М в сыворотке крови новорожденного указывает на бывшую внутриутробную инфекцию или дефект плаценты.

IgM обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск комплемент-опосредованного цитолиза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Имуноглобулин класса А. Существует в сывороточной и секреторной формах. Около 60 % всех IgA содержится в секретах слизистых.

Сывороточный IgA: На его долю приходится около 10–15 % всех сывороточных Ig. В сыворотке крови здорового взрослого человека содержится около 2,5 г/л IgA, максимум достигается к 10-летнему возрасту. Период полураспада IgA — 6 дней.

IgA — мономер, имеет 2 антигенсвязывающих центра (т. е. 2-валентный), молекулярную массу около 170 кДа и константу седиментации 7S. Различают подтипы A1 и A2. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами (V_α) и плазматическими клетками. Хорошо определяется в сыворотке крови на пике первичного и при вторичном иммунном ответе.

Обладает высокой аффинностью. Может быть неполным антителом. Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер.

IgA обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Секреторный IgA: В отличие от сывороточного, секреторный IgA (sIgA) существует в полимерной форме в виде ди- или тримера (4- или 6-валентный) и содержит J- и S-пептиды. Молекулярная масса 350 кДа и выше, константа седиментации 13S и выше.

Синтезируется V_α-лимфоцитами и их потомками — плазматическими клетками соответствующей специализации только в пределах слизистых и выделяется в их секреты. Объем продукции может достигать 5 г в сутки. Пул sIgA считается самым многочисленным в организме — его количество превышает сум-

марное содержание IgM и IgG. В сыворотке крови sIgA не обнаруживается.

Формирование молекулы sIgA происходит при прохождении через эпителиальную клетку, где он присоединяется к секреторному компоненту. На базальной и латеральной поверхности эпителиальная клетка несет рецептор к J-цепи полимерной молекулы Ig (JR). Образующийся после взаимодействия этого рецептора с полимерной молекулой IgA комплекс эндоцитируется клеткой в виде везикулы. Затем везикула переносится к апикальной поверхности эпителиоцита, где JR подвергается ферментативному расщеплению. В итоге IgA высвобождается в слизистый секрет просвета органа уже в секреторной форме — оставшийся прикрепленным к молекуле Ig фрагмент JR является S-цепью.

Секреторная форма IgA — основной фактор специфического гуморального местного иммунитета слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и респираторного тракта. Благодаря S-цепи он устойчив к действию протеаз. sIgA не активирует комплемент, но эффективно связывается с антигенами и нейтрализует их. Он препятствует адгезии микробов на эпителиальных клетках и генерализации инфекции в пределах слизистых.

Имуноглобулин класса Е. Называют также *реагином*. Содержание в сыворотке крови крайне невысоко — примерно 0,00025 г/л. Обнаружение требует применения специальных высокочувствительных методов диагностики. Молекулярная масса — около 190 кДа, константа седиментации — примерно 8S, мономер. На его долю приходится около 0,002 % всех циркулирующих Ig. Этот уровень достигается к 10–15 годам жизни.

Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами (V_ε) и плазматическими клетками преимущественно в лимфоидной ткани бронхолегочного дерева и ЖКТ.

Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер. Обладает выраженной цитотоксичностью — тропностью к тучным клеткам и базофилам. Участвует в развитии гиперчувствительности немедленного типа — реакция I типа (см. разд. 11.4).

Имуноглобулин класса D. Сведений об Ig данного изотипа не так много. Практически

полностью содержится в сыворотке крови в концентрации около 0,03 г/л (около 0,2 % от общего числа циркулирующих Ig). IgD имеет молекулярную массу 160 кДа и константу седиментации 7S, мономер.

Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер. Является рецептором предшественников В-лимфоцитов.

Рецепторные иммуноглобулины. Рецепторные, или мембранные Ig, локализируются на цитоплазматической мембране В-лимфоцитов. Выполняют функции антигенспецифических рецепторов. Рецепторные Ig имеют те же изотип и специфичность, что и синтезируемые в межклеточную среду антитела. Структурное отличие от секретируемых антител заключается в особом, дополнительном М-пептиде, благодаря которому молекула рецепторного Ig фиксируется в цитоплазматической мембране иммунокомпетентной клетки.

Нормальные антитела. В сыворотке крови человека всегда определяется базальный уровень иммуноглобулинов, которые получили название нормальных, или естественных, антител. К нормальным антителам относят изогемагглютинины — антитела различной аффинности и специфичности направленные против эритроцитарных антигенов групп крови (система АВ0), а также против бактерий кишечной группы, кокков и некоторых вирусов. Эти антитела постоянно образуются в организме без явной антигенной стимуляции. С одной стороны, они отражают готовность макроорганизма к иммунному реагированию, а с другой — могут свидетельствовать об отдаленном контакте с антигеном.

Моноклональные антитела. Каждый В-лимфоцит и его потомки, образовавшиеся в результате пролиферации (т. е. клон), способны синтезировать антитела с паратопом строго определенной специфичности. Такие антитела получили название *моноклональных*. В природных условиях макроорганизма получить моноклональные антитела практически невозможно. Дело в том, что на одну и ту же антигенную детерминанту одновременно реагируют до 100 различных клонов В-лимфоцитов, незначительно различающихся антигенной специфичностью рецепторов и, естественно, аффинностью. Поэтому в результате иммунизации даже

монодетерминантным антигеном мы всегда получаем *поликлональные* антитела.

Принципиально получение моноклональных антител выполнимо, если провести предварительную селекцию антителопродуцирующих клеток и их клонирование (т. е. выделение отдельных клонов в чистые культуры). Однако задача осложняется тем, что В-лимфоциты, как и другие эукариотические клетки, имеют ограниченную продолжительность жизни и число возможных митотических делений.

Проблема получения моноклональных антител была успешно решена Д. Келлером и Ц. Мильштейном (1975). Авторы получили гибридные клетки путем слияния иммунных В-лимфоцитов с миеломной (опухолевой) клеткой. Полученные гибриды обладали специфическими свойствами антителопродуцента и «бессмертием» раковотрансформированной клетки. Такой вид клеток получил название *гибридом*. Гибридома хорошо размножается в искусственных питательных средах и в организме животных и в неограниченном количестве вырабатывает антитела. В результате дальнейшей селекции были отобраны отдельные клоны гибридных клеток, обладавшие наивысшей продуктивностью и наибольшей аффинностью специфических антител.

Гибридомные моноклональные антитела нашли широкое применение при создании диагностических и лечебных иммунобиологических препаратов.

Полные и неполные антитела. Среди многообразия Ig выделяют полные и неполные антитела. Деление основано на способности образовывать в реакции агглютинации или преципитации (*in vitro*) хорошо различимую глазом макромолекулярную структуру гигантского иммунного комплекса. Таким свойством обладают *полные антитела*. К ним относятся полимерные молекулы Ig (изотип М), а также некоторые IgA и IgG.

Неполные антитела лишены такой способности, несмотря на то что они специфически связываются с антигеном. В связи с этим их еще называют *непреципитирующими* или *блокирующими* антителами. Причиной этого явления может быть экранирование одного из антигенсвязывающих центров мономерной

молекулы Ig, а также недостаточное число или малая доступность антигенных детерминант на молекуле антигена. Выявить неполные антитела можно при помощи *реакции Кумбса* — путем использования «вторых», антииммуноглобулиновых антител (см. гл. 13).

Другие виды антител. Помимо вышеприведенных различают *тепловые* и *холодовые* антитела. Первые взаимодействуют с антигеном при температуре +37 °С. Для вторых наибольшая эффективность связывания проявляется в диапазоне +4... –10 °С. Понижение температуры реакционной смеси позволяет в ряде случаев (например, при отсутствии специфического антигена) ограничить низкоаффинные взаимодействия и повысить специфичность реакции.

По способности активировать комплемент (классический путь) антитела подразделяются на *комплементсвязывающие* (IgM, IgG1 и IgG3) и *комплементнесвязывающие*.

В последние годы открыт вид антител, которые выполняют функции катализаторов биохимических процессов — обладают протеазной или нуклеазной активностью. Это реликтовые свойства антител. Такие антитела получили название *абзимы*.

Большим достижением молекулярной биологии в области иммунологии, помимо гибридом, явилось получение белков со свойствами антител — это *одноцепочечные антитела*, *бифункциональные антитела* и *иммунотоксины*. Они синтезируются живыми биологическими системами. *Одноцепочечные антитела* представляют собой фрагмент варибельного домена Ig, который обладает определенной специфичностью и аффинностью и способен к блокирующему действию. Размер такой молекулы очень мал и практически не обладает иммуногенностью. *Бифункциональные антитела* имеют антигенсвязывающие центры разной специфичности, т. е. направлены к различным антигенным детерминантам. *Имунотоксины* представляют собой гибридную молекулу иммуноглобулина и токсина. Они способны направленно доставить молекулу токсина к клетке-мишени, убить ее или нарушить в ней метаболические процессы.

Имунотоксины и бифункциональные антитела имеют большое будущее. В перспекти-

ве их будут использовать для иммунодиагностики, а также профилактики и лечения инфекционных, онкологических, аллергических и других заболеваний.

11.1.4. Антигенность антител

Имуноглобулин, как и всякий белок, обладает антигенностью и выраженной иммуногенностью. В молекуле Ig различают 4 типа антигенных детерминант: видовые, изотипические, аллотипические и идиотипические. *Видовые* антигенные детерминанты характерны для Ig всех особей данного вида (например, кролика, собаки, человека). Они определяются строением легкой и тяжелой цепи. По этим детерминантам можно идентифицировать видовую принадлежность антител.

Изотипические антигенные детерминанты являются групповыми. Они локализуются в тяжелой цепи и служат для дифференцировки семейства Ig на 5 изотипов (классов) и множество подклассов (см. разд. 11.1.3).

Аллотипические антигенные детерминанты являются индивидуальными, т. е. присущими конкретному организму. Они располагаются в легкой и тяжелой полипептидных цепях. На основании строения аллотипических детерминант можно различать особи внутри одного вида.

Идиотипические антигенные детерминанты отражают особенности строения антигенсвязывающего центра самой молекулы Ig. Они образованы V-доменами легкой и тяжелой цепи молекулы Ig. Обнаружение идиотипических антигенных детерминант послужило основанием для создания теории «идиотип-антиидиотипической» регуляции биосинтеза антител.

11.1.5. Механизм взаимодействия антитела с антигеном

В процессе взаимодействия с антигеном принимает участие не вся молекула Ig, а лишь ее ограниченный участок — *антигенсвязывающий центр*, или *паратоп*, который локализован в Fab-фрагменте молекулы Ig. Со своей стороны, антитело взаимодействует не со всей молекулой антигена сразу, а лишь с ее антигенной детерминантой.

Антитела отличает специфичность взаимодействия, т. е. способность связываться со

строго определенной антигенной детерминантой. Наиболее доступные для взаимодействия эпитопы располагаются на поверхности молекулы антигена.

Связь антигена с антителом осуществляется за счет слабых взаимодействий (ван-дер-ваальсовы силы, водородные связи, электростатические взаимодействия) в пределах антигенсвязывающего центра. Такая связь отличается неустойчивостью — образовавшийся иммунный комплекс (ИК) может легко диссоциировать на составляющие его компоненты. Поэтому взаимодействие антигена и антитела может быть представлено в виде уравнения:



Продолжительность существования иммунного комплекса определяется целым рядом факторов. При этом важное значение имеют особенности антитела, антигена и условия, в которых происходит их взаимодействие.

К особенностям антитела следует отнести его аффинность и авидность.

Аффинность — сила специфического взаимодействия антитела с антигеном (или энергия их связи). Эта характеристика зависит от степени стерического, или пространственного, соответствия (комплементарности) структуры антигенсвязывающего центра и антигенной детерминанты. Чем выше их комплементарность, т. е. чем больше они подходят друг другу, тем больше образуется межмолекулярных связей и тем выше будет устойчивость и продолжительность жизни образовавшегося иммунного комплекса. Структурные несоответствия антигенсвязывающего центра и антигенной детерминанты существенно снижают число образующихся связей и прочность взаимодействия антитела с антигеном. Иммунный комплекс, образованный низкоаффинными антителами, чрезвычайно неустойчив, имеет малую продолжительность существования и быстро распадается на исходные компоненты.

Установлено, что в условиях макроорганизма с одной и той же антигенной детерминантой способны одновременно прореагировать и образовать иммунный комплекс около 100 различных клонов антител. Все они будут отличаться структурой антигенсвязывающего

центра и аффинностью. Аффинность антител существенно меняется в процессе иммунного ответа в связи с селекцией наиболее специфичных клонов В-лимфоцитов. Наименее аффинными считаются нормальные антитела. По расчетам, общее число различных антигенспецифических клонов В-лимфоцитов достигает 10^6 – 10^7 .

Под термином «авидность» понимают прочность связывания антитела и антигена. Эта характеристика определяется аффинностью Ig и числом антигенсвязывающих центров. При равной степени аффинности наибольшей авидностью обладают антитела класса М, так как они имеют 10 антигенсвязывающих центров.

Особенности антигена также влияют на эффективность его взаимодействия с антителом. Так, важное значение имеют стерическая (пространственная) доступность антигенной детерминанты для антигенсвязывающего центра молекулы Ig и число эпитопов в составе молекулы антигена.

Эффективность взаимодействия антитела с антигеном существенно зависит от условий, в которых происходит реакция, и прежде всего от рН среды, осмотической плотности, солевого состава и температуры среды. Оптимальными для реакции антиген—антитело являются физиологические условия внутренней среды макроорганизма: близкая к нейтральной реакция среды, присутствие фосфат-, карбонат-, хлорид- и ацетат-ионов, осмолярность физиологического раствора (концентрация раствора 0,15 М), а также температура (36–37 °С).

11.1.6. Свойства антител

Благодаря уникальной способности специфически связываться с антигенными детерминантами, антитела выполняют в организме ряд важнейших функций, как форма иммунного реагирования и фактор регуляции иммунореактивности. При этом необходимо дифференцировать эффекты специфического, высокоаффинного взаимодействия и неспецифического, низкоаффинного.

В результате специфического взаимодействия эпитопа молекулы антигена с паратопом молекулы антитела может образоваться устойчивый иммунный комплекс с продолжительностью жизни, достаточной для про-

явления *эффекторных свойств молекулы иммуноглобулина*. Это означает, что благодаря своим уникальным способностям антитела могут оказывать прямое или опосредованное воздействие на молекулы антигена: нейтрализовать или маркировать антиген, вызвать его деструкцию или элиминацию.

К прямым эффектам антител относится *нейтрализация*. Она достигается путем связывания и блокирования паратопом иммуноглобулина активного центра биологически активной молекулы, например, токсина, рецептора, лекарственного препарата и пр. Эффект имеет обратимый характер в случае распада иммунного комплекса и требует подключения других механизмов иммунной защиты (фагоцитоз, лизис). На принципе нейтрализации основан механизм действия антитоксических, противовирусных и многих других лечебных иммунных сывороток.

Энзиматическое действие антител также относится к прямым эффектам. Они связаны со стабильной областью V-домена L-цепи. Благодаря реликтовой протеазной или нуклеазной активности (см. разд. 11.1.3), иммуноглобулины способны вызывать деструкцию молекулы антигена (например, расщепление отдельных пептидов или ДНК).

В большинстве случаев взаимодействие антител с антигеном в организме не влечет за собой непосредственно нейтрализацию биологического действия последнего, а также его разрушение или утилизацию. Прочно связываясь с эпитопом, антитела «маркируют» молекулу антигена — обозначают его как мишень для факторов элиминации или деструкции (фагоцитоз, лизис).

К непрямым эффектам относятся:

- активация комплемента по классическому пути и индукция комплемент-опосредованного лизиса чужеродных клеток (см. разд. 9.2.3.3); наилучшими свойствами обладает **IgM (IgM > IgG3 > IgG1)**;

- запуск антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (см. разд. 11.3);

- опосредование гиперчувствительности немедленного, или I типа (см. разд. 11.4);

- индукция иммунного фагоцитоза, приводящая к элиминации любых форм антигена из организма (см. разд. 11.2).

Клеточно-опосредованные эффекты иммуноглобулинов реализуются благодаря экспрессии на мембране иммунокомпетентных клеток рецепторов к Fc-фрагменту молекулы иммуноглобулина (FcR). Эти рецепторы являются трансмембранными белковыми молекулами и различаются по специфичности и аффинности. FcR всегда специализирован к определенному изотипу тяжелой цепи молекулы Ig. Различают высокоаффинные и низкоаффинные FcR. Первые могут взаимодействовать с интактной молекулой иммуноглобулина, используя ее в дальнейшем как ко-рецепторный фактор (базофилы, тучные клетки); вторые — связываются с молекулой Ig в составе иммунного комплекса. Поэтому FcR называют *непрямыми* иммунорецепторами.

Помимо обладания эффекторными свойствами, антитела являются активными регуляторами иммунореактивности. Так, Ig служат антигенспецифическими рецепторами В-лимфоцитов. Благодаря выраженной цитотоксичности, они также выполняют функцию специфических ко-рецепторных факторов базофилов и тучных клеток₂ (см. выше).

Согласно теории «идиотип-антиидиотипического взаимодействия», антитела, специфичные к идиотипическим антигенным детерминантам Ig, могут управлять силой антигенового иммунного реагирования.

Активное специфическое связывание высокоиммуногенных эпитопов специфическими антителами может блокировать развитие как гуморального, так и клеточного иммунного ответа. Этот эффект используется в клинической практике, например, для профилактики гемолитической болезни новорожденных в результате резус-конфликта.

Вместе с тем антитела могут неспецифически взаимодействовать с молекулой антигена за счет неспецифической адсорбции или низкоаффинного связывания. Это позволяет антителам наряду с другими веществами участвовать в опсонизации антигена и таким образом неспецифически ингибировать его биологическое действие.

К неспецифическим свойствам антител относится также их способность захватывать ионы некоторых металлов — микроэлементов или тяжелых металлов, таких как ртуть и

свинец. Кроме того, антитела могут взаимодействовать с рядом суперантигенов. Однако их связывание происходит нетипично — без участия паратопа. В настоящий момент достоверно известно существование трех таких суперантигенов: протеина А стафилококка (SpA), gp 120 ВИЧ-1 и кишечного сиалопротеина. Суперантигены могут нейтрализовать биологическую активность антител и потенцировать иммунодефицитные состояния.

11.1.7. Генетика иммуноглобулинов

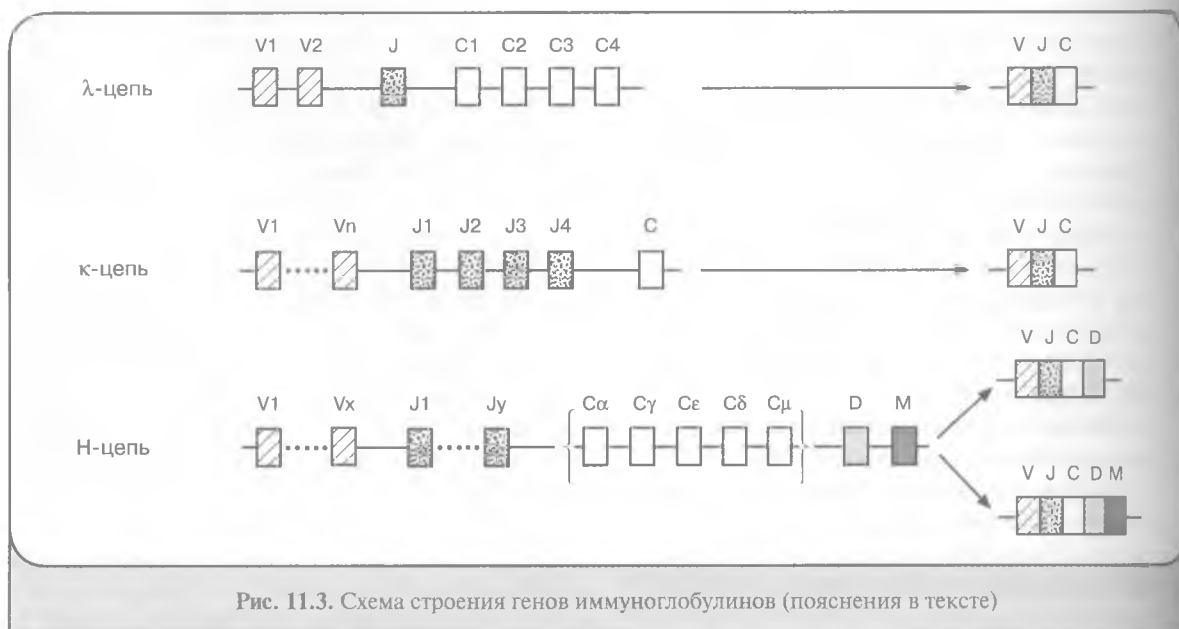
Молекулам Ig присуще не только уникальное строение, но также и своеобразное генетическое кодирование. Методами молекулярной генетики было доказано, что, в отличие от других белков, структура молекулы Ig изначально контролируется не одним, а большим числом генов. Гены иммуноглобулинов имеют фрагментарную организацию и образуют три группы, которые располагаются в трех различных хромосомах и наследуются независимо.

Первая группа генов содержит информацию о первичной аминокислотной последовательности легкой цепи κ-типа, вторая — легкой цепи λ-типа, а третья — всех типов тяжелых цепей (α, γ, δ, ξ и μ). Гены, относящиеся к каждой группе, находятся на соответствующей

хромосоме в непосредственной близости друг от друга. Они располагаются последовательно (рис. 11.3) и разделены *интронами* (некодирующие области).

Участок ДНК, кодирующий строение легкой цепи λ-типа, содержит 2 *V-сегмента* (контролируют структуру V-доменов) и 4 *C-сегмента* (контролируют структуру C-доменов). Между C- и V-сегментами располагается *J-сегмент* (от англ. *join* — соединяющий). Легкая цепь κ-типа кодируется несколькими сотнями V-сегментов ДНК, 4 J-сегментами и одним C-сегментом. Группа генов, контролирующая структуру тяжелых цепей, имеет еще более сложное строение. Наряду с V-, C- и J- сегментами ДНК в их состав входят 20 *D-сегментов* (от англ. *diversity* — разнообразие). Кроме того, имеется *M-сегмент*, который кодирует биосинтез мембранно-ассоциированного участка молекулы рецепторного Ig.

При созревании пре-B-лимфоцитов наблюдаются мощные перестройки в их генетическом аппарате. Происходит произвольное сближение отдельных фрагментов ДНК и сборка в пределах соответствующих хромосом единиц функциональных генов. Пропущенные участки ДНК исключаются из дальнейшего считывания. Этот процесс называется *сплайсингом* (англ. *splicing* — сращивание, состыковка).



ние). С функциональных генов в дальнейшем транскрибируется про-мРНК, а затем — окончательная мРНК, кодирующая первичную аминокислотную последовательность L- и H-цепей молекулы Ig. Параллельно со сплайсингом в отдельных участках V-сегментов генов иммуноглобулинов наблюдается мутационный процесс и нематричная достройка олигонуклеотидов. Эти участки ДНК получили название *гипермутабельные области*.

Сплайсинг и мутационный процесс в генах Ig носят случайный, стохастический характер и происходят в каждом лимфоците независимо друг от друга. Явления, происходящие в генах Ig при их созревании, в бесконечное количество раз повышают разнообразие V-доменов молекулы Ig. Они являются причиной неповторимой уникальности структуры паратопов и идиотипических антигенных детерминант молекулы Ig, а также множественности антигенной специфичности рецепторов В-лимфоцитов и синтезируемых ими антител.

Таким образом, **учитывая непрерывность лимфогенеза, в пределах организма уже присутствуют или в любой момент могут возникнуть В-лимфоциты, специфичные к практически любому антигену.** Молекулярно-генетическая теория происхождения многообразия специфичностей антител была подробно разработана С. Тонегавой (1983).

Дальнейшая дифференцировка В-лимфоцитов, которая возникает при их продуктивной активации в процессе первичного иммунного ответа, идет параллельно с их размножением. Она также сопровождается рекомбинационными перестройками в пределах иммуноглобулиновых генов, но уже в пределах С-сегментов. Этот процесс проявляется последовательной сменой класса Ig: если на ранних этапах дифференцировки В-лимфоциты синтезируют Ig классов М и D, то на более поздних — классов G, А или Е (редко). Параллельно наблюдается «дрейф» (точечные перестройки) в V-сегментах. Это ведет к появлению вариаций в специфичности BCR и субклонированию В-лимфоцитов.

11.1.8. Динамика антителопродукции

Способность синтезировать антитела макроорганизм приобретает довольно рано. Уже на 13-й неделе эмбрионального периода раз-

вития возникают В-лимфоциты, синтезирующие IgM, а на 20-й неделе этот Ig можно определить в сыворотке крови. С этого момента в организме начинается процесс непрерывного появления новых антителопродуцирующих клеток с различной специфичностью, которые исходно формируют базальный уровень антител, преимущественно изотипа М — это нормальные антитела. Содержание Ig в сыворотке крови существенно меняется с возрастом, а также зависит от состояния макроорганизма. Концентрация антител достигает максимума к периоду полового созревания и сохраняется на высоких цифрах в течение всего репродуктивного периода (период половой зрелости до старости). В старческом возрасте содержание антител снижается. Повышение количества Ig наблюдается при инфекционных заболеваниях, аутоиммунных расстройствах; снижение его отмечено при некоторых опухолях и иммунодефицитных состояниях.

При появлении во внутренней среде макроорганизма антигена иммунная система реагирует усилением биосинтеза специфических антител, что достигается путем размножения клонов антигенспецифичных клеток-антителопродуцентов. При этом антиген выступает в роли не только триггерного, но и селектирующего фактора.

Преимущество получают клоны с наивысшей специфичностью, т. е. наибольшей аффинностью рецепторных молекул Ig. Параллельно с размножением идет процесс дифференцировки В-лимфоцитов. Наблюдается перестройка в геноме клеток и переключение их биосинтеза с крупной высокоavidной молекулы IgM на более легкие и экономичные высокоаффинные IgG или IgA (редко IgE).

Антителопродукция в ответ на антигенный стимул имеет характерную динамику. Ее можно проследить на примере сывороточных Ig (рис. 11.4). Выделяют латентную (индуктивную), логарифмическую, стационарную фазы и фазу снижения. В *латентную фазу* антителопродукция практически не изменяется и остается на базальном уровне. В этот период происходит переработка и представление

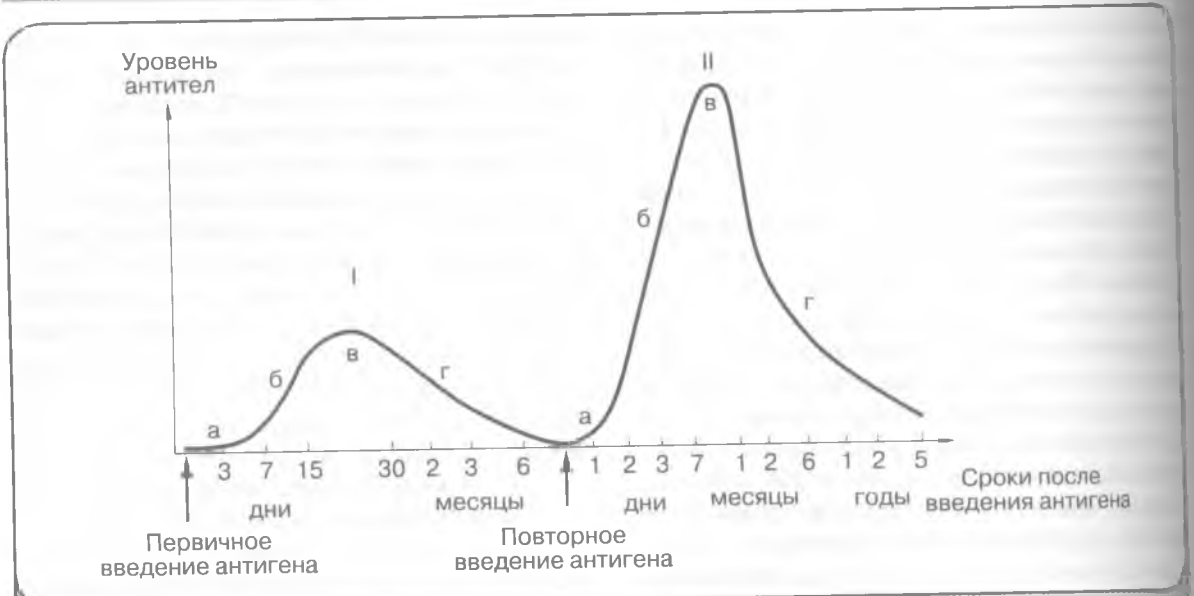


Рис. 11.4. Динамика антителообразования при первичном (I) и вторичном (II) иммунном ответе. Фазы антителообразования: а — латентная; б — логарифмического роста; в — стационарная; г — снижения

антигена иммунокомпетентным клеткам и запуск пролиферации антигенспецифичных клонов клеток-антителопродуцентов. Ввиду того, что клетки делятся дихотомически (т. е. надвое), прирост их численности происходит в логарифмической зависимости. Поэтому после первых циклов деления прирост числа клеток в общей массе невелик, и титры специфических антител практически не изменяются. Параллельно происходит созревание пре-В-лимфоцитов в зрелые формы, включаются процессы дифференцировки антителопродуцентов в плазматические клетки и переключение синтезируемых изотипов Ig.

Во время логарифмической фазы наблюдается интенсивный прирост количества антигенспецифичных В-лимфоцитов, что находит отражение в существенном нарастании титров специфических антител.

В стационарной фазе количество специфических антител и синтезирующих их клеток достигает максимума и стабилизируется. Освобождение макроорганизма от антигена устраняет антигенный стимул, поэтому вслед за стационарной фазой начинается фаза снижения. В этот период наблюдается постепен-

ное уменьшение численности клонов специфических антителопродуцентов и титров соответствующих антител.

Динамика антителообразования имеет характерную временную зависимость. Она также существенно зависит от первичности или вторичности контакта с антигеном. При первичном контакте с антигеном развивается первичный иммунный ответ. Для него характерны длительная латентная (3–5 суток) и логарифмическая (7–15 суток) фазы. Первые диагностически значимые титры специфических антител регистрируются на 10–14-е сутки от момента иммунизации. Стационарная фаза продолжается 15–30 суток, а фаза снижения — 1–6 месяцев.

В течение первичного иммунного ответа под влиянием цитокинов Т2-хелпера происходит созревание и размножение клонов антигенспецифичных В-лимфоцитов. Их дифференцировка приводит к образованию плазматических клеток. Происходит также переключение биосинтеза Ig с изотипов М и D на G, А или Е. В итоге первичного иммунного реагирования формируются многочисленные клоны антигенспецифичных В-лимфоцитов: анти-

телопroduцирующих клеток и В-лимфоцитов иммунологической памяти, а во внутренней среде макроорганизма в высоком титре накапливаются специфические IgG и/или IgA (а также IgE). Таким образом обеспечивается активное противодействие иммунной системы внедрению в макроорганизм антигена и высокая готовность к повторной встрече с ним.

Со временем антительный ответ угасает. Накопление в избытке свободных IgG/IgA потенцирует гибель активных антителопродукторов. Элиминация антигена исключает новое стимулирование и клонообразования, а появившиеся ранее плазматические клетки имеют короткую продолжительность жизни. Вместе с тем В-лимфоциты иммунологической памяти надолго остаются циркулировать в организме.

Повторный контакт иммунной системы с тем же антигеном ведет к формированию *вторичного иммунного ответа* (рис. 11.4). В отличие от первичного, для вторичного ответа характерна укороченная латентная фаза — от нескольких часов до 1–2 суток. Логарифмическая фаза отличается более интенсивной динамикой прироста и более высокими титрами специфических антител. Для стационарной фазы и фазы снижения свойственна затяжная динамика (несколько месяцев или даже лет). При вторичном иммунном ответе организм сразу же, в подавляющем большинстве синтезирует IgG. Характерная динамика антителопродукции обусловлена подготовленностью иммунной системы к повторной встрече с антигеном за счет формирования иммунологической памяти (см. разд. 11.5). В результате этого клоны антигенспецифичных В-лимфоцитов, оставшиеся после первичного иммунного реагирования, быстро размножаются и интенсивно включаются в процесс антителогенеза.

Для развития гуморального иммунитета слизистых характерны те же процессы и динамика антителообразования. Однако в данном случае в слизистых в подавляющем большинстве созревают и размножаются В-лимфоциты, продуцирующие полимерные молекулы IgA.

Явление интенсивного антителообразования при повторном контакте с антигеном широко используется в практических целях, например при *вакцинопрофилактике*. Для со-

здания и поддержания иммунитета на высоком защитном уровне схемы вакцинации предусматривают первичное введение антигена для формирования иммунологической памяти и последующие ревакцинации через различные интервалы времени (см. гл. 14).

Этот же феномен используют при получении высокоактивных лечебных и диагностических иммунных сывороток (*гипериммунных*). Для этого животным или донорам производят многократные введения препаратов антигена по специальной схеме.

Динамика и интенсивность антителообразования в значительной степени зависят от иммуногенности антигена (дозы, способа и кратности его введения), а также от состояния макроорганизма. Попытка повторного введения антигена в латентной фазе может привести к иммунологическому параличу — иммунологической неотвечаемости на антиген в течение определенного периода времени.

11.1.9. Теории разнообразия антител

Для объяснения механизмов антителопродукции и разнообразия специфичности антител было высказано множество гипотез и теорий, однако лишь немногие из них получили практическое подтверждение. Большинство теорий имеют чисто историческое значение.

Первой принципиально важной концепцией была теория «*боковых цепей*», которую выдвинул П. Эрлих (1898). Согласно этой теории, клетки органов и тканей имеют на своей поверхности рецепторы, способные в силу химического сродства связывать антиген и инактивировать его; связанные с антигеном рецепторные молекулы отделяются с поверхности клетки и замещаются вновь синтезированными. Эта теория заложила основные представления о гуморальном иммунитете и о рецепторах иммунокомпетентных клеток.

Заслуживают внимания «*инструктивные*» или «*матричные*» теории. Согласно концепциям, предложенным Ф. Брейнлем и Ф. Гауровитцем (1930), Л. Полингом (1940), антиген является матрицей, с которой штампуются молекулы антител. Эти теории оказались тупиковыми в связи с открытием Д. Уотсоном и Ф. Криком (1953) механизма кодирования в ДНК генетической информации.

Ряд теорий исходил из предположения о предсуществовании в организме антител практически ко всем возможным антигенам (Н. Эрне, 1955; Ф. Бернет, 1959). В настоящее время наиболее обоснованной считается теория Ф. Бернета, которая получила название *клонально-селекционной*. Согласно данной теории, лимфоидная ткань состоит из огромного числа клонов антигенореактивных клеток (лимфоцитов), которые специализируются на выработке антител к разнообразным антигенам. Клоны возникли в ходе эволюции в результате мутаций и селекции под влиянием антигенов и уже предсуществуют в новорожденном организме. Попавший в организм антиген селективно (избирательно) активирует специфичный к нему клон лимфоцитов, который размножается и начинает вырабатывать специфичные к данному антигену антитела. Если доза антигена велика, то клон реагирующих на него лимфоцитов устраняется (элиминируется) из организма. В соответствии с теорией Бернета, этот путь ведет к формированию в эмбриональном периоде иммунологической толерантности (нечувствительности) к собственным антигенам.

Теория Бернета объясняет многие иммунологические реакции (антителообразование, гетерогенность антител, иммунологическую память, толерантность), однако она не способна объяснить происхождение всего многообразия специфичности антител. Бернет предположил, что в организме существует около 10 тыс. клонов специфических антителопродуцирующих клеток. Однако, как показывает практика, мир антигенов на 2–3 порядка обширнее, и организм отвечает на практически любой из них, в том числе и на искусственно полученный антиген, который не существует в природе.

Значительную ясность в представление о разнообразии специфичности антител внес С. Тонегава (1983), который дал этому явлению генетическое обоснование. Молекулярно-генетическая теория С. Тонегавы исходит из того, что в генах иммуноглобулинов постоянно происходят мощные рекомбинационные и мутационные процессы. В результате возникает огромное количество вариантов и комбинаций генов, которые кодируют разнообразные по специфичности иммуноглобулины. Каждый клон антителопродуцирующих

лимфоцитов обладает своим уникальным вариантом гена иммуноглобулина (см. разд. 11.1.7).

Следует также упомянуть теорию сетевой регуляции иммунной системы. Ее основой является выдвинутая Н. Эрне (1974) идея идиотип-антиидиотипического взаимодействия. Согласно этой теории, иммунная система представляет собой бесконечную цепь взаимодействующих антигенных идиотипов иммуноглобулинов и направленных к ним антиидиотипических антител. Введение антигена вызывает каскадную реакцию образования антител 1-го порядка. Это антитело, действуя как антиген, вызывает образование к своему идиотипу антител 2-го порядка. К идиотипу антител 2-го порядка синтезируются антитела 3-го порядка и т. д. При этом антитело каждого порядка как бы несет «внутренний образ» антигена, который передается эстафетно в цепи образования антиидиотипических антител. Доказательством этой теории является обнаружение антиидиотипических антител, способных вызвать в организме иммунитет к соответствующему антигену, а также существование лимфоцитов, сенсibilизированных к антиидиотипическим антителам. С помощью теории Эрне можно понять формирование иммунологической памяти и возникновение аутоиммунных реакций. Однако она не способна объяснить многие другие явления иммунитета: механизм иммунологического распознавания «свой-чужой», управление каскадом идиотип-антиидиотипических реакций и т. д. Данная теория не получила дальнейшего развития.

В 60-е годы XX в. выдающийся отечественный иммунолог П. Ф. Здродовский сформулировал физиологическую концепцию иммуногенеза — гипоталамо-адреналовую теорию регуляции иммунитета. Основная идея этой теории сводилась к тому, что продукция антител подчиняется общим физиологическим законам. Ведущая роль в этом процессе принадлежит гормонам и нервной системе.

11.2. Иммунный фагоцитоз

Феномен *иммунного фагоцитоза* основан на поглощении фагоцитами (см. разд. 9.2.3.1) антигенов, входящих в состав иммунных комплексов. При этом антигенами могут быть как отдельные молекулы или их агрегаты, так и цельные клетки

или их обломки. Для осуществления иммунного фагоцитоза необходимо участие молекул иммуноглобулинов и/или комплемента. Имеющиеся на клеточной мембране фагоцитирующей клетки рецепторы к Fc-участку молекулы иммуноглобулина и компонентам комплемента обеспечивают «узнавание» и захват фагоцитом иммунных комплексов или опсонизированных антигенов. Таким образом, фагоциты участвуют в элиминации (удалении) антигенов из организма и восстановлении его гомеостаза.

11.3. Опосредованный клетками киллинг

Иммунная система располагает независимым от системы комплемента способом уничтожения чужеродных клеток. Эта форма иммунного реагирования осуществляется непосредственно клетками-киллерами и имеет название *опосредованный клетками киллинг*. Киллинг способны осуществлять активированные фагоциты, Т-киллеры, естественные киллеры и некоторые другие клетки. Клетки-киллеры осуществляют санацию организма от чужеродных, трансформированных или инфицированных клеток.

Механизм клеточно-опосредованного киллинга достаточно универсален. Киллеры вырабатывают ряд веществ, обладающих цитотоксическим или цитолитическим действием: вызывают некроз нарушением целостности клеточной мембраны (или стенки) или индуцируют апоптоз. Цитотоксические субстанции синтезируются только при активации клетки. Киллеры осуществляют свою функцию дистантно (на расстоянии) или при непосредственном контакте. Мишенью для них являются раковотрансформированные, мутантные или зараженные вирусами клетки, грибы, простейшие, гельминты и некоторые бактерии.

Способ распознавания киллерами генетической чужеродности клеток-мишеней определяется типом его антигенсвязывающего рецептора. Различают антителозависимую и антителонезависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность.

11.3.1. Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность

Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность реализуется благодаря экс-

прессии на мембране иммунокомпетентных клеток рецепторов к Fc-фрагменту молекулы иммуноглобулина (FcR). Эти рецепторы являются трансмембранными белковыми молекулами и различаются по специфичности и аффинности. FcR всегда специализирован к определенному изотипу тяжелой цепи молекулы Ig. Различают также высокоаффинные и низкоаффинные FcR. Первые могут взаимодействовать с интактной молекулой иммуноглобулина, используя ее в дальнейшем как ко-рецепторный фактор (базофилы, тучные клетки), вторые — связываются уже с иммунным комплексом. Поэтому FcR называют «непрямыми» иммунорецепторами. Антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность могут осуществлять активированные макрофаги, эозинофилы и естественные киллеры.

Активированные макрофаги (см. разд. 9.2.3.1) продуцируют перекисные и NO⁻-ион-радикалы и ферменты, которые могут поражать мембрану (или стенку) клетки на расстоянии или после фагоцитирования. Первичное распознавание чужеродных клеток происходит при помощи FcR по антителам, которые предварительно связались с поверхностными антигенами клеток-мишеней.

В антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности принимают участие *ЕК* с фенотипом CD16⁺CD56^{мало}. На своей поверхности они несут низкоаффинный FcR к молекуле IgG, связанной антигеном в иммунный комплекс. Этот фенотип ЕК постоянно циркулирует в кровотоке и других биологических жидкостях в поиске клеток, инфицированных различными паразитами (вирусами, бактериями, простейшими) и «помеченных» Ig. При контакте с зараженной клеткой естественный киллер индуцирует разрушение клеток-мишеней осмотическим лизисом (перфорин) или индукцией в них апоптоза (гранзимы, гранулизин).

Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность *эозинофилов* имеет узкую противогельминтную ориентацию. Она реализуется благодаря наличию на их мембране низкоаффинных FcR к IgA или IgE, связанных в иммунные комплексы. При распознавании паразитов, уже «отмеченных» IgA или IgE, эозинофилы выделяют путем

дегрануляции антигельминтные токсические факторы (ферменты и белковые токсины) и синтезируют цитокины, стимулирующие клеточное звено иммунитета, а также липидные медиаторы воспаления.

11.3.2. Антителонезависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность

Антителонезависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность осуществляется без непосредственного участия молекулы Ig. Ее индукторами являются клетки лимфоидного ряда, несущие иммунорецепторы «прямого» распознавания. К этой группе клеток относятся Т-хелперы, Т-киллеры и CD16 CD56^{много} естественные киллеры.

Выделяют прямой и непрямой (опосредованный) эффекторные механизмы антителонезависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. *Прямой механизм цитотоксичности* предполагает совмещение индукторной и эффекторной функции одной и той же клеткой без посредников. Основной клеткой, использующей этот тип механизма, является *Т-киллер* ($\alpha\beta$ -тип). Эта клетка при помощи TCR распознает антиген в составе МНС I класса на мембране клеток собственного организма и определяет аллогенность клетки-мишени. Контакт зрелого активированного Т-киллера с чужеродной клеткой-мишенью запускает их цитотоксические механизмы: осмотический лизис (перфорин) и индукцию апоптоза (гранзимы, гранулизин).

Киллинг клетки-мишени осуществляется в несколько этапов:

1. *Установление плотного контакта.* Т-киллер прикрепляется к поверхности клетки-мишени. Между клетками образуется тесный контакт, или *интерфейс*, с узким синаптическим пространством.

2. *Активация Т-киллера.* Эффекторная клетка при помощи своего TCR анализирует комплекс МНС I класса. При установлении чужеродности этого комплекса Т-киллер активируется и начинает синтезировать токсические субстанции, которые накапливаются в гранулах. Происходит полярное перераспределение внутриклеточных органелл киллера. Гранулы, содержащие токсические субстанции, и аппарат Гольджи перемещаются в сторону TCR,

связанного с клеткой-мишенью. Это необходимо для обеспечения строго направленного действия.

3. *Экзоцитоз токсических субстанций.* Содержимое гранул выделяется в узкое синаптическое пространство между клетками путем экзоцитоза.

4. *Токсическое воздействие.* В результате воздействия перфорина в мембране клетки-мишени образуются поры, способные вызывать осмотический лизис. Через поры внутрь клетки проникают гранзимы и гранулизин и запускают апоптоз.

Точный механизм специфического распознавания Т-киллером мембранных антигенов клетки-мишени и направленный цитотоксический удар предотвращают ошибочный лизис собственных нормальных клеток. В процессе контакта с чужеродными клетками формируется иммунологическая память. Повторное появление в организме клеток, несущих те же антигенные детерминанты, приводит к формированию реакции по типу вторичного иммунного ответа, т. е. киллерная активность отличается высокой интенсивностью и проявляется в очень короткие сроки.

Для *ЕК*, имеющих фенотип CD16 CD56^{много}, свойственен другой вариант прямого цитотоксического действия. Эта клетка, получившая название «тканевой», не циркулирует в организме, а накапливается в портальных воротах печени и децидуальной оболочке беременной матки. CD16 CD56^{много} *ЕК* экспрессирует на клеточной мембране много Fas-лиганда. Мишенью для этих киллеров являются активированные лимфоциты, для которых характерен синтез в большом количестве Fas-рецептора. Связывание Fas-рецептора с Fas-лигандом индуцирует в активированном лимфоците апоптоз.

При помощи описанного механизма цитотоксичности CD16 CD56^{много} *ЕК* иммунной системе удается элиминировать из организма лимфоциты, позитивно прореагировавшие на пищевые и эмбриональные аллоантигены. Это позволяет избежать развития пищевой аллергии или невынашивания беременности.

Подобный эффект также свойствен для Т-киллеров и Т1-хелперов. Элиминация активированных лимфоцитов путем индукции

в них апоптоза — один из эффективных путей иммунорегуляции в периферических тканях, широко используемый иммунокомпетентными клетками.

Непрямой механизм цитотоксического эффекта характерен для Т-хелперов. При помощи TCR эти клетки способны распознать чужеродные антигены в составе МНС II класса. Однако сами они не являются эффекторами. Т1-хелпер активирует макрофаг, включая его цитотоксические свойства, а Т2-хелпер — эозинофил.

11.4. Реакции гиперчувствительности

В ряде случаев введение антигена в организм может индуцировать аномальную гиперергическую реакцию, которая носит черты патологического процесса и является прямой противоположностью иммунологической толерантности. Эта необычная форма реагирования, основу которой составляют естественные физиологические механизмы, получила название *аллергия* (от греч. *allos* — иной и *ergon* — действие). Изучает аллергию самостоятельная наука — *аллергология*. Соответственно антигены, вызывающие аллергические реакции, получили название *аллергены*.

Впервые понятие «аллергия» было введено в практику французским ученым К. Пирке (1906). Он понимал аллергию как измененную реакцию макроорганизма на повторное введение антигена и относил к ней как гипер-, так и гипореактивность.

Современное определение понимает аллергию как повышенную извращенную специфическую реакцию макроорганизма на повторный контакт организма с антигеном (аллергеном).

Для формирования аллергии необходима предварительная сенсибилизация макроорганизма к аллергену, или аллергизация. Ее можно вызвать очень малой, субиммунизирующей дозой антигена (например, введением морской свинке 0,000001 мл лошадиной сыворотки), которая получила название *сенсибилизирующей*. Повторное введение того же антигена через определенный промежуток времени вызывает

аллергическую реакцию. Дозу антигена, вызывающую собственно аллергическую реакцию, называют *разрешающей*.

В развитии аллергической реакции выделяют три стадии: иммунологическую, патохимическую и патофизиологическую. В течение *иммунологической стадии* в ответ на аллерген образуются антигеночувствительные клетки, специфические антитела и иммунные комплексы. *Патохимическая стадия* характеризуется образованием медиаторов воспаления и биологически активных аминов, которые играют основную роль в механизме аллергических реакций. В течение *патофизиологической стадии* проявляется клиническая картина аллергической реакции. Как правило, клинические проявления аллергии полиморфны.

Первая классификация аллергий была предложена Р. Куком в 1947 г. В ее основу было положено время развития аллергической реакции. Были выделены гиперчувствительность немедленного (*ГНТ*) и замедленного (*ГЗТ*) типа. Сравнение свойств ГНТ и ГЗТ представлено в табл. 11.2 на с. 256. К ГНТ были отнесены аллергические реакции, проявляющиеся уже через 20–30 мин после повторной встречи с аллергеном, тогда как реакции ГЗТ возникают через 6–8 ч и позже. Механизмы и клинические проявления ГНТ и ГЗТ различны. ГНТ связана с выработкой специфических антител (опосредована В-звеном иммунитета). При помощи специфических антител или клона антигенореактивных В-лимфоцитов аллергизацию можно перенести от больного здоровому. Возможна специфическая десенсибилизация пациента, которая в ряде случаев дает стойкий эффект. ГЗТ опосредована клеточным звеном иммунитета. Перенос аллергизации от больного здоровому возможен только с клеточным пулом. Специфическая терапия, как правило, оказывается неэффективной.

ГНТ была описана в 1902–1905 гг. французскими учеными Ш. Рише и Ж. Портье и русским ученым Г. П. Сахаровым. Они показали, что ГНТ имеет стереотипное течение, которое может заканчиваться смертью. Она может проявляться в виде анафилаксии, atopических болезней, сывороточной болезни, феномена Артюса (см. разд. 12.4.3). Явление ГЗТ было установлено Р. Кохом (1890). Этот тип

аллергии может протекать в виде контактной аллергии, реакции на кожно-аллергическую пробу, замедленной аллергии к белкам.

Изучение молекулярных механизмов аллергии привело к созданию Джеллом и Кумбсом в 1968 г. новой классификации. В соответствии с ней различают четыре основных типа аллергии: анафилактический (I тип), цитотоксический (II тип), иммунокомплексный (III тип) и опосредованный клетками (IV тип). Первые три типа относятся к ГНТ, четвертый — к ГЗТ. Сравнительная характеристика механизмов указанных типов аллергий приведена в табл. 11.3 (с. 256, 257), из которой видно, что ведущую роль в запуске ГНТ играют антитела (IgE, G и M), а ГЗТ — лимфоидно-макрофагальная реакция.

Аллергическая реакция I типа связана с биологическими эффектами IgE и G4, названных *реагинами*, которые обладают цитотоксичностью — сродством к тучным клеткам и базофилам. Эти клетки несут на поверхности высокоаффинный FcR, связывающий IgE и G4 и использующий их как ко-рецепторный фактор специфического взаимодействия с эпитопом аллергена. Связывание аллергена с рецепторным комплексом вызывает дегрануляцию базофила и тучной клетки — залповый выброс биологически активных соединений (гистамин, гепарин и др.), содержащихся в гранулах, в межклеточное пространство. Их действие практически мгновенно, но кратковременно, включает ряд органо-тканевых патофизиологических реакций, связанных с сокращением гладкой мускулатуры кишечника, бронхов, мочевого пузыря и активацией секреторных, эндотелиальных и некоторых других клеток. В результате развиваются бронхоспазм, вазодилатация, отек и прочие симптомы, характерные для анафилаксии. Вырабатываемые цитокины стимулируют клеточное звено иммунитета: образование T2-хелпера и эозинофилогенез.

Наиболее ярко аллергическая реакция I типа проявляется в клинической картине анафилактического шока. Инъекция сыворотки крови больного с аллергией I типа здоровому лицу переносит ему специфический реагин и делает на определенное время сенсibilизированным. На этом феномене основан эф-

фект реакции Прауснитца—Кюстнера, ранее использовавшейся для диагностики аллергии: контакт тест-пациента с аллергеном вызывал у него анафилаксию.

Цитотоксические антитела (IgG, IgM), направленные против поверхностных структур (антигенов) соматических клеток макроорганизма, связываются с клеточными мембранами клеток-мишеней и запускают различные механизмы антителозависимой цитотоксичности (аллергическая реакция II типа). Массивный цитолиз сопровождается соответствующими клиническими проявлениями. Классическим примером является гемолитическая болезнь в результате резус-конфликта или переливания иногруппной крови.

Цитотоксическим действием обладают также комплексы антиген—антитело, образующиеся в организме пациента в большом количестве после введения массивной дозы антигена (аллергическая реакция III типа). Чрезмерное количество циркулирующих иммунных комплексов не может быть быстро утилизировано стандартными механизмами фагоцитирующих клеток. Фиксируясь на эндотелии сосудов, в клубочках почек и других тканях, иммунные комплексы инициируют антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, сопровождающуюся воспалительной реакцией. В связи с кумулятивным эффектом клиническая симптоматика аллергической реакции III типа имеет отсроченную манифестацию, иногда на срок более 7 суток. Тем не менее этот тип реакции относят к ГНТ. Реакция может проявляться как одно из осложнений от применения иммунных гетерологичных сывороток с лечебно-профилактической целью («сывороточная болезнь»), а также при вдыхании белковой пыли («легкое фермера»).

ГЗТ представляет собой лимфоидно-макрофагальную реакцию, которая развивается в результате иммунной активации макрофагов под влиянием лимфоцитов, сенсibilизированных к аллергену. Основу ГЗТ составляют нормальные механизмы иммунного воспаления.

Для иммунной активации макрофага необходимы два воздействия: контактное и цитокиновое. *Контактная стимуляция* — результат рецептор-лигандного взаимодействия макрофага, несущего рецепторную молекулу CD40, и T1-хелпера, экспрессирующего CD40-лиганд.

В исключительных случаях эту функцию может выполнять Т2-хелпер. *Цитокиновая* активация макрофага осуществляется γ -ИФН, который продуцируют Т1-хелперы, Т-киллеры или естественные киллеры. Кроме того, макрофаг может быть стимулирован ЛПС (через CD14-рецепторную молекулу). Ингибиторами активации макрофага являются продукты Т2-хелпера: ИЛ-4, -10, -13 и другие иммуноцитокнины.

Иммунная активация макрофага резко повышает его эффективность в осуществлении антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности и иммунного фагоцитоза, т. е. деструкции и элиминации антигена. В процессе санации очага макрофаг при помощи цитокинов стимулирует иммуногенез, а также фиброз и ангиогенез. Последние необходимы для восстановления тканевой альтерации. В случае неспособности макрофага элиминировать патоген (например, микобактерии), на месте внедрения формируется *гранулема*. Это патологическое образование с центрально расположенным возбудителем, окруженным фиброзной тканью. По периферии образуется макрофагальный инфильтрат вплоть до макрофагально-синцитиального вала. Неэффективный ангиогенез ведет к трофической недостаточности гранулемы, и тогда она некротизируется («казеозный некроз»).

Лабораторная диагностика аллергии при аллергических реакциях I типа основана на выявлении суммарных и специфических реагинов (IgE, IgG4) в сыворотке крови пациента. При аллергических реакциях II типа в сыворотке крови определяют цитотоксические антитела (антиэритроцитарные, антилейкоцитарные, антитромбоцитарные и др.). При аллергических реакциях III типа в сыворотке крови выявляют иммунные комплексы. Для обнаружения аллергических реакций IV типа применяют кожно-аллергические пробы, которые широко используют в диагностике некоторых инфекционных и паразитарных заболеваний и микозов (туберкулез, лепра, бруцеллез, туляремия и др.).

Лечение аллергий основано на десенсибилизации макроорганизма малыми субиммунизирующими дозами аллергена, который вводится в макроорганизм в течение продолжительного периода времени для индукции низкодозовой иммунологической толерантности (см. разд. 11.6). В тяжелых случаях применяют глюкокортикоидную терапию.

Реакции гиперчувствительности имеют также большое значение и в норме. Их механизмы лежат в основе воспаления, которое способс-

твует локализации инфекционного агента или иного антигена в пределах определенных тканей и формированию полноценной иммунной реакции защитного характера.

Реакции гиперчувствительности следует отличать от гиперергического типа иммунного реагирования организма, который может быть обусловлен как вариациями нейрогуморальной регуляции, так и некоторыми врожденными особенностями. Например, новозеландскую черную линию мышей от рождения отличает гипериммуноглобулинемия, а среди рыжеволосых людей часто наблюдается эозинофилия.

11.5. Иммунологическая память

При повторной встрече с антигеном организм формирует более активную и быструю иммунную реакцию — вторичный иммунный ответ. Этот феномен получил название *иммунологической памяти*.

Иммунологическая память имеет высокую специфичность к конкретному антигену, распространяется как на гуморальное, так и клеточное звено иммунитета и обусловлена В- и Т-лимфоцитами. Она образуется практически всегда и сохраняется годами и даже десятилетиями. Благодаря ней наш организм надежно защищен от повторных антигенных интервенций.

На сегодняшний день рассматривают два наиболее вероятных механизма формирования иммунологической памяти. Один из них предполагает длительное сохранение антигена в организме. Этому имеется множество примеров: инкапсулированный возбудитель туберкулеза, персистирующие вирусы кори, полиомиелита, ветряной оспы и некоторые другие патогены длительное время, иногда всю жизнь, сохраняются в организме, поддерживая в напряжении иммунную систему. Вероятно также наличие долгоживущих дендритных АПК, способных длительно сохранять и презентировать антиген.

Другой механизм предусматривает, что в процессе развития в организме продуктивного иммунного ответа часть антигенореактивных Т- или В-лимфоцитов дифференцируется в малые по-

коящиеся клетки, или *клетки иммунологической памяти*. Эти клетки отличаются высокой специфичностью к конкретной антигенной детерминанте и большой продолжительностью жизни (до 10 лет и более). Они активно рециркулируют в организме, распределяясь в тканях и органах, но постоянно возвращаются в места своего происхождения за счет хоминговых рецепторов. Это обеспечивает постоянную готовность иммунной системы реагировать на повторный контакт с антигеном по вторичному типу.

Феномен иммунологической памяти широко используется в практике вакцинации людей для создания напряженного иммунитета и поддержания его длительное время на защитном уровне. Осуществляют это 2–3-кратными прививками при первичной вакцинации и периодическими повторными введениями вакцинного препарата — *ревакцинациями* (см. гл. 14).

Однако феномен иммунологической памяти имеет и отрицательные стороны. Например, повторная попытка трансплантировать уже однажды отторгнутую ткань вызывает быструю и бурную реакцию — *криз отторжения*.

11.6. Иммунологическая толерантность

Иммунологическая толерантность — явление, противоположное иммунному ответу и иммунологической памяти. Проявляется она отсутствием специфического продуктивного иммунного ответа организма на антиген в связи с неспособностью его распознавания.

В отличие от иммуносупрессии иммунологическая толерантность предполагает изначальную ареактивность иммунокомпетентных клеток к определенному антигену.

Открытию иммунологической толерантности предшествовали работы Р. Оуэна (1945), который обследовал разнояйцовых теллят-близнецов. Ученый установил, что такие животные в эмбриональном периоде обмениваются через плаценту кровяными ростками и после рождения обладают одновременно двумя типами эритроцитов — своими и чужими. Наличие чужеродных эритроцитов не вызывало иммунную реакцию и не приводило к внутрисосудистому гемолизу. Явление было

названо *эритроцитарной мозаикой*. Однако Оуэн не смог дать ему объяснение.

Собственно феномен иммунологической толерантности был открыт в 1953 г. независимо чешским ученым М. Гашеком и группой английских исследователей во главе с П. Медавара. Гашек в опытах на куриных эмбрионах, а Медавар — на новорожденных мышатах показали, что организм становится нечувствительным к антигену при его введении в эмбриональном или раннем постнатальном периоде.

Иммунологическую толерантность вызывают антигены, которые получили название *толерогены*. Ими могут быть практически все вещества, однако наибольшей толерогенностью обладают полисахариды.

Иммунологическая толерантность бывает врожденной и приобретенной. Примером *врожденной толерантности* является отсутствие реакции иммунной системы на свои собственные антигены. *Приобретенную толерантность* можно создать, вводя в организм вещества, подавляющие иммунитет (иммунодепрессанты), или же путем введения антигена в эмбриональном периоде или в первые дни после рождения индивидуума. Приобретенная толерантность может быть активной и пассивной. *Активная толерантность* создается путем введения в организм толерогена, который формирует специфическую толерантность. *Пассивную толерантность* можно вызвать веществами, тормозящими биосинтетическую или пролиферативную активность иммунокомпетентных клеток (антилимфоцитарная сыворотка, цитостатики и пр.).

Иммунологическая толерантность отличается специфичностью — она направлена к строго определенным антигенам. По степени распространенности различают поливалентную и расщепленную толерантность. *Поливалентная толерантность* возникает одновременно на все антигенные детерминанты, входящие в состав конкретного антигена. Для *расщепленной*, или *моновалентной*, *толерантности* характерна избирательная невосприимчивость каких-то отдельных антигенных детерминант.

Степень проявления иммунологической толерантности существенно зависит от ряда свойств макроорганизма и толерогена. Так, на проявление толерантности влияет возраст и состояние имму-

нореактивности организма. Иммунологическую толерантность легче индуцировать в эмбриональном периоде развития и в первые дни после рождения, лучше всего она проявляется у животных со сниженной иммунореактивностью и с определенным генотипом.

Из особенностей антигена, которые определяют успешность индукции иммунологической толерантности, нужно отметить степень его чужеродности для организма и природу, дозу препарата и продолжительность воздействия антигена на организм. Наибольшей толерантностью обладают наименее чужеродные по отношению к организму антигены, имеющие малую молекулярную массу и высокую гомогенность. Легче всего формируется толерантность на тимуснезависимые антигены, например, бактериальные полисахариды.

Важное значение в индукции иммунологической толерантности имеют доза антигена и продолжительность его воздействия. Различают высокодозовую и низкодозовую толерантность. *Высокодозовую толерантность* вызывают введением больших количеств высококонцентрированного антигена. При этом наблюдается прямая зависимость между дозой вещества и производимым им эффектом. *Низкодозовая толерантность*, наоборот, вызывается очень малым количеством высокоомогенного молекулярного антигена. Соотношение «доза-эффект» в этом случае имеет обратную зависимость.

В эксперименте толерантность возникает через несколько дней, а иногда часов после введения толерогена и, как правило, проявляется в течение всего времени, пока он циркулирует в организме. Эффект ослабевает или прекращается с удалением из организма толерогена. Обычно иммунологическая толерантность наблюдается непродолжительный срок — всего несколько дней. Для ее пролонгирования необходимы повторные инъекции препарата.

Механизмы толерантности многообразны и до конца не расшифрованы. Известно, что ее основу составляют нормальные процессы регуляции иммунной системы. Выделяют три наиболее вероятные причины развития иммунологической толерантности:

1. Элиминация из организма антигенспецифических клонов лимфоцитов.

2. Блокада биологической активности иммунокомпетентных клеток.

3. Быстрая нейтрализация антигена антителами.

Элиминации, или делеции подвергаются, как правило, клоны аутореактивных Т- и В-лимфоцитов на ранних стадиях их онтогенеза. Активация антигенспецифического рецептора (TCR или BCR) незрелого лимфоцита индуцирует в нем апоптоз. Этот феномен, обеспечивающий в организме ареактивность к аутоантигенам, получил название *центральной толерантности*.

Основная роль в блокаде биологической активности иммунокомпетентных клеток принадлежит иммуноцитокинам. Воздействуя на соответствующие рецепторы, они способны вызвать ряд «негативных» эффектов. Например, пролиферацию Т- и В-лимфоцитов активно тормозит β -ТФР. Дифференцировку Т0-хелпера в Т1 можно заблокировать при помощи ИЛ-4, -13, а в Т2-хелпер — γ -ИФН. Биологическая активность макрофагов ингибируется продуктами Т2-хелперов (ИЛ-4, -10, -13, β -ТФР и др.).

Биосинтез в В-лимфоците и его превращение в плазмочит подавляется IgG. Быстрая инактивация молекул антигена антителами предотвращает их связывание с рецепторами иммунокомпетентных клеток — элиминируется специфический активирующий фактор.

Возможен адаптивный перенос иммунологической толерантности интактному животному путем введения ему иммунокомпетентных клеток, взятых от донора. Толерантность можно также искусственно отменить. Для этого необходимо активировать иммунную систему адъювантами, интерлейкинами или переключить направленность ее реакции иммунизацией модифицированными антигенами. Другой путь — удалить из организма толероген, сделав инъекцию специфических антител или проведя иммуносорбцию.

Феномен иммунологической толерантности имеет большое практическое значение. Он используется для решения многих важных проблем медицины, таких как пересадка органов и тканей, подавление аутоиммунных реакций, лечение аллергий и других патологических состояний, связанных с агрессивным поведением иммунной системы.

Таблица 11.1. Основные характеристики иммуноглобулинов человека

| Характеристика | IgM | IgG | IgA | IgD | IgE |
|--|---------|----------|---------|----------|-------------|
| Молекулярная масса, кДа | 900 | 150 | 260 | 185 | 190 |
| Количество мономеров | 5 | 1 | 1–3 | 1 | 1 |
| Валентность | 10 | 2 | 2–6 | 2 | 2 |
| Уровень в сыворотке крови, г/л | 0,5–1,9 | 8,0–17,0 | 1,4–3,2 | 0,03–0,2 | 0,002–0,004 |
| Период полураспада, сут | 5 | 25 | 6 | 3 | 2 |
| Связывание комплемента | +++ | ++ | — | — | — |
| Цитотоксическая активность | +++ | ++ | — | — | — |
| Опсонизация | +++ | + | + | — | — |
| Преципитация | + | ++ | + | — | + |
| Агглютинация | +++ | + | + | — | + |
| Участие в анафилактических реакциях | + | + | + | — | +++ |
| Наличие рецепторов на лимфоцитах | + | + | + | + | + |
| Прохождение через плаценту | — | — | + | — | — |
| Наличие в секретах в секреторной форме | + / — | — | + | — | — |
| Поступление в секреты путем диффузии | + | + | + | + | + |

Таблица 11.2. Свойства ГНТ и ГЗТ [по Куку, 1947]

| Показатель | ГНТ | ГЗТ |
|--------------------------------------|--|---|
| Время развития реакции | Менее 20–30 мин | Более 6–8 ч |
| Фактор индукции | Антитела | T-лимфоциты |
| Фактор переноса в интактный организм | Пассивный (антителами) и адоптивный (иммунокомпетентными клетками) | Адоптивный (иммунокомпетентными клетками) |
| Десенсибилизация | Возможна | Невозможна |

Таблица 11.3. Классификация аллергических реакций по патогенезу [по Джеллу и Кумбсу, 1968]

| Тип реакции | Фактор патогенеза | Механизм патогенеза | Пример клинического проявления |
|---------------------------|-------------------|--|---|
| I, анафилактический (ГНТ) | IgE, IgG4 | Образование рецепторного комплекса IgE (G4)-FcR тучных клеток и базофилов→ Взаимодействие эпитопа аллергена с рецепторным комплексом→ Активация тучных клеток и базофилов→ Высвобождение медиаторов воспаления и других биологически активных веществ | Анафилаксия, анафилактический шок, поллинозы |
| II, цитотоксический (ГНТ) | IgM, IgG | Выработка цитотоксических антител→ Активация антителозависимого цитолиза | Лекарственная волчанка, аутоиммунная гемолитическая болезнь, аутоиммунная тромбоцитопения |

ГЛАВА 11. Основные формы иммунного реагирования

Окончание табл. 11.3

| Тип реакции | Фактор патогенеза | Механизм патогенеза | Пример клинического проявления |
|---|-------------------|---|--|
| III, иммунокомплексный (ГНТ) | IgM, IgG | Образование избытка иммунных комплексов → Отложение иммунных комплексов на базальных мембранах, эндотелии и в соединительнотканной строме → Активация антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности → Запуск иммунного воспаления | Сывороточная болезнь, системные заболевания соединительной ткани, феномен Артюса, «легкое фермера» |
| IV, клеточно-опосредованный (ГЗТ) | T-лимфоциты | Сенсибилизация T-лимфоцитов → Активация макрофага → Запуск иммунного воспаления | Кожно-аллергическая проба, контактная аллергия, белковая аллергия замедленного типа |

Примечание. Более подробное описание аллергических болезней см. в разд. 12.4.3.

ГЛАВА 12. ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЯХ И СОСТОЯНИЯХ

12.1. Особенности местного иммунитета

Как было отмечено ранее, в структуре системы иммунной защиты выделяют местный иммунитет, концепцию которого впервые высказал А. М. Безредка (1919). В отличие от общего, местный иммунитет формируется в пределах кожных покровов и слизистых, имеющих обширную область контакта с окружающей средой и являющихся наиболее вероятными входными воротами экзогенных антигенов. Основная задача местного иммунитета — обеспечение местной, локальной иммунной защиты в пределах ткани. Кроме того, факторы местного иммунитета могут действовать экстракорпорально (выходить за пределы макроорганизма) — на поверхности кожных покровов и в составе секрета слизистых.

Система местного иммунитета не имеет выраженного анатомо-морфологического обозначения. Между общим и местным иммунитетом существует тесная связь. Во-первых, система общего иммунитета является резервным источником факторов защиты. При нарушении микроциркуляции локальный воспалительный процесс быстро переходит в затяжную септическую форму. Во-вторых, при развитии инфекционного процесса отчетливо прослеживается взаимный переход местной и общей иммунной реакции одна в другую. В-третьих, между этими двумя системами постоянно осуществляется обмен факторами иммунитета (антитела, клоны антигенреактивных лимфоцитов и др.). Это важно для распространения по всему организму иммунологической памяти (см. гл. 11, разд. 11.5), но также зачастую приводит к генерализации инфекции. Тем не менее система местного иммунитета функционирует достаточно обозначенно и имеет ряд особенностей.

12.1.1. Иммунитет кожи

Кожа выполняет пограничную функцию. Как фактор механической защиты, она предохраняет макро-

организм от внешних воздействий и в случае повреждения способна самостоятельно его ликвидировать, восстановив свою целостность. Кожный покров имеет также физико-химическую защиту в виде потовых и сальных желез, продукты которых обладают бактерицидностью. Кроме того, кожа наделена эффективной системой местного иммунного реагирования.

Внешний слой кожи, *эпидермис*, формируется эпителиальными клетками — *кератиноцитами*. Эти клетки образуют несколько слоев. В толще кератиноцитов встречаются дендритные клетки двух типов: *клетки Лангерганса* и *клетки Гренштейна*. В тканях дермы и эпидермиса локализуются лимфоциты и тучные клетки. Лимфоидная популяция представлена в основном Т2-хелперами и Т-киллерами. В дерме и эпидермисе происходит дифференцировка незрелых Т-лимфоцитов в зрелые клетки.

Кератиноциты — немигрирующие эпителиальные клетки, выполняющие в коже важную иммунорегуляторную функцию. На своей поверхности они экспрессируют МНС II класса, ко-стимулирующие молекулы CD40, 80, 86 и Fas-лиганд. Клетки синтезируют широкий спектр цитокинов: ИЛ-1, -3, -6, -7, -8, -15, ФНО, β -ТФР, ГМ-КСФ, α -, β -ИФН, хемокины.

В покое, неактивированном состоянии кератиноциты обеспечивают только барьерную функцию, не связанную с индукцией иммунного ответа. Повреждающие кожу воздействия (травма, ожог, облучение, воспалительная реакция и пр.) или стимуляция со стороны иммунокомпетентных клеток активируют иммунорегуляторные свойства кератиноцитов. Они становятся способными презентировать антиген Т-хелперам, а благодаря синтезируемым цитокинам — активировать антительный иммунный ответ и супрессировать местную клеточную пролиферацию иммунных лимфоцитов.

Клетки Лангерганса — мигрирующие клеточные элементы, дендритные клетки миелоидной природы, или белые отростчатые эпидермоциты. Происходят из клеток костного мозга или циркулирующих моноцитов, трансформируясь в дерме под действием цитокинов. Продолжительность жизни около 20 суток. УФ-излучение губительно действует на них.

Экспрессируют на клеточной мембране МНС II класса, CD4, 40, синтезируют ИЛ-1, -12, α -, β -ИФН, ГМКФ, хемокины.

Клетки Лангерганса выполняют функции АПК. Между тем процесс запуска ими иммунного ответа двухэтапный — он разобщен в пространстве и времени. Клетки способны захватывать и процессировать антиген. Однако на этом этапе дифференцировки клетки Лангерганса не способны экспрессировать полный набор ко-стимулирующих факторов, у них отсутствуют молекулы CD80, 86.

Локальная воспалительная реакция или цитокиновые стимулы активируют клетки Лангерганса. Захватившая антиген клетка мигрирует с током лимфы в регионарные лимфоузлы, где она дифференцируется во зрелую дендритную клетку — интердигитальную клетку лимфоузлов. Дифференцировка сопровождается изменением мембранного фенотипа — клетка начинает экспрессировать недостающие молекулы CD80, 86, а также синтезировать цитокины. Интердигитальная клетка теряет способность захватывать и процессировать антиген, но при этом превращается в эффективную АПК. Она активирует Т-хелперы и запускает специфический иммунный ответ и формирование клеток иммунологической памяти.

Разобшение в пространстве и времени индукции в коже специфического иммунного ответа имеет важное значение. Презентация антигена в лимфатическом узле сопрягает систему местного и общего иммунитета. Централизованное размножение клеток иммунологической памяти и их расселение вдоль всех кожных покровов обеспечивают местный иммунитет кожи независимо от его инициации.

В случае инактивации клеток Лангерганса (например, УФ-облучением) функции АПК в коже начинают выполнять кератиноциты и клетки Гренштейна. Однако они потенцируют иммуносупрессию — угнетение кожной иммунореактивности.

Антитела в коже не имеют большого значения, в эпидермисе нет В-лимфоцитов. Между тем развитие кожной иммунореактивности может сопровождаться антителогенезом. В коже развивается преимущественно клеточный иммунный ответ. Напряженность местного иммунитета в коже, также как и интегральное состояние клеточного звена иммунитета в целом, диагностируется постановкой кожно-аллергических проб.

12.1.2. Иммунитет слизистых

Местный иммунитет слизистых обеспечивает иммунную защиту желудочно-кишечного и респираторного

тракта и мочеполовой системы. Слизистые отличаются развитой лимфоидной тканью и высокой насыщенностью иммунокомпетентными клетками.

Лимфоидный состав слизистых имеет характерные особенности, обусловленные его формированием. Различают раннюю (реликтовую) и позднюю (современную) компоненты. *Ранняя компонента* представлена $\gamma\delta$ - и В1-лимфоцитами, которые на ранних этапах эмбриогенеза отселяются в периферические лимфоидные образования прямо из костного мозга и в дальнейшем развиваются автономно от центральных органов иммунной системы. Антигенные рецепторы этих клеток отличаются относительно низкой аффинностью, но обладают достаточно широким спектром чувствительности. Это позволяет им обеспечить первую линию защиты от микробной агрессии и необходимую отсрочку для активации поздней компоненты.

Клетки *поздней компоненты* заселяют слизистые гораздо позже ранней и развиваются под полным контролем со стороны центральных органов иммунной системы. К их числу относятся традиционные $\alpha\beta$ Т- и CD5⁺ В-лимфоциты, обладающие высокой специфичностью и аффинностью рецепторного аппарата. Лимфоидные популяции поздней компоненты создают вторую линию иммунной защиты в слизистых, которая формирует высокоэффективный специфический иммунный ответ.

Наиболее ярким примером организации иммунной защиты слизистых является высокоразвитая лимфоидная система желудочно-кишечного тракта. В ней различают две функциональные зоны — индуктивную и эффекторную.

Индуктивная зона сформирована лимфоидными фолликулами (в том числе аппендикса, пейеровых бляшек), в которых идентифицируются области преимущественного расселения Т- и В-лимфоцитов. Например, в В-области располагается герминативный (зародышевый) центр, где размножаются и созревают В-лимфоциты. Индуктивная зона практически полностью состоит из равных количеств Т- и В-лимфоцитов. Т-популяция на $\frac{2}{3}$ представлена Т-киллерами и на $\frac{1}{3}$ — Т-хелперами. В-лимфоциты — это в основном IgA-продуценты. Кроме того, в зоне обнаруживаются макрофаги и дендритные клетки.

Презентацию антигена, в основном, осуществляют дендритные клетки — короткоживущие (до 3 сут) клеточные элементы миелоидного происхождения. Эту же функцию могут выполнять макрофаги и В-лимфоциты. Помощь в презентации антигена ока-

зывают М-клетки эпителия. Они захватывают молекулы антигена в просвете органа и путем трансцитоза переносят его к АПК.

В индуктивной зоне осуществляется:

- презентация и распознавание антигена,
- индукция иммунного реагирования,
- формирование клонов антигенспецифичных Т-и В-лимфоцитов,
- дифференцировка В-лимфоцитов в IgA-продуценты.

Эfferентная зона включает околоэпителиальную область, где располагаются интраэпителиальные лимфоциты, и область *lamina propria*. Популяция интраэпителиальных лимфоцитов на $\frac{3}{4}$ состоит из Т-киллеров, среди которых много $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов. Они обеспечивают функцию иммунологического надзора за быстроразмножающимся эпителием. Презентируют антиген энтероциты. В активированном состоянии они экспрессируют МНС II класса, синтезируют цитокины и хемокины (ИЛ-8). Однако энтероциты являются «неклассическими» АПК.

В *lamina propria* обнаруживается много Т- и В-лимфоцитов, а также макрофаги и естественные киллеры. На долю Т-лимфоцитов приходится до 60 % всей лимфоидной популяции. На $\frac{2}{3}$ это Т-хелперы, остальные клетки — Т-киллеры, в том числе $\gamma\delta$ Т-лимфоциты. Объем пула В-лимфоцитов достигает 40 %, половину из их числа составляют В1-клетки. Подавляющее большинство антителопродуцентов (80 %) синтезирует полимерные молекулы IgA.

В *lamina propria* развивается преимущественно антительный ответ. Идет интенсивный биосинтез иммуноглобулинов классов А, М, G, и Е. Они действуют как в пределах самих тканей, так и в составе секрета слизистых, куда проступают в результате направленного транспорта (slg) или диффузии. Однако наибольшую функциональную нагрузку несет slgA (см. гл. 11, разд. 11.1.3), хорошо защищенный от протеолитических ферментов секрета.

В собственной пластинке присутствует большое количество фагоцитов. Привлеченные хемоаттрактантами, они способны совершать маятникообразные миграции: выходить через эпителий за его пределы (в просвет кишки, бронха, ротовой полости и т. д.) и возвращаться обратно. Подсчитано, что в ротовой полости постоянно присутствует около 100 000 фагоцитов.

В пределах слизистых обнаруживается много тучных клеток и эозинофилов. Синтезируя вазоактивные амины (тучная клетка), токсины (эозинофил), ферменты, иммуоцитокнины, липидные медиато-

ры и другие биологически активные вещества, они участвуют в регуляции иммунной и воспалительной реакции в пределах ткани. В случае гиперпродукции IgE и особой генетической предрасположенности тучные клетки потенцируют развитие аллергической реакции I типа (анафилаксия).

Сами эпителиоциты также принимают участие в осуществлении местного иммунитета. Они представляют собой хороший механический барьер для патогенов. Секрет слизистых также выполняет функции физико-химического барьера (см. гл. 9, разд. 9.2.1), а нормальная микрофлора, населяющая слизистые, — биологического, обеспечивая колонизационную резистентность (см. разд. 9.2.3).

12.1.2.1. Особенности иммунитета ротовой полости

Организация иммунной защиты ротовой полости принципиально не отличается от описанной выше системы местного иммунитета слизистых. Она удачно сочетает как факторы неспецифической резистентности, так и специфические иммунные факторы, обеспечивающие эффективную защиту полости рта от кариезогенных и иных болезнетворных микробов.

Неспецифические факторы резистентности ротовой полости представлены в основном барьерными свойствами клеток слизистой оболочки и антимикробной функцией слюны. Последняя занимает особое положение в структуре защиты макроорганизма от микробной интервенции.

В течение суток слюнные железы макроорганизма взрослого человека выделяют до 2,0 л секрета с выраженной энзиматической активностью. Слюна представляет собой не только мощный физико-химический барьер, трудно преодолимый патогенами. Она также содержит широкий набор факторов, обладающих выраженными бактерицидными свойствами. В первую очередь, это лизоцим и лактоферрин, а также лактопероксидаза и отдельные компоненты комплемента. Кроме того, в слюне здоровых людей постоянно присутствуют клеточные элементы, обеспечивающие биологический барьер: полиморфноядерные лейкоциты и моноциты. Одновременно в слюне ротовой полости содержится до 100 000 фагоцитирующих клеток.

В соединительнотканной строме ротовой полости также обнаруживаются клеточные элементы системы неспецифической резистентности: активно мигрирующие тканевые макрофаги, фибробласты, гранулоциты и тучные клетки.

Ротовая полость обеспечена эффективной системой специфической иммунной защиты. Анатомически она представлена мощными миндалинами глоточно-го кольца, хорошо развитой системой лимфоидного дренирования в подчелюстных, подъязычных, око-лоушных и шейных лимфоузлах. В тканях обнаруживаются лимфоидные скопления, а в слюне — лимфоциты и широкий спектр иммуноглобулинов изотипов А, М, G, и Е.

В слюне, как и в других секретах, доминирует IgA. Здесь его содержится заметно больше, чем в сыворотке крови. Наибольшую функциональную нагрузку несет секреторная форма IgA (sIgA). Содержание IgM, IgG и IgE в слюне несколько меньше, чем в сыворотке крови. Однако иммуноглобулины этих изотипов также участвуют в иммунной защите ротовой полости. Снижение содержания в слюне иммуноглобулинов, особенно IgA, чревато гнойно-воспалительными или аллергическими заболеваниями слизистой этого анатомического образования.

12.2. Особенности иммунитета при различных состояниях

Реакция макроорганизма на антигены достаточно однотипна, так как она ограничена набором факторов иммунной защиты и физиологическими возможностями самого макроорганизма. Однако в зависимости от природы антигена иммунная система не обязательно должна включать для его устранения весь имеющийся арсенал — в отношении конкретного антигена достаточно использовать лишь наиболее эффективные механизмы и факторы защиты. Поэтому при воздействии различных по природе и свойствам антигенов иммунное реагирование макроорганизма имеет свои особенности.

12.2.1. Особенности иммунитета при бактериальных инфекциях

Иммунная реакция макроорганизма в ответ на бактериальную инфекцию в значительной степени определяется факторами патогенности микроба и, в первую очередь, его способностью к токсинообразованию. Различают *антибактериальный* (против структурно-функциональных компонентов бактериальной клетки) и *антитоксический* (против белковых токсинов) иммунитет.

Основными факторами антибактериальной защиты в подавляющем большинстве случаев являются антитела и фагоциты. Антитела эффективно инактивируют биологически активные молекулы бактериальной клетки (токсины, ферменты агрессии и др.), маркируют их, запускают механизм антителозависимого бактериолиза и участвуют в иммунном фагоцитозе. Фагоциты осуществляют фагоцитоз, в том числе иммунный, внеклеточный киллинг патогена при помощи ион-радикалов и антителозависимый бактериолиз.

Ряд бактерий, относящихся к факультативным внутриклеточным паразитам, отличается повышенной устойчивостью к действию комплемента, лизоцима и фагоцитов (незавершенный фагоцитоз). К их числу относятся микобактерии, бруцеллы, сальмонеллы и некоторые другие. В отношении этих микробов антитела и фагоциты недостаточно эффективны, а сам инфекционный процесс имеет склонность к хроническому течению. В такой ситуации макроорганизм вынужден переключать нагрузку на клеточное звено иммунитета, что ведет к аллергизации организма по типу ГЗТ. Особое значение приобретают активированный макрофаг и естественный киллер, осуществляющие антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, а также γ Т-лимфоцит.

Кроме перечисленных, на внедрившиеся бактерии воздействует весь арсенал факторов неспецифической резистентности. Среди них важная роль в борьбе с грамположительными микробами принадлежит лизоциму и белкам острой фазы (С-реактивному и маннозосвязывающему протеинам).

Напряженность специфического антибактериального иммунитета оценивают в серологических тестах по титру или динамике титра специфических антител, а также состоянию клеточной иммунореактивности (например, по результатам кожно-аллергической пробы).

12.2.2. Особенности противовирусного иммунитета

Иммунная защита макроорганизма при вирусных инфекциях имеет особенности, обусловленные двумя формами существования вируса: внеклеточной и внутриклеточной.

Основными факторами, обеспечивающими противовирусный иммунитет, являются специфические антитела, Т-киллеры, естественные киллеры, интерферон и сывороточные ингибиторы вирусных частиц.

Специфические противовирусные антитела способны взаимодействовать только с внеклеточным вирусом, внутриклеточные структуры прижизненно для них недоступны. Антитела нейтрализуют вирусную частицу, препятствуя ее адсорбции на клетке-мишени, инфицированию и генерализации процесса, а также связывают вирусные белки и нуклеиновые кислоты, которые попадают в межклеточную среду и секреты после разрушения зараженных вирусами клеток. Образовавшиеся иммунные комплексы элиминируются путем иммунного фагоцитоза. Специфическое связывание антител с вирусными белками, экспрессированными на ЦПМ инфицированных клеток, индуцирует цитотоксическую активность естественных киллеров (см. гл. 11, разд. 11.3.1).

Клетки, инфицированные вирусом и приступившие к его репликации, экспрессируют вирусные белки на цитоплазматической мембране в составе молекул антигенов гистосовместимости — МНС I класса (см. гл. 10, разд. 10.1.4.2). Это является сигналом для активации Т-киллеров, которые распознают зараженные вирусом клетки и уничтожают их (см. гл. 11, разд. 11.3.2).

Мощным противовирусным действием обладает интерферон (см. гл. 9, разд. 9.2.3.5). Он не действует непосредственно на внутриклеточный вирус, а связывается с рецептором на мембране клетки и индуцирует ферментные системы, подавляющие в ней все биосинтетические процессы.

Сывороточные ингибиторы неспецифически связываются с вирусной частицей и нейтрализуют ее, препятствуя тем самым адсорбции вируса на клетках-мишенях.

Напряженность противовирусного иммунитета оценивают преимущественно в серологических тестах — по нарастанию титра специфических антител в парных сыворотках в процессе болезни. Иногда определяют концентрацию интерферона в сыворотке крови.

12.2.3. Особенности противогрибкового иммунитета

Антигены грибов имеют относительно низкую иммуногенность: они практически не индуцируют антителообразование (титры специфических антител остаются низкими), но стимулируют клеточное звено иммунитета. Между тем, основными действующими факторами *противогрибкового иммунитета* являются активированные макрофаги, которые осуществляют антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность грибов.

При микозах наблюдается алергизация макроорганизма. Кожные и глубокие микозы сопровождаются, как правило, ГЗТ. Грибковые поражения слизистых дыхательных и мочеполовых путей вызывают алергизацию по типу ГНТ (реакция I типа). Напряженность противогрибкового иммунитета оценивается по результатам кожно-аллергических проб с грибковыми алергенами.

12.2.4. Особенности иммунитета при протозойных инвазиях

Противопаразитарный иммунитет изучен слабо. Известно, что паразитарная инвазия сопровождается формированием в макроорганизме гуморального и клеточного иммунитета. В крови определяются специфические антитела классов М и G, которые чаще всего не обладают протективным действием. Однако они активируют антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность с участием макрофагов, а в случае внутриклеточного паразитирования — естественных киллеров и γ Т-лимфоцитов. Паразитарные инвазии сопровождаются алергизацией макроорганизма — отмечается усиление ГЗТ на протозойные антигены.

Характер противопаразитарного иммунитета определяется структурно-функциональными особенностями паразита и его жизненного цикла при инвазии макроорганизма. Многие паразиты обладают высокой антигенной изменчивостью, что позволяет им избегать действия факторов иммунитета. Например, каждой стадии развития малярийного плазмодия соответствуют свои специфические антигены.

Напряженность противопаразитарного иммунитета оценивается в серологических тестах по титру специфических антител и в кожно-аллергических пробах с протозойным антигеном.

12.2.5. Особенности противоглистного иммунитета

Ведущую роль в осуществлении иммунной защиты макроорганизма от глистной инвазии играют эозинофилы, которые осуществляют антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность. Эти клетки «распознают» паразитов, «отмеченных» специфически IgE или IgA. Активированный эозинофил, дегранулируясь, выделяет ряд токсических субстанций (ферменты, белковые токсины), губительно действующих на гельминты.

Антигены гельминта, связываясь также с рецепторными комплексами тучных клеток слизистой оболочки, вызывают их дегрануляцию. Экскретированные биологически активные соединения вызывают интенсивную перистальтику, удаляющую паразита или его останки из просвета кишки.

Эозинофилы и тучные клетки синтезируют цитокины и липидные медиаторы, потенцирующие воспалительную реакцию в месте внедрения гельминта. Глистная инвазия сопровождается аллергизацией, в основном, по типу ГЗТ.

12.2.6. Трансплантационный иммунитет

Трансплантационным иммунитетом называют иммунную реакцию макроорганизма, направленную против пересаженной в него чужеродной ткани (трансплантата). Знание механизмов трансплантационного иммунитета необходимо для решения одной из важнейших проблем современной медицины — пересадки органов и тканей. Многолетний опыт показал, что успех операции по пересадке чужеродных органов и тканей в подавляющем большинстве случаев зависит от иммунологической совместимости тканей донора и реципиента.

Иммунная реакция на чужеродные клетки и ткани обусловлена тем, что в их составе содержатся генетически чужеродные для организма антигены. Эти антигены, получившие

название трансплантационных или антигенов гистосовместимости (см. гл. 10, разд. 10.1.4.2), наиболее полно представлены на ЦПМ клеток.

Реакция отторжения не возникает в случае полной совместимости донора и реципиента по антигенам гистосовместимости — такое возможно лишь для однойцовых близнецов. Выраженность реакции отторжения во многом зависит от степени чужеродности, объема трансплантируемого материала и состояния иммунореактивности реципиента.

При контакте с чужеродными трансплантационными антигенами организм реагирует факторами клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Основным фактором клеточного трансплантационного иммунитета являются Т-киллеры. Эти клетки после сенсibilизации антигенами донора мигрируют в ткани трансплантата и оказывают на них антителонезависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность.

Специфические антитела, которые образуются на чужеродные антигены (гемагглютинины, гемолизины, лейкотоксины, цитотоксины), имеют важное значение в формировании трансплантационного иммунитета. Они запускают антитело-опосредованный цитолиз трансплантата (комплемент-опосредованный и антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность).

Возможен адаптивный перенос трансплантационного иммунитета с помощью активированных лимфоцитов или со специфической антисывороткой от сенсibilизированной особи интактному макроорганизму.

Механизм иммунного отторжения пересаженных клеток и тканей имеет две фазы. В первой фазе вокруг трансплантата и сосудов наблюдается скопление иммунокомпетентных клеток (лимфоидная инфильтрация), в том числе Т-киллеров. Во второй фазе происходит деструкция клеток трансплантата Т-киллерами, активируются макрофагальное звено, естественные киллеры, специфический антителогенез. Возникает иммунное воспаление, тромбоз кровеносных сосудов, нарушается питание трансплантата и происходит его гибель. Разрушенные ткани утилизируются фагоцитами.

В процессе реакции отторжения формируется клон Т- и В-клеток иммунной памяти. Повторная попытка пересадки тех же органов и тканей вызывает вторичный иммунный ответ, который протекает очень бурно и быстро заканчивается отторжением трансплантата.

С клинической точки зрения выделяют острое, сверхострое и отсроченное отторжение трансплантата. Различаются они по времени реализации реакции и отдельным механизмам.

Острое отторжение — это «нормальная» реакция иммунной системы по механизму первичного ответа, которая развивается в течение первых недель или месяцев после трансплантации в отсутствие иммуносупрессивной терапии. В ее основе лежит комплекс всевозможных цитолитических реакций, как с участием антител, так и независимых от них.

Отсроченное отторжение имеет тот же механизм, что и острое. Возникает через несколько лет после операции у пациентов, получавших иммуносупрессивную терапию.

Сверхострое отторжение, или *криз отторжения*, развивается в течение первых суток после трансплантации у пациентов, сенситизированных к антигенам донора, по механизму вторичного иммунного ответа. Основу составляет антительная реакция: специфические антитела связываются с антигенами эндотелия сосудов трансплантата и поражают клетки, активируя систему комплемента по классическому пути. Параллельно инициируется иммунное воспаление и свертывающая система крови. Быстрый тромбоз сосудов трансплантата вызывает его острую ишемию и ускоряет некротизацию пересаженных тканей.

Следовательно, при пересадке органов и тканей во избежание иммунологического отторжения трансплантата необходимо проводить тщательный подбор донора и реципиента по антигенам гистосовместимости.

12.2.7. Иммуитет против новообразований

В сложноорганизованном организме, наряду с нормальными физиологическими процессами, направленными на поддержание гомеостаза, с определенной частотой происходят и дезинтегрирующие события, обусловленные ошибками и старением сложноорганизованной биологической системы. В част-

ности, появляются мутантные и опухолевые клетки.

Мутантные клетки возникают в результате нелетального действия химических, физических и биологических канцерогенов. К последним относятся разнообразные инфекционные агенты — облигатные внутриклеточные паразиты, и, в первую очередь, вирусы. Мутантные клетки отличаются от нормальных метаболическими процессами и антигенным составом, в частности, имеют измененные антигены гистосовместимости. Поэтому они активируют гуморальное и клеточное звенья иммунитета, осуществляющие надзорную функцию. Важную роль в этом процессе играют специфические антитела (запускают комплемент-опосредованную реакцию и антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность) и Т-киллеры, осуществляющие антителонезависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность.

Противоопухолевый иммунитет имеет свои особенности, связанные с низкой иммуногенностью раковых клеток. Эти клетки практически не отличаются от нормальных, интактных морфологических элементов собственного организма. Специфический антигенный «репертуар» опухолевых клеток также скуден. В число опухоляссоциированных антигенов (см. гл. 10, разд. 10.1.4.3) входит группа раково-эмбриональных антигенов, продукты онкогенов, некоторые вирусные антигены и гиперэкспрессируемые нормальные белки. Слабому иммунологическому распознаванию опухолевых клеток способствует отсутствие воспалительной реакции в месте онкогенеза, а также их иммуносупрессивная активность — биосинтез ряда «негативных» цитокинов (β -ТФР и др.), а также экранирование раковых клеток противоопухолевыми антителами.

Механизм противоопухолевого иммунитета до сих пор слабо изучен. Считается, что основную роль в нем играют активированные макрофаги; определенное значение имеют также естественные киллеры. Защитная функция гуморального иммунитета во многом спорная — специфические антитела могут экранировать антигены опухолевых клеток, не вызывая их цитолиза.

Вместе с тем, в последнее время получила распространение иммунодиагностика рака,

которая основана на определении в сыворотке крови раковоэмбриональных и опухоль-ассоциированных антигенов. Таким путем в настоящее время удается диагностировать некоторые формы рака печени, желудка, кишечника и др.

Между состоянием иммунной защиты и развитием новообразований существует тесная связь. Об этом свидетельствует повышенная заболеваемость злокачественными новообразованиями индивидуумов с иммунодефицитами и престарелых в связи с понижением активности иммунной системы. Иммуносупрессивная химиотерапия также нередко сопровождается пролиферативными процессами. Поэтому в лечении опухолей нашли применение иммуномодуляторы (интерлейкины, интерфероны), а также адъюванты (мурамилдипептиды, вакцина БЦЖ и др.).

12.2.8. Иммунология беременности

Беременность напрямую сопряжена с феноменом иммунологической толерантности. В организме беременной формируется целый комплекс факторов, обеспечивающих ареактивность иммунной системы матери к гетероантигенам плода. Во-первых, синцитиотрофобласт плаценты «невидим» для рецепторов иммунокомпетентных клеток. Он не экспрессирует классические молекулы гистосовместимости, а только неполиморфные, трудно распознаваемые. Во-вторых, синцитиотрофобласт синтезирует иммуносупрессорные цитокины (ИЛ-4, -10, β -ТФР). В-третьих, в децидуальной оболочке беременной матки располагаются CD16 CD56^{много} естественные киллеры (см. гл. 11, разд. 11.3.2), которые устраняют активированные аллоантигенами плода лимфоциты путем индукции у них апоптоза.

Механизмы иммунологической толерантности во время беременности чрезвычайно активны. Известно, например, что самки животных в этот период не отторгают трансплантат отца ее эмбриона. Однако после родоразрешения (или абортирования плода) толерантность быстро угасает, а надзорная функция иммунной системы быстро восстанавливается, и трансплантат отторгается.

12.3. Иммунный статус и его оценка

Иммунный статус — это структурное и функциональное состояние иммунной системы индивидуума, определяемое комплексом клинических и лабораторных иммунологических показателей.

Таким образом, иммунный статус (син. иммунный профиль, иммунореактивность) характеризует анатомо-функциональное состояние иммунной системы, т. е. ее способность к иммунному ответу на определенный антиген в данный момент времени.

Наличие у человека иммунной системы автоматически подразумевает его способность к иммунному ответу, но сила и форма иммунного ответа на один и тот же антиген у разных людей могут варьировать в широких пределах. Поступление антигена в организм у одного человека вызывает преимущественно антителообразование, у другого — развитие гиперчувствительности, у третьего — в основном формирование иммунологической толерантности, и т. д. Иммунный ответ на один и тот же антиген у разных лиц может варьировать не только по форме, но и по силе, т. е. по степени выраженности, например, по уровню антител, устойчивости к инфекции и др.

По иммунореактивности различаются не только отдельные индивидуумы, но у одного и того же человека иммунореактивность может колебаться в различные периоды его жизни. Так, иммунный статус взрослого и ребенка, особенно новорожденного или первого года жизни, когда иммунная система еще функционально незрелая, существенно различается. У детей легче индуцировать иммунологическую толерантность, у них ниже титры сывороточных антител при иммунизации. Иммунный статус молодого и пожилого человека также различен. Это частично связано с состоянием тимуса, который рассматривается как «биологические часы» иммунной системы. Возрастная инволюция тимуса ведет к медленному угасанию Т-клеточных реакций по мере старения, снижению способности к распознаванию «своего» и «чужого», поэтому в старости, в частности, выше частота злокачественных новообразований. С возрастом

нарастает также частота обнаружения аутоантител, в связи с чем старение иногда рассматривается как хронически текущая аутоагрессия.

Иммунный статус подвержен не только возрастным, но и суточным колебаниям в зависимости от биоритма. Эти колебания обусловлены изменениями гормонального фона и другими причинами. Таким образом, при оценке иммунного статуса следует учитывать значительную индивидуальную вариабельность иммунологических показателей даже в норме.

Иммунная система филогенетически относится к числу молодых (наряду с нервной и эндокринной) и очень лабильных к различным внешним воздействиям. Практически любое, даже самое незначительное, внешнее воздействие на организм человека ведет к изменению состояния его иммунной системы. На иммунный статус оказывают влияние следующие факторы:

- климато-географические;
- социальные;
- экологические (физические, химические и биологические);
- «медицинские» (влияние лекарственных веществ, оперативные вмешательства, стресс и т. д.).

Среди климато-географических факторов на иммунный статус оказывают влияние температура, влажность, солнечная радиация, длина светового дня и др. Например, фагоцитарная реакция и кожные аллергические пробы менее выражены у жителей северных регионов, чем у южан. Вирус Эпштейна—Барр у людей белой расы вызывает инфекционное заболевание — мононуклеоз, у лиц негроидной расы — онкопатологию (лимфома Беркитта), а у лиц желтой расы — совсем другую онкопатологию (назофарингеальная карцинома), причем только у мужчин. Жители Африки менее подвержены заболеванию дифтерией, чем европейское население.

К социальным факторам, оказывающим влияние на иммунный статус, относятся питание, жилищно-бытовые условия, профессиональные вредности и т. п. Важное значение имеет сбалансированное и рациональное питание, поскольку с пищей в организм поступают вещества, необходимые для синтеза

иммуноглобулинов, для построения иммунокомпетентных клеток и их функционирования. Особенно важно, чтобы в рационе присутствовали незаменимые аминокислоты и витамины, особенно А и С.

Значительное влияние на иммунный статус организма оказывают жилищно-бытовые условия. Проживание в плохих жилищных условиях ведет к снижению общей физиологической реактивности, соответственно иммунореактивности, что нередко сопровождается повышением уровня инфекционной заболеваемости.

Большое влияние на иммунный статус оказывают профессиональные вредности, поскольку человек проводит на работе значительную часть своей жизни. К производственным факторам, которые могут оказывать неблагоприятное воздействие на организм и снижать иммунореактивность, относят ионизирующую радиацию, химические вещества, микробы и продукты их жизнедеятельности, температуру, шум, вибрацию и т. д. Источники радиации получили в настоящее время очень широкое распространение в различных отраслях промышленности (энергетика, горнохимическая, аэрокосмическая и др.).

Неблагоприятное влияние на иммунный статус оказывают соли тяжелых металлов, ароматические, алкилирующие соединения и другие химические вещества, в том числе моющие средства, дезинфектанты, пестициды, ядохимикаты, широко применяемые в практике. Таким профессиональным вредностям подвержены работники химических, нефтехимических, металлургических производств и др.

Неблагоприятное влияние на иммунный статус организма оказывают микробы и продукты их жизнедеятельности (чаще всего белки и их комплексы) у работников биотехнологических производств, связанных с производством антибиотиков, вакцин, ферментов, гормонов, кормового белка и др.

Такие факторы, как низкая или высокая температура, шум, вибрация, недостаточная освещенность, могут снижать иммунореактивность, оказывая опосредованное действие на иммунную систему через нервную и эндокринную системы, которые находятся в тесной взаимосвязи с иммунной системой.

Глобальное действие на иммунный статус человека оказывают экологические факторы, в первую очередь, загрязнение окружающей среды радиоактивными веществами (отработанным топливом из ядерных реакторов, утечка радионуклидов из реакторов при авариях), широкое применение пестицидов в сельском хозяйстве, выбросами химических предприятий и автотранспорта, биотехнологических производств.

На иммунный статус оказывают влияние различные диагностические и лечебные медицинские манипуляции, лекарственная терапия, стресс. Необоснованное и частое применение рентгенографии, радиоизотопного сканирования может влиять на иммунную систему. Иммунореактивность изменяется после травм и хирургических операций. Многие лекарственные препараты, в том числе антибиотики, способны оказывать побочное иммунодепрессивное действие, особенно при длительном приеме. Стресс приводит к нарушениям в работе Т-системы иммунитета, действуя, в первую очередь, через ЦНС.

Несмотря на вариабельность иммунологических показателей в норме, иммунный статус можно определить путем постановки комплекса лабораторных тестов, включающих оценку состояния факторов неспецифической резистентности, гуморального (В-система) и клеточного (Т-система) иммунитета.

Оценка иммунного статуса проводится в клинике при трансплантации органов и тканей, аутоиммунных заболеваниях, аллергиях, для выявления иммунологической недостаточности при различных инфекционных и соматических заболеваниях, для контроля эффективности лечения болезней, связанных с нарушениями иммунной системы. В зависимости от возможностей лаборатории оценка иммунного статуса чаще всего базируется на определении комплекса следующих показателей:

- 1) общего клинического обследования;
- 2) состояния факторов естественной резистентности;
- 3) гуморального иммунитета;
- 4) клеточного иммунитета;
- 5) дополнительных тестов.

При общем клиническом обследовании учитывают жалобы пациента, анамнез, клинические

симптомы, результаты общего анализа крови (включая абсолютное число лимфоцитов), данные биохимического исследования.

Знакомство врача с пациентом начинается, как правило, с ознакомления с его паспортными данными (возраст) и предъявляемыми жалобами. Уже на этом этапе врач может узнать о профессии и стаже работы пациента (наличие профессиональных вредностей). Из высказываемых жалоб следует обратить внимание на рецидивирующую оппортунистическую инфекцию, аллергию.

При сборе анамнеза важно выяснить, какие заболевания перенес пациент в детстве, особенно вирусные и паразитарные, часто оставляющие после себя иммунодефициты. Учитывают наличие наследственных заболеваний, аллергий, злокачественных новообразований. Полезно также расспросить пациента о перенесенных травмах и операциях, о наличии хронических соматических заболеваний и тех лекарственных препаратах, которые он принимает.

При осмотре больного обращают внимание на чистоту кожных покровов и слизистых, на которых можно обнаружить проявления оппортунистических инфекций, аллергии.

При пальпации и перкуссии уделяют внимание состоянию центральных (тимус) и периферических (лимфатические узлы, селезенка) органов иммунной системы, их размерам, спаянности с окружающими тканями, болезненности при пальпации.

В процессе перкуссии и аускультации фиксируют симптомы, характерные для оппортунистических инфекций при поражении внутренних органов.

Заканчивается клинический раздел обследования общим анализом крови, который дает представление о состоянии иммунокомпетентных клеток (абсолютное число лимфоцитов, фагоцитов).

При оценке состояния факторов естественной резистентности определяют фагоцитоз, комплемент, интерфероновый статус, колонизационную резистентность.

Функциональную активность фагоцитов определяют по их подвижности, адгезии, поглощению, дегрануляции клеток, внутриклеточному киллингу и расщеплению захваченных частиц, образованию активных форм кислорода. С этой целью используют такие тесты, как определение фагоцитарного индекса, НСТ-тест (нитросиний тетразолий), хемилюминисценцию и др. Состояние системы комплемента определяют в реакции гемолиза (результат учитывают по 50%-му гемолизу). Интерфероновый статус выявляют путем

титрования на культуре клеток уровня интерферона в сыворотке крови. Колонизационную резистентность определяют по степени дисбиоза различных биотопов организма (чаще всего толстой кишки).

Гуморальный иммунитет определяют по уровню иммуноглобулинов классов G, M, A, D, E в сыворотке крови, количеству специфических антител, катаболизму иммуноглобулинов, гиперчувствительности немедленного типа, показателю В-лимфоцитов в периферической крови, бласттрансформации В-лимфоцитов под действием В-клеточных митогенов и другим тестам.

Для определения концентрации иммуноглобулинов разных классов в сыворотке крови обычно используют радиальную иммунодиффузию по Манчини. Титр специфических антител (изогемагглютинины групп крови, антитела, образующиеся после вакцинации, естественные антитела) в сыворотке определяют в различных иммунологических реакциях (агглютинация, РПГА, ИФА и другие тесты). Для определения катаболизма иммуноглобулинов используют радиоизотопные метки. Число В-лимфоцитов в периферической крови устанавливают путем определения специфических рецепторов на клетках с помощью моноклональных антител (кластерный анализ) или в реакции розеткообразования (ЕАС-РОК эритроциты в присутствии антител и комплемента образуют розетки с В-лимфоцитами). Функциональное состояние В-лимфоцитов определяют в реакции бласттрансформации путем стимуляции клеток митогенами, такими как туберкулин, лаконас и др. При оптимальных условиях культивирования В-лимфоцитов с митогенами показатель трансформации в бласты может достигать 80 %. Подсчет бластов проводят под микроскопом, с использованием специальных гистохимических методов окраски или же с помощью радиоактивной метки — по включению в ДНК клетки тимидина, меченного тритием.

Состояние клеточного иммунитета оценивают по количеству Т-лимфоцитов, а также субпопуляций Т-лимфоцитов в периферической крови, бласттрансформации Т-лимфоцитов под действием Т-клеточных митогенов, определению гормонов тимуса, уровню секретируемых цитокинов, а также постановкой кожных проб с аллергенами, контактной сенсибилизацией динитрохлорбензолом. Для постановки кожных аллергических проб используются антигены, к которым в норме должна быть сенсибилизация, например проба Манту с туберкулином. Способность орга-

низма к индукции первичного иммунного ответа может дать контактная сенсибилизация динитрохлорбензолом.

Для определения числа Т-лимфоцитов в периферической крови используют реакцию розеткообразования Е-РОК, поскольку эритроциты барана образуют с Т-лимфоцитами спонтанные розетки, а для определения числа субпопуляций Т-лимфоцитов — реакцию розеткообразования ЕА-РОК. Реакции розеткообразования используют в связи с тем, что на мембране Т-хелпера имеется рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулина М, а на мембране Т-супрессора — рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулина G, поэтому Т-хелперы образуют розетки с эритроцитами, связанными с антиэритроцитарными антителами класса IgM, а супрессоры образуют розетки с эритроцитами, связанными с антиэритроцитарными антителами класса IgG. Однако реакции розеткообразования для дифференциации Т-лимфоцитов уступили место более точному и современному методу определения популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов — кластерному анализу, основанному на использовании моноклональных антител к рецепторам лимфоцитов. После определения числа субпопуляций Т-лимфоцитов рассчитывают соотношение хелперов и супрессоров, т. е. T4/T8 лимфоцитов, которое в норме составляет примерно 2.

Бласттрансформацию Т-лимфоцитов, т. е. их функциональную активность, определяют путем стимуляции Т-клеточными митогенами, такими как канавалин А или фитогемагглютинин. Под влиянием митогенов зрелые лимфоциты трансформируются в лимфобласты, которые можно подсчитать под микроскопом или обнаружить по радиоактивной метке.

Для оценки состояния функции тимуса чаще всего применяют определение уровней α1-тимозина и тимулина, являющихся отражением функции эпителиальных клеток стромы тимуса.

Для определения уровня секретируемых иммуокинов (интерлейкины, миелопептиды и др.) используют иммуоферментные методы, основанные на применении моноклональных антител к двум различным эпитопам цитокина. С этой целью можно также применять реакцию торможения миграции лейкоцитов.

В качестве *дополнительных тестов* для оценки иммунного статуса можно использовать такие тесты, как определение бактерицидности сыворотки крови, титрование С3-, С4-компонентов комплемента, определение содержания С-реактивного белка в сыворотке крови, определение ревматоидных факторов и других аутоантител.

Таким образом, оценка иммунного статуса проводится на основании постановки большого числа лабораторных тестов, позволяющих оценить состояние как гуморального и клеточного звеньев иммунной системы, так и факторов неспецифической резистентности. Очевидно, что некоторые из применяемых тестов сложны в исполнении, требуют дорогостоящих иммунохимических реагентов, современного лабораторного оборудования, а также высокой квалификации персонала, в связи с чем они выполнимы ограниченным числом лабораторий. Поэтому по рекомендации Р. В. Петрова все тесты разделены на две группы: тесты 1-го и 2-го уровня. Тесты 1-го уровня могут быть выполнены в любой клинической иммунологической лаборатории первичного звена здравоохранения, они используются для первичного выявления лиц с явно выраженной иммунопатологией. Для более точной диагностики используются тесты 2-го уровня. Перечень тестов 1-го и 2-го уровня представлен в табл. 12.1.

12.4. Патология иммунной системы

Известны два вида расстройств иммунной системы: а) *иммунная недостаточность* или *иммунодефициты*, когда имеется дефект, т. е.

отклонение, в показателях одного или нескольких механизмов иммунного ответа; б) излишняя активация иммунных механизмов, ведущая к развитию *аллергических* или *аутоиммунных болезней*. Несколько обособленно стоят иммунопролиферативные заболевания.

12.4.1. Иммунодефициты

Иммунодефициты — это нарушения нормального иммунного статуса, обусловленные дефектом одного или нескольких механизмов иммунного ответа.

Различают первичные, или врожденные (генетические), и вторичные, или приобретенные, иммунодефициты.

Клиническая картина различных иммунодефицитов сходна. Иммунодефицитные состояния сами по себе не имеют характерных клинических симптомов, но обычно сопровождаются следующими проявлениями: инфекционными осложнениями; гематологическими нарушениями; желудочно-кишечными расстройствами; аутоиммунными процессами; опухолями; аллергическими реакциями; врожденными пороками развития.

Таблица 12.1. Тесты для оценки иммунного статуса

| Тесты 1-го уровня | Тесты 2-го уровня |
|---|--|
| 1. Определение количества, морфологии Т- и В-лимфоцитов в периферической крови (абс. и %) | 1. Гистохимический анализ лимфоидных органов |
| 2. Кластерный анализ или ЕАС-розеткообразование | 2. Анализ поверхностных маркеров мононуклеарных клеток с использованием моноклональных антител |
| 3. Определение сывороточных иммуноглобулинов классов М, G, A, D, E | 3. Бласттрансформация В- и Т-лимфоцитов |
| 4. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов | 4. Определение цитотоксичности |
| 5. Кожные аллергические тесты | 5. Определение активности ферментов, ассоциированных с иммунной недостаточностью |
| 6. Рентгенография и рентгеноскопия лимфоидных органов, а также других внутренних органов (прежде всего легких) в зависимости от клинических показаний | 6. Определение синтеза и секреции цитокинов |
| | 7. Определение гормонов тимуса |
| | 8. Анализ респираторного взрыва фагоцитов |
| | 9. Определение компонентов комплемента |
| | 10. Анализ смешанных клеточных культур |

Исходя из сказанного, диагностику иммунодефицитов проводят по анамнезу (частые инфекционные заболевания, опухоли, аутоиммунные процессы, аллергия и др.), по клиническим симптомам (оппортунистическая инфекция, аллергия, опухоли, состояние лимфоузлов, пороки развития и др.), а также по тестам *in vitro* и *in vivo*, морфологическим исследованиям (гистологические исследования центральных и периферических органов иммунной системы), о которых сказано выше.

12.4.1.1. Первичные, или врожденные, иммунодефициты

В качестве первичных иммунодефицитов выделяют такие состояния, при которых нарушение иммунных гуморальных и клеточных механизмов связано с генетическим блоком, т. е. генетически обусловлено неспособностью организма реализовывать то или иное звено иммунологической реактивности. Расстройства иммунной системы могут затрагивать как основные специфические звенья в функционировании иммунной системы, так и факторы, определяющие неспецифическую резистентность. Возможны комбинированные и селективные варианты иммунных расстройств. В зависимости от уровня и характера нарушений различают гуморальные, клеточные и комбинированные иммунодефициты.

Врожденные иммунодефицитные синдромы и заболевания представляют собой довольно редкое явление. Причинами врожденных иммунодефицитов могут быть удвоение хромосом, точечные мутации, дефект ферментов обмена нуклеиновых кислот, генетически обусловленные нарушения мембран, повреждения генома в эмбриональном периоде и др. Как правило, первичные иммунодефициты проявляются на ранних этапах постнатального периода и наследуются по аутосомно-рецессивному типу. Проявляться первичные иммунодефициты могут в виде недостаточности фагоцитоза, системы комплемента, гуморального иммунитета (В-системы), клеточного иммунитета (Т-системы) или же в виде комбинированной иммунологической недостаточности.

Недостаточность фагоцитоза обусловлена или уменьшением числа фагоцитов, или

их функциональной неполноценностью. Периодическая нейтропения лежит в основе циклических нарушений гемопоэза в целом. В первую очередь этот процесс проявляется в уменьшении количества гранулоцитов, а также в изменении числа моноцитов. Несмотря на то что нейтропении не сопутствует недостаточность гуморального или клеточного иммунитета, при ней возникает повышенная опасность инфекционных заболеваний, в особенности тех, которые вызываются высоковирулентными бактериями. Функциональные дефекты фагоцитоза могут быть обусловлены нарушениями любой стадии процесса фагоцитоза (хемотаксиса, эндоцитоза, внутриклеточного переваривания и др.).

Недостаточность комплемента встречается редко. Наиболее часто наблюдается дефект синтеза компонентов комплемента, обусловленный наследственной недостаточностью ингибитора эстеразы C1, которая клинически проявляется ангионевротическим отеком. Низкая концентрация ингибитора эстеразы C1 допускает непрерывную частичную активацию C1 с последующим потреблением C4 и C2. При ряде заболеваний, особенно при тех, которые протекают с образованием иммунных комплексов, активация комплемента приводит к его избыточному потреблению. При этом наиболее сильно уменьшается количество C1, C4, C2 и C3.

Недостаточность гуморального иммунитета выражается в виде **дисгаммаглобулинемии** и **агаммаглобулинемии**. Агаммаглобулинемия обусловлена нарушением синтеза иммуноглобулинов или их ускоренным распадом при неизменном синтезе. При агаммаглобулинемии в крови больных отсутствуют иммуноглобулины и у таких лиц нарушен, в первую очередь, антитоксический и антибактериальный иммунитет, т. е. те виды иммунитета, в которых ведущая роль принадлежит антителам. Дисгаммаглобулинемия обусловлена селективным дефицитом одного из классов или субклассов иммуноглобулинов или их комбинированным дефицитом, при этом общий уровень сывороточных иммуноглобулинов может оставаться в пределах нормы или даже повышаться за счет компенсаторного усиления синтеза иммуноглобулинов других классов. Наиболее час-

то встречается селективный дефицит IgG при одновременно высоком уровне IgM, дефицит IgG и IgA с высоким уровнем IgM, селективный дефицит IgA. Наблюдается дефицит отдельных субклассов иммуноглобулинов и дефект легких цепей иммуноглобулинов.

Недостаточность клеточного иммунитета обусловлена нарушением функциональной активности Т-клеток. Так как Т-лимфоциты участвуют в проявлении функциональной активности В-клеток, то чаще встречается комбинированный иммунодефицит (повреждение Т- и В-клеточного звеньев), чем селективный Т-клеточный иммунодефицит. Тем не менее описаны изолированные Т-клеточные иммунодефициты, такие как *алимфацитоз (синдром Нозелофа)*, *синдром ДиДжорджи* (врожденная аплазия тимуса и параситовидных желез), иммунодефицит при синдроме Дауна, иммунодефицит при карликовом росте. У лиц с таким Т-клеточным иммунодефицитом страдает противовирусный, противогрибковый, противоопухолевый и трансплантационный иммунитет, т. е. те виды иммунитета, в которых основная роль принадлежит реакциям со стороны Т-клеточного звена иммунной системы. Первыми признаками клеточного иммунодефицита является микоз, рецидивирующие вирусные инфекции, осложнения после вакцинации живыми вакцинами (полиомиелитной, БЦЖ и др.). Как правило, лица с недостаточностью клеточного иммунитета умирают в детском, реже в подростковом возрасте от тяжелой рецидивирующей оппортунистической инфекции или злокачественных опухолей.

Комбинированные иммунодефициты развиваются при сочетании нарушений Т- и В-звеньев иммунной системы. Это наиболее тяжело протекающие иммунодефициты. Комбинированные формы встречаются чаще, чем селективные; как правило, они связаны с нарушением центральных органов иммунной системы. В зависимости от тяжести дефекта, в разной мере выражена предрасположенность к инфекционным заболеваниям. При значительных расстройствах иммунитета наблюдают частые бактериальные и вирусные инфекции, микотические поражения, что уже в раннем возрасте приводит к летальному

исходу. Иммунный дефект на уровне стволовой клетки обусловлен рядом нарушений: дефектом непосредственно стволовых клеток, блоком Т- и В-клеточной дифференцировки, первичным Т-клеточным иммунодефицитом, при котором снижение иммунорегуляторной функции приводит к развитию В-клеточного иммунодефицита. Дефект может быть обусловлен как эндогенными, так и экзогенными факторами. Функциональные нарушения могут проявляться даже в том случае, если морфологически клетки больных не отличаются от нормы. При комбинированных иммунодефицитах ведущая роль принадлежит дефекту Т-клеток.

12.4.1.2. Вторичные, или приобретенные, иммунодефициты

Вторичные иммунодефициты в отличие от первичных развиваются у лиц с нормально функционировавшей от рождения иммунной системой. Они формируются под воздействием окружающей среды на уровне фенотипа и обусловлены нарушением функции иммунной системы в результате различных заболеваний или неблагоприятных воздействий на организм. При вторичных иммунодефицитах могут поражаться Т- и В-системы иммунитета, факторы неспецифической резистентности, возможны также их сочетания. Вторичные иммунодефициты встречаются значительно чаще, чем первичные. Вторичные иммунодефициты, как правило, преходящи и поддаются иммунокоррекции, т. е. восстановлению нормальной деятельности иммунной системы.

Вторичные иммунодефициты могут быть: после перенесенных инфекций (особенно вирусных) и инвазий (протозойные и гельминтозы); при ожоговой болезни; при уремии; при опухолях; при нарушении обмена веществ и истощении; при дисбиозах; при тяжелых травмах, обширных хирургических операциях, особенно выполняемых под общим наркозом; при облучении, действии химических веществ; при старении, а также медикаментозные, связанные с приемом лекарств.

По времени возникновения выделяют *антенатальные* (например, ненаследственные формы синдрома ДиДжорджи), *перинатальные* (например, нейтропения новорожденно-

го, вызванная изосенсибилизацией матери к антигенам нейтрофилов плода) и *постнатальные* вторичные иммунодефициты.

По клиническому течению выделяют *компенсированную, субкомпенсированную и декомпенсированную* формы вторичных иммунодефицитов. Компенсированная форма сопровождается повышенной восприимчивостью организма к инфекционным агентам, вызывающим оппортунистические инфекции. Субкомпенсированная форма характеризуется склонностью к хронизации инфекционных процессов. Декомпенсированная форма проявляется в виде генерализованных инфекций, вызванных условно-патогенными микробами (УПМ) и злокачественными новообразованиями.

Известно разделение вторичных иммунодефицитов на:

- физиологические:
 - ◆ новорожденности,
 - ◆ пубертатного периода,
 - ◆ беременности и лактации,
 - ◆ старения,
 - ◆ биоритмичности;
- экологические:
 - ◆ сезонные,
 - ◆ эндогенные интоксикации,
 - ◆ радиационные,
 - ◆ СВЧ;
- патологические:
 - ◆ постинфекционные,
 - ◆ стрессовые,
 - ◆ регуляторно-метаболические,
 - ◆ медикаментозные,
 - ◆ онкологические.

Имунодефициты, как первичные, так и особенно вторичные, широко распространены среди людей. Они являются причиной проявления многих болезней и патологических состояний, поэтому требуют профилактики и лечения с помощью иммуноотропных препаратов. Способы иммунокоррекции изложены в разд. 12.5.

12.4.2. Аутоиммунные болезни

Аутоиммунные болезни (аутоагрессивные болезни) — болезни, в патогенезе которых ауто-сенсибилизация играет решающую роль.

Различают аутоиммунные реакции и аутоиммунные заболевания, в основе которых лежит взаимодействие компонентов иммунной системы с собственными здоровыми клетками и тканями. К аутоиммунным заболеваниям иногда относят и болезни иммунных комплексов.

Аутоиммунные реакции наблюдаются в норме у здоровых лиц, а также при патологии. В первом случае они протекают непрерывно, и их действие сводится к удалению отмирающих, стареющих, больных, модифицированных какими-либо воздействиями клеток. Они являются начальным компонентом развертывания иммунного ответа на различные антигены. Эти реакции полезны для организма и не перерастают в болезнь.

Аутоиммунные болезни, или аутоаллергия, встречаются реже. В основе этих патологических состояний лежат аутоиммунные реакции с забарьерными перекрестно реагирующими антигенами, образование «запретных» клонов иммунокомпетентных клеток, реагирующих с собственными нормальными тканями, генетически запрограммированная слабость иммунного ответа на конкретный антиген, недостаточность Т-супрессоров, блокада рецепторов лимфоцитов и другие причины. Они могут быть также следствием приема лекарственных препаратов.

Аутоиммунные заболевания бывают *органо-специфическими, неоргано-специфическими и смешанными*. К органоспецифическим относят болезни, при которых аутоантитела специфичны к одному или группе обладающих антигенными свойствами структурных элементов клеток и тканей одного органа. Чаще всего это забарьерные антигены, врожденная толерантность к которым отсутствует, например, в случае тиреоидита Хашимото, первичной микседемы, тиреотоксикоза, пернициозной анемии и др.). К органонеспецифическим заболеваниям относятся патологические процессы, при которых аутоантитела реагируют, как указывалось, к структурным элементам клеток и тканей данного или даже другого организма, имеющего перекрестные антигенные структуры, примером которых могут служить антиядерные антитела при системной красной волчанке, ревматоидном

Таблица 12.2. Аутоиммунные заболевания

| Болезни с установленной иммунопатологической природой | Болезни, иммунопатологическая природа которых предполагается |
|--|--|
| Гемолитическая анемия, обусловленная тепловыми ауто-антителами | Первичный билиарный цирроз печени |
| Гемолитическая анемия с холодowymi гематглютинидами | Пузырчатка обыкновенная и пемфигоид |
| Иммунологически обусловленное бесплодие | Идиопатическая аддисонова болезнь |
| Тиреоидит Хашимото | Идиопатический гипопаратиреоз |
| Иммунотромбоцитопения | Поствакцинальный энцефалит |
| Холодовая гемоглобинурия | Узелковый периартериит |
| Симпатическая офтальмия | Дерматомиозит или полимиозит |
| Пернициозная анемия | Склеродермия |
| Аутоиммунный нарушения свертывания крови | Неспецифический язвенный колит |
| Хронический активный гепатит | Гипертиреоз |
| Системная красная волчанка | |
| Ревматоидный артрит | |
| Хронический гломерулонефрит | |

артрите. Смешанные болезни включают оба вышеперечисленных механизма.

Довольно часто можно обнаружить нормальные аутоантитела, не вызывающие видимых симптомов заболевания. Они встречаются у совершенно здоровых людей, например, ревматоидный и антинуклеарные факторы. Довольно трудно бывает доказать, что видимая клиническая картина заболевания представляет собой следствие аутоиммунного процесса. Обнаружение антител к аутоантигенам еще не позволяет сделать вывод о причинно-следственной связи заболевания с аутоиммунными реакциями. Для подтверждения этого необходимо: выявить иммунный ответ на аутоантиген, имеющий отношение к заболеванию; идентифицировать его; пассивно перенести заболевание и спровоцировать болезнь соответствующим антигеном в эксперименте на животных. В табл. 12.2 представлены основные аутоиммунные заболевания человека.

Классическим примером аутоиммунного заболевания считается аутоиммунный **тиреоидит Хашимото**. Это незаметно начинающееся, диффузное увеличение щитовидной железы, которое сопровождается снижением ее функции. Женщин заболевание поражает чаще, чем мужчин. Гистологически обнаруживают об-

ширную лимфоидную инфильтрацию с небольшими остатками железистой ткани. Практически во всех случаях аутоиммунного тиреоидита обнаруживаются высокие титры антител к антигенам щитовидной железы, прежде всего к тиреоглобулину и микросомальному антигену. Антитела определяют в РИГА или реакции иммунофлюоресценции (РИФ). Часто обнаруживаются также антинуклеарные антитела. Патогенез тиреоидита Хашимото до конца не выяснен. Несмотря на то, что аутоантитела к антигенам щитовидной железы относятся к классу IgG и могут проходить через плаценту, у детей, родившихся от больных матерей, не обнаруживаются заметные симптомы заболевания. При тиреоидите Хашимото появляются лимфоциты, sensibilizированные к тиреоглобулину и микросомальному антигену, поэтому можно считать, что в основе заболевания лежат главным образом иммунные реакции, опосредованные клетками.

При определенных условиях антитела к поверхностным антигенам клетки могут не разрушать ее, а, наоборот, стимулировать. Это наблюдается при **тиреотоксикозе**. Сыворотка крови больных с тиреотоксикозом способна стимулировать активность щитовидной железы. Стимулирующий фактор обладает свойствами специфических антител к щитовидной железе. Он блокирует связывание тиреостимулирующего гормона с мембраной клеток щитовидной железы, а сам действует как тиреостимулирующий

гормон. Стимулирующий фактор проходит через плаценту, поэтому у детей, родившихся от матерей с тиреотоксикозом, выявляют неонатальный гипертиреоз, который проходит через несколько недель после рождения по мере распада материнского IgG.

Иммунные реакции могут иметь значение в разрушении клеток при остром и хроническом гепатите. Аутоиммунные реакции лежат в основе патогенеза таких заболеваний, как первичный билиарный цирроз, хронический активный гепатит и криптогенный цирроз печени. Для хронически активного гепатита типично сочетание гипергаммаглобулинемии с инфильтрацией тканей печени лимфоцитами и плазматическими клетками. В высоком проценте случаев обнаруживаются антинуклеарные и антимитохондриальные антитела, а также часто сопутствующие хроническим воспалительным заболеваниям печени антитела к гладкой мускулатуре и ревматоидному фактору. Органоспецифические аутоантитела находят в сыворотке крови примерно 20 % больных, тогда как специфически сенсibilизированные клетки печени, выявляемые с помощью флуоресцирующих антител, обнаруживаются в 80 % случаев. Очевидно, печень функционирует как иммуносорбент для органоспецифических аутоантител. Вероятно, в основе иммунопатологии лежит сенсibilизация лимфоцитов антигенами печени. Лимфоциты больных с хроническим активным гепатитом выделяют фактор торможения миграции лейкоцитов в присутствии специфического печеночного антигена. Хронический активный гепатит представляет собой прогрессирующее заболевание.

Системная красная волчанка — заболевание кожи и соединительной ткани внутренних органов, в основе которого лежит васкулит, обусловленный иммунными комплексами. Клинические симптомы зависят от того, какая система органов поражена, и отличаются исключительным разнообразием. На передний план выступают патологические изменения кожи, суставов и почек. Возможно увеличение селезенки и лимфатических узлов, а также симптомы со стороны желудочно-кишечного тракта и нервной системы. В крови отмечается лейкопения. Иммунологическим критерием заболевания служат аутоантитела IgG к нативной двухпочечной ДНК, которые находят почти во всех случаях. Можно обнаружить также антитела к другим ядерным и органоспецифическим антигенам в зависимости от локализации поражений. Часто наблюдаются иммуногемолитические осложнения. Концентрация компонентов комплемента C3

и C4 в сыворотке снижена, уровень IgG повышен. Видимо, вследствие вирусной инфекции или дисрегуляции В-клеток при красной волчанке образуются аутоантитела к ДНК, которые, реагируя с соответствующим антигеном ядер, образуют растворимые иммунные комплексы, связывающие комплемент. Эти комплексы и служат причиной васкулита и нефропатии, характерных для красной волчанки. При этом заболевании выявляется частичная недостаточность клеточного иммунитета в сочетании с избыточной активностью гуморального.

Ревматоидный артрит — это общее хроническое воспалительное заболевание с преимущественным поражением суставов. Оно протекает с повторными обострениями и ремиссиями или постоянно прогрессирует, приводя к тугоподвижности суставов, прежде всего кистей и стоп. При ревматоидном артрите происходит отложение активирующих комплемент иммунных комплексов в сосудах и в синовиальной оболочке суставов. Помимо суставов, в процесс вовлекаются сердце, почки, легкие, ткани глаза и другие органы. Типичным иммунодиагностическим признаком болезни считается обнаружение в сыворотке ревматоидных факторов, которые представляют собой аутоантитела преимущественно IgM к собственным IgG. Ревматоидные факторы характерны не только для ревматоидного артрита, они встречаются и при других коллагенозах и даже при отсутствии явных патологических симптомов, особенно в старости. При ревматоидном артрите выявляются и другие аутоантитела, например антиколлагеновые или антинуклеарные.

Хронический гломерулонефрит — обусловлен у человека аутоиммунными реакциями. Предполагают, что вызванный бактериальной инфекцией гломерулонефрит приводит к распаду тканей и к модификации почечных белков, чем и обусловлено прекращение иммунологической толерантности. Предполагается общность антигенов стрептококка и базальной мембраны почки. Циркулирующие аутоантитела при гломерулонефрите удалось обнаружить только у больных, у которых были удалены обе почки, так как антитела сразу после их образования связываются с почечной тканью.

Помимо хронического гломерулонефрита существуют и другие формы вовлечения почек в иммунопатологические процессы: гломерулонефрит, вызванный иммунными комплексами; IgA-нефропатия; комплемент-дефицитный гломерулонефрит; аллергическая гематурия и многие другие.

Аутоиммунная гемолитическая анемия — приобретенное хроническое заболевание с чередующимися обострениями и ремиссиями, характеризующееся снижением количества эритроцитов при нормальном состоянии костного мозга. Патология встречается с частотой 1:80 000, чаще страдают женщины. В основе заболевания лежит образование аутоантител против зрелых эритроцитов и их предшественников на разных стадиях созревания.

Аутоиммунная нейтропения — характеризуется полным или почти полным отсутствием у пациента полиморфно-ядерных лейкоцитов при нормальных показателях уровня лимфоцитов и других форменных элементов крови. У больных выявляются аутоантитела против лейкоцитов.

Болезнь Аддисона проявляется в гормональной недостаточности коры надпочечников с хроническим течением. Характерны гипотония, адинамия, снижение уровня сахара в крови, 17-ОКС — в моче. В крови определяются аутоантитела против митохондрий и микросомаллогенных клеток железы, которые и обуславливают атрофию и деструкцию надпочечников.

Болезнь Бехчета — хронический патологический процесс с периодическими обострениями. Для заболевания характерна триада симптомов: поражение слизистой оболочки рта (стоматит), конъюнктивы глаз, сосудистой оболочки глаз (увеит), а также половых органов. У больных образуются афты, язвы с рубцеванием. В крови обнаружены аутоантитела к эпителию слизистой оболочки ротовой полости.

Болезнь Крона (гранулематозный колит) — рецидивирующее заболевание, поражающее в основном толстую кишку; одновременно патологический процесс может локализоваться и в других отделах ЖКТ. Характерный признак болезни — сегментарное повреждение всей толщи стенки толстой кишки лимфоцитарными гранулемами с последующим образованием глубоких проникающих щелевидных язв. Заболевание встречается с частотой 1:4000, чаще страдают молодые женщины.

Болезнь Шегрена — характеризуется лимфоидной инфильтрацией слюнных желез с последующей их атрофией. Основной симптом — сухость слизистой оболочки ротовой полости и конъюнктивы глаза. Слюнные железы поражаются вследствие аутоиммунной сенсибилизации и появления иммунных комплексов.

Болезнь Уиппла (кишечная липодистрофия) — хроническое заболевание с поражением тонкой кишки с развитием диспепсии, полиартрита, реже — с поражением клапанов сердца, полисерозитом, лимфоаденопатией, диффузной пигментацией кожи.

Неспецифический язвенный колит — заболевание, развивающееся по типу диффузного хронического воспаления слизистой оболочки кишечника с образованием обширных неглубоких язв. В крови определяются аутоантитела против энтероцитов толстой кишки.

Пернициозная анемия — заболевание, характеризующееся нарушением эритропоэза, развитием гемобластического типа кроветворения, эритрофагии, анемии. Пернициозная анемия часто предшествует атрофический гастрит. В основе патологического процесса лежит образование аутоантител против париетальных клеток желудка и внутреннего фактора Кастла.

Целиакия (глютеновая болезнь, глютеновая энтеропатия) — хроническое заболевание тонкой кишки, в основе которого лежит дефицит вырабатываемых слизистой пептидаз, расщепляющих растительный белок — глютенклеяевину, содержащуюся в злаках. Чаще болеют женщины. Клинически заболевание сопровождается энтеритом, особенно при употреблении в пищу продуктов, богатых клейковиной.

Следовательно, уже известно множество болезней, в основе патогенеза которых лежат аутоиммунные процессы, обусловленные рядом причин, в том числе агрессивностью иммунной системы, направленной на образование аутоантител к собственным антигенным структурам клеток и тканей. Эти болезни трудно поддаются лечению. Важное место среди лечебных средств занимают иммуноотропные препараты, направленные на снижение агрессивности иммунной системы.

12.4.3. Аллергические болезни

На первичный контакт с антигеном организм отвечает образованием антител и сенсибилизированных лимфоцитов. При повторном контакте антиген вступает в реакцию с антителами и сенсибилизированными лимфоцитами. Эти реакции направлены на устранение антигена, но при определенных условиях могут привести к патологическим последствиям. Заболевание возникает лишь при значительном отклонении иммунореактивности от нормы. При повышенном уровне индивидуальной реактивности в отношении данных антигенов речь идет об аллергии (см. гл. 11, разд. 11.4).

Разделение аллергических реакций на четыре типа весьма важно с клинической точки зрения. Следует подчеркнуть, что различные

Таблица 12.3. Примеры веществ, способных вызвать анафилаксию

| | |
|-------------------------|--|
| Ксеногенные сыворотки | Антилимфоцитарная сыворотка Противостолбнячная сыворотка Противодифтерийная сыворотка Другие белковые препараты |
| Пыльца растений | |
| Природные яды | Пчелиный яд Яд ос Змеиный яд |
| Лекарственные препараты | Антибиотики (пенициллин) Салицилаты Белковые гормоны Вакцины (коровая, гриппозная и др.) |

типы аллергических реакций редко встречаются в чистом виде; как правило, они сочетаются или же переходят одна в другую в ходе заболевания.

12.4.3.1. Реакции I типа (анафилактические)

Анафилаксия представляет собой иммунную реакцию, для которой необходимы специфические цитотфильные антитела и клетки. Анафилаксия может проявляться в виде местной (на коже и слизистых) или системной (анафилактический шок) реакции. Местные анафилактические реакции в зависимости от локализации могут выражаться уртикарной сыпью, вазомоторным насморком, бронхиальной астмой или кишечными расстройствами. Так как тучные клетки и базофилы встречаются в организме повсеместно, поэтому анафилактическая реакция может протекать в любом органе, однако для каждого вида животных характерны определенные органы, поражаемые чаще, чем другие (шок-органы). У человека чаще поражаются артериолы и бронхи. К анафилактическим реакциям человека, которые вызываются IgE, относятся приступы бронхиальной астмы, сенная лихорадка, крапивница, реакции на укусы ос и пчел (табл. 12.3).

12.4.3.2. Реакции II типа (гуморальные цитотоксические)

Аллергические реакции II типа опосредованы антителами к поверхностным антигенам

клетки или к вторично связанным с клеточной поверхностью антигенам. Решающую роль в этом случае играют антитела, способные активировать комплемент IgG1–3, IgM. Помимо комплементзависимой цитотоксичности сюда можно также отнести антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, не нуждающуюся в комплементе.

Антитела, принимающие участие в цитотоксических реакциях, специфичны к детерминантам клеточной мембраны. Это можно наблюдать при некоторых формах лекарственной аллергии, когда молекулы лекарственного препарата адсорбируются на поверхности клеток крови. Следствием этого могут быть гемолитическая анемия, лейкоцитопения, тромбоцитопения, агранулоцитоз. Наибольшее значение для клиники имеют те гуморальные цитотоксические реакции, которые затрагивают эритроциты. Реакция, направленная против эритроцитов другого индивида, называется изоиммунной, а реакция против собственных эритроцитов — аутоиммунной. У каждого человека в сыворотке имеется высокий титр антител против тех антигенов системы АВ0, которые отсутствуют на собственных эритроцитах. При переливании несовместимой крови эти изогемоглобулины вызывают цитотоксическую иммунную реакцию, которая сопровождается гемолизом крови. При повторных беременностях резус-положительным плодом у резус-отрицательных женщин в крови образуются антирезус-IgG, способные проходить через

плаценту и, оказывая цитотоксическое действие на эритроциты плода, разрушать их. Это ведет к развитию гемолитической болезни новорожденных. При аутоиммунных гемолитических анемиях образуются аутоантитела к антигенам собственных эритроцитов, которые их разрушают при участии комплемента. Некоторые низкомолекулярные вещества, например определенные лекарственные препараты, обладая аффинностью к мембране эритроцитов, способны стать иммуногенными и вызвать образование антител с развитием гемолитической анемии. Так действуют хинин, фенацетин, салицилаты, стрептомицин, пенициллин, цефалоспорины, сульфаниламиды и др. Аналогичным образом объектом цитотоксического действия могут стать и другие форменные элементы крови (агранулоцитоз, тромбоцитопения).

12.4.3.3. Реакции III типа (иммунокомплексные)

Аллергические реакции III типа опосредованы иммунными комплексами, которые образуются при преципитации в небольшом избытке антигена. В зависимости от количества и иммуногенности антигена иногда происходит отложение образовавшихся иммунных комплексов в тканях. Биологические свойства таких комплексов обусловлены прежде всего соотношением АГ-АТ. Иммунные агрегаты, образовавшиеся при значительном избытке антигена, имеют малые и средние размеры и могут обладать токсическим действием. В образовании токсических иммунных комплексов могут принимать участие IgM, IgG1–3, связывающие комплемент. Благодаря активации комплемента, в местах отложения иммунных комплексов происходит высвобождение биологически активных медиаторов-анафилоксинов (C3a, C3b, C5a), которые, повышая проницаемость сосудов и привлекая полиморфно-ядерные лейкоциты, способствуют развитию воспаления. Фагоцитированные токсические иммунные комплексы повреждают и разрушают гранулоциты, из которых выделяются протеолитические ферменты, в свою очередь разрушающие ткани организма. Поэтому симптомы, вызываемые токсическими иммунными комплексами, обусловлены

также повреждающим действием токсических факторов эндогенной природы, высвобождающихся при воспалении в результате активации комплемента и распада нейтрофилов.

Иммунные комплексы могут образовываться либо в кровотоке, когда антиген и антитела одновременно находятся в плазме крови, либо в тканях, когда антиген введен в ткань, а антитела находятся в крови и происходит их встречная взаимная диффузия. В первом случае развивается обусловленный иммунными комплексами васкулит, во втором — феномен Артюса. При аллергическом васкулите образование иммунных комплексов происходит при небольшом избытке антигена непосредственно в просвете сосуда. Местом их нахождения может стать любой кровеносный сосуд, и тогда в результате активации комплемента и лейкотаксиса происходит повреждение ткани и даже запустение сосуда. Чаще поражаются сосуды нижних конечностей и капилляры почечных клубочков. Типичный пример аллергического васкулита — гломерулонефрит. Решающее значение при данном виде патологии имеет сам факт персистенции антигена и его концентрация. Так, некоторые микробы, особенно стрептококки группы А, и продукты их распада способствуют развитию хронического гломерулонефрита. Как особый случай васкулита, обусловленного иммунными комплексами, можно рассматривать сывороточную болезнь, которая развивается через 8–10 дней после однократного введения чужеродной сыворотки и сопровождается повышением температуры, увеличением селезенки и лимфатических узлов, лейкоцитозом и снижением активности комплемента. Симптомы сывороточной болезни возникают с появлением в кровотоке антител и сохраняются до тех пор, пока в кровотоке находится свободный антиген. После иммунной элиминации антигена симптомы исчезают. При феномене Артюса иммунная реакция первично направлена только на чужеродный антиген, однако высвобождение лизосомальных ферментов в местах отложения иммунных комплексов приводит к вторичному повреждению тканей. Классическая реакция Артюса у человека наблюдается прежде всего при воздействии некоторых ингаляционных аллергенов, особенно при регулярных повторных воздействиях. К подобным заболеваниям относится аллергический альве-

олит, при котором в сыворотке больных часто обнаруживаются преципитирующие антитела к промышленным аллергенам («лёгкие фермера», «лёгкие птичника»).

12.4.3.4. Реакции IV типа (опосредованные Т-лимфоцитами)

Существует ряд антигенов, которые стимулируют преимущественно Т-лимфоциты и вызывают благодаря этому формирование главным образом клеточного иммунитета. К ним относятся антигены внутриклеточных паразитов (бактерий, грибов, вирусов, простейших), чужеродных тканей (трансплантатов), природные и синтетические гаптены (лекарственные препараты, пищевые красители и др.). Таким образом, ГЗТ может вызываться практически всеми известными антигенами, но наиболее ярко она проявляется на полисахариды и низкомолекулярные пептиды, т. е. низкоиммуногенные антигены. При этом реакцию вызывают малые дозы аллергенов и, особенно при внутрикожном введении, что вызывает сенсibilизацию Т-хелперов. Сенсibilизированные лимфоциты выделяют медиаторы, в том числе интерлейкин-2, которые активируют макрофаги и вовлекают их в процесс разрушения антигена, вызвавшего сенсibilизацию. Цитотоксичность проявляют и сами Т-лимфоциты. О роли лимфоцитов в возникновении ГЗТ свидетельствует возможность адаптивной передачи аллергии от сенсibilизированного организма несенсibilизированному с помощью введения лимфоцитов, а также подавления этой реакции антилимфоцитарной сывороткой.

Морфологическая картина при ГЗТ носит воспалительный характер, обусловленный реакцией лимфоцитов и макрофагов на образующийся комплекс антигена с сенсibilизированными лимфоцитами и проявляется через 24–48 ч. Ее типичным примером служит туберкулиновая реакция. Внутрикожное введение туберкулина сенсibilизированному индивиду вызывает покраснение и отек на месте инъекции, достигающие максимума через 24–48 ч с момента введения аллергена. Образуется плотная гиперемированная папула с некрозом в центре. Некротизированная ткань иногда отторгается, оставляя после се-

бя изъязвление, которое медленно заживает. Гистологически обнаруживают скопление макрофагов и лимфоцитов.

Введение лекарственных препаратов или даже просто контакт с некоторыми низкомолекулярными веществами может вызвать ГЗТ. Низкомолекулярные соединения обладают свойствами гаптенных и, присоединившись к носителям, которыми являются собственные белки организма, индуцируют развитие ГЗТ. Типичный пример опосредованной клетками гиперчувствительности кожи представляет контактная экзема. При встрече сенсibilизированного индивида с гаптеном происходит локальная активация Т-лимфоцитов и макрофагов. Происходящее при этом высвобождение лимфокинов запускает патологический процесс, который клинически проявляется экземой. Наиболее часто контактную аллергию вызывают синтетические моющие средства, соединения хрома, никеля, ртути, парафенилендиамин, динитрохлорбензол, многие консерванты и медикаменты.

12.4.4. Иммунопролиферативные заболевания

Группа этих заболеваний объединяет патологические иммунопролиферативные процессы, которые исходят из клеток иммунной системы. Патология включает широкий спектр состояний — от доброкачественных инфекций (например, инфекционный мнoнонуклеоз) до нарушений злокачественного характера. Среди иммунопролиферативных заболеваний можно выделить ситуацию с выраженным клеточным полиморфизмом или с преобладанием однотипных клеточных форм. Классификация иммунопролиферативных заболеваний представлена в табл. 12.4.

Лимфогранулематоз (болезнь Ходжкина) — представляет собой заболевание лимфоидной ткани. Для него характерно увеличение лимфатических узлов, селезенки и печени, а также сопутствующие инфекции. Диагноз подтверждается путем биопсии периферических лимфатических узлов — характерной находкой так называемых клеток Ходжкина и многоядерных гигантских клеток Штернберга. Этиология заболевания неясна. Наблюдается злокачественное перерождение Т-лимфоцитов с последующей неопластической трансформацией ретикулярных клеток.

Таблица 12.4. Классификация иммунопролиферативных болезней

| Тип клеток | Заболевание |
|------------|---|
| В-клетки | Хронический лимфолейкоз |
| | Опухоли из клеток зародышевых центров (лимфосаркома, лимфобластома) |
| | Лимфоплазмацитоидные лимфомы |
| | В-иммунобластная саркома (лимфома Беркитта) |
| Т-клетки | Т-лимфобластная саркома |
| | Острый Т-клеточный лейкоз |
| | Редкие формы хронических лимфолейкозов |
| «0»-клетки | Лейкозы с незрелыми лимфоидными клетками |

Инфекционный мононуклеоз — доброкачественное иммунопролиферативное заболевание, вызываемое вирусом Эпштейна—Барр, которое характеризуется увеличением шейных лимфоузлов, лейкоцитозом, причем более половины лейкоцитов периферической крови — моноциты.

Хронический лимфолейкоз характеризуется лейкоцитозом, увеличением лимфоузлов, изменениями кожи, рецидивирующими инфекциями. Помимо нормальных Т- и В-лимфоцитов наблюдаются пролиферирующие в той или иной степени атипичные клетки, которые по их поверхностным маркерам можно отнести к В-лимфоцитам. Это иммуноглобулин-продуцирующие, но не иммуноглобулин-секретирующие клетки.

К плазмцитопролиферативным заболеваниям относят плазмцитому (множественную миелому), макроглобулинемию и болезнь тяжелых цепей. Плазмцитомы характеризуется моноклональной пролиферацией плазматических клеток, парапротеинемией, инфильтрацией костной ткани плазматическими клетками.

Для болезни тяжелых цепей характерен усиленный синтез фрагментов Н-цепей иммуноглобулинов.

12.5. Иммунокоррекция

При иммунодефицитах для профилактики возникающих инфекционных болезней используют химиотерапию и химиопрофилактику. Детям с тяжелыми комбинированными иммунодефицитами назначают антибиотики узкого спектра действия. Такой курс химиотерапии может продолжаться годами.

С целью восстановления функциональной полноценности иммунной системы применяют заместительную терапию — введение

препаратов иммуноглобулинов, пересадка эмбрионального тимуса и костного мозга.

Для активации или супрессии (подавления) иммунной системы применяют специфические и неспецифические препараты и методы воздействия, с помощью которых проводят иммунокоррекцию.

Иммуномодуляция или **иммунокоррекция** является разделом клинической иммунологии, изучающим способы и методы профилактики и лечения болезней или состояний (иммунодефицитов), связанных с нарушением функции иммунной системы.

Препараты, влияющие на иммунный статус и применяемые для иммунокоррекции называют иммуномодуляторами. К настоящему времени известны сотни иммуномодуляторов применяемых в медицине. Все иммуномодуляторы можно подразделить по вектору, т. е. по направлению и характеру влияния на иммунитет (табл. 12.5).

Стимулирующее и супрессорное действие, как активное, так и пассивное, как специфическое, так и неспецифическое, могут оказывать иммуномодуляторы различной природы и происхождения, далеко отстоящие друг от друга по химической природе и источнику получения. Выделяют эндогенные и экзогенные иммуномодуляторы. К эндогенным относятся вещества, синтезируемые самим организмом и участвующие тем или иным способом в иммунном процессе, а к экзогенным — чужеродные для организма вещества, поступающие извне. Классификация иммуномодуляторов

Таблица 12.5. Классификация иммуномодуляторов по вектору и характеру действия на иммунную систему

| Активирующее действие | | | | Супрессорное действие | | | |
|---|-----------|--|---|---------------------------|---|---|-----------------------------------|
| специфическое | | неспецифическое | | специфическое | | неспецифическое | |
| активное | пассивное | активное | пассивное | активное | пассивное | активное | пассивное |
| Антигены, иммуноцитокнины и другие иммунореагенты | Антитела | Адьюванты, митогены, экзогенные иммуномодуляторы, адаптогены | Гормоны, ферменты, защитные сывороточные белки иммунной системы, некоторые микронутриенты | Толерогены, иммунотоксины | Антилимфоцитарная сыворотка и антилимфоцитарный иммуноглобулин, моноклональные антитела к рецепторам лимфоцитов | Иммунодепрессанты органической и неорганической природы, радиоактивное облучение, плазмаферез | Гормоны, некоторые микронутриенты |

Таблица 12.6. Классификация иммуномодуляторов по природе и происхождению

| Эндогенные (естественные иммунобиореагенты организма) | Экзогенные (чужеродные, несвойственные организму) |
|--|--|
| 1. Иммуноцитокнины: интерлейкины, интерфероны, пептиды тимуса, костного мозга, фактор некроза опухоли, кейлоны | 1. Вещества органической природы: белки, липиды, нуклеиновые кислоты, нуклеопротеины, липополисахариды, полисахариды и другие вещества животного, растительного, микробного происхождения и синтетически полученные |
| 2. Иммуноглобулины (поли- и моноклональные, аутоантитела, абзимы, аутоантигены) | 2. Вещества неорганической природы: минеральные коллоиды (гидроксид алюминия, фосфат алюминия и др.), растворимые соединения (хлористый кальций, алюминиевые квасцы), кристаллоиды (активированный уголь, кварцевый порошок), микронутриенты |
| 3. Иммунореагенты, участвующий в иммунном процессе (комплемент, ферменты, защитные белки сыворотки крови, гормоны) | 3. Сложные вещества: адьювант Фрейнда, бактериальные клетки, молоко, сочетание липидов с минеральными сорбентами и др. |

по природе и происхождению представлена в табл. 12.6. К эндогенным иммуномодуляторам относятся все иммуноцитокнины, иммуноглобулины, другие иммунореагенты, участвующие в специфическом и неспецифическом звеньях иммунитета. Эндогенные иммуномодуляторы являются гомологичными, генетически нечужеродными для организма, так как они относятся к естественным и необходимым регуляторам процессов иммуногенеза в норме. К экзогенным иммуномодуляторам относятся вещества органической и неорганической природы, а также сложные вещества неуставленного состава, способные влиять на иммунную систему. Все экзогенные имму-

номодуляторы чужеродны для организма, так как они не встречаются в организме, не синтезируются им и могут попадать в него только извне спонтанно или «преднамеренно» в виде профилактических и лечебных препаратов.

Независимо от природы и источника происхождения эндогенные и экзогенные иммуномодуляторы оказывают как стимулирующее, так и супрессорное, как специфическое, так и неспецифическое влияние на иммунную систему. Некоторые из эндогенных иммуномодуляторов получены с помощью генной инженерии и уже применяются в клинике (см. гл. 6). Уровень разработки эндогенных иммуномодуляторов в России представлен в табл. 12.7.

Таблица 12.7. Уровень разработки эндогенных иммуномодуляторов в России

| Иммуномодулятор | НИР | Доклиника | Клиника | Производство |
|---|-----|-----------|---------|--------------|
| Интерфероны | α | + | + | + |
| | β | + | + | |
| | γ | + | + | |
| Интерлейкины | 1-β | + | + | +/- |
| | 2 | + | + | |
| | 6 | + | | |
| Лимфокин (ИЛ-1, -2, -6) | + | + | | |
| ФНО | + | + | +/- | |
| Пептиды тимуса | + | + | +/- | |
| Миелопептиды | + | + | +/- | |
| КСФ, кейлоны и др. | + | | | |
| Слитные белки: | | | | |
| дифанатоксин+ИЛ-2 | + | + | | |
| тимозин (α 1+2)+ФНО | + | + | | |
| Белки-антагонисты рецепторов ИЛ-2, ИФН-α, | + | | | |

Иммуномодуляторы различаются по механизму действия на иммунную систему. Одни из них влияют преимущественно на В-систему (например, пептиды костного мозга), другие — на Т-систему (например, пептиды тимуса), третьи — на систему А-клеток (например, ЛПС), а четвертые оказывают комбинированное действие на Т-, В- и А-систему (например, мурамилдипептид и его производные). Нет иммуномодуляторов, избирательно действующих только на какую-либо одну систему иммунитета. Однако каждому иммуномодулятору, помимо общего комбинированного влияния на иммунную систему, присуще преимущественное действие на определенное звено иммунного процесса. Одни из них действуют главным образом на стволовую клетку костного мозга, другие — на дифференцировку иммунокомпетентных клеток, третьи — на синтез иммуноглобулинов, четвертые — на фагоцитоз или интерференообразование, и т. д. Классификация иммуномодуляторов по механизму действия представлена в табл. 12.8. Конечно, такая классификация должна быть сопряжена с классификацией первичных и вторичных иммуно-

дефицитов, базирующейся на механизмах и причинах, которые лежат в основе нарушений функций иммунной системы и на которые, в случае иммунокоррекции, следует воздействовать с помощью иммуномодуляторов.

Цель оптимальной иммунокоррекции — направленное воздействие на способность организма к иммунному ответу, т. е. на активацию или подавление активности иммунной системы в зависимости от показаний. Например, для создания иммунитета к возбудителям инфекционных болезней иммунную систему активируют с помощью вакцин, а пассивный иммунитет создают введением сывороток или иммуноглобулинов. При аллергических состояниях и некоторых иммунопатологических процессах необходимо подавить иммунную систему, поэтому применяют иммунодепрессанты. Они же применяются при трансплантации органов и тканей. Особое значение приобретает антигенспецифическая стимуляция или супрессия. Поскольку в клинике существуют определенные ограничения, основным подходом к лечению остается неспецифическая коррекция.

Таблица 12.8. Классификация иммуномодуляторов по механизму действия с учетом механизма развития первичных и вторичных иммунодефицитов

1. Действие (активирующее или супрессорное) на гуморальное звено специфического иммунитета
 - 1.1. На стволовую клетку костного мозга
 - 1.2. На дифференцировку и созревание В-лимфоцитов
 - 1.3. На синтез иммуноглобулинов различных классов
 - 1.4. На рецепторный аппарат В-лимфоцитов
 - 1.5. На аффинитет и avidность иммуноглобулинов
 - 1.6. На синтез иммуноцитоклинов направленного действия
2. Действие (активирующее или супрессорное) на клеточное звено специфического иммунитета
 - 2.1. На стволовую клетку костного мозга
 - 2.2. На дифференцировку и созревание Т-лимфоцитов
 - 2.3. На активность субпопуляций специализированных Т-лимфоцитов
 - 2.4. На взаимодействие Т-лимфоцитов с клетками-мишенями
 - 2.5. На кооперативные взаимоотношения Т-лимфоцитов с В-лимфоцитами и А-клетками
 - 2.6. На синтез иммуноцитоклинов направленного действия
3. Действие на неспецифическое звено иммунитета
 - 3.1. На активность фагоцитоза моноцитов
 - 3.2. На систему интерферонагенеза
 - 3.3. На синтез комплемента
 - 3.4. На активность ферментов, в первую очередь лизоцима
 - 3.5. На синтез неспецифических защитных белков сыворотки крови
 - 3.6. На активность гормональной системы
4. Комбинированное действие на гуморальное, клеточное и неспецифическое звенья иммунного процесса
 5. Действие, координирующее работу иммунной системы
 - 5.1. На центральную и периферическую нервную системы, а также на эндокринную систему, играющую роль в регуляции деятельности иммунной системы
 - 5.2. На центральные органы иммунной системы (тимус, костный мозг)
 - 5.3. На отдельные звенья иммунного процесса и кооперацию иммунокомпетентных клеток
 - 5.4. На обменные процессы в иммунокомпетентных клетках и синтез иммуноцитоклинов

Возможная модуляция при достижении иммуносупрессии или иммуностимуляции в значительной мере зависит от особенностей иммунного ответа. Ввиду сложности межклеточных взаимоотношений иммуносупрессия, оказывая влияние и на чувствительные клетки-супрессоры, может дать иммуностимулирующий эффект. С другой стороны, некоторые активные факторы тимуса путем активации клеток-супрессоров вызывают состояние, которое можно отнести к иммуносупрессии.

Общим принципом иммунокоррекции является ее проведение на фоне полноценного питания, приема витаминных препаратов, микро- и макроэлементов. Некоторые из них обладают иммуномодулирующим действием, что необходимо соотносить с характером иммунных нарушений у пациентов. Важным

компонентом иммунокоррекции является использование энтеросорбентов, выводящих из организма соли тяжелых металлов, АГ, радионуклиды, нитраты и нитриты. Принципы иммунокоррекции следующие:

1. Иммунотерапию применять только после определения состояния иммунной системы, т. е. иммунного статуса, и выявления недостаточного функционирования звена иммунитета.

2. Иммунотерапию обязательно назначать при нарушениях иммунного статуса, сопровождающихся клиническими симптомами.

3. В процессе иммунотерапии необходимо следить за состоянием иммунного статуса в динамике.

4. Использовать иммуномодуляторы для профилактики тех воздействий, которые могут вызвать иммунодефициты (экологические, социальные и другие факторы).

13.1. Реакции антиген—антитело

Особенности взаимодействия антитела с антигеном являются основой диагностических реакций в лабораториях. Реакция *in vitro* между антигеном и антителом состоит из специфической и неспецифической фазы. В *специфическую фазу* происходит быстрое специфическое связывание активного центра антитела с детерминантой антигена. Затем наступает *неспецифическая фаза* — более медленная, которая проявляется видимыми физическими явлениями, например образованием хлопьев (феномен агглютинации) или преципитата в виде помутнения. Эта фаза требует наличия определенных условий (электролитов, оптимального рН среды).

Связывание детерминанты антигена (эпитопа) с активным центром *Fab*-фрагмента антитела обусловлено ван-дер-ваальсовыми силами, водородными связями и гидрофобным взаимодействием. Прочность и количество связавшегося антигена антителами зависят от аффинности, avidности антител и их валентности.

Иммунные реакции используют при диагностических и иммунологических исследованиях у больных и здоровых людей. С этой целью применяют *серологические методы* (от лат. *serum* — сыворотка и *logos* — учение), т. е. методы изучения антител и антигенов с помощью реакций антиген—антитело, определяемых в сыворотке крови и других жидкостях, а также тканях организма.

Обнаружение в сыворотке крови большого антител против антигенов возбудителя позволяет поставить диагноз болезни. Серологические исследования применяют также для идентификации антигенов микробов, различных биологически активных веществ, групп крови, тканевых и опухолевых антигенов, иммунных комплексов, рецепторов клеток и др.

При выделении микроба от больного проводят идентификацию возбудителя путем изу-

чения его антигенных свойств с помощью иммунных диагностических сывороток, т. е. сывороток крови гипериммунизированных животных, содержащих специфические антитела. Это так называемая *серологическая идентификация* микроорганизмов.

В микробиологии и иммунологии широко применяются реакции агглютинации, преципитации, нейтрализации, реакции с участием комплемента, с использованием меченых антител и антигенов (радиоиммунологический, иммуноферментный, иммунофлюоресцентный методы). Перечисленные реакции различаются по регистрируемому эффекту и технике постановки, однако, все они основаны на реакции взаимодействия антигена с антителом и применяются для выявления как антител, так и антигенов. Реакции иммунитета характеризуются высокой чувствительностью и специфичностью.

Ниже приводятся принципы и схемы основных иммунодиагностических реакций. Детальная техника постановки реакций дана в практических руководствах по иммунодиагностике.

13.2. Реакции агглютинации

Реакция агглютинации — РА (от лат. *agglutinatio* — склеивание) — простая по постановке реакция, при которой происходит связывание антителами корпускулярных антигенов (бактерий, эритроцитов или других клеток, нерастворимых частиц с адсорбированными на них антигенами, а также макромолекулярных агрегатов). Она протекает при наличии электролитов, например при добавлении изотонического раствора натрия хлорида.

Применяются различные варианты реакции агглютинации: развернутая, ориентировочная, непрямая и др. Реакция агглютинации проявляется образованием хлопьев или осадка (клетки, «склеенные» антителами, име-

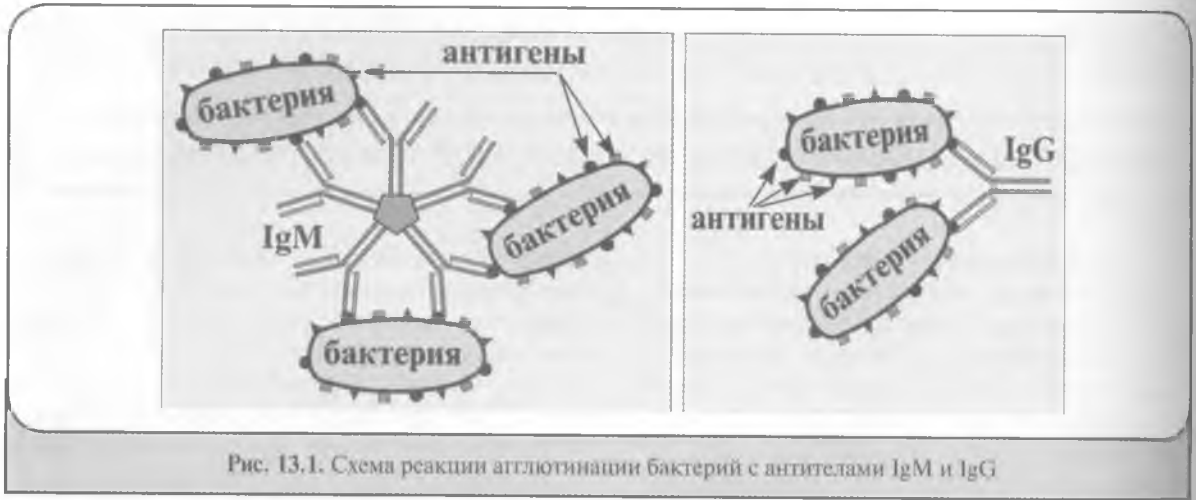


Рис. 13.1. Схема реакции агглютинации бактерий с антителами IgM и IgG

ющими два или более антигенсвязывающих центра — рис. 13.1).

РА используют для:

- 1) определения антител в сыворотке крови больных, например, при бруцеллезе (реакции Райта, Хеддельсона), брюшном тифе и паратифах (реакция Видаля) и других инфекционных болезнях;
- 2) определения возбудителя, выделенного от больного;
- 3) определения групп крови с использованием моноклональных антител против аллоантигенов эритроцитов.

Для определения у больного антител **ставят развернутую реакцию агглютинации**: к разведениям сыворотки крови больного добавляют *диагностикум* (взвесь убитых микробов) и через несколько часов инкубации при 37 °С отмечают наибольшее разведение сыворотки (титр сыворотки), при котором произошла агглютинация, т. е. образовался осадок.

Характер и скорость агглютинации зависят от вида антигена и антител. Примером являются особенности взаимодействия *диагностикумов* (O- и H-антигенов) со специфическими антителами. Реакция агглютинации с *O-диагностикумом* (бактерии, убитые нагреванием, сохранившие термостабильный O-антиген) происходит в виде мелкозернистой агглютинации. Реакция агглютинации с H-диагностикумом (бактерии, убитые формалином, сохранившие термолабильный жгутиковый H-антиген) — крупнохлопчатая и протекает быстрее.

Если необходимо определить возбудитель, выделенный от больного, ставят **ориентировочную реакцию агглютинации**, применяя диагностические антитела (агглютинирующую сыворотку), т. е. проводят серотипирование возбудителя. Ориентировочную реакцию проводят на предметном стекле. К капле диагностической агглютинирующей сыворотки в разведении 1:10 или 1:20 добавляют чистую культуру возбудителя, выделенного от больного. Рядом ставят контроль: вместо сыворотки наносят каплю раствора натрия хлорида. При появлении в капле с сывороткой и микробами хлопьевидного осадка ставят **развернутую реакцию агглютинации** в пробирках с увеличивающимися разведениями агглютинирующей сыворотки, к которым добавляют по 2–3 капли взвеси возбудителя. Агглютинацию учитывают по количеству осадка и степени просветления жидкости. Реакцию считают положительной, если агглютинация отмечается в разведении, близком к титру диагностической сыворотки. Одновременно учитывают контроли: сыворотка, разведенная изотоническим раствором натрия хлорида, должна быть прозрачной, взвесь микробов в том же растворе — равномерно мутной, без осадка.

Разные родственные бактерии могут агглютинироваться одной и той же диагностической агглютинирующей сывороткой, что затрудняет их идентификацию. Поэтому пользуются **адсорбированными агглютинирующими сыворотками**, из которых удалены перекрестно

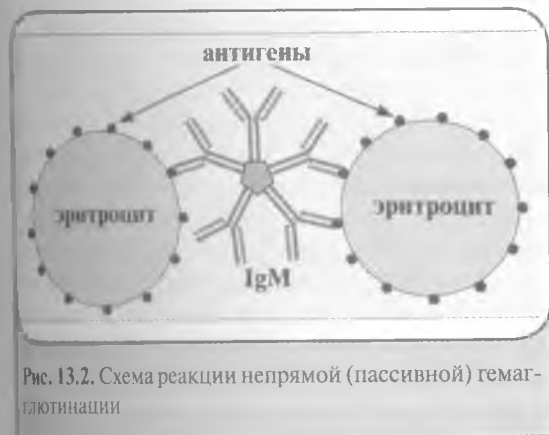


Рис. 13.2. Схема реакции непрямой (пассивной) геммагглютинации

реагирующие антитела путем адсорбции их родственными бактериями. В таких сыворотках сохраняются антитела, специфичные только к данной бактерии. Получение таким способом монорецепторных диагностических агглютинирующих сывороток было предложено А. Кастелляни (1902).

Реакция непрямой (пассивной) геммагглютинации (РНГА, РППГА) основана на использовании эритроцитов с адсорбированными на их поверхности антигенами или антителами, взаимодействие которых с соответствующими антителами или антигенами сыворотки крови больных вызывает склеивание и выпадение эритроцитов на дно пробирки или ячейки в виде фестончатого осадка (рис. 13.2). При отрицательной реакции эритроциты оседают в виде «пуговки». Обычно в РНГА выявляют антитела с помощью антигенного эритроцитарного диагностикума, который представляет собой эритроциты с адсорбированными на них антигенами. Иногда применяют антительные эритроцитарные диагностикумы, на которых адсорбированы антитела. Например, можно обнаружить ботулинический токсин, добавляя к нему эритроцитарный антительный ботулинический диагностикум (такую реакцию называют *реакцией обратной непрямой геммагглютинации* — РОНГА). РНГА применяют для диагностики инфекционных болезней, определения гонадотропного гормона в моче при установлении беременности, для выявления повышенной чувствительности к лекарственным препаратам, гормонам и в некоторых других случаях.

Реакция коаггутинации. Клетки возбудителя определяют с помощью стафилококков, предварительно обработанных иммунной диагностической сывороткой. Стафилококки, содержащие белок А, имеющий сродство к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, неспецифически адсорбируют антимикробные антитела, которые затем взаимодействуют активными центрами с соответствующими микробами, выделенными от больных. В результате коаггутинации образуются хлопья, состоящие из стафилококков, антител диагностической сыворотки и определяемого микроба.

Реакция торможения геммагглютинации (РТГА) основана на блокаде, подавлении антигенов вирусов антителами иммунной сыворотки, в результате чего вирусы теряют свойство агглютинировать эритроциты (рис. 13.3). РТГА применяют для диагностики многих вирусных болезней, возбудители которых (вирусы гриппа, кори, краснухи, клещевого энцефалита и др.) могут агглютинировать эритроциты различных животных.

Реакцию агглютинации для определения групп крови применяют для установления системы АВ0 (см. разд. 10.1.4.1) с помощью агглютинации эритроцитов антителами иммунной сыворотки против антигенов групп крови А (II), В (III). Контролем служат: сыворотка, не содержащая антител, т. е. сыворотка АВ (IV) группы крови; антигены, содержащиеся в эритроцитах групп А (II), В (III). Отрицательный контроль не содержит антигенов, т. е. используют эритроциты группы 0 (I).

В реакции агглютинации для определения резус-фактора (см. разд. 10.1.4.1) используют антирезусные сыворотки (не менее двух различных серий). При наличии на мембране исследуемых эритроцитов резус-антигена происходит агглютинация этих клеток. Контролем служат стандартные резус-положительные и резус-отрицательные эритроциты всех групп крови.

Реакцию агглютинации для определения антирезусных антител (непрямую реакцию Кумбса) применяют у больных при внутрисосудистом гемолизе. У некоторых таких больных обнаруживают антирезусные антитела, которые являются неполными, одновалентными. Они специфически взаимодействуют с



Рис. 13.3. Схема реакции торможения гемагглютинации

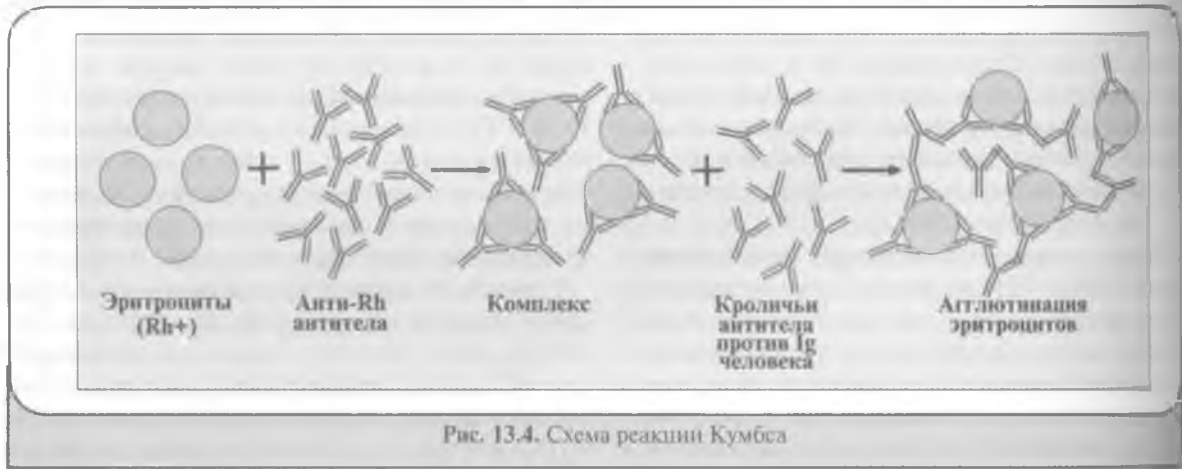


Рис. 13.4. Схема реакции Кумбса

резус-положительными эритроцитами, но не вызывают их агглютинации. Наличие таких неполных антител определяют в непрямой реакции Кумбса. Для этого в систему антирезусные антитела + резус-положительные эритроциты добавляют антиглобулиновую сыворотку (антитела против иммуноглобулинов человека), что вызывает агглютинацию эритроцитов (рис. 13.4). С помощью реакции Кумбса диагностируют патологические состояния, связанные с внутрисосудистым лизисом эритроцитов иммунного генеза, например гемолитическую болезнь новорожденных: эритроциты резус-положительного плода соединяются с циркулирующими в крови неполными антителами к резус-фактору, которые перешли через плаценту от резус-отрицательной матери.

13.3. Реакции преципитации

Реакция преципитации — РП (от лат. *praecipito* — осадить) — это формирование и осаждение комплекса растворимого молекулярного антигена с антителами в виде помутнения, называемого *преципитатом*. Он образуется при смешивании антигенов и антител в эквивалентных количествах; избыток одного из них снижает уровень образования иммунного комплекса.

Реакции преципитации ставят в пробирках (*реакция кольцепреципитации*), в гелях, питательных средах и др. Широкое распространение получили разновидности реакции преципитации в полужидком геле агары или агарозы: *двойная иммунодиффузия по Оухтерлони*, *радиальная иммунодиффузия*, *иммуноэлектрофорез* и др.

Реакция кольцепреципитации. Реакцию проводят в узких преципитационных пробирках с иммунной сывороткой, на которую наслаивают растворимый антиген. При оптимальном соотношении антигена и антител на границе этих двух растворов образуется непрозрачное кольцо преципитата (рис. 13.5). Избыток антигена не влияет на результат реакции кольцепреципитации вследствие постепенной диффузии реагентов к границе жидкости. Если в качестве антигенов в реакции кольцепреципитации используют прокипяченные и профильтрованные водные экстракты органов или тканей, то такая реакция называется *реакцией термопреципитации* (реакция Асколи, при сибирской язве).

Реакция двойной иммунодиффузии по Оухтерлоуни. Для постановки реакции растопленный агаровый гель тонким слоем выливают на стеклянную пластинку и после его затвердевания в нем вырезают лунки размером 2–3 мм. В эти лунки раздельно помещают антигены и иммунные сыворотки, которые диффундируют навстречу друг другу. В месте встречи в эквивалентных соотношениях они образуют преципитат в виде белой полосы. У многокомпонентных систем между лунками с разными антигенами и антителами сыворотки появляется несколько линий преципитата; у идентичных антигенов линии преципитата сливаются; у неидентичных — пересекаются (рис. 13.6).

Реакция радиальной иммунодиффузии. Иммунную сыворотку с расплавленным агаровым гелем равномерно наливают на стекло. После застывания в геле делают лунки, в которые помещают антиген в различных разведениях. Антиген, диффундируя в гель, образует с антителами кольцевые зоны преципитации вокруг лунок (рис. 13.7). Диаметр кольца преципитации пропорционален концентрации антигена. Реакцию используют для определения содержания в крови иммуноглобулинов различных классов, компонентов системы комплемента и др.

Иммуноэлектрофорез — сочетание метода электрофореза и иммунопреципитации: смесь антигенов вносится в лунки геля и разделяется в геле с помощью электрофореза. Затем в канавку параллельно зонам электрофореза вносят иммунную сыворотку, антитела которой, диффундируя в гель, образуют в месте «встречи» с антигеном линии преципитации.

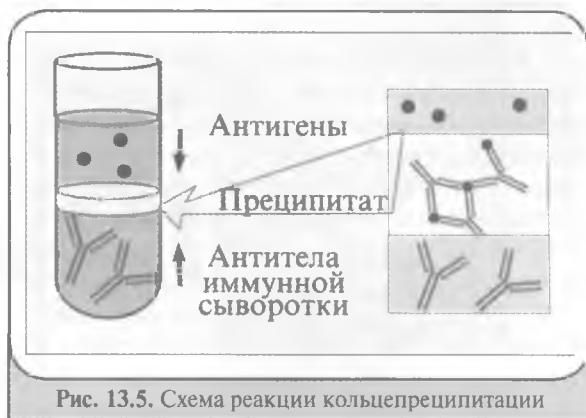


Рис. 13.5. Схема реакции кольцепреципитации

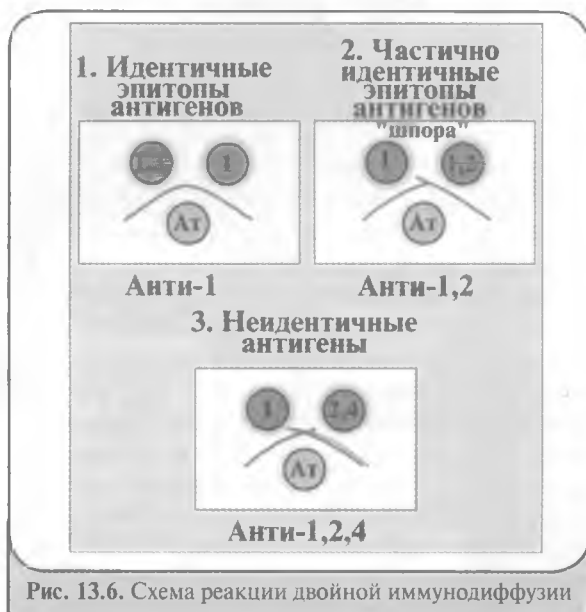


Рис. 13.6. Схема реакции двойной иммунодиффузии

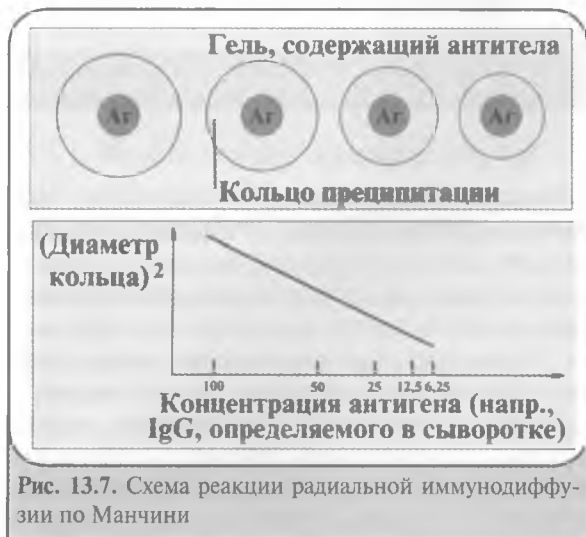


Рис. 13.7. Схема реакции радиальной иммунодиффузии по Манчини

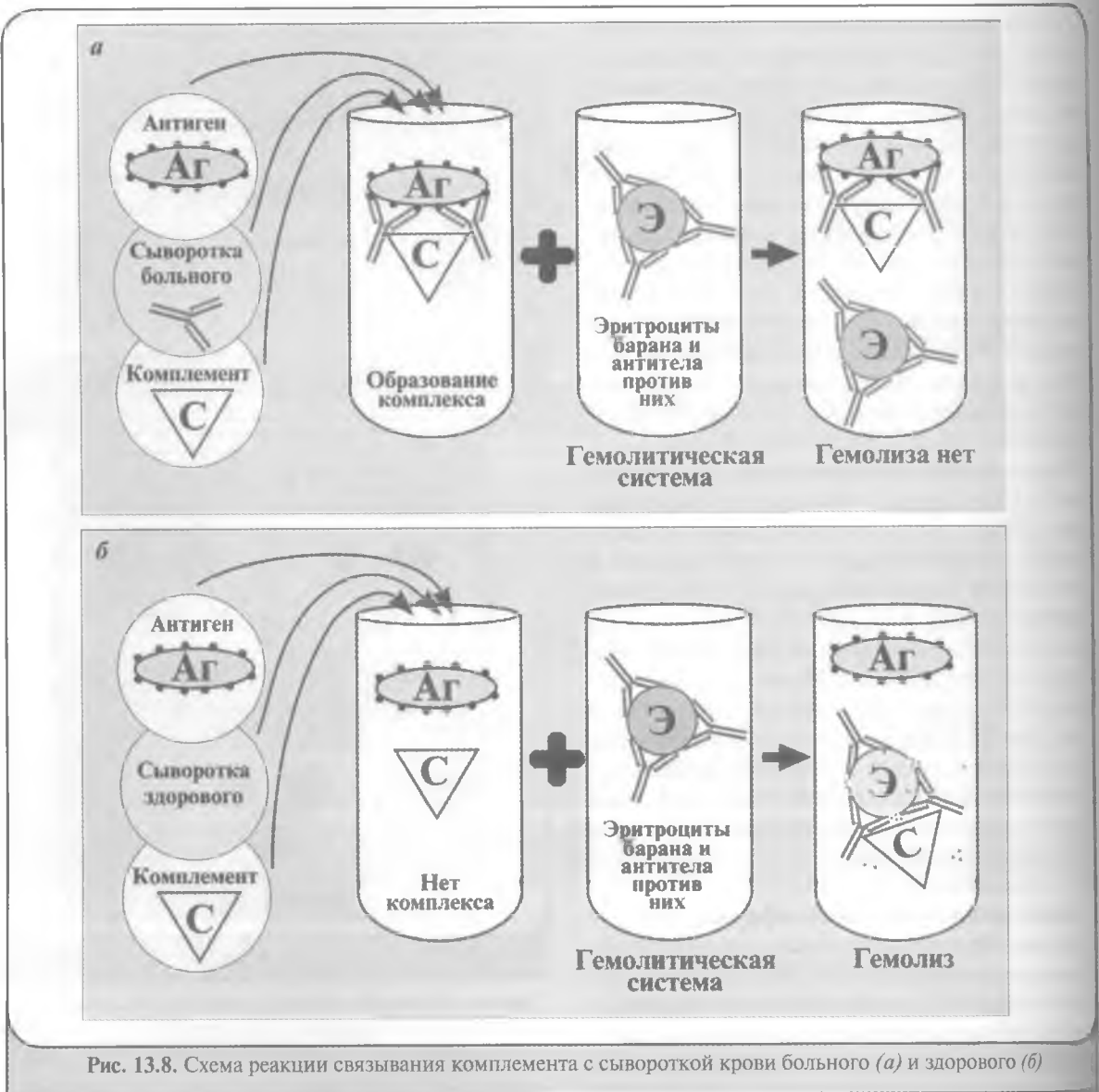


Рис. 13.8. Схема реакции связывания комплемента с сывороткой крови больного (а) и здорового (б)

Реакция флоккуляции (по Рамону) (от лат. *floccus* — хлопья шерсти) — появление опалесценции или хлопьевидной массы (иммунопреципитации) в пробирке при реакции токсин—антитоксин или анатоксин—антитоксин. Ее применяют для определения активности антитоксической сыворотки или анатоксина.

Иммуная электронная микроскопия — электронная микроскопия микробов, чаще вирусов, обработанных соответствующими антителами. Вирусы, обработанные иммунной

сывороткой, образуют иммунные агрегаты (микропреципитаты). Вокруг вирионов образуется «венчик» из антител, контрастированный фосфорно-вольфрамовой кислотой или другими электронно-оптически плотными препаратами.

13.4. Реакции с участием комплемента

Реакции с участием комплемента основаны на активации комплемента комплексом анти-

ген—антитело (реакция связывания комплекта, радиального гемолиза и др.).

Реакция связывания комплекта (РСК) заключается в том, что при соответствии друг другу антигены и антитела образуют иммунный комплекс, к которому через Fc-фрагмент антител присоединяется комплемент (С), т. е. происходит связывание комплекта комплексом антиген—антитело. Если же комплекс антиген—антитело не образуется, то комплемент остается свободным (рис. 13.8). РСК проводят в две фазы: 1-я фаза — инкубация смеси, содержащей три компонента антиген + антитело + комплемент; 2-я фаза (индикаторная) — выявление в смеси свободного комплекта путем добавления к ней гемолитической системы, состоящей из эритроцитов барана, и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к ним. В 1-й фазе реакции при образовании комплекса антиген—антитело происходит связывание им комплекта, и тогда во 2-й фазе гемолиз сенсibilизированных антителами эритроцитов не произойдет; реакция положительная. Если антиген и антитело не соответствуют друг другу (в исследуемом образце нет антигена или антитела), комплемент остается свободным и во 2-й фазе присоединится к комплексу эритроцит — антиэритроцитарное антитело, вызывая гемолиз; реакция отрицательная.

РСК применяют для диагностики многих инфекционных болезней, в частности сифилиса (реакция Вассермана).

Реакцию радиального гемолиза (РРГ) ставят в лунках геля из агара, содержащего эритроциты барана и комплемент. После внесения в лунки геля гемолитической сыворотки (антител против эритроцитов барана) вокруг них (в результате радиальной диффузии антител) образуется зона гемолиза. Таким образом можно определить активность комплекта и гемолитической сыворотки, а также антитела в сыворотке крови у больных гриппом, краснухой, клещевым энцефалитом. Для этого на эритроцитах адсорбируют соответствующие антигены вируса, а в лунки геля, содержащего данные эритроциты, добавляют сыворотку крови больного. Противовирусные антитела взаимодействуют с вирусными антигенами, адсорбированными на эритроцитах, после че-

го к этому комплексу присоединяются компоненты комплекта, вызывая гемолиз.

Реакция иммунного прилипания (РИП) основана на активации системы комплекта корпускулярными антигенами (бактериями, вирусами), обработанными иммунной сывороткой. В результате образуется активированный третий компонент комплекта (С3b), который присоединяется к корпускулярному антигену в составе иммунного комплекса. На эритроцитах, тромбоцитах, макрофагах имеются рецепторы для С3b, благодаря чему при смешивании этих клеток с иммунными комплексами, несущими С3b, происходят их соединение и агглютинация.

13.5. Реакция нейтрализации

Антитела иммунной сыворотки способны нейтрализовать повреждающее действие микробов или их токсинов на чувствительные клетки и ткани, что связано с блокадой микробных антигенов антителами, т. е. их *нейтрализацией*. **Реакцию нейтрализации (РН)** проводят путем введения смеси антиген—антитело животным или в чувствительные тест-объекты (культуру клеток, эмбрионы). При отсутствии у животных и тест-объектов повреждающего действия микроорганизмов или их антигенов, токсинов говорят о нейтрализующем действии иммунной сыворотки и, следовательно, о специфичности взаимодействия комплекса антиген—антитело (рис. 13.9).

13.6. Реакции с использованием меченых антител или антигенов

13.6.1. Реакция иммунофлюоресценции — РИФ (метод Кунса)

Различают три основные разновидности метода: прямой, непрямой (рис. 13.10), с комплектом. Реакция Кунса является методом экспресс-диагностики для выявления антигенов микробов или определения антител.

Прямой метод РИФ основан на том, что антигены тканей или микробы, обработанные иммунными сыворотками с антителами, мечеными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа.

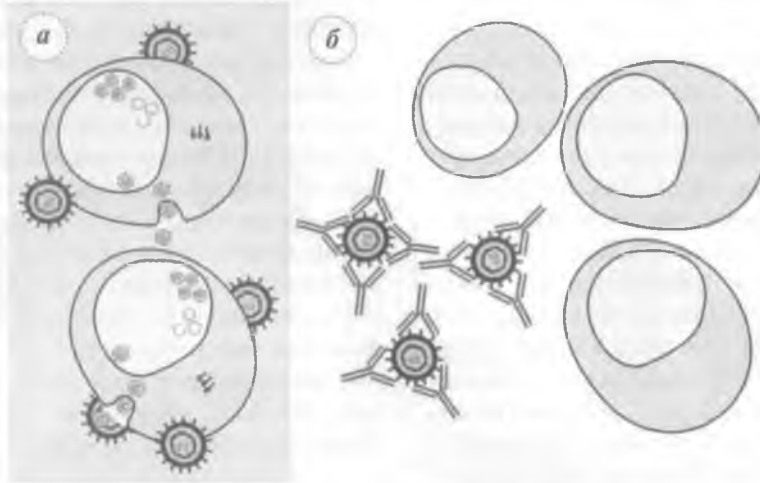


Рис. 13.9. Схема реакции нейтрализации вирусов в культуре клеток: а — цитопатический эффект (ЦПЭ) в результате размножения вирусов; б — ЦПЭ отсутствует в результате нейтрализации вирусов антителами

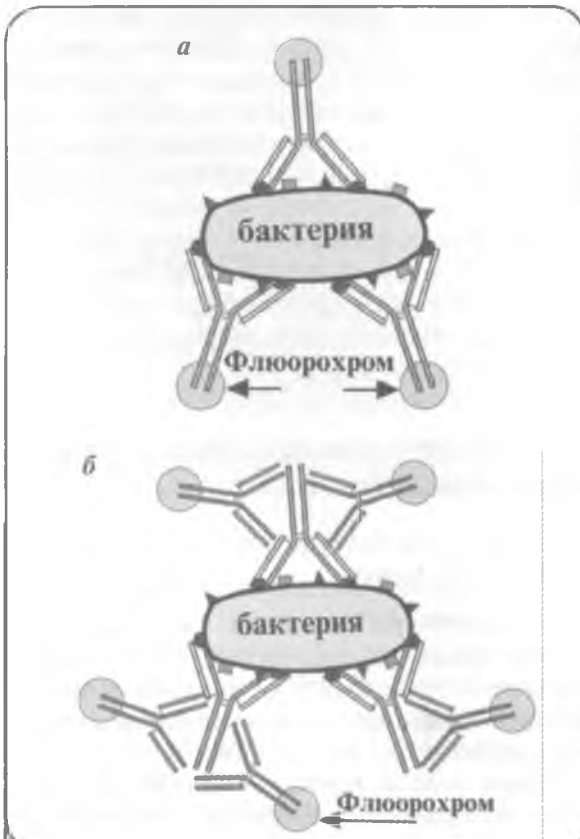


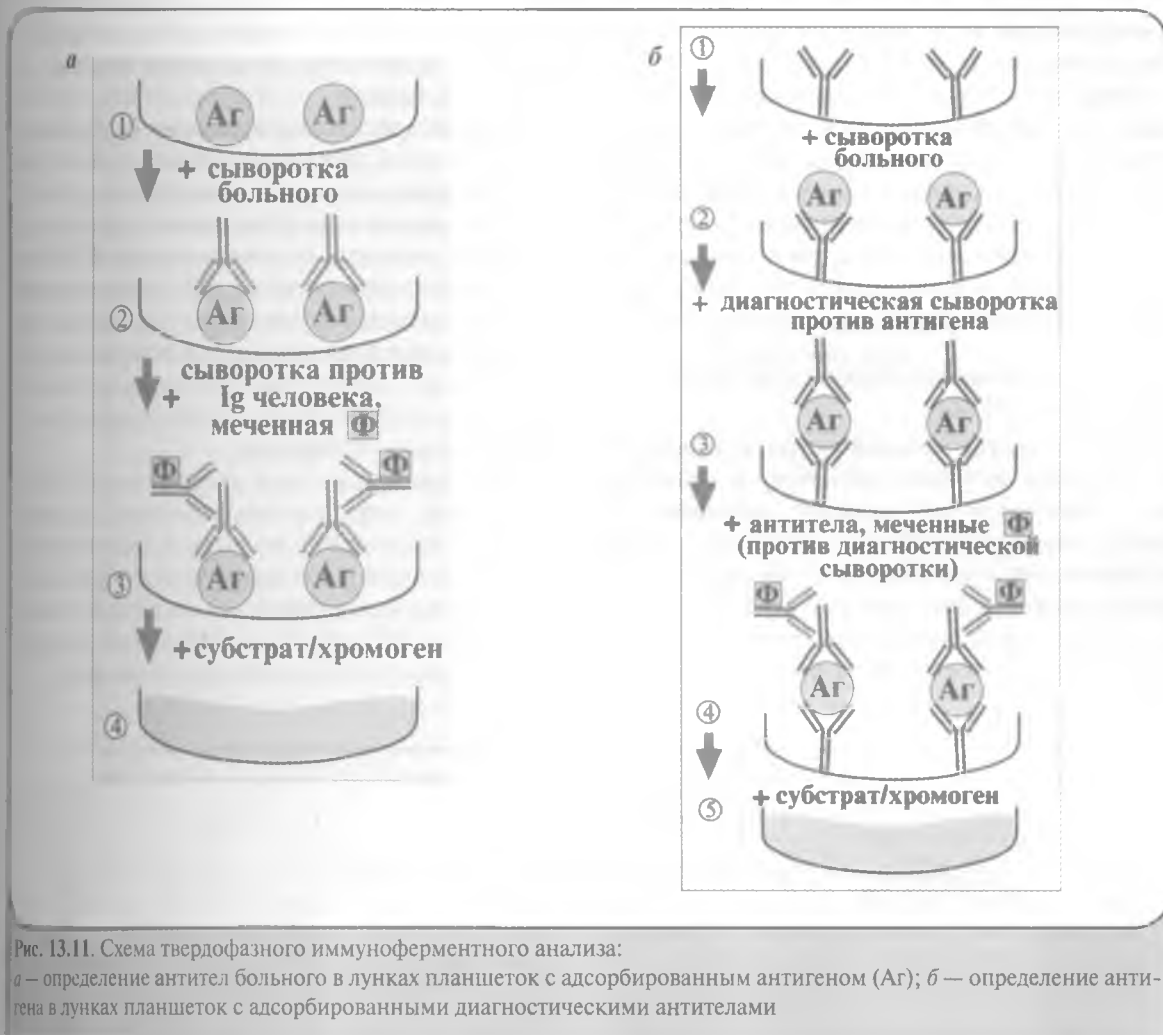
Рис. 13.10. Схема реакции прямой (а) и непрямой (б) иммунофлюоресценции

Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета.

Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген—антитело с помощью антиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченной флюорохромом. Для этого мазки из взвеси микробов обрабатывают антителами антимикробной кроличьей диагностической сыворотки. Затем антитела, не связавшиеся антигенами микробов, отмывают, а оставшиеся на микробах антитела выявляют, обрабатывая мазок антиглобулиновой (антикроличьей) сывороткой, меченной флюорохромом. В результате образуется комплекс микроб + антимикробные кроличьи антитела + антикроличьи антитела, меченные флюорохромом. Этот комплекс наблюдают в люминесцентном микроскопе, как и при прямом методе.

13.6.2. Иммуноферментный метод, или анализ (ИФА)

ИФА — выявление антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом-меткой (пероксидазой хрена, бета-галактозидазой или щелочной фосфатазой). После соединения антигена с меченной ферментом иммунной сывороткой в



смесь добавляют субстрат/хромоген. Субстрат расщепляется ферментом, и изменяется цвет продукта реакции — интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител.

Твердофазный ИФА — наиболее распространенный вариант иммунологического теста, когда один из компонентов иммунной реакции (антиген или антитела) сорбирован на твердом носителе, например в лунках планшеток из полистирола (рис. 13.11).

При определении антител в лунки планшеток с сорбированным антигеном последовательно добавляют сыворотку крови больного, антиглобулиновую сыворотку, меченную ферментом, и субстрат (хромоген) для фермента.

Каждый раз после добавления очередного компонента из лунок удаляют несвязавшиеся реагенты путем тщательного промывания. При положительном результате изменяется цвет раствора хромогена. Твердофазный носитель можно сенсibilизировать не только антигеном, но и антителами. Тогда в лунки с сорбированными антителами вносят искомый антиген, добавляют иммунную сыворотку против антигена, меченную ферментом, а затем субстрата для фермента.

Конкурентный вариант ИФА: искомый антиген и меченный ферментом антиген конкурируют друг с другом за связывание ограниченного количества антител иммунной сыворотки. Другой тест — искомые антитела

и меченые антитела конкурируют друг с другом за антигены.

ИФА применяют для диагностики вирусных, бактериальных и паразитарных болезней в частности для диагностики ВИЧ-инфекций, гепатита В и др., а также определения гормонов, ферментов, лекарственных препаратов и других биологически активных веществ, содержащихся в исследуемом материале в минорных концентрациях — 10^{-10} – 10^{-12} г/л.

13.6.3. Радиоиммунологический метод, или анализ (РИА)

Высокочувствительный метод, основанный на реакции антиген—антитело с применением антигенов или антител, меченных радионуклидом (^{125}I , ^{14}C , ^3H , ^{51}Cr и др.). После их взаимодействия отделяют образовавшийся радиоактивный иммунный комплекс и определяют его радиоактивность в соответствующем счетчике (бета- или гамма-излучение):

интенсивность излучения прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител.

При *твердофазном варианте РИА* один из компонентов реакции (антиген или антитела) сорбирован на твердом носителе, например в лунках микропанелей из полистирола. Другой вариант метода — *конкурентный РИА*. Искомый антиген и меченный радионуклидом антиген конкурируют друг с другом за связывание ограниченного количества антител иммунной сыворотки. Этот вариант используют для определения количества антигена в исследуемом материале.

РИА применяют для выявления антигенов микробов, определения гормонов, ферментов, лекарственных веществ и иммуноглобулинов, а также иных веществ, содержащихся в исследуемом материале в минорных концентрациях — 10^{-10} – 10^{-12} г/л. Метод представляет определенную экологическую опасность.

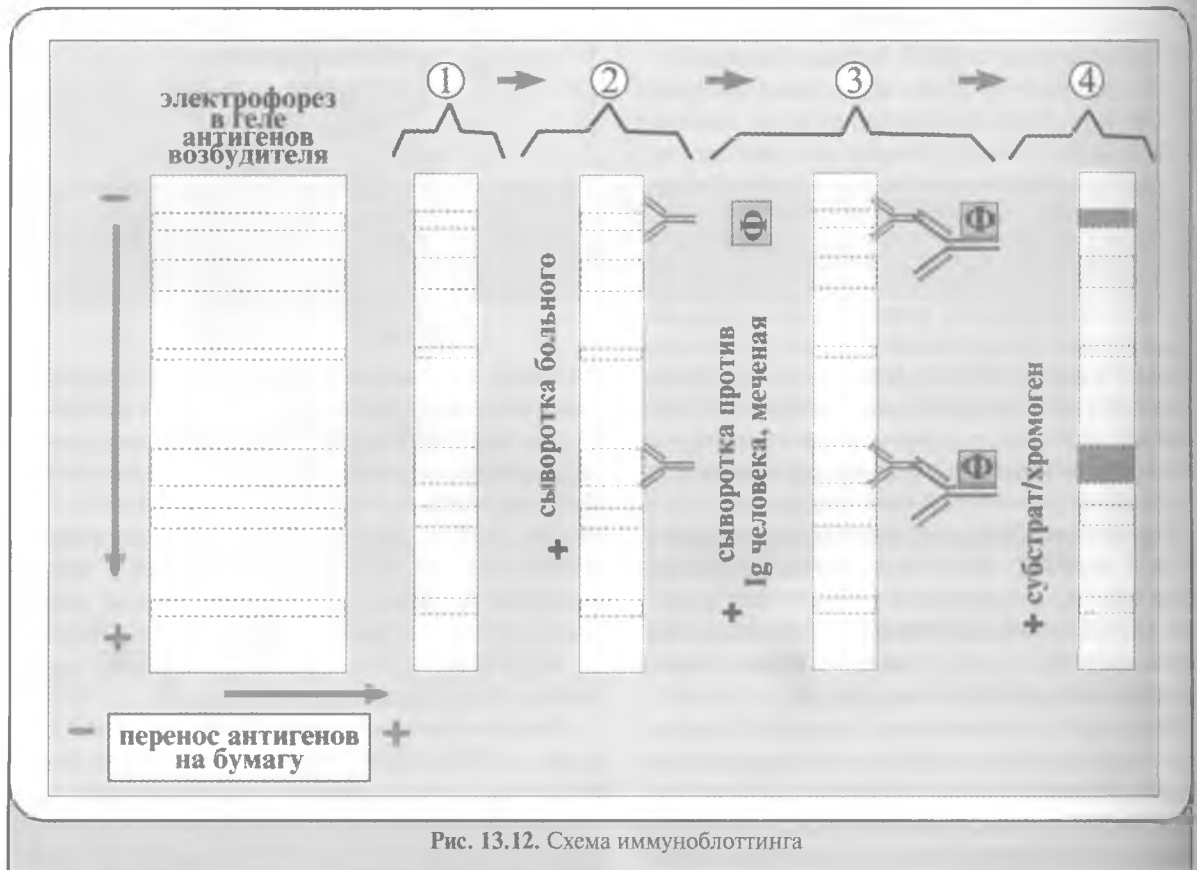


Рис. 13.12. Схема иммуноблоттинга

13.6.4. Иммуноблоттинг

Иммуноблоттинг (ИБ) — высокочувствительный метод, основанный на сочетании электрофореза и ИФА или РИА.

Антиген выделяют с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, затем переносят его (блоттинг — от англ. *blot*, пятно) из геля на активированную бумагу или нитроцеллюлозную мембрану и проявляют с помощью ИФА. Фирмы выпускают такие полоски с «блотами»

антигенов. На эти полоски наносят сыворотку больного. Затем после инкубации отмывают от несвязавшихся антител больного и наносят сыворотку против иммуноглобулинов человека, меченную ферментом. Образовавшийся на полоске комплекс антиген + антитело больного + антитело против Ig человека выявляют добавлением субстрата/хромогена, изменяющего окраску под действием фермента (рис. 13.12).

ИБ используют как диагностический метод при ВИЧ-инфекции и др.

ГЛАВА 14. ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ

14.1. Сущность и место иммунопрофилактики и иммунотерапии в медицинской практике

Иммунопрофилактика и иммунотерапия являются разделами иммунологии, которые изучают и разрабатывают способы и методы специфической профилактики, лечения и диагностики инфекционных и неинфекционных болезней с помощью иммунобиологических препаратов, оказывающих влияние на функцию иммунной системы, или действие которых основано на иммунологических принципах.

Иммунопрофилактика направлена на создание активного или пассивного иммунитета к возбудителю инфекционной болезни, или его антигену, а также патогену с целью предупреждения возможного заболевания путем формирования невосприимчивости к ним организма. Иммунотерапия направлена на лечение уже развившейся болезни, в основе которой лежит нарушение функции иммунной системы, или же иммунной системе принадлежит ведущая роль в восстановлении гомеостаза, т. е. восстановлении здоровья.

Иммунопрофилактика и иммунотерапия применяются в случаях, когда необходимо:

- а) сформировать, создать специфический иммунитет или активизировать деятельность иммунной системы;
- б) подавить активность отдельных звеньев иммунной системы;
- в) нормализовать работу иммунной системы, если имеются отклонения ее функции в ту или иную сторону.

Иммунопрофилактика и иммунотерапия находят широкое применение в различных областях медицины, в первую очередь в профилактике и лечении инфекционных болезней, аллергий, иммунопатологических состояний, в онкологии, трансплантологии, при первичных и вторичных иммунодефицитах и других болезнях.

При этом иммунопрофилактика, а иногда и иммунотерапия являются единственными или же ведущими способами среди других медицинских воздействий для предупреждения или лечения болезней. Например, профилактику полиомиелита, кори и других массовых инфекционных болезней невозможно себе представить без вакцинации. Только благодаря вакцинации, на земном шаре ликвидирована натуральная оспа, планируется к 2005 г. ликвидировать полиомиелит, нет всеохватывающих эпидемий детских, особо опасных и других инфекционных болезней.

В лечении таких токсинемических инфекций, как ботулизм, столбняк, ведущее значение имеет серотерапия, т. е. применение антитоксических сывороток, и иммуноглобулинов.

В терапии онкологических болезней все более широкое применение находят иммуноцитокины. Диагностические иммунопрепараты стали неотъемлемой частью врачебного арсенала в клиниках инфекционных и неинфекционных болезней.

Как было сказано, принцип иммунопрофилактики и иммунотерапии сводится к тому или иному воздействию на иммунную систему, т. е. к активации, супрессии или нормализации ее работы. Это воздействие может быть активным или пассивным, специфическим или неспецифическим. Для такого дифференцированного действия на иммунную систему, которое используется в иммунопрофилактике и иммунотерапии, разработано множество препаратов, объединенных в группу под названием *иммунобиологические препараты* (ИБП).

14.2. Иммунобиологические препараты

14.2.1. Общая характеристика и классификация ИБП

Иммунобиологические препараты имеют сложный состав, отличаются по своей приро-

де, способам получения и применения, целевому назначению. Однако, как указывалось выше, их объединяет то, что они действуют или на иммунную систему, или через иммунную систему, или же механизм их действия основан на иммунологических принципах.

Действующим началом в ИБП являются или антигены, полученные тем или иным способом, или антитела, или микробные клетки и их дериваты, или биологически активные вещества типа иммуноцитокринов, иммунокомпетентные клетки и другие иммунореагенты. Кроме действующего начала, ИБП могут, в зависимости от их природы и характера, включать стабилизаторы, адьюванты, консерванты и другие субстанции, улучшающие качество препарата (например, витамины, адаптогены).

ИБП могут применяться парентерально, перорально, аэрозольно или другими способами, поэтому им придают соответствующую лекарственную форму: стерильные растворы и суспензии или лиофилизированные растворимые порошки для инъекций, таблетки, свечи, аэрозоли и т. д. Для каждого ИБП установлены строго регламентированные дозировки и схемы применения, показания и противопоказания, а также побочные эффекты.

В настоящее время выделяют 5 групп иммунобиологических препаратов (А. А. Воробьев): первая группа — ИБП, получаемые из живых или убитых микробов (бактерий, вирусов, грибов) или микробных продуктов и используемые для специфической профилактики или терапии. К ним относятся живые и инактивированные корпускулярные вакцины, субклеточные вакцины из микробных продуктов, анатоксины, бактериофаги, пробиотики;

вторая группа — ИБП на основе специфических антител. К ним относятся иммуноглобулины, иммунные сыворотки, иммунотоксины, антитела-ферменты (абзимы), рецепторные антитела, мини-антитела;

третья группа — иммуномодуляторы для иммунокоррекции, лечения и профилактики инфекционных и неинфекционных болезней, иммунодефицитов. Сюда относятся экзогенные иммуномодуляторы (адьюванты, некоторые антибиотики, антиметаболиты, гормоны) и эндогенные иммуномодуляторы (интерлей-

кины, интерфероны, пептиды тимуса, миелопептиды и др.);

четвертая группа — адаптогены — сложные химические вещества растительного, животного или иного происхождения, обладающие широким спектром биологической активности, в том числе действием на иммунную систему. К ним относятся, например, экстракты женьшеня, элеутерококка и других растений, тканевые лизаты, различные биологически активные пищевые добавки (липиды, полисахариды, витамины, микроэлементы и другие микронутриенты);

пятая группа — диагностические препараты и системы для специфической и неспецифической диагностики инфекционных и неинфекционных болезней, с помощью которых можно обнаруживать антигены, антитела, ферменты, продукты метаболизма, биологически активные пептиды, чужеродные клетки и т. д.

Разработкой и изучением ИБП занимается раздел иммунологии — иммунобиотехнология.

Ниже дана характеристика этих пяти групп ИБП.

14.2.2. Вакцины

Термин «вакцина» произошел от французского *vacca* — корова. Его ввел Л. Пастер в честь Дженнера, применившего вирус коревой оспы для иммунизации людей против натуральной оспы человека.

Вакцины используют, в основном, для активной специфической профилактики, а иногда и для лечения инфекционных болезней. Действующим началом в вакцинах является специфический антиген, в качестве которого используют:

— живые ослабленные микробы, лишенные патогенности, но сохранившие антигенные свойства;

— инактивированные тем или иным способом цельные микробные клетки или вирусные частицы;

— субклеточные антигенные комплексы (протективные антигены), выделенные из микробов;

— микробные метаболиты (токсины-анатоксины), играющие основную роль в патогенезе инфекций и обладающие специфической антигенностью;

— химически или биологически синтезированные молекулярные антигены, в том числе полученные с помощью рекомбинантных штаммов микробов, аналогичные природным антигенам.

Вакцина представляет собой сложный ИБП, в состав которого наряду со специфическим антигеном, исходя из природы и лекарственной формы препарата, включают стабилизаторы, консерванты, адьюванты. В качестве стабилизаторов, предохраняющих антиген от разрушения, например, при производстве или при длительном хранении вакцины, используют гомологичные белки (альбумин человека), сахарозо-агар-желатину и др. В качестве консервантов, не допускающих размножения случайно попавшей в препарат микрофлоры, применяют мертиолят (1:10 000), формалин и другие antimicrobial препараты. Для повышения иммуногенности антигена в некоторые вакцины добавляют адьюванты.

В табл. 14.1 приведена классификация вакцин в зависимости от их природы, характера и способа получения (А. А. Воробьев).

14.2.2.1. Живые вакцины

Живые вакцины представляют собой препараты, в которых действующим началом являются ослабленные тем или иным способом, потерявшие вирулентность, но сохранившие специфическую антигенность штаммы патогенных микробов (бактерий, вирусов), получившие название аттенуированных штаммов. Аттенуация (ослабление) возможна путем длительного воздействия на штамм химических (мутагены) или физических (температура, радиация) факторов или же длительные пассажи через организм невосприимчивых животных или другие биообъекты (эмбрионы

птиц, культуры клеток). В результате таких воздействий на культуры патогенных бактерий или вирусов селекционируются штаммы со сниженной вирулентностью, но способные при введении в организм человека размножаться и вызывать вакцинный процесс (создавать специфический иммунитет), не вызывая инфекционного заболевания.

Аттенуацию патогенных бактерий с целью получения вакцинных штаммов впервые предложил Л. Пастер на примере вируса бешенства, холеры кур, бацилл сибирской язвы. В настоящее время этот способ широко используется в вакцинологии. В качестве живых вакцин можно использовать дивергентные штаммы, т. е. непатогенные для человека микробы, имеющие общие протективные антигены с патогенными для человека возбудителями инфекционных болезней. Классическим примером дивергентных живых вакцин является вакцина против натуральной оспы человека, в которой используется непатогенный для человека вирус оспы коров. Эти два вируса имеют общий протективный антиген. К дивергентным вакцинам следует также отнести БЦЖ — вакцину, в которой используются родственные в антигенном отношении микобактерии бычьего типа.

В последние годы успешно решается проблема получения живых вакцин генно-инженерным способом. Принцип получения таких вакцин сводится к созданию непатогенных для человека безопасных рекомбинантных штаммов, несущих гены протективных антигенов патогенных микробов и способных при введении в организм человека размножаться, синтезировать специфический антиген и, таким образом, создавать иммунитет к патогенному возбудителю. Такие вакцины называют векторными. В качестве век-

Таблица 14.1. Классификация вакцин (по А. А. Воробьеву)

| Живые вакцины | Комбинированные вакцины (живые + неживые) | Неживые вакцины (инактивированные) | |
|--|--|--|--|
| | | Корпускулярные | Молекулярные |
| Аттенуированные Дивергентные Рекомбинантные (векторные) | | Цельноклеточные Цельновирсионные Субклеточные Субвирсионные | Биосинтетические природные Генно-инженерные биосинтетические Химически синтезированные |

торов для создания рекомбинантных штаммов чаще используют вирус осповакцины, непатогенные штаммы сальмонелл и другие микробы. Уже получены экспериментально и проходят клинические испытания рекомбинантные штаммы осповакцины и сальмонелл, продуцирующие антигены вируса гепатита В, клещевого энцефалита, ВИЧ и других патогенных микробов.

Живые вакцины независимо от того, какие штаммы в них включены (аттенуированные, дивергентные или векторные), получают путем культивирования штаммов на искусственных питательных средах (бактерии), в культурах клеток или в куриных эмбрионах (вирусы), и из полученных чистых культур вакцинных штаммов конструируют вакцинный препарат. В живую вакцину, как правило, включают стабилизатор, не добавляют консервант, вакцину подвергают лиофильному высушиванию. Дозируют вакцину числом живых бактерий или вирусов в зависимости от способа применения: накожно, подкожно, внутримышечно, перорально. Обычно живые вакцины применяют однократно с периодическими ревакцинациями.

14.2.2.2. Инактивированные (убитые) вакцины

Инактивированные вакцины в качестве действующего начала включают убитые химическим или физическим методом культуры патогенных бактерий или вирусов (целноклеточные, целновирсионные вакцины) или же извлеченные из патогенных микробов (иногда вакцинных штаммов) комплексы, содержащие в своем составе протективные антигены (субклеточные, субвирсионные вакцины). Для инактивации бактерий и вирусов применяют формальдегид, спирт, фенол или температурное воздействие, ультрафиолетовое облучение, ионизирующую радиацию.

Для выделения из бактерий и вирусов антигенных комплексов (гликопротеинов, ЛПС, белков) применяют трихлоруксусную кислоту, фенол, ферменты, изоэлектрическое осаждение, ультрацентрифугирование, ультрафильтрацию, хроматографию и другие физические и химические методы.

Получают инактивированные вакцины путем выращивания на искусственных питательных

средах патогенных бактерий или вирусов, которые затем подвергают инактивации, разрушению (в случае необходимости), выделению антигенных комплексов, очистке, конструированию в виде жидкого или лиофильно высушенного препарата. В препарат обязательно добавляют консервант, иногда — адьюванты.

Дозируют вакцину в антигенных единицах; применяют, как правило, подкожно, внутримышечно в виде нескольких инъекций на курс вакцинации.

14.2.2.3. Молекулярные вакцины

В молекулярных вакцинах антиген находится в молекулярной форме или же в виде фрагментов его молекул, определяющих специфичность антигенности, т. е. в виде эпитопов, детерминант. Протективный антиген в виде молекул можно получить биологическим синтезом в процессе культивирования природных патогенных микробов, например, токсигенных бактерий — дифтерии, столбняка, ботулизма и др. Синтезируемый этими бактериями токсин в молекулярной форме превращают затем в анатоксин, т. е. нетоксичные молекулы, сохраняющие специфическую антигенность и иммуногенность. Развитие генной инженерии, создание рекомбинантных бактерий и вирусов, способных синтезировать молекулы несвойственных им антигенов, открыли возможности получения молекулярных антигенов в процессе культивирования рекомбинантных штаммов. Показано, что таким образом можно получить антигены ВИЧ, вирусных гепатитов, малярии, кори, полиомиелита, гриппа, туляремии, бруцеллеза, сифилиса и других возбудителей болезней. В медицинской практике уже используется молекулярная вакцина против гепатита В, полученная из антигена вируса, продуцируемого рекомбинантным штаммом дрожжей. В будущем способ получения молекулярных вакцин из антигенов, синтезируемых рекомбинантными штаммами, будет развиваться быстрыми темпами. Наконец, антиген в молекулярной форме, особенно детерминанты антигена, можно получить химическим синтезом, после расшифровки его структуры. Этим способом уже синтезированы детерминанты многих бактерий и вирусов, в том числе ВИЧ. Однако химический синтез антигенов более трудоемок и имеет

ограниченные возможности по сравнению с биосинтезом. Из полученных биосинтезом или химическим синтезом антигенов или его эпитопов конструируют молекулярные вакцины.

14.2.2.4. Анатоксины (токсоиды)

Примером молекулярных вакцин являются анатоксины: дифтерийный, столбнячный, ботулинический (типов А, В, Е), гангренозный (перфрингенс, нови и др.), стафилококковый, холерный.

Принцип получения анатоксинов состоит в том, что образующийся при культивировании соответствующих бактерий токсин в молекулярном виде превращают в нетоксичную, но сохраняющую специфическую антигенность форму — анатоксин путем воздействия 0,4% формальдегида и тепла (37 °С) в течение 3–4 недель. Полученный анатоксин подвергают очистке и концентрированию физическими и химическими методами для удаления балластных веществ, состоящих из продуктов бактерий и питательной среды, на которой они выращивались. К очищенному и концентрированному анатоксину для повышения его иммуногенности добавляют адъюванты, обычно сорбенты — гели $Al(OH)_3$ и $Al(PO_4)$. Полученные таким образом препараты назвали очищенными сорбированными анатоксинами.

Дозируют анатоксины в антигенных единицах: единицах связывания (ЕС) анатоксина специфическим антитоксином или в единицах флокуляции (Lf). Анатоксины относятся к числу наиболее эффективных профилактических препаратов. Благодаря иммунизации дифтерийным и столбнячными анатоксинами резко снижена заболеваемость и ликвидированы эпидемии дифтерии и столбняка. Очищенные сорбированные анатоксины применяют подкожно или внутримышечно по схеме, предусмотренной календарем прививок.

14.2.2.5. Синтетические вакцины

Молекулы антигенов или их эпитопы сами по себе обладают низкой иммуногенностью по-видимому в связи с деструкцией их в организме ферментами, а также недостаточно активным процессом их адгезии иммунокомпе-

тентными клетками, из-за относительно низкой молекулярной массы антигенов. В связи с этим ведутся поиски повышения иммуногенности молекулярных антигенов путем искусственного укрупнения их молекул за счет химической или физико-химической связи («сшивки») антигена или его детерминанты с полимерными крупномолекулярными безвредными для организма носителями (типа поливинилпирролидона и других полимеров), который бы играл роль «шлеппера» и роль адьюванта.

Таким образом, искусственно создается комплекс, состоящий из антигена или его детерминанты + полимерный носитель + адьювант. Часто носитель совмещает в себе роль адьюванта. Благодаря такой композиции тимуснезависимые антигены можно превратить в тимуснезависимые; такие антигены будут длительно сохраняться в организме и легче адгезироваться иммунокомпетентными клетками. Вакцины, созданные на таком принципе, получили название синтетических. Проблема создания синтетических вакцин довольно сложная, но она активно разрабатывается, особенно в нашей стране (Р. В. Петров, Р. М. Хаитов). Уже создана вакцина против гриппа на полиоксидонии, а также ряд других экспериментальных вакцин.

14.2.2.6. Адъюванты

Как было сказано выше, для усиления иммуногенности вакцин применяют адъюванты (от лат. *adjuvant* — помощник). В качестве адъювантов используют минеральные сорбенты (гели гидрата окиси и фосфата аммония), полимерные вещества, сложные химические соединения (ЛПС, белково-липополисахаридные комплексы, мурамилдипептид и его производные и др.); бактерии и компоненты бактерий, например вытяжки БЦЖ, из которых готовят адьювант Фрейнда; инактивированные коклюшные бактерии, липиды и эмульгаторы (ланолин, арлацел); вещества, вызывающие воспалительную реакцию (сапонин, скипидар). Как видно, все адьюванты являются чужеродными для организма веществами, имеют различный химический состав и происхождение; сходство их состоит в том, что все они способны усиливать им-

муногенность антигена. Механизм действия адъювантов сложный. Они действуют как на антиген, так и на организм (А. А. Воробьев). Действие на антиген сводится к укрупнению его молекулы (сорбция, химическая связь с полимерным носителем), т. е. превращению растворимых антигенов в корпускулярные. В результате антиген лучше захватывается и активнее представляется фагоцитирующими и другими иммунокомпетентными клетками, т. е. превращается из тимусзависимого в тимуснезависимый антиген. Кроме того, адъюванты вызывают на месте инъекции воспалительную реакцию с образованием фиброзной капсулы, в результате чего антиген длительно сохраняется, депонируется на месте инъекции и, поступая из «депо», длительное время действует по принципу суммации антигенных раздражений (ревакцинирующий эффект). В связи с этим адъювантные вакцины называют депонированными. Адъюванты также непосредственно активируют пролиферацию клеток Т-, В-, А-систем иммунитета и усиливают синтез защитных белков организма. Адъюванты усиливают иммуногенность антигенов в несколько раз, а такие растворимые молекулярные белковые антигены, как дифтерийный, столбнячный, ботулинический анатоксины, — до ста раз (А. А. Воробьев).

14.2.2.7. Ассоциированные вакцины

С целью сокращения числа вакцин и числа инъекций при проведении массовой вакцинопрофилактики уже разработаны и ведутся дальнейшие работы по созданию ассоциированных вакцин, т. е. препаратов, включающих несколько разнородных антигенов и позволяющих проводить иммунизацию против нескольких инфекций одновременно. Создание таких вакцин научно обоснованно, так как иммунная система может одновременно отвечать на десятки различных антигенов. Основная задача при создании ассоциированных вакцин состоит в сбалансированности входящих в нее состав антигенов, чтобы не было их взаимной конкуренции и чтобы препарат не вызывал повышенных поствакцинальных реакций. В состав ассоциированных препаратов могут входить как инактивированные, так и живые вакцины. Если в препарат входят од-

нородные антигены, такую ассоциированную вакцину называют поливакциной. Примером может служить живая полиомиелитная поливакцина, в которую входят аттенуированные штаммы вируса полиомиелита I, II, III типа, или полианатоксин, куда входят анатоксины против столбняка, газовой гангрены и ботулизма.

Если ассоциированный препарат состоит из разнородных антигенов, то его целесообразно называть комбинированной вакциной. Комбинированной вакциной является, например, АКДС-вакцина, состоящая из инактивированной корпускулярной коклюшной вакцины, дифтерийного и столбнячного анатоксинов. Возможна также комбинированная иммунизация, когда одновременно раздельно вводят несколько вакцин в различные участки тела — например против оспы (накожно) и чумы (подкожно). К комбинированной вакцинации прибегают в сложной противоземической обстановке (К. Г. Гапачко и др.).

14.2.2.8. Массовые способы вакцинации

Успех вакцинопрофилактики зависит не только от качества вакцины, но и от процента и быстроты охвата населения или групп риска прививками. Производительность, т. е. число вакцинированных людей в один час бригадой вакцинаторов, существенно зависит от способа введения препарата. Так, при накожном (скарификационном) способе одна бригада за час может провакцинировать примерно 20 человек, при подкожном шприцевом способе — 30–40 человек, а с помощью безыгольного инъектора — порядка 1200 человек за час.

В вакцинопрофилактике применяется несколько способов введения вакцин, позволяющих в короткие сроки вакцинировать большое число людей, т. е. обладающих большой производительностью. Эти способы получили название массовых способов вакцинации (А. А. Воробьев, В. А. Лебединский). К ним относятся безыгольная инъекция, пероральный и аэрозольный способы введения вакцин.

Безыгольный способ основан на введении вакцин с помощью безыгольных инъекторов пистолетного типа, в которых, благодаря высокому давлению, создаваемому в приборе с помощью гидравлики или инертного

газа, формируется струя жидкой вакцины проникающая в необходимой объемной дозе (0,5–1 мл) через кожу на заданную глубину (накожно, подкожно, внутримышечно). Разработано множество конструкций безыгольных инъекторов. Такие инъекторы позволяют при хорошей организации прививочной кампании за один час провакцинировать до 1200 человек.

Пероральный способ является самым быстрым, щадящим, привлекательным и адекватным, так как позволяет без насильственного нарушения наружных покровов, безболезненно прививать огромное число людей (до 1500 человек/ч одной бригадой) в любой обстановке (в поликлинике, дома, на вокзале, в поездах, самолетах и др.), без соблюдения правил асептики, медицинских материалов (спирт, йод, шприцы, вата), не требует электроэнергетики и приспособленных помещений.

К сожалению, для перорального способа вакцинации пока разработано лишь ограниченное число вакцин (живая полиомиелитная, оспенная, чумная, противоэнцефалитная вакцины), хотя предпосылки для создания пероральных вакцин против других инфекций (корь, грипп, бруцеллез, туляремия и др.) имеются. Пероральные вакцины могут иметь различную лекарственную форму в зависимости от локализации в желудочно-кишечном тракте «входных ворот» для антигена: оральные (жидкие и таблетированные, в виде конфет-драже), энтеральные (таблетированные с кислотозащитным покрытием, в желатиновых капсулах) или орально-энтеральные (таблетированные). В последние годы внимание привлекают вакцины в виде суппозиторий для перректальной и первагинальной аппликации. Пероральные и перректальные вакцины обеспечивают не только местный иммунитет слизистых оболочек (мукозальный иммунитет), но и иммунитет всего организма; пероральные вакцины иногда называют мукозальными.

Аэрозольный способ основан на введении вакцины через дыхательные пути в виде жидких или сухих аэрозолей. Для этого в закрытых помещениях, в которых размещаются вакцинируемые, с помощью распылителей создают аэрозоль вакцины в расчетных дози-

ровках и выдерживают определенную экспозицию. Аэрозоль вакцины проникает через верхние дыхательные пути во внутреннюю среду организма, обеспечивая как местный, так и общий иммунитет.

Производительность аэрозольного способа не превышает 600–800 человекочас на одну бригаду вакцинаторов. К сожалению, этот метод сложен: требуются распыливающие устройства, электроэнергия; не обеспечивается равномерность дозировки вакцины для каждого вакцинируемого; возможно распространение вакцинного препарата за пределы помещений; после каждого сеанса требуется обработка помещений с целью удаления осевших аэрозолей вакцины и т. д. В связи с перечисленным аэрозольная вакцинация является резервным способом — на случай сложной эпидемической обстановки.

В вакцинопрофилактике иногда используют интраназальный способ аппликации живых вакцин, например против гриппа, кори и других инфекций.

14.2.2.9. Условия эффективности применения вакцин

Эффективность вакцинации зависит от трех факторов: а) качества, т. е. иммуногенности, вакцины; б) состояния организма вакцинируемого; в) схемы и способа применения вакцины.

Качество вакцины, т. е. ее иммунизирующий эффект, побочные нежелательные реакции, которые она может вызывать, зависят от природы, т. е. иммуногенных свойств антигена, характера иммунитета (клеточный, гуморальный и т. д.), дозировки антигена. Между дозой антигена и напряженностью вызываемого иммунитета существует математическая зависимость (см. раздел 10.1.2.2.) установленная А. В. Марковичем и А. А. Воробьевым и названная уравнением антигенности:

$$\text{Lg}H = A + B\text{lg}D,$$

где H — напряженность иммунитета; D — доза антигена; A — коэффициент, характеризующий качество (иммуногенность) единицы антигена; B — коэффициент, характеризующий иммунореактивность (отвечаемость) организма.

По чувствительности к каждому антигену все люди существенно (в десятки и даже сотни раз) отличаются между собой, причем это различие приближается к кривой нормального распределения. Поэтому при создании любой вакцины в качестве иммунизирующей дозировки подбирают дозу антигена, обеспечивающую при определенной схеме применения препарата развитие иммунитета не менее чем у 95 % привитых. Обычно это достигается при 2–3-кратном введении вакцины. При такой схеме вакцинации максимально используется ревакцинирующий эффект. Безусловно, на эффективность вакцинации существенное влияние оказывает иммунореактивность вакцинируемого, т. е. его способность отвечать на антиген, которая зависит от состояния иммунной системы и физиологического состояния организма. Особенно влияет на эффективность вакцинации наличие первичных и вторичных иммунодефицитов, и это естественно, так как иммунная система в этих случаях не в состоянии отреагировать полноценной защитой. Однако имеет значение и общефизиологическое состояние организма, которое оказывает влияние на общую и иммунологическую реактивность последнего. Известно, что на общую реактивность организма оказывают влияние полноценность питания (особенно белкового), наличие витаминов (особенно А и С), экологические и социальные условия жизни, профессиональные вредности, соматические и инфекционные болезни и даже климатогеографические условия. Понятно, что при неблагоприятных условиях, отражающихся на общей физиологической реактивности организма, способность иммунной системы отвечать полноценной реакцией на антиген существенно снижена, но возрастает риск увеличения нежелательных поствакцинальных осложнений. Поэтому существует перечень не только показаний, но и противопоказаний к вакцинации.

Иммунологическую эффективность вакцин предварительно оценивают в эксперименте, а окончательно — в эпизоите. В экспериментальных условиях иммуногенность определяют по коэффициенту защиты на чувствительных к антигену и, соответственно, к патогенному микробу модельных животных

(белые мыши, морские свинки, кролики, обезьяны). Определяют процент заболевших или павших животных в группе иммунизированных вакциной и в группе контрольных неиммунизированных животных (при введении им определенной дозы вирулентной культуры или токсина).

Коэффициент защиты представляет собой отношение процента павших или заболевших животных в опытной и контрольной группах. Например, если в опытной группе погибло 10 % животных, а в контрольной — 90 %, то коэффициент защиты равен: $90/10=9$.

В эпизоите устанавливают *коэффициент эффективности вакцинации*, определяя в больших коллективах людей соотношение числа или процента заболевших в группе, подвергшейся вакцинации, и в равноценной группе невакцинированных людей. В табл. 14.2 приведены примерные величины коэффициента защиты, полученные в эксперименте для отдельных вакцин.

14.2.2.10. Общая характеристика вакцин, применяемых в практике

Для вакцинопрофилактики в настоящее время применяется примерно 40 вакцин, половина из которых — живые вакцины.

Перечень основных вакцин, их примерная защитная эффективность и авторы, разработавшие вакцины, приведены в табл. 14.2, из которой видно, что вакцины существенно различаются по своей эффективности, иногда в десятки раз. Однако независимо от этого применение в практике всех вакцин целесообразно, о чем свидетельствует значительное снижение заболеваемости и смертности среди вакцинированных, что позволяет не только сохранить здоровье и даже жизнь миллионам людей, но и дает большой экономический эффект. Вакцинация является наиболее эффективным и экономичным способом борьбы с инфекционной заболеваемостью.

Длительное время шла дискуссия по вопросу, какие вакцины предпочтительнее — живые или инактивированные. Сравнение этих двух групп вакцин по ряду показателей (иммуногенность, безвредность, реактогенность, простота применения, стандартность, экономичность производства и др.) привело к выводу о

Таблица 14.2. Перечень основных вакцин, применяемых для иммунопрофилактики

| Вид вакцины | Вакцина | Наименование вакцинного штамма | Коэффициент защиты | Авторы |
|--------------------------------|--|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|
| Живые бактериальные | Чумная | EV | 10 | Г. Жерар, Ж. Робик |
| | Туляремийная | 15 | 50–100 | Б. Эльберт, Н. Гайский |
| | Сибиреязвенная | СТИ-1 | 50–100 | Н. Гинзбург, Л. Тамарин |
| | Бруцеллезная | 19 ВА | 10–30 | П. Вершилова |
| | Туберкулезная | БЦЖ | 10 | А. Кальмет, К. Герен |
| | Ку-лихорадка | М-44 | 50–100 | П. Здродовский, В. Генг |
| Живые вирусные | Оспенная | Листер, М-63 | 500 | С. Мареникова и др. |
| | Коревая | Л-16, ЭШИ и др. | 20–30 | А. Смородинцев, М. Чумаков и др. |
| | Гриппозная | Ленинград и др. | 2–3 | А. Смородинцев и др. |
| | Полиомиелитная | 1, 2, 3 тип | 50 | А. Сэбин, М. Чумаков |
| | Паротитная | | 50 | А. Смородинцев, Н. Кличко |
| | Желтой лихорадки | 17Д | 100 | М. Тейлер |
| | Венесуэльского энцефаломиелиита лошадей | № 230 | 10 | А. Воробьев, В. Андреев |
| Анатоксины | Дифтерийный, столбнячный | | 100 | Г. Рамон и др. |
| | Ботулинические (А, В, С, D, E) | | 100 | А. Воробьев, К. Матвеев |
| | Секстанатоксин | | 100 | А. Воробьев, Г. Выгодчиков и др. |
| | АКДС (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная) | | | |
| Инактивированные бактериальные | Брюшнотифозная | Патогенные штаммы | 5–10 | |
| | Сыпнотифозная | | 10 | Р. Вейгль |
| Инактивированные вирусные | Гриппозная | | 2–3 | |
| | Гепатитная А | | 5–10 | |
| | Герпетическая | То же | 5–10 | |
| | Клещевой энцефалит | | 10 | |
| | Бешенство | | 10–30 | |
| Генно-инженерная | Гепатитная В (дрожжевая) | Рекомбинантный штам дрожжей | 10 | Многие авторы |

том, что предпочтительнее та вакцина (будь то живая или убитая), которая обеспечивает наиболее высокий защитный эффект, дает лучшие результаты по снижению инфекционной заболеваемости и не наносит при этом ущерба здоровью вакцинируемым.

Существуют общие требования ко всем вакцинам. Любой рекомендуемый для вакцина-

ции препарат должен быть: иммуногенным, безопасным, не реактогенным, не вызывать аллергических реакций, не обладать тератогенностью, онкогенностью; штаммы, из которых готовят вакцину, должны быть генетически стабильными, вакцина должна обладать длительным сроком хранения, производство ее должно быть технологичным, а способ

применения — по возможности, простым и доступным для массового применения.

14.2.2.11. Показания и противопоказания к вакцинации

Показаниями к вакцинации являются наличие или угроза распространения инфекционных заболеваний, а также возникновение эпидемий среди населения. При массовом проведении профилактических прививок должны учитываться противопоказания к вакцинации, так как при введении практически любой вакцины могут быть нежелательные поствакцинальные осложнения у лиц с теми или иными отклонениями в состоянии здоровья. Противопоказания определены для каждой вакцины в наставлении по ее применению. Общими противопоказаниями к вакцинации являются:

- острые инфекционные и неинфекционные заболевания;
- аллергические состояния;
- заболевания ЦНС;
- хронические заболевания паренхиматозных органов (печени, почек);
- тяжелые заболевания сердечно-сосудистой системы;
- выраженные иммунодефициты;
- наличие злокачественных новообразований.

Поствакцинальные реакции в виде кратковременного повышения температуры тела, местных проявлений (гиперемия, отек на месте инъекции), если они не превышают границу указанных в наставлении по применению вакцины, не являются противопоказанием к прививкам.

14.2.2.12. Календарь прививок

В каждой стране, в том числе и в России, действует календарь прививок (утвержден Министерством здравоохранения), в котором регламентируется обоснованное проведение во все возрастные периоды человека вакцинаций против определенных инфекционных болезней. В календаре указывается, какими вакцинами и по какой временной схеме должен быть привит каждый человек в детском возрасте и во взрослом периоде. Так, в детском возрасте (до 10 лет) каждый человек должен быть привит против туберкулеза, кори, полиомиелита, коклюша, дифтерии, столбняка, гепатита В, а в

эндемичных районах — по особо опасным заболеваниям и против этих инфекций.

В России принят Федеральный закон «О вакцинопрофилактике инфекционных заболеваний человека», который определяет права и обязанности граждан и отдельных групп населения в области вакцинопрофилактики, а также правовое регулирование государственных органов, учреждений, должностных лиц и установление их ответственности в области вакцинопрофилактики.

14.2.3. Бактериофаги

Бактериофаги относятся к иммунобиологическим препаратам, созданным на основе вирусов, поражающих бактерии. Находят применение в диагностике, профилактике и терапии многих бактериальных инфекций (брюшной тиф, дизентерия, холера и т. д.). Механизм действия бактериофагов основан на специфичности фагов к размножению в соответствующих бактериях, что ведет к лизису клеток. Следовательно, лечение и профилактика с помощью бактериофагов носят специфический характер, так как направлены на уничтожение (лизис) бактерий. На этом же принципе основаны фагодиагностика, специфическая индикация и идентификация бактерий с помощью фагов (фаготипирование). Бактериофаги применяют наряду с другими ИБП в случае эпидемических вспышек инфекционных болезней для предупреждения их распространения, а также для лечения больных с точно установленным диагнозом и фаготипированным возбудителем.

Бактериофаги получают культивированием пораженных фагом бактерий на питательных средах и выделением из культуральной жидкости фильтрата, содержащего фаги. Этот фильтрат подвергают лиофильному высушиванию и таблетированию. Возможно также получение бактериофага в виде суспензий. Активность бактериофага устанавливают путем титрования на соответствующих, чувствительных к фагу, культурах бактерий, выращенных на плотных или жидких питательных средах, и выражают числом частиц фага, содержащихся в 1 мл суспензии или в одной таблетке.

Назначают бактериофаги с профилактической и лечебной целью перорально или местно

(например, орошение раневой поверхности в случае стафилококковой или другой раневой инфекции) длительными курсами. Эффект фагопрофилактики и фаголечения — умеренный.

14.2.4. Пробиотики

Пробиотики относятся к иммунобиологическим препаратам, содержащим культуру живых непатогенных бактерий — представителей нормальной микрофлоры кишечника человека и предназначенным для коррекции, т. е. нормализации, качественного и количественного состава микрофлоры человека в случае их нарушения, т. е. при дисбактериозах.

Пробиотики применяют как с профилактической, так и с лечебной целью при дисбактериозах различной этиологии: при соматических и инфекционных болезнях, при экологических и профессиональных влияниях на организм и его микрофлору, при вторичных иммунодефицитах, при нерациональном питании, которые зачастую сопровождаются нарушением микрофлоры, особенно желудочно-кишечного тракта. Поскольку дисбактериозы широко распространены среди населения, так как полиэтиологичны, пробиотики относятся к числу препаратов массового применения, производятся в нашей стране в больших количествах и ими постоянно снабжается аптечная сеть.

К наиболее распространенным пробиотикам относятся «Колибактерин», «Бифидумбактерин», «Лактобактерин», «Бификол», «Субтилин», в состав которых входят соответственно кишечная палочка, бифидобактерии, лактобактерии, споры субтилис или их комбинации.

Препараты представляют собой лиофильно высушенные живые культуры соответствующих микроорганизмов с добавками стабилизаторов и вкусовых веществ и выпускаются в виде порошков или таблеток. Дозируются пробиотики по числу живых бактериальных клеток в таблетке или в 1 г; одна доза обычно содержит 10^7 – 10^8 живых бактерий.

В настоящее время широкое применение нашли пробиотики в виде молочнокислых продуктов: «Био-кефир», кефир «Бифидок»

и другие, содержащие живые бактерии нормальной микрофлоры человека.

Учитывая, что пробиотики содержат живые микробные клетки, они должны храниться в щадящих условиях (определенный температурный режим, отсутствие солнечной радиации т. д.).

Пробиотики назначают перорально длительными курсами (от 1 до 6 месяцев) по 2–3 раза в день и, как правило, в сочетании с другими методами лечения.

14.2.5. Иммунобиологические препараты на основе специфических антител

Антитела относятся к числу основных иммунореагентов, участвующих во многих иммунологических реакциях, определяющих состояние иммунитета организма. Они разнообразны по своей структуре и функциям.

В зависимости от природы и свойств антигенов, к которым они образуются, антитела могут быть антибактериальными, противовирусными, антитоксическими, противоопухолевыми, антилимфоцитарными, трансплантационными, цитотоксическими, рецепторными и т. д. В связи с этим на основе антител создано множество иммунобиологических препаратов, применяемых для профилактики, терапии и диагностики как инфекционных (бактериальных, вирусных, токсинемических), так и неинфекционных болезней, а также для исследовательских целей в иммунологии и других науках.

К иммунобиологическим препаратам на основе антител относятся:

- иммунные сыворотки,
- иммуноглобулины (цельномолекулярные и доменные),
- моноклональные антитела,
- иммунотоксины, иммуноадгезины,
- абзимы (антитела-ферменты).

14.2.5.1. Иммунные сыворотки.

Имуноглобулины

Иммунные лечебные и профилактические сыворотки известны уже более ста лет. Первые иммунные антитоксические противодифтерийные сыворотки получил Беринг. К настоящему времени разработаны и применяются не только антитоксические сыворотки для ле-

чения и профилактики дифтерии, столбняка, газовой гангрены, ботулизма, но и множество противобактериальных (противотифозная, дизентерийная, противочумная и др.), а также противовирусных сывороток (гриппозная, коревая, против бешенства и др.).

Иммунные сыворотки получают путем гипериммунизации (т. е. многократной интенсивной иммунизации) животных (чаще всего лошади, ослы, иногда кролики) специфическим антигеном (анатоксином, бактериальными или вирусными культурами и их антигенами) с последующим, в период максимального антителообразования, кровопусканием и выделением из крови иммунной сыворотки. Иммунные сыворотки, полученные от животных, называют гетерогенными, так как они содержат чужеродные для человека сывороточные белки.

Для получения гомологичных нечужеродных иммунных сывороток используют сыворотки переболевших людей (коревая, паротитная, оспенная сыворотки) или специально иммунизированных людей-доноров (противостолбнячная, противоботулиническая и другие сыворотки) либо сыворотки из плацентарной, а также абортной крови, содержащие антитела к ряду возбудителей инфекционных болезней вследствие вакцинации или перенесенного заболевания.

Естественно, что гомологичные сыворотки предпочтительнее гетерологичных.

Поскольку нативные иммунные сыворотки содержат в своем составе ненужные балластные белки, например альбумин, из этих сывороток выделяют и подвергают очистке и концентрированию специфические белки — иммуноглобулины.

Для очистки и концентрирования иммуноглобулинов используют различные физико-химические методы: осаждение спиртом или ацетоном на холоде, обработка ферментами, аффинная хроматография, ультрафильтрация.

Иногда, а именно для повышения специфичности и активности антител, из молекулы иммуноглобулина выделяют только антигенсвязывающий участок (Fab-фрагменты); такие иммуноглобулины получили название доменных антител.

Активность иммунных сывороток и иммуноглобулинов выражают в антитоксических единицах, в титрах вируснейтрализующей, гемагглютинирующей, преципитирующей, агглютинирующей и т. д. активности, т. е. тем наименьшим количеством антител, которое вызывает видимую или регистрируемую соответствующим способом реакцию с определенным количеством специфического антигена.

Так, активность антитоксической противостолбнячной сыворотки и соответствующего иммуноглобулина выражают в антитоксических единицах (АЕ) или в международных антитоксических единицах (МЕ), т. е. количеством антитоксина, связывающего 100 Dlm или 1000 Dlm для белой мыши столбнячного токсина. Титр агглютинирующих или преципитирующих сывороток выражают в максимальных разведениях сыворотки, вызывающих соответствующие реакции с антигеном; вируснейтрализующие антитела — в разведениях, нейтрализующих определенное количество вируса при биопробах на культуре клеток, развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ) или животных.

Иммунные сыворотки и иммуноглобулины применяют с лечебной и профилактической целью. Особенно эффективно применение сывороточных препаратов для лечения токсинемических инфекций (столбняк, ботулизм, дифтерия, газовая гангрена), а также для лечения бактериальных и вирусных инфекций (корь, краснуха, чума, сибирская язва и др.) в комплексе с другими способами лечения. С лечебной целью сывороточные препараты вводят как можно раньше внутримышечно (иногда внутривенно) в больших дозах.

Профилактические дозы сывороточных препаратов значительно меньше лечебных, а препараты вводят внутримышечно обычно лицам, имевшим контакт с больным или иным источником инфекции, для создания пассивного иммунитета. При введении сывороточных препаратов иммунитет наступает через несколько часов и сохраняется 2—3 недели после введения гетерологичных и в течение 4—5 недель — гомологичных сывороточных препаратов.

После введения сывороточных препаратов возможны осложнения в виде анафилактического шока и сывороточной болезни.

Поэтому перед введением препаратов ставят аллергическую пробу на чувствительность к ним пациента, а вводят их по Безредке.

В некоторых случаях прибегают к пассивно-активной иммунизации, т. е. к одновременно введению сывороточных препаратов и вакцин, в результате чего быстро наступающий, но кратковременный пассивный иммунитет, обусловленный вводимыми антителами, подменяется через 2–3 недели активным иммунитетом, возникающим в ответ на введение вакцины. К пассивно-активной иммунизации прибегают для профилактики столбняка у раненых, при профилактике бешенства и других инфекций.

14.2.5.2. Моноклональные антитела

Как известно, антитела по своей структуре и функциям гетерогенны. Каждый В-лимфоцит (плазмоцит) синтезирует свой класс, подкласс, аллотип иммуноглобулина. Поэтому в ответ на введение антигена в крови появляются поликлональные антитела, т. е. смесь иммуноглобулинов, синтезированных множеством клонов активированных В-лимфоцитов.

Для получения иммуноглобулинов, синтезируемых только одним В-лимфоцитом или полученным от него клоном, т. е. моноклонального иммуноглобулина, необходимо иммунный В-лимфоцит (взятый от иммунизированного животного или человека) размножить в искусственных условиях (в культуре клеток) и добиться синтеза иммуноглобулинов. Однако практическое использование такого пути нереально, поскольку В-лимфоциты не размножаются *in vitro*. Учитывая это, немецкие ученые Келлер и Мильштейн разработали метод получения моноклональных антител с помощью гибридом, т. е. гибридных клеток, образованных путем слияния иммунного В-лимфоцита с миеломной клеткой. Полученные таким образом гибридомы способны быстро размножаться *in vitro* в культуре клеток (что унаследовано от миеломной клетки) и продуцировать при этом иммуноглобулин, характерный для синтеза только взятым для получения гибридомы В-лимфоцитом.

Гибридомы, продуцирующие моноклональные антитела, размножают или в аппаратах, приспособленных для выращивания культур клеток или же вводя их внутривенно

особой линии (асцитным) мышам. В последнем случае моноклональные антитела накапливаются в асцитной жидкости, в которой размножаются гибридомы. Полученные как тем, так и другим способом моноклональные антитела подвергают очистке, стандартизации и используют для создания на их основе диагностических препаратов.

С лечебной и профилактической целью моноклональные антитела, как правило, не применяют из-за риска введения генетического материала миеломных клеток. Однако они широко используются для создания диагностических препаратов и в исследовательских целях.

14.2.5.3. Иммунотоксины.

Имуноадгезины

Антитела искусственно можно получить практически к любым структурам микробной, животной или человеческой клетки и тканям, обладающим антигенностью. Например, получены антитела к рецепторам клеток, в том числе иммунокомпетентным, к адгезинам, клеточным компонентам, ферментам, комплементу, белкам крови, гормонам, иммуномодуляторам и т. д. Эти специфические антитела (в основном моноклональные) к отдельным структурам клеток нашли применение в исследовательских работах, в частности для маркировки клеток (например, CD-маркеры В-лимфоцитов), для изучения механизмов взаимодействия клеток в норме и патологии (имуноадгезины), для адресной доставки лекарственных препаратов и подавления тех или иных биологических процессов (имунотоксины).

Указанные выше антитела пока не находят применения для лечения и профилактики различных болезней.

Изредка находят применение антилимфоцитарная сыворотка для подавления лимфопоэза при некоторых болезнях. Однако применение иммунотоксинов и адгезинов ждет большое будущее.

14.2.5.4. Абзимы

Абзимы — антитела-ферменты. Это искусственно полученные иммуноглобулины, обладающие специфичностью антител к какому-либо промежуточному продукту биологической реакции, обладающему антигенными свойствами.

Абзимы действуют как ферменты-катализаторы и могут ускорять течение биохимических реакций в тысячи раз и более. Например, известно, что в сложном процессе свертывания крови и фибринолизисе последовательно участвует множество белков (факторы XII, XI, X, VIII и др.) Если к одному из этих антигенных белков получить антитела, то, по-видимому, эти антитела, действуя как ферменты-катализаторы, будут в состоянии ускорить или замедлить процесс свертывания крови.

14.2.6. Иммуномодуляторы

На функционирование иммунной системы могут оказывать влияние различные факторы и вещества: или с которыми встречается организм в повседневной жизни (социальные, экологические, профессиональные факторы), или которые используются целенаправленно для профилактики или лечения заболеваний и патологических состояний, связанных с нарушением иммунного статуса (первичные и вторичные иммунодефициты).

Вещества, оказывающие влияние на функцию иммунной системы, называют иммуномодуляторами. Их принято подразделять на экзогенные и эндогенные.

К экзогенным иммуномодуляторам относится большая группа веществ различной химической природы и происхождения, оказывающих неспецифическое активирующее или супрессивное действие на иммунную систему, но являющихся чужеродными для организма.

Эндогенные иммуномодуляторы представляют собой достаточно большую группу олигопептидов, синтезируемых самим организмом, его иммунокомпетентными и другими клетками, и способных активировать иммунную систему путем усиления пролиферации и функции иммунокомпетентных аксессуарных клеток.

К экзогенным иммуномодуляторам можно отнести разнообразные адъюванты, природные или полученные синтезом химические вещества, физические воздействия (радиация, климатические факторы), а к эндогенным иммуномодуляторам — регуляторные пептиды: интерлейкины (ИЛ-1—ИЛ-26), интерфероны (α -, β -, γ -), миелопептиды (5 пептидов), пеп-

тиды тимуса (тактивин, тимозин, тимопоэтин и др.), хемокины, ФНО, КСФ, ТФР. Как те, так и другие иммуномодуляторы могут оказывать на иммунную систему активирующее или супрессивное действие, которые могут быть специфическими и неспецифическими, направленными на активацию и подавление отдельных звеньев в работе иммунной системы.

Так, иммуностимулирующим действием обладают адъюванты: сорбенты, полимеры, полисахариды, ЛПС, комплексы, извлеченные из БЦЖ (адъювант Фрейнда) и других бактерий (продигиозан, сальмазан, мурамилдипептид); многие химические соединения (левамизол, циклоспорин, циметидин), а также иммуоцитокнины (интерлейкины, интерфероны, пептиды тимуса, миелопептиды, ФНО и др.).

Иммуносупрессивным действием обладают все цитостатики, антагонисты пуринов (6-меркаптопурин), аминокислот, ферментов, а также кортикостероиды, антилимфоцитарная сыворотка, моноклональные антитела к рецепторам иммунокомпетентных клеток, облучение (рентгеновские лучи, гамма-излучение и др.).

Иммуномодуляторы нашли широкое применение при первичных и вторичных иммунодефицитах различного происхождения, при онкологических болезнях, при трансплантации органов и тканей, при лечении иммунопатологических и аллергических болезней, в иммунопрофилактике и лечении инфекционных болезней и т. д. Для этого создано множество препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием. К ним относятся препараты интерферона для парентерального и наружного применения (α -, β -, γ -), лейкоферон, рекомбинантный реаферон, виферон (свечевая форма реаферона с витаминами А и С) и др. На основе интерлейкинов создан ряд препаратов, в основном полученных генно-инженерным способом: интерлейкин-1 бета (бета-лейкин), ИЛ-2, -3, -6 и др. На основе пептидов тимуса, извлеченных из тимуса крупного рогатого скота или полученных генно-инженерным способом, созданы препараты тактивин, тимозин, титулин, тимопоэтин. В последнее время получены из природного сырья (костного мозга), а также рекомбинан-

тные препараты на основе миелопептидов (МП-1, МП-2, МП-3, МП-4).

Из экзогенных иммуномодуляторов следует упомянуть препараты, созданные на основе субстанций, извлеченных из микробных клеток: пирогенал (ЛПС *P. aeruginosa*), продигозан (ЛПС *P. prodigiosum*), сальмазан (ЛПС, извлеченный из сальмонелл), ликопид (модифицированный мурамилдипептид), рибомунил, который состоит из рибосом клебсиелл, диплококков с примесью мембранных протеогликанов; ЛПС микобактерий, нуклеонат натрия (натриевая соль низкомолекулярной РНК, выделенной из дрожжей) и др.

Таким образом, медицинская служба располагает большим арсеналом иммуномодуляторов, которые могут быть использованы для иммунокоррекции при различных инфекционных и неинфекционных болезнях, протекающих с вовлечением в патологический процесс иммунной системы.

14.2.7. Адаптогены

Эта группа препаратов близко примыкает к иммуномодуляторам. Однако в отличие от последних она обладает, помимо иммуномодулирующего действия, более широким спектром влияния на функционирование различных органов и систем. К адаптогенам относятся сложные химические вещества растительного и животного происхождения, а также искусственно синтезированные или сконструированные из комплекса природных или синтезированных биологически активных веществ. Чаще всего препараты адаптогенов конструируются на основе биологически активных веществ растительного происхождения (фитоадаптогенов) или из гидробионтов, т. е. обитателей морей и океанов. Уже давно известно стимулирующее действие женьшеня, элеутерококка, красавки, зверобоя, плодов шиповника, семян пальмы Серены и т. д.

Наряду со стимуляцией иммунной системы адаптогены способны вызвать ряд биологических процессов и реакций, способствующих повышению резистентности организма к неблагоприятным воздействиям.

Адаптогены, как правило, применяются с профилактической целью — для предупреж-

дения развития того или иного заболевания или укрепления здоровья, повышения устойчивости организма к неблагоприятным воздействиям. Обычно адаптогены назначаются длительными курсами, их принимают как биологически активные пищевые добавки. Разработано множество препаратов адаптогенов. При этом направленность их действия отличается: одни из них предназначены для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний, другие — заболеваний печени, урогенитального тракта, нервной системы, онкологических болезней и т. д. Основным преимуществом адаптогенов, особенно фитоадаптогенов, является их безвредность (их можно применять годами), природная сбалансированность в них биологически активных веществ, простота приготовления и применения (экстракты и настои растений, микстура, капсулы, таблетки), экологическая чистота исходного для приготовления адаптогенов сырья.

14.2.8. Диагностические препараты

Для иммунодиагностики инфекционных, а также неинфекционных болезней, связанных со изменением функции иммунитета, для оценки иммунного статуса при выявлении влияния на организм неблагоприятных факторов разработано и используется в медицинской практике множество диагностических препаратов и систем. Механизм действия диагностических препаратов и систем основан на гуморальных и клеточных реакциях, выявляемых в опытах *in vitro* и *in vivo*. Комплекс этих реакций очень разнообразен и включает:

- реакции антиген—антитело на основе специфических природных антигенов и антител или же рекомбинантных белков, специфических пептидов и моноклональных антител;
- генетическое титрование на основе амплификации и молекулярной гибридизации (ПЦР);
- клеточные реакции по определению количественного и качественного состояния иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоцитов, фагоцитирующих клеток);
- определение факторов естественной резистентности (комплемента, интерферона, лизоцима и других защитных белков);

- определение иммуноцитокринов и других биологически активных веществ, принимающих участие в регуляции иммунитета;

- кожные пробы и реакции, например аллергические.

Техника и технические средства для постановки упомянутых реакций весьма разнообразны, начиная от использования элементарных проб в пробирках или на предметном стекле и кончая сложными автоматизированными и компьютеризированными методами.

Успешно развиваются биосенсорные тест-системы. Принцип работы биосенсоров основан на регистрации с помощью детекторов физических (опалесценция, агглютинация, тепловое и другие виды излучения) и химических (образование новых продуктов и соединений) эффектов, возникающих при осуществлении специфических реакций иммунитета. Например, если реакция антиген-антитело протекает с выделением тепла, то ее можно регистрировать по тепловому эффекту; если при действии фермента на детектируемый субстрат выделяется CO_2 , то по количеству углекислоты можно определить количество субстрата и т. д.

Для диагностики инфекционных, а также неинфекционных болезней (аллергий, иммунопатологических, опухолевых процессов, реакций отторжения трансплантата, толерантности и т. д.) разработаны сотни диагностических препаратов и систем. С их помощью диагностируют инфекции (чума, СПИД, сибирская язва, туляремия, вирусные гепатиты, брюшной тиф, дифтерия и др.), пищевые, профессиональные и другие виды аллергий, локализацию злокачественных опухолей (рак печени, легких, прямой кишки и др.); иммунные взаимоотношения матери и плода, беременность; совместимость органов и тканей при пересадках, иммунодефицитные состояния; влияние на организм и его иммунную систему экологических, социальных и других факторов.

Чувствительность, специфичность и информативность диагностических препаратов, основанных на иммунологических принципах, как правило, выше, чем других методов диагностики. Применение моноклональных антител, очищенных и специфических антигенов, совершенствование техники регистрации реакций еще более повысили специфичность и информативность диагностических препаратов.

Часть III

ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

ГЛАВА 15. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

15.1. Организация микробиологической и иммунологической лабораторий

Вся работа с микробами проводится в лабораториях, которые в зависимости от основных задач могут быть научно-исследовательскими, диагностическими или производственными.

Лаборатория — это учебное, научное или производственное учреждение или же подразделение учреждения/предприятия, выполняющее экспериментальные, контрольные или аналитические исследования.

В системе органов здравоохранения имеются:

1. Клинико-диагностические лаборатории общего или специального (биохимическая, бактериологическая, иммунологическая, цитологическая и др.) типов, входящие в состав больниц, поликлиник, диспансеров и других лечебно-профилактических учреждений.

2. Бактериологические лаборатории госсанэпиднадзора.

3. Санитарно-бактериологические лаборатории госсанэпиднадзора.

4. Санитарно-химические лаборатории госсанэпиднадзора.

5. Центральные (ЦНИЛ), проблемные, отраслевые, учебные лаборатории вузов.

6. Специализированные лаборатории (особо опасных инфекций и др.).

Углубление знаний о природе микробов и разделение инфекций на бактериальные, вирусные, грибковые, протозойные, хламидийные, риккетсиозные и другие отражается и на специфике работы микробиологических лабораторий. В настоящее время лаборатории и более крупные лабораторные учреждения (отделы, институты, производственные предприятия), как правило, специализированы и работают с той или иной группой микробов.

Все работы с вирусами проводятся в вирусологических лабораториях, оснащенных

соответствующим оборудованием и использующих специальные методы исследования. Существуют микробиологические и протозоологические лаборатории. Специализированный характер приобретают и бактериологические лаборатории, в которых работа концентрируется на определенных группах бактерий, например, риккетсиозные, туберкулезные, лептоспирозные, анаэробные и др. Иммунологические исследования проводятся в иммунологических лабораториях, хотя отдельные виды исследований, например, серодиагностика инфекционных болезней, могут выполняться и в микробиологических лабораториях.

Лабораторная работа с патогенными микробами проводится в специально оборудованных лабораториях, обеспечивающих режим работы и технику безопасности, исключающие возможность заражения персонала и утечку микробов за пределы лаборатории.

Необходимость четкой регламентации условий работы с микробами, в различной степени опасными для сотрудников лабораторий, населения и окружающей среды, обусловила разработку классификации микробов, в которой последние подразделены на 4 группы по степени их биологической опасности (классификация Всемирной организации здравоохранения). В 1-ю группу включены микробы с низкой степенью опасности, т. е. микробы, которые в обычных условиях, как правило, не вызывают заболеваний людей и сельскохозяйственных животных. Во 2-ю группу включены микробы со средней степенью опасности, т. е. микробы, способные вызывать заболевания людей или сельскохозяйственных животных, но в обычных условиях не представляющие опасности для работников лабораторий и для населения; лабораторные заражения и заболевания редко приводят к серьезным последствиям для заболевших, а наличие эффективных средств профилактики и лечения исключает возможность распро-

странения инфекций. К 3-й группе отнесены микробы с высокой степенью опасности для работников лабораторий, так как они часто вызывают тяжелые заболевания у людей, но возможность передачи возбудителя от человека человеку отсутствует или является незначительной. Наконец, в 4-ю группу включены микробы с высокой степенью опасности из-за возможного эпидемического распространения инфекции, поскольку эти микробы способны вызывать тяжелые заболевания у людей и могут легко передаваться другим людям путем прямого контакта или опосредованно.

В России в соответствии с рекомендациями ВОЗ патогенные микробы также делят на 4 группы: 1-я группа — возбудители особо опасных инфекций; 2-я группа — возбудители высококонтагиозных эпидемических заболеваний человека; 3-я группа — возбудители инфекционных болезней, выделяемые в самостоятельные нозологические группы; 4-я группа — условно-патогенные микробы — возбудители оппортунистических инфекций. Нумерация групп микробов, принятая в России, отличается обратным порядком от классификации ВОЗ, где к 1-й группе отне-

сены микробы самой низкой патогенности, а к 4-й группе — особо опасные.

В соответствии с делением микробов на группы по степени их биологической опасности лаборатории также делят на категории. По номенклатуре ВОЗ выделяют три категории микробиологических лабораторий:

- *базовые* (основные или общего типа) лаборатории, которые в связи с конкретными особенностями работы могут быть оборудованы различными защитными устройствами;
- *режимные* (изолированные) лаборатории или лаборатории удержания;
- *лаборатории особого режима* (максимально изолированные) или лаборатории максимального удержания (табл. 15.1).

Безопасность проведения работ в лабораториях всех категорий обеспечивается соблюдением распорядка и правил работы в лаборатории, выполнением требований к лабораторным помещениям и их оснащению, обеспечением лабораторий соответствующим оборудованием, медицинским наблюдением за состоянием здоровья сотрудников, обучением и тренировкой персонала технике безопасности в лаборатории.

Таблица 15.1. Уровень опасности работы с микробами и категории лабораторий

| Группа риска | Классификация лабораторий | Пример лаборатории | Пример микроба, с которым ведутся работы |
|--|--|---|---|
| 1 Низкий индивидуальный и низкий общественный риск | Базовые (основные) | Базовые (основные) учебные лаборатории медицинских вузов | Кишечная палочка, эпидермальный стафилококк |
| 2 Умеренный индивидуальный и ограниченный общественный риск | Базовые (основные) с защитными устройствами и средствами | Лаборатории службы здравоохранения первичного звена, больницы первичного звена, диагностические лаборатории | Сальмонеллы, вирус гепатита В, микобактерии туберкулеза*, вирус лимфоцитарного хориоменингита** |
| 3 Высокий индивидуальный и низкий общественный риск | Режимные (изолированные) или лаборатории удержания | Специальные диагностические лаборатории | Бруцеллы, вирус Ласса, гистоплазма |
| 4 Высокий индивидуальный и высокий общественный риск | Особого режима (максимально изолированные) или лаборатории максимального удержания | Лаборатории особо опасных инфекций | Иерсинии чумы, вирусы Эбола и Марбург, вирус ящура, вирус натуральной оспы |

*В случае больших объемов материала и высоких концентраций микробов в лаборатории или когда используемая техника может привести к образованию аэрозоля, эти и подобные им микробы должны быть отнесены к 3-й группе риска.

**Пример включает также исследовательские лаборатории при соответствующем уровне группы риска.

15.2. Оснащение микробиологической и иммунологической лабораторий

Помещения *базовой лаборатории* должны быть достаточно просторными для обеспечения безопасного проведения лабораторной работы. Стены, потолок и пол должны иметь гладкую поверхность, легко моющуюся, непроницаемую для жидкостей, устойчивую к дезинфектантам, обычно используемым в лаборатории. Полы должны быть нескользкими. Трубы (вода, газ, вакуум и др.) должны отстоять от стен. Необходимо предусмотреть хорошую освещенность для всех видов работы в лаборатории, исключить бликующие поверхности и подвод света через стеклянные потолки. Поверхности рабочих столов должны быть водонепроницаемы, устойчивы к дезинфектантам, кислотам, щелочам, органическим растворителям и умеренному нагреванию. Лабораторная мебель должна быть прочной. Пространство под столами и между мебелью должно быть легкодоступным для уборки. Шкафы для хранения расходных материалов должны быть достаточно вместимыми, чтобы исключить загромождение рабочих столов и проходов. Для длительного хранения материалов оборудуется помещение вне рабочей зоны лаборатории. Каждая лаборатория оборудуется водопроводом и раковиной. Двери должны быть samozакрывающимися, иметь смотровые стекла и соответствовать противопожарным требованиям. В лаборатории должен находиться автоклав для обеззараживания отходов. Вне рабочей зоны лаборатории следует предусмотреть помещения для хранения верхней одежды и личных вещей сотрудников, а также для принятия пищи, питья и курения.

К механической вентиляции базовой лаборатории специальных требований не предъявляется; на форточках и окнах должны быть смонтированы сетки для защиты от проникновения насекомых.

Должны быть предусмотрены помещения и оборудование для безопасной работы и хранения радиоактивных изотопов, сжатых и сжиженных газов, горючих жидкостей и т. д. Предусматривается устройство систем противопожарной безопасности, защиты электросетей и приборов, аварийного душа и приспособлений

для промывания глаз. Выделяется и оснащается помещение для оказания первой помощи. В системе водоснабжения не должно быть соединений между лабораторной и питьевой сетями, общая водопроводная сеть должна быть защищена от обратного тока воды из лабораторной сети устройствами для разрыва струи.

Специального внимания требуют лабораторные отходы, сбросы и стоки. Автоклавы и другие стерилизующие устройства для твердых отходов нуждаются в специально проектируемых помещениях и в специальном обслуживании. Жидкие отходы лаборатории и стоки требуют специальной обработки. Для обеззараживания части отходов и выбросов лаборатории требуются устройства для сжигания, оборудованные приспособлениями для улавливания дыма.

Оснащение базовой лаборатории оборудованием следует проводить, исходя из следующих требований: оборудование должно способствовать ограничению или предупреждению контакта микробиолога с инфекционным материалом, должно быть изготовлено из материалов, непроницаемых для жидкостей, устойчивых к коррозии и прочных, без заусенцев и острых краев; оборудование должно быть сконструировано, изготовлено и установлено так, чтобы использовать его было просто и чтобы можно было легко подвергать его чистке, обеззараживанию и проверке.

Каждую лабораторию оснащают, как минимум, микроскопом, автоклавом, термостатами, сушильными и стерилизационными шкафами, аппаратом для свертывания сыворотки, дистиллятором, центрифугами, лабораторными весами, рН-метром, ФЭК, магнитной мешалкой, моечной ванной.

Рабочие кабинеты лаборатории должны быть светлыми, просторными, теплыми, снабжены подводкой холодной и горячей воды, электричеством, вакуумом, кислородом, воздухом высокого давления и т. п. В некоторых кабинетах оборудуются боксы и вытяжные шкафы. В число обязательных помещений входят лаборатории кишечных, капельных инфекций, санитарно-бактериологическая, серологическая, а также вспомогательные помещения: средоварка, моечная, стерилизационная (чистая и грязная), регистратура,

кладовые, санузел для сотрудников, виварий. В лабораториях с пунктами для обследования на носительство дополнительно оборудуют приемную, процедурную, туалеты для забора материала. Располагают помещения таким образом, чтобы «грязный» и «чистый» потоки не перекрещивались и не соприкасались.

В отношении помещений *режимных лабораторий* должны прежде всего соблюдаться те же требования, которые предусмотрены для лабораторий общего типа. Необходимыми дополнениями для режимных лабораторий являются следующие:

1) лаборатория должна быть отделена от тех частей здания, где передвижение сотрудников не ограничивается. Для отделения лаборатории от таких зон ее располагают в тупиковом конце этажа, а вход в лабораторию оборудуют воздушным шлюзом;

2) отверстия и щели в полу, стенах и потолке герметизируются. Устройства для мытья рук должны быть снабжены приспособлениями для открывания воды ножной педалью или локтем. Окна должны быть закрыты и заклеены. Входные двери в лабораторные помещения должны быть самозакрывающимися и запирающимися на замок;

3) в лаборатории должен находиться автоклав для обеззараживания лабораторных отходов. При необходимости переноса отходов для обеззараживания в другую часть того же здания их помещают в закрытый влагонепроницаемый контейнер;

4) вытяжную вентиляцию проектируют так, чтобы наиболее низкое давление создавалось в помещениях самой высокой опасности инфицирования. В этом случае движение воздуха будет происходить из вспомогательных помещений в направлении основного рабочего помещения. Отработанный воздух выбрасывается в окружающую среду только после фильтрации через бактериальные фильтры.

При оснащении режимных лабораторий оборудованием руководствуются рекомендациями, разработанными для базовых лабораторий, с тем дополнением, что вся работа с инфекционным материалом в них проводится в *защитных боксах* 1-го и 2-го, а иногда и 3-го класса.

В режиме *максимально изолированных* лабораторий существует ряд особенностей для

обеспечения максимальной биологической безопасности персонала, населения и окружающей среды. Так, вход в лабораторию и выход из нее осуществляются через *санитарный пропускник*. При входе обязательно полное переодевание в специальную одежду, при выходе перед переодеванием обязательна целевая санитарная обработка (душ, дезинфектанты) персонала. Автономная вентиляция поддерживает во всех рабочих помещениях разрежение воздуха. Выброс воздуха из вытяжной вентиляции осуществляется только через стерилизующие бактериальные фильтры. Все отходы лаборатории подвергаются обеззараживанию. Стерилизация отработанных материалов в лаборатории проводится путем автоклавирования в проходных автоклавах, расположенных между рабочей и вспомогательной зоной. Лаборатория должна быть оснащена спецканализацией, для того чтобы все жидкие отходы накапливались в емкости и только после обеззараживания сливались в общую канализацию. Изоляция сотрудников лаборатории от инфекционного материала осуществляется с помощью защитных боксов 3-го класса и *пневмокостюмов* с избыточным давлением внутри.

Для создания и практической реализации технических возможностей проведения операций и процессов, при которых инфекционный материал может попадать в окружающую среду, применяют *боксование*. С помощью *боксов* (настольных, ламинарных) создают физические барьеры для предотвращения возможных контактов работающего персонала с инфекционным материалом. Выбор конструкции защитного бокса определяется степенью опасности для человека того микроба или продуктов его жизнедеятельности, с которым планируется работать, а также характером проводимых операций и процессов с точки зрения вероятности образования аэрозолей.

Различают защитные боксы с частичным удержанием микробов (боксы 1-го и 2-го классов) и с полным их удержанием или изолирующие боксы (боксы 3-го класса).

В боксах 1 класса воздух рабочего помещения всасывается через проем в передней панели вентилятором, установленным на выходе из бокса после предфильтра

и высокоэффективного фильтра, и не дает возможности аэрозолю внутри бокса попасть в рабочее помещение. Удаляемый из бокса загрязненный воздух очищается от частиц аэрозоля в префильтре и в специальном фильтре тонкой очистки и выводится в вытяжную систему здания, в котором расположена лаборатория, или выбрасывается непосредственно в рабочее помещение. Боксы 1-го класса применяют для работ с микробами только умеренного уровня опасности.

Боксы 2-го класса представляют собой защитные конструкции с проемом в передней панели для рук работающего. Для защиты персонала и рабочих помещений в боксах создается нисходящий вертикальный воздушный поток благодаря рециркуляции части засасываемого в бокс воздуха. Рециркулирующий, а также выводимый из бокса воздух очищается в высокоэффективных аэрозольных фильтрах. Ламинарный поток воздуха обеспечивает также защиту находящегося внутри бокса исследуемого материала от контаминации посторонней микрофлорой. Боксы 2-го класса используют для работы с микробами низкой категории риска, если лабораторные манипуляции сопровождаются массивным образованием аэрозолей, а также для всех лабораторных работ с микробами, представляющими высокий индивидуальный риск.

Боксы 3-го класса (изолирующие) являются газонепроницаемыми конструкциями, работающими под пониженным давлением. Они создают надежный физический барьер между материалом, находящимся внутри бокса, и персоналом и обеспечивают полное удержание микробов и продуктов их жизнедеятельности. Работа в боксе осуществляется с использованием резиновых перчаток плечевого типа, герметически заделанных в стенки бокса. Воздух, засасываемый в бокс и выводимый из него вентилятором, подвергается очистке в префильтре и в двух последовательно установленных высокоэффективных фильтрах либо проходит через термический затвор для сжигания всего органического материала. Очищенный воздух отводят по автономным воздушным системам за пределы здания, или сбрасывают в центральную систему транспортировки и очистки технологического воздуха. Жидкие отходы из боксов 3-го класса собирают в специальную емкость, подвергают термической обработке, а затем сбрасывают в общую канализационную систему лаборатории. В боксах 3-го класса допускается работа с микробами любого уровня опасности. Для проведения специализированных и комплексных исследований боксы 3-го класса могут объединяться в защитные технологические линии и

комплексы таких линий. В состав таких линий могут включаться ферментеры, инкубаторы, рефрижераторы, замораживатели, центрифуги, измельчители, гомогенизаторы и другое оборудование. Некоторые линии отводятся для изолированного содержания подопытных животных. Соединение отдельных элементов в линии, а линий в комплексы осуществляется с помощью переходных камер-шлюзов.

Для группировки всех помещений микробиологических лабораторий с одинаковыми уровнями реально присутствующих или потенциально возможных профессиональных вредностей, разделения их между собой и отделения их от внешней среды защитными барьерами применяют *зонирование*.

В зонах используют специальную для каждой из них рабочую или защитную одежду, средства индивидуальной защиты, осуществляют адекватную отделку помещений и проводят дифференцированную обработку воздушных вентиляционных и технологических выбросов, твердых и жидких отходов. Разделение помещений по зонам позволяет наиболее целесообразно проводить их обеззараживание, целевую санитарную обработку персонала, обработку использованной спецодежды и других средств индивидуальной защиты, материалов и предметов, передаваемых между зонами. Немалую роль при реализации принципа зонирования играет также экономический фактор; целесообразнее ограничить контроль профессиональных вредностей лишь теми помещениями, где они имеются, чем распространять его на лабораторию в целом.

Мероприятия по зонированию помещений реализуются при проектировании и строительстве лаборатории. Исходя из функционального предназначения лаборатории и схемы исследовательского процесса, выделяют группу помещений, которые должны быть изолированы от других помещений и окружающей среды, если в них запланировано проводить работу с активными препаратами, вследствие чего такие помещения должны рассматриваться как потенциально или фактически «грязные». При их проектировании должна учитываться диктуемая спецификой соответствующих исследований необходимость и вероятность работы с активными материалами в открытом виде непосредственно на лабораторных столах или в негерметичной аппаратуре и приборах, которые

имеют такие габариты, что их невозможно поместить в защитные боксы. Эти помещения составляют ядро современных микробиологических лабораторий и требуют при их проектировании, строительстве и эксплуатации особого внимания. Эта группа помещений формирует 3-ю зону комплексной диагностической или исследовательской лаборатории.

Помещения лаборатории, для которых типична работа с инфекционными материалами в герметичной аппаратуре, приборах и в защитных боксах, квалифицируются как «условно грязные» и относят ко 2-й зоне.

Отдельную группу рабочих помещений лаборатории составляют помещения буферного предназначения, которые выполняют функции препараторских и обслуживают основные помещения (3-я и 2-я зоны) лаборатории. В этих помещениях проводят работы только с неактивными препаратами, с материалами, лабораторной посудой и реактивами общего пользования. Временное пребывание в этих помещениях биологически активных материалов и подлежащих передаче в основные помещения лаборатории разрешается только в герметической укупорке, исключающей загрязнение помещений. Данные помещения считаются «чистыми» и относятся к помещениям 1-й зоны.

В лабораториях имеются помещения общего предназначения, планировка, отделка и оснащение которых так же, как и помещений 1-й зоны, должны отвечать общим архитектурным требованиям, предъявляемым к зданиям научно-исследовательских учреждений. К ним относятся вестибюли, гардеробы, административные кабинеты, буфеты, склады, помещения технического обслуживания (мастерские, котельные, трансформаторные и др.). Эти помещения формируют 0-ю зону лаборатории.

Дифференциация рабочих помещений лабораторий по различным зонам требует четкого обозначения границ между зонами и создания на этих границах, за исключением входа и выхода в 0-ю зону, санитарных пропускников для людей, а также установки соответствующих передаточных устройств для материалов и исследовательской аппаратуры и приборов.

Санпропускники предназначены для исключения выноса на одежде и на теле людей специфических микроорганизмов при переходе персонала из более «грязных» помещений в менее «грязные». Это достигается переодеванием персонала, следующего в помещения более «грязной» зоны, в санпропускниках в спецодежду,

установленную для данной зоны, использованием необходимых дополнительных средств индивидуальной защиты вплоть до пневмокостюмов, снятием и обработкой использованной спецодежды и других средств индивидуальной защиты при выходе из указанной зоны, целевой санитарной обработкой персонала и, наконец, одеванием одежды, характерной для зоны, в которую входит сотрудник.

Санпропускники целесообразно располагать на границах 0-й и 1-й зон (санпропускник 1-й зоны), 1-й и 2-й зон (санпропускник 2-й зоны), 2-й и 3-й зон (санпропускник 3-й зоны). Зональные санпропускники должны обеспечивать:

- санпропускник 1-й зоны: при входе персонала из 0-й зоны в 1-ю — замену домашней одежды на рабочую, но не спецодежду, при выходе из 1-й зоны — гигиенический душ для персонала, замену рабочей одежды на домашнюю;

- санпропускник 2-й зоны: при входе персонала из 1-й зоны во 2-ю — замену рабочей одежды 1-й зоны на спецодежду в соответствующем комплекте; при выходе из 2-й зоны — целевую санитарную обработку персонала, замену спецодежды на рабочую, регламентированную обработку снятой спецодежды;

- санпропускник 3-й зоны: при входе персонала из 2-й зоны в 3-ю — дополнение спецодежды 2-й зоны пневмокостюмом; при выходе из 3-й зоны — обработку пневмокостюма непосредственно на человеке под «химическим душем», снятие и дальнейшую обработку пневмокостюма, восстановление комплекта спецодежды, предназначенного для 2-й зоны.

Кроме разграничения рабочих зон лаборатории с помощью санитарных пропускников, значительное внимание при проектировании необходимо уделить выбору местоположения каждой зоны в общей системе лаборатории или здания. Необходимо располагать помещения более высокой зональности внутри помещений более низкой зональности, по принципу «ящик в ящике», не допуская примыкания помещений 3-й зоны к наружным ограждениям зданий и расположения их на последних верхних этажах, в подвалах и над помещениями 0-й и 1-й зон. Помещения 2-й и 3-й зон должны иметь автономные системы вентиляции, которые создают

в этих помещениях разряжение, обеспечивающее направленное движение воздуха в сторону помещений более высокой зональности. Воздух, выбрасываемый системами вентиляции 2-й и 3-й зон, фильтруется через фильтры тонкой очистки или каскады таких фильтров. Системы сбора и обработки стоков для 2-й и 3-й зон также должны быть автономными.

15.3. Правила работы в микробиологической лаборатории

Основные правила работы в базовой лаборатории предусматривают:

- запрет работ с пипеткой при помощи рта;
 - запрет приема пищи, питья, курения, хранения пищи и применения косметических средств в рабочих помещениях;
 - поддержание чистоты и порядка;
 - дезинфекцию рабочих поверхностей не реже 1 раза в день и после каждого попадания на них заразного материала;
 - мытье рук персоналом после работы с заразным материалом, животными, перед уходом из лаборатории;
 - проведение всех работ таким образом, чтобы свести к минимуму возможность образования аэрозоля;
 - обеззараживание всех инфицированных материалов перед выбросом или повторным использованием;
 - заразный материал, предназначенный к уничтожению вне лаборатории, помещают в прочные непромокаемые контейнеры, которые надежно закрывают перед удалением из лаборатории;
 - запрет на использование лабораторной спецодежды и средств индивидуальной защиты вне лаборатории;
 - дезинфекцию всех инфицированных предметов;
 - применение очков или других защитных средств для глаз и лица от брызг или образующихся при работе частиц;
 - допуск в рабочую зону только лиц, предупрежденных о потенциальной опасности и выполнивших специальные требования (например, вакцинация);
 - во время работы двери лаборатории должны быть закрыты;
 - вход в виварий ограничен специально отобранным для работы там персоналом;
 - детям вход в лабораторию запрещен;
 - проведение текущей дезинсекции и дератизации лабораторных помещений;
 - запрещено вносить в лабораторию животных, не предназначенных для работы;
 - использование остроконечных шприцевых игл ограничено парентеральными инъекциями; забором крови у лабораторных животных или жидкостей из флаконов через резиновые пробки;
 - шприцы и иглы при работе с инфекционными жидкостями нельзя использовать вместо приборов автоматического пипетирования;
 - вместо остроконечных игл везде, где возможно, должны использоваться тупоконечные канюли;
 - работа с кровью, заразным материалом и зараженными животными ведется в резиновых перчатках;
 - после работы перчатки снимают с соблюдением правил асептики и перед удалением из лаборатории автоклавируют;
 - немедленное сообщение руководителю лаборатории обо всех аварийных ситуациях, создающих угрозу биологической безопасности;
 - проведение медицинских мероприятий в соответствии с медицинским значением происшествия;
 - отбор у всех сотрудников лаборатории проб крови перед допуском к работе и сохранение фонового образца сыворотки;
 - периодический отбор проб крови персонала для исследования в соответствии с характером работы и степенью риска;
 - ответственность руководителя лаборатории за обучение персонала технике безопасности;
 - в лаборатории должна быть инструкция по технике безопасности;
 - персонал должен быть предупрежден об имеющейся биологической опасности;
 - персонал должен знать порядок и правила работы в лаборатории и строго выполнять их.
- Правила работы режимных лабораторий включают все положения, обязательные для лабораторий общего типа. Специальными правилами являются следующие:
- в лабораторных помещениях все манипуляции должны осуществляться только двумя

сотрудниками, работа в одиночку с инфекционным материалом запрещена;

- все двери лабораторных помещений должны быть снабжены объявлениями и знаком биологической опасности, на двери указывают ответственное за работу лицо и условия (вакцинация и т. п.) при которых разрешается вход;

- обязательно постоянное ношение в лаборатории спецодежды и других средств индивидуальной защиты, целевая санитарная обработка персонала при выходе из лаборатории: спецодежда перед стиркой подвергается обеззараживанию;

- работа с зараженными животными в виварии проводится в респираторах.

Правила работы для максимально изолированных лабораторий дополняются тем, что вход и выход из лаборатории осуществляются через санитарный пропускник, расположенный между рабочей и вспомогательной зоной; при входе обязательно полное переодевание в специальную одежду, а при выходе — целевая санитарная обработка персонала.

15.4. Принципы микробиологической диагностики инфекционных болезней

Лабораторная диагностика болезней человека основана на обнаружении в организме больного микроба, вызвавшего болезнь, его компонентов (антигенов) или продуктов его жизнедеятельности (токсинов и т. п.) или изменений в параметрах гомеостаза под действием этого микроба, например формулы крови, биохимического состава крови и т. д.

Наиболее важное место в лабораторной диагностике инфекционных болезней занимает специфическая микробиологическая диагностика, которую проводят в бактериологической, вирусологической, иммунологической и других лабораториях.

Забор материала для исследования. Первым этапом микробиологической диагностики является *забор материала* для исследования, выбор которого определяется патогенезом и клиникой инфекционного заболевания. Исследуемый материал берут, по возможности, в асептических условиях, помещают в стерильную посуду и как можно быстрее доставляют в лабораторию (желательно в течение

часа). В некоторых случаях посев материала проводят у постели больного. Иногда допускается непродолжительное хранение материала в регламентированных условиях. Исследуемый материал сопровождается документом, в котором обязательно указываются время взятия, характер материала, его источник и точно формулируется цель исследования.

Материалом для исследования в медицинской микробиологии служат различные биологические и патологические жидкости и другие материалы, взятые из организма (кровь, гной, моча, мокрота, ликвор, испражнения, рвотные массы, промывные воды и т. п.), и ткань — биопсия от живого или аутопсия от трупа. В некоторых случаях на исследование берут объекты окружающей среды: воздух, воду, пищевые продукты, смывы и т. п. При заборе материала для микробиологического исследования необходимо соблюдать следующие правила:

- вид материала определяется клинической картиной заболевания, т. е. он должен соответствовать локализации предполагаемого возбудителя на данном этапе патогенеза болезни;

- количество материала должно быть достаточным для проведения исследования и его повторения в случае необходимости;

- материал берут, по возможности, в начальном периоде болезни, так как именно в этот период возбудители выделяются чаще, их больше, они имеют более типичную локализацию;

- забор материала должен осуществляться до начала антимикробной химиотерапии или через определенный промежуток времени после приема антибактериального препарата, необходимый для выведения последнего из организма; материал берут непосредственно из очага инфекции или исследуют соответствующее отделяемое (гной, мочу, желчь и т. п.);

- материал берут в момент наибольшего содержания в нем возбудителя;

- необходимо исключить возможность контаминации материала нормофлорой больного и микробами окружающей среды, для чего материал берут в асептических условиях при адекватном доступе к очагу инфекции;

- следует предупредить возможность попадания в материал антимикробных препаратов

(дезинфектантов, антисептиков, антибиотиков);

- любой клинический материал должен рассматриваться как потенциально опасный для человека, поэтому при его заборе, хранении, транспортировке и обработке должны соблюдаться все правила биологической безопасности;

- транспортировку материала в лабораторию следует проводить в максимально короткие сроки, чтобы исключить гибель неустойчивых видов микробов, или помещать его в специальные транспортные среды;

- к материалу прилагают сопроводительный документ, содержащий основные сведения, необходимые для проведения микробиологического исследования (Ф.И.О. больного, номер истории болезни, клинический диагноз и т. д.).

- в процессе транспортировки материал следует оберегать от действия света, тепла, холода, механических повреждений, чтобы исключить гибель микробов и контаминацию материала посторонней микрофлорой. Лучше всего доставлять материал в специальных металлических изотермических контейнерах, которые легко очищать и обеззараживать. Нельзя отправлять материал в лабораторию с больными или со случайными людьми.

Микробиологическая диагностика. Микробиологическая диагностика включает в себя 5 методов:

- микроскопический;
- культуральный;
- биологический;
- серологический;
- аллергологический.

Микроскопический метод заключается в приготовлении препаратов (нативных или окрашенных простыми или сложными методами) из исследуемого материала и их микроскопии с применением различных видов микроскопической техники (световая, темнопольная, фазово-контрастная, люминесцентная, электронная и др.). В бактериологии микроскопический метод получил название *бактериоскопического*, в вирусологии — *вирусоскопического*.

Культуральный метод заключается в посеве исследуемого материала на искусствен-

ные питательные среды с целью выделения и идентификации чистой культуры возбудителя или возбудителей. В бактериологии культуральный метод получил название *бактериологического*, в микологии — *микологического*, в протозоологии — *протозоологического*, в вирусологии — *вирусологического*.

Биологический метод (экспериментальный или биопроба) заключается в заражении исследуемым материалом чувствительных лабораторных животных или других биологических объектов (куриные эмбрионы, культуры клеток). Его используют для выделения чистой культуры возбудителя, определения типа токсина, определения активности антимикробных химиотерапевтических препаратов и т. д.

Серологический метод заключается в определении титра специфических антител в сыворотке крови больного, реже — в обнаружении микробного антигена в исследуемом материале. С этой целью используются реакции иммунитета.

Аллергологический метод заключается в выявлении инфекционной аллергии (ГЗТ) на диагностический микробный препарат-аллерген. С этой целью ставят кожные аллергические пробы с соответствующими аллергенами.

Очевидно, что диагностическая ценность перечисленных методов неравнозначна. Ведущим методом микробиологической диагностики является культуральный метод, так как он позволяет выделять и идентифицировать микроб-возбудитель, т. е. первопричину болезни. Остальные методы менее информативны, так как они имеют дело с изменениями в организме, обусловленными наличием в нем микроба. Второе место по значимости занимает серологический метод, поскольку взаимодействие антигена и антитела характеризуется высокой степенью специфичности. Информативность трех остальных методов невысокая, и они обычно служат дополнением к культуральному и серологическому методам. Так, микроскопия исследуемого материала далеко не всегда позволяет увидеть и идентифицировать микробы под микроскопом. Их удастся обнаружить только при высокой обсемененности ими материала. Даже обнаружив бактерии, под микроскопом их невозможно идентифицировать, до вида морфологически. Как известно, все видовое многообразие бактерий сводится к четырем основным морфологическим формам: кокки, палочки, извитые

и ветвящиеся формы. Поэтому по микроскопической картине можно весьма ориентировочно отнести увиденные бактерии к крупному таксону, например, грамположительные кокки. Только в единичных случаях, когда бактерии имеют уникальную морфологию, на основании микроскопии можно определить их родовую принадлежность. При микроскопии грибов и простейших информативность микроскопического метода выше, так как грибы и простейшие, являясь эукариотами, имеют более крупные размеры и более характерную морфологию.

Диагностические возможности экспериментального метода ограничены тем, что к большинству возбудителей антропонозных инфекций человека лабораторные животные невосприимчивы, поэтому вызвать у них экспериментальную инфекцию не представляется возможным.

Возможности аллергологического метода ограничены тем, что большинство микробов, попадая в организм человека, не вызывают ГЗТ.

Поскольку микробиологические исследования являются одним из наиболее дорогих видов лабораторных исследований, перед микробиологом стоит задача постановки достоверного микробиологического диагноза с наименьшей затратой времени, сил и средств. Поэтому для постановки диагноза используют от одного до пяти методов диагностики, с тем чтобы выбранный набор методов гарантировал правильность ответа.

Особое значение приобретают *методы экспресс-диагностики*, которые позволяют поставить микробиологический диагноз в течение короткого промежутка времени (от нескольких минут до нескольких часов) с момента доставки исследуемого материала в лабораторию. К числу экспресс-методов относятся РИФ, ИФА, РИА, ПЦР, газовая хроматография и др.

Наряду с традиционными классическими методами микробиологической диагностики в последние годы все большее значение приобретают *молекулярно-биологические методы* диагностики (ДНК-зонды, ПЦР, лигазная цепная реакция (ЛЦР) газовая хроматография, электрофорез, иммуноблот и др.). Эти методы основаны на идентификации ДНК и РНК, специфических для данного вида микробов, и включают гибридизацию на основе ДНК-зондов и диагностику на основе ПЦР.

Биологические микрочипы имеют площадь порядка $1/4 \text{ см}^2$. Каждый биочип содержит 128

гомогенных «лунок» по 100 мкм диаметром. В ячейках биологических микрочипов можно иммобилизовать тысячи различных химических веществ, служащих зондами (олигонуклеотиды, белки, рецепторы, лиганды и др.). Зонды очищаются и анализируются качественно и количественно до иммобилизации. Зонды в ячейках находятся в условиях, близких к их состоянию в растворах. Трёхмерная структура ячеек геля обеспечивает высокую интенсивность регистрируемого сигнала. Биочипы позволяют осуществлять параллельно тысячи химических и ферментативных реакций. Результат анализа образца определяется индивидуальным рисунком свечения отдельных ячеек микрочипа, который регистрируется с помощью специальной аппаратуры. Оптический анализ результатов исследований может быть заменен измерениями электрических токов в зависимости от свойств испытуемых образцов.

К числу экспресс-методов микробиологической диагностики анаэробной инфекции следует отнести физико-химические методы исследования химического состава микробной клетки и продуктов ее метаболизма. Таким методом, в первую очередь, является метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ). Использование метода ГЖХ с целью экспресс-диагностики анаэробной инфекции основано на хроматографическом определении в исследуемом материале больных гнойно-септическими заболеваниями специфических продуктов метаболизма анаэробов — летучих жирных кислот, которые служат молекулярными маркерами наличия анаэробов в исследуемом материале. Хорошо известно, что конечными и высокоспецифичными продуктами метаболизма углеводов у анаэробов являются жирные кислоты. Различают короткоцепочечные или летучие жирные кислоты C_2-C_5 и длинноцепочечные нелетучие кислоты. Определение в исследуемом материале наличия жирных кислот с помощью ГЖХ является убедительным доказательством анаэробной этиологии воспалительного процесса. Методом ГЖХ технически более просто определять летучие жирные кислоты. При этом молекулярными маркерами анаэробов являются изомасляная и масляная, изовале-

риановая и валериановая, изокапроновая и капроновая, гексановая и каприловая кислоты. Аэробные бактерии летучие жирные кислоты не продуцируют. ГЖХ применяется также в диагностике заболеваний, вызванных микобактериями и, в первую очередь, при туберкулезе. Применение ГЖХ особенно целесообразно при тех заболеваниях, возбудители которых плохо или вообще не культивируются либо же слишком долго растут.

15.5. Методы микробиологической диагностики бактериальных инфекций

В бактериологии для обнаружения возбудителя в исследуемом материале используют бактериоскопический, бактериологический, биологический методы.

Достоинствами *бактериоскопического метода* являются его простота, быстрота, экономичность. Однако он находит ограниченное применение, так как может быть использован лишь при наличии каких-либо морфологических или тинкториальных особенностей возбудителя и при достаточном его содержании в исследуемом материале. Как правило, этот метод является ориентировочным.

Основной, самый точный метод диагностики бактериальных инфекций — *бактериологический*, который используют почти при всех заболеваниях, несмотря на такие его недостатки, как длительность исследования (от 4–5 дней до 2 месяцев), опасность (так как накапливается чистая культура возбудителя), сравнительная дороговизна. В том случае, если в исследуемом материале предполагается содержание возбудителя в достаточном количестве, посев материала производят на плотные питательные среды для получения изолированных колоний. При незначительном содержании микробов исследуемый материал прежде засевают на жидкие питательные среды — среды обогащения. Идентификацию выделенной чистой культуры производят по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим, антигенным и токсигенным свойствам (в зависимости от вида возбудителя). Определение перечисленных свойств позволяет установить вид возбудителя. С целью эпидемиологического маркирования производят внутривидовую

идентификацию выделенной культуры: определяют ее фаговар, биовар и др. Кроме того, для назначения рационального лечения, как правило, определяют чувствительность выделенной культуры к антибиотикам.

При микробиологической диагностике заболеваний, вызванных условно-патогенными микробами, представителями нормальной микрофлоры, обязательным является определение количества возбудителей в исследуемом материале.

Биологический метод не экономичен, не гуманен и поэтому находит ограниченное применение. В качестве экспериментальных животных используют белых мышей, морских свинок, кроликов, обезьян и других животных.

Постановка диагноза инфекционного заболевания возможна также с помощью серологического метода, направленного на обнаружение либо специфических антител в сыворотке больного, либо специфических антигенов непосредственно в исследуемом материале. Антитела к возбудителю заболевания появляются, как правило, к концу первой недели болезни. Невозможность обнаружить их в первые дни заболевания является самым большим недостатком метода, особенно в тех случаях, когда заболевание протекает остро. Кроме того, при многих болезнях требуется изучение антителообразования в динамике и выявление увеличения количества антител, что также не разрешает быстро поставить диагноз. Недостатком метода является и то, что он не позволяет точно идентифицировать возбудителя и определить его антибиотикограмму. Но в то же время это совершенно безопасный, относительно недорогой метод, позволяющий за несколько часов поставить диагноз. В настоящее время при ряде болезней определяют не только количество иммуноглобулинов, но и их принадлежность к различным классам.

При некоторых заболеваниях серологический метод применяют для выявления специфических антигенов в исследуемом материале. Поскольку специфические антигены, входящие в состав возбудителя, находятся в патологическом материале с первых минут болезни, этот вариант серологического метода применяют для ускоренной (в течение

первого дня болезни) или даже экспресс-диагностики (в течение нескольких часов) инфекционных заболеваний.

В качестве вспомогательного при небольшой группе инфекционных заболеваний используют аллергологический метод, позволяющий выявить повышенную чувствительность к специфическому антигену (аллергену), которым является возбудитель заболевания.

Особенности диагностики анаэробных инфекций. Для микробиологической диагностики анаэробной инфекции используют *бактериоскопический* и *бактериологический* методы. Серологический метод имеет ограниченное практическое применение из-за отсутствия коммерческих наборов диагностикумов. Для экспресс-диагностики применяется ГЖХ.

Бактериоскопический метод при диагностике анаэробной инфекции имеет незначительную информативность, поскольку анаэробы морфологически не отличаются от аэробных микроорганизмов, кроме тех редких случаев, когда анаэробы имеют характерную морфологию.

Бактериологическое исследование на анаэробы длительно, дорого и трудоемко. Окончательный ответ получают через 7–10 дней с момента забора исследуемого материала. Посев производят на кровяные среды, обогащенные факторами роста (гемин, менадион, редуцирующие добавки). Посевы инкубируют в анаэробных условиях в анаэростатах или перчаточных боксах. Идентификацию выделенных чистых культур проводят на основании изучения культуральных, морфологических и тинкториальных свойств и ферментативной активности. Антигенные свойства анаэробов изучают редко из-за отсутствия коммерческих наборов диагностических сывороток.

Поскольку анаэробы высокочувствительны к токсическому действию кислорода воздуха, для работы с ними необходимо использовать *анаэробную микробиологическую технику исследования*. Под анаэробной микробиологической техникой понимают комплекс приемов и методов, позволяющих в бескислородных условиях обеспечить доставку материала в микробиологическую лабораторию, выделение и идентификацию анаэробов. С этой целью используют специальное лабораторное оборудование: анаэробные рабочие станции (перчаточные боксы),

анаэростаты, инертный газ или газогенераторные системы, вакуумный насос, индикаторы анаэробноз, транспортные среды, элективные питательные среды для анаэробов и тест-системы для их идентификации.

Для транспортировки образцов, предназначенных для исследования на анаэробы, используют флаконы с транспортными средами, создающие анаэробные условия при транспортировке.

Для создания анаэробноз в анаэростате откачивают воздух и после трехкратной вакуум-заместительной промывки анаэростаты заполняют бескислородной трехкомпонентной газовой смесью из баллона. Можно использовать и химическое связывание свободного кислорода. Для этого используют газогенераторную систему, содержащую борогидрит и бикарбонат натрия, в которой при добавлении воды происходит химическая реакция, протекающая со связыванием свободного кислорода и выделением углекислого газа и водорода.

Для контроля анаэробноз в процессе инкубации посевов используют индикаторы анаэробноз — резазурин или метиленовую синь. В анаэробных бескислородных условиях индикатор анаэробноз находится в восстановленной бесцветной форме, а при наличии кислорода — в окисленной окрашенной. Резазурин окрашивается в розовый цвет, а метиленовая синь — в голубой.

При наличии в лаборатории большого объема анализов целесообразно применение анаэробных рабочих станций, которые представляют собой защитный бокс 3-го класса (изолирующий) и являются газонепроницаемыми конструкциями, заполненными бескислородной газовой смесью.

Через 24–48 ч инкубирования посевов в аэробных и анаэробных условиях проводят дифференциацию выросших чистых культур на аэробы и анаэробы. Культуры, выросшие только в аэробных условиях, но не давшие роста в анаэробных условиях, рассматривают как аэробы; культуры, выросшие одновременно в аэробных и анаэробных условиях, рассматривают как факультативные анаэробы и в дальнейшем их идентифицируют по общепринятым схемам. Культуры, не выросшие в аэробных условиях, но давшие рост в анаэробных условиях, рассматривают как облигатные анаэробы и приступают к их идентификации.

Идентификацию анаэробов проводят в два этапа. На первом этапе идентификации ориентировочно определяют родовую принадлежность изолирован-

ных анаэробных культур. На втором этапе проводят окончательную идентификацию до вида по биохимическим тестам, антигенным свойствам и по изучению конечных продуктов бактериального метаболизма в среде культивирования с помощью метода ГЖХ.

При идентификации анаэробов до рода учитываются культуральные, морфологические и тинкториальные свойства, а также фенотипы исследуемых культур по отношению к анаэродискам. Анаэродиски — это диски, пропитанные антибиотиками, желчью и бриллиантовым зеленым. Обычно используют следующие анаэродиски: канамицин — 1000 мкг/мл, пенициллин — 2 ЕД, полимиксин В — 100 ЕД, эритромицин — 60 мкг/мл, рифампицин — 15 мкг/мл, ристомидин — 5 мкг/мл, желчь — 5 мг/мл и диск с бриллиантовым зеленым — 100 мкг. Ориентировочную родовую идентификацию проводят, сравнивая полученный фенотипический профиль с таблицей фенотипических профилей анаэробных микробов.

Зная ориентировочную родовую принадлежность анаэробного микроба, его вид определяют с помощью биохимических тестов, а в случае необходимости — и по конечным продуктам бактериального метаболизма, выделяемым в среду культивирования с помощью ГЖХ-метода.

Газовая хроматография. Бактериологическое исследование на анаэробы длительно, трудоемко и дорого. Время, затрачиваемое с момента доставки материала в микробиологическую лабораторию до получения полного развернутого ответа, составляет от 7 до 10 суток, что абсолютно не удовлетворяет требованиям клиницистов. Это обусловлено медленным ростом, а также необходимостью изучения многочисленных таксономических признаков при идентификации выделенных чистых культур.

Использование метода ГЖХ для экспресс-диагностики анаэробной инфекции основано на хроматографическом определении в исследуемом материале специфических продуктов метаболизма анаэробов — летучих жирных кислот, которые служат молекулярными маркерами наличия анаэробов. Конечными высокоспецифичными продуктами метаболизма углеводов у анаэробов являются жирные кислоты. Различают короткоцепочечные или летучие жирные кислоты C_2-C_7 и длинноцепочечные нелетучие кислоты. Определение в исследуемом материале

наличия жирных кислот с помощью ГЖХ является убедительным доказательством анаэробной этиологии воспалительного процесса. Методом ГЖХ технически более просто определять летучие жирные кислоты. При этом молекулярными маркерами анаэробов являются изомасляная и масляная, изовалериановая и валериановая, изокапроновая и капроновая, гексановая и каприловая кислоты. Аэробные бактерии летучие жирные кислоты не продуцируют.

Для хроматографического анализа проводят экстракцию летучих жирных кислот эфиром или другими летучими органическими растворителями. Экстракт вводят в хроматограф. Чувствительность метода — 10^{-6} г/л; время анализа — 30–50 мин. Идентификацию летучих жирных кислот осуществляют по отношению к времени удерживания, для сравнения используют аналитические стандарты жирных кислот. Обнаружение в исследуемом материале одной или нескольких летучих жирных кислот, особенно изокислот с разветвленной углеродной цепочкой, является убедительным доказательством наличия анаэробов.

Для получения более подробной информации о метаболической активности анаэробов определяют длинноцепочечные жирные кислоты, которые переводят в летучие производные, например метиловые эфиры, многоатомные спирты, ароматические соединения, углеводные соединения, аминокислоты, пурины и т. п. Наличие в исследуемом материале длинноцепочечных жирных кислот также является убедительным доказательством анаэробной природы воспалительного процесса. Анализ метиловых эфиров жирных кислот необходим, если в пробе отсутствуют летучие жирные кислоты или определяется только одна уксусная кислота.

Наличие в исследуемом материале только уксусной или пропионовой кислоты не может служить достоверным доказательством наличия анаэробов, так как эти кислоты могут продуцироваться некоторыми факультативными анаэробами, такими как *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp.* Обнаружение в патологическом материале только молочной или яблочной жирных кислот также не может быть веским доказательством наличия анаэробов, так как эти кислоты являются нормальными метаболитами тканей человека.

Очень важное значение при индикации анаэробов в патологическом материале приобретают ложноположительные и ложноотрица-

Таблица 15.2. Причины ложных результатов ГЖХ-анализа при исследовании на анаэробы

| ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ | ЛОЖНООТРИЦАТЕЛЬНЫЕ |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Несовершенство бактериологических методик (забора, транспортировки, культивирования и т. д.) • Массивная предшествующая антибиотикотерапия • Высокая обсемененность патологического материала стафилококками при инфекции, вызванной монокультурой <i>Staphylococcus aureus</i> • Проявление «памяти» хроматографических колонок, пневматического дозатора при проведении массовых анализов • Некоторые глистные инвазии | <ul style="list-style-type: none"> • Низкая чувствительность детектора (при работе на хроматографе, оснащенном катарометром) • Наличие в пробе видов анаэробов не продуцирующих летучие жирные кислоты • Очень сильное разведение клинического материала (перитонеальный диализат, промывные воды и т. п.) • Очень низкий уровень продукции летучих жирных кислот при моноинфекции, вызванной <i>Bacteroides fragilis</i> и некоторыми другими видами анаэробов • Наличие в патологическом материале аэробно-анаэробных полимикробных ассоциаций, включающих аэробные микроорганизмы, способные метаболизировать летучие жирные кислоты, продуцируемые анаэробами (например, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>) |

тельные результаты ГЖХ-анализа. Под ложноположительными результатами ГЖХ-анализа понимают такие результаты, когда на хроматограмме присутствуют пики жирных кислот, а бактериологически облигатные анаэробные бактерии не выделяются. Под ложноотрицательными результатами ГЖХ-анализа понимают такие результаты, когда на хроматограмме отсутствуют пики жирных кислот, хотя анаэробы присутствуют в изучаемой пробе и могут быть выделены бактериологически.

Причины ложных результатов ГЖХ-анализа при исследовании на анаэробы приведены в табл. 15.2.

15.6. Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций

В вирусологии методы лабораторной диагностики вирусных инфекций имеют свою специфику, учитывая особенности биологии вирусов. В вирусологии используются три метода лабораторной диагностики:

- вирусоскопический,
- вирусологический,
- серологический.

Вирусоскопический метод заключается в обнаружении вируса в исследуемом материале под микроскопом. Чаще всего используют электронный микроскоп, реже — люминесцентный. Световая микроскопия из-за ничтожно малых размеров вирусов практически

не применяется. И лишь для обнаружения крупных вирусов, применяя методы «сверхокраски», можно использовать световой микроскоп. Кроме того, с помощью светового микроскопа можно выявить внутриклеточные включения, которые образуются в пораженных клетках при некоторых инфекциях.

Вирусологический метод заключается в заражении исследуемым материалом чувствительной биологической модели (лабораторные животные, куриные эмбрионы или культуры клеток), индикации вируса и его последующей идентификации. При заражении лабораторных животных индикация вирусов производится, как правило, по клинической картине болезни, патолого-анатомическим изменениям ориентировочно и окончательно, например, с помощью реакции гемагглютинации. Эта же реакция позволяет выявить вирусы в курином эмбрионе, видимых изменений при вскрытии которого, как правило, не наблюдается. В культуре клеток наличие вируса определяют по цитопатическому действию (в том числе образованию внутриклеточных включений), гемадсорбции, феномену бляшкообразования, реакции гемагглютинации, отсутствию изменения окраски индикатора. Идентификация вируса осуществляется с помощью серологических реакций (РПГА, РТГА, РИ, РСК, ИФА и др.). Вирусологический метод позво-

ляет точно определить природу возбудителя, но он требует достаточного много времени (5–7 дней и более), значительных материальных затрат и небезопасен.

Особенностью *серологического метода* в вирусологии является исследование парных сывороток. Первую сыворотку берут у больного в острый период в начале болезни, хранят при температуре +4... +8 °С, а вторую сыворотку берут через 10–14 дней. Сыворотки исследуют одновременно. О болезни свидетельствует *сероконверсия*, т. е. нарастание титра антител во второй сыворотке по отношению к первой. Диагностической является сероконверсия в 4 раза и выше. Так как многие вирусные болезни протекают остро, этот вариант серологического метода обычно применяют для ретроспективной диагностики.

Ведущим методом лабораторной диагностики вирусных инфекций является вирусологический.

Ускоренная и экспресс-диагностика вирусных болезней производятся так же, как при бактериальных инфекциях.

15.7. Особенности микробиологической диагностики микозов

Для диагностики грибковых инфекций обычно используют микологический метод. Он заключается в посеве патологического материала на специальные питательные среды, выделении чистой культуры возбудителя и ее идентификации по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. Особенностью метода является его продолжительность — несколько недель из-за медленного роста грибов. Обнаружение антител при серологическом исследовании возможно со 2–4-й недели болезни. При некоторых заболеваниях выявляют специфические антигены в исследуемом материале. Аллергологический метод используют редко. Довольно часто при микозах используют *гистологический метод*, заключающийся в обнаружении элементов гриба (споры, конидиальные головки и т. п.) в органах и тканях, пораженных грибами. С этой целью готовят гистологические тонкие или ультратонкие срезы тканей, окрашивают их специальными гистологическими и гистохимическими методами и исследуют с при-

менением световой, а если необходимо, то и электронной микроскопии.

15.8. Особенности микробиологической диагностики протозойных инфекций

Микроскопическое исследование патологического материала заключается в приготовлении как нативных препаратов («толстая капля»), так и мазков, окрашенных по методу Романовского—Гимзы, и является основным методом диагностики заболеваний, вызванных простейшими. В некоторых случаях применяют серологический и аллергологический методы диагностики.

15.9. Принципы иммунологической диагностики болезней человека

Иммунологическая диагностика болезней человека основана на определении антигенов или антител в реакции антиген-антитело. Специфичность и чувствительность иммунологических реакций настолько высоки, что эти реакции легли в основу иммунометрии. Так, например, методы иммунодиффузии, иммуноферментного и радиоиммунного методов стали стандартными методами количественного определения белков, гормонов и других биологически активных веществ.

Иммунодиагностика — раздел иммунологии, изучающий и разрабатывающий методы диагностики инфекционных и неинфекционных болезней, связанных с функцией иммунной системы.

Многие инфекционные заболевания в настоящее время претерпели существенные изменения, что выражается в увеличении удельного веса легких, стертых и бессимптомных форм, росте аллергического компонента, высокой частоте микст-инфекций. Это затрудняет традиционную диагностику заболеваний, поэтому значимость иммунодиагностики, направленной на выявление антигенов возбудителя или специфических иммунных сдвигов в организме больного, возрастает.

Под иммунореактивностью (иммунный статус, иммунный профиль) понимают спо-

способность иммунной системы к иммунному ответу в данный момент времени. Ее характеризуют не только концентрация иммуноглобулинов, число лимфоцитов и лейкоцитов, соотношение Т- и В-клеток, но и функциональные показатели, в частности способность иммунокомпетентных клеток отвечать на стимуляцию.

Оценивая иммунный статус, следует иметь в виду большую вариабельность иммунологических показателей даже в норме. Следует отметить, что иммунологические параметры подвержены колебаниям в зависимости от биоритма. Эти колебания обусловлены изменениями гормонального фона.

Зная и учитывая эти ритмы, можно повысить диагностическую ценность иммунологических показателей. Иммунный статус подвержен возрастным изменениям. Так, например, тимус рассматривается как «биологические часы» иммунной системы. Возрастная инволюция тимуса означает медленное угасание Т-клеточных функций по мере старения. Способность к распознаванию своего с возрастом постепенно угасает, в связи с чем старение иногда даже рассматривается

как хронически текущая аутоагрессия. Частота обнаружения аутоантител с возрастом нарастает.

Иммунный статус изменяется также после травм и хирургических операций; через 24–48 ч после оперативного вмешательства или травмы уменьшается количество Т-лимфоцитов, нормализация их количества происходит не ранее чем через 5 дней. Аналогично изменяется иммунный статус при стрессе.

Несмотря на исключительную вариабельность иммунологических показателей даже в норме, индивидуальную иммунореактивность можно охарактеризовать с помощью многочисленных лабораторных тестов, оценивающих клеточное и гуморальное звено иммунной системы, а также факторы неспецифической резистентности. Оценка иммунного статуса в клинике имеет важное значение при трансплантации органов и тканей; для выявления иммунологической недостаточности; при аутоиммунных и аллергических болезнях для контроля за эффективностью иммуномодулирующей терапии; при назначении лечения (оперативное вмешательство, облучение и др.). Клинические показания к постановке иммунологических тестов при некоторых болезнях приведены в табл. 15.3.

Таблица 15.3. Клинические показания к постановке иммунологических тестов при некоторых болезнях

| Предположительный диагноз | Иммунологический тест, рекомендуемый для подтверждения диагноза |
|---|--|
| Аутоиммунные заболевания, в том числе: | |
| Коллагенозы | Антинуклеарный фактор |
| Общая диагностика | |
| Частная диагностика | C ₄ , криоглобулины |
| Системная красная волчанка | Антитела к нативной ДНК |
| Склеродермия | Антитела к содержимому ядра (к РНК) |
| Синдром Шегрена | Антитела к антигенам слюнных и щитовидной желез |
| Миастения | Антитела к поперечно-полосатым мышцам, ацетилхолиновым рецепторам |
| Аутоиммунный тиреоидит | Антитела к тиреоглобулину и микросомному антигену щитовидной железы |
| Пузырчатка и пемфигоид | Антитела к межклеточному веществу и базальной мембране кожи |
| Аддисонова болезнь | Антитела к антигенам коры надпочечников, щитовидной железы, слизистой желудка |
| Аутоиммунная гемолитическая анемия, тромбоцитопения, гемолитическая анемия с холодowymi агглютининами, апластическая анемия | Антитела к эритроцитам, тромбоцитам, лейкоцитам, лекарственным средствам |
| Пернициозная анемия | Антитела к обкладочным клеткам слизистой желудка, к внутреннему фактору, к антигенам щитовидной железы |

| Предположительный диагноз | Иммунологический тест, рекомендуемый для подтверждения диагноза |
|--|--|
| Синдром Гудпасчера | Антитела к базальной мембране почки, линейное отложение иммуноглобулинов в клубочках почек |
| Аллергия | |
| Аллергический ринит, крапивница, отек Квинке, бронхиальная астма | Кожные пробы с аллергенами (ГНТ), количественное определение IgE |
| Контактная экзема | Накожная проба |
| Аллергия к яду насекомых, пищевая аллергия | Кожная проба, определение IgE |
| Лекарственная аллергия | Кожные пробы и тест-реакции лимфоцитов на лекарственные средства или продукты их метаболизма |
| Ангионевротический отек | Ингибитор C ₁ -эстеразы, C ₃ , C ₄ |
| Иммунодефициты | |
| Синдром недостаточности антител | Определение количества иммуноглобулинов |
| Недостаточность клеточного звена иммунитета и комбинированная недостаточность | Изогемагглютинины, антитела к антигенам вакцин, кожные пробы с антигенами, к которым в норме должна быть сенсibilизация (ГЗТ), CH ₅₀ , C ₃ , C ₄ ; Т/В-лимфоциты, бласттрансформация лимфоцитов |
| Недостаточность фагоцитоза | НСТ-тест, хемилюминесценция |
| Злокачественные опухоли | |
| Лимфопролиферативные заболевания (моноклональные иммунопатии, хронический лимфолейкоз, лимфогранулематоз и другие лимфомы) | Иммуноэлектрофорез, определение иммуноглобулинов, определение Т/В-лимфоцитов, определение функциональной активности лимфоцитов |
| Опухоли внутренних органов и тканей | Определение специфических антигенов, ассоциированных с опухолью |

Оценка иммунного статуса чаще всего базируется на комплексе следующих показателей:

1. Данные общего клинического обследования: жалобы, анамнез, клиника, методы физикального исследования, общий анализ крови.

2. Оценка факторов неспецифической резистентности: фагоцитарная реакция, НСТ-тест, хемилюминесценция, титрование компонента, определение интерферона и др.

3. Оценка гуморального иммунитета: определение концентрации иммуноглобулинов разных классов в сыворотке крови, определение титров специфических антител, катаболизм иммуноглобулинов, определение количества В-лимфоцитов, В-клеточная бласттрансформация и др.

4. Оценка клеточного иммунитета: постановка кожных аллергологических проб, контактная сенсibilизация динитрохлорбензолом,

определение количества Т-лимфоцитов, определение субпопуляций Т-лимфоцитов (Т₄, Т₈, соотношение Т₄/Т₈), Т-клеточная бласттрансформация, продукция интерлейкинов и др.

5. Дополнительные тесты.

При рациональном и целенаправленном применении лабораторные иммунологические тесты могут приносить большую пользу в постановке диагноза.

15.10. Контроль качества лабораторных исследований

Важным элементом работы микробиологической и иммунологической лабораторий является получение точных и сопоставимых результатов анализов, для чего необходимо осуществлять контроль качества проводимых исследований. Контроль качества может быть *внутрилабораторным* и *внешним*.

Внутрилабораторный контроль качества — это система контрольных мер, которые проводятся в отдельной лаборатории персоналом этой лаборатории и направлены на обеспечение соответствующего качественного уровня работы лаборатории.

Внутрилабораторный контроль качества должен включать контроль всех основных компонентов, способных влиять на качество работы в целом: непрерывный мониторинг лабораторного оборудования, питательных сред, реактивов, самого процесса выполнения анализа. Основными показателями качества результатов неколичественных методов исследований является *правильность* и *воспроизводимость*. В качестве контрольных материалов используются *референтные штаммы микробов*, полученные из международных, национальных государственных коллекций или от производителей. Нормативными документами для проведения

внутрилабораторного контроля качества являются приказы Минздрава и стандарты.

Внешний контроль качества — это система контрольных мер, которые проводятся в рамках единой Федеральной системы внешней оценки качества (ФСВОК) лабораторных исследований группами экспертов и направлены на обеспечение правильной организации технологических процессов производства лабораторных исследований.

Федеральная система внешней оценки качества лабораторных исследований состоит из разделов, в рамках каждого из которых выполняется оценка качества определённого вида лабораторных исследований. В структуру ФСВОК входят экспертные группы по разработке и проведению внешнего контроля качества в различных видах лабораторных исследований.

16.1. Кокки

Кокки — это большая группа микробов, обладающих сходной морфологией: клетки кокков имеют шарообразную форму. К коккам относятся: стафилококки, стрептококки, энтерококки, пневмококки, пептококки, пептострептококки, нейссерии, вейлонеллы и др. Среди кокков есть как грамположительные, так и грамотрицательные микробы; по типу дыхания встречаются аэробные, микроаэрофильные, факультативно-анаэробные и облигатно анаэробные кокки.

Стафилококки относятся к роду *Staphylococcus*, который включает в себя три вида: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* и *S. saprophyticus*. Это грамположительные факультативно-анаэробные кокки.

Стрептококки принадлежат к роду *Streptococcus*, включающему семь видов: *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. agalactiae*. Это грамположительные факультативно-анаэробные кокки, располагающиеся в мазке из чистой культуры цепочкой. Среди стрептококков встречаются и микроаэрофильные виды.

Энтерококки принадлежат к роду *Enterococcus*, включающему в себя четыре вида: *Enterococcus faecalis*, *E. faecies*, *E. durans*, *E. zymogenes*. Это грамположительные факультативно анаэробные кокки, располагающиеся в мазке из чистой культуры цепочкой. Энтерококки в 1984 г. выделены в самостоятельный род из рода *Streptococcus*.

Пептококки и пептострептококки принадлежат к роду *Peptococcus*, включающему в себя единственный вид: *Peptococcus niger*, и роду *Peptostreptococcus*, включающему восемь видов: *Peptostreptococcus anaerobius*, *P. magnus*, *P. micros*, *P. indolicus*, *P. asaccharolyticus*, *P. prevotii*, *P. tetradus*, *P. productus*. Пептококки — это анаэробные грамположительные кокки, по морфологии сходные со стафилококками, а пептострептококки — со стрептококками.

К аэробным грамотрицательным коккам относятся нейссерии, принадлежащие к роду

Neisseria, включающему восемь видов: *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *N. flava*, *N. subflava*, *N. perflava*, *N. sicca*, *N. mucosa*, *N. flavescens*.

Кокки объединены вместе не только и не столько на основании их морфологического сходства, но, в основном, по сходству их роли в патологии человека. Все перечисленные кокки являются возбудителями ГВЗ, поэтому их нередко называют еще *гноеродными кокками*, подчеркивая тем самым их роль в патологии человека.

Среди кокков есть патогенные (пневмококки, менингококки, гонококки), условно-патогенные и сапрофитические виды. Пневмококки вызывают у человека крупозную пневмонию и ползучую язву роговицы глаза, менингококки — эпидемический цереброспинальный менингит, менингококкемию и назофарингит, а гонококки — гонорею и бленнорею.

Большинство кокков относится к УПМ. Как правило, это представители нормальной микрофлоры организма человека и животных, колонизирующей различные биотопы организма. Так, в организме человека стафилококки являются доминирующими микробами кожи (особенно *S. epidermidis*); в ротовой полости и верхних дыхательных путях вегетирует большое количество стрептококков, пептококков, пептострептококков и вейлонелл; толстую кишку колонизируют энтерококки и анаэробные кокки и т. д. (см. разд. 4.2). При нарушениях иммунореактивности и в других случаях снижения резистентности организма (см. гл. 12) кокки, как и все УПМ нормофлоры, способны покидать свои нормальные биотопы на коже и слизистых оболочках, транслоцироваться через слизистые барьеры, причем даже неповрежденные, образовывать колонии и размножаться во внутренней стерильной среде организма, вызывая гнойно-воспалительный процесс.

Таким образом, все кокки, как патогенные, так и условно-патогенные, являются возбудителями ГВЗ, которые широко распространены в клиниках.

ГВЗ составляют не менее 30–35 % всех хирургических заболеваний, т. е. каждый третий хирургический больной — это больной с гнойно-воспалительным заболеванием. ГВЗ, вызываемые УПМ, часто встреча-

Таблица 16.1. Отличительные признаки бактерий семейства *Micrococcaceae*

| Признак | <i>Staphylococcus</i> | <i>Micrococcus</i> | <i>Stomatococcus</i> |
|---|-----------------------|--------------------|----------------------|
| Наличие каталазы | + | + | +/- |
| Наличие капсулы | -* | - | + |
| Рост на среде с 5% NaCl | + | + | - |
| Способность к анаэробному росту на среде с глюкозой | + | - | + |
| Чувствительность к лизостафину | + | - | - |
| Чувствительность к бацитрацину (0,04 ЕД) | - | + | + |

*Подавляющее большинство видов.

ются и в клиниках другого профиля: акушерско-гинекологической, оториноларингологической, офтальмологической, стоматологической и др. Примерно от 30 до 50 % больных, обращающихся к врачу, страдают ГВЗ, что делает эту проблему одной из актуальных в современной медицине.

До недавнего времени считалось, что основной причиной развития ГВЗ являются кокки. В настоящее время большую роль в развитии ГВЗ стали играть грамотрицательные палочки (энтеробактерии и неферментирующие грамотрицательные бактерии), а также неспорообразующие анаэробы. И все же коккам, представляющим собой очень большую сборную группу микробов, как грамположительных, так и грамотрицательных, как аэробных, так анаэробных и микроаэрофильных, принадлежит ведущая роль в патологии человека. По данным литературы, от 25 до 50 % всех ГВЗ этиологически обусловлены кокковой микрофлорой.

16.1.1. Аэробные грамположительные кокки

Группу аэробных и факультативных грамположительных кокков образуют достаточно разнообразные по свойствам бактерии, которые объединяют два общих свойства: сферическая форма клетки и положительная окраска по Граму; они не образуют спор, подавляющее их большинство не обладает подвижностью. Медицинское значение имеют кокки семейств *Micrococcaceae* и *Streptococcaceae*, основными принципами дифференцирования их представителей являются наличие или отсутствие цитохромов (отсутствуют у *Streptococcaceae*) и каталазная активность (отсутствует у большинства представителей *Streptococcaceae*). Каталазаположительные

стрептококки дифференцируют от бактерий семейства *Micrococcaceae* с помощью бензидиновой пробы, положительной у цитохром-содержащих микробов.

16.1.1.1. Семейство *Micrococcaceae*

Представители семейства *Micrococcaceae*, способные вызвать заболевания у человека, включены в роды *Staphylococcus*, *Micrococcus* и *Stomatococcus*; основные отличительные признаки бактерий семейства *Micrococcaceae* представлены в табл. 16.1.

16.1.1.1.1. Стафилококки (род *Staphylococcus*)

Морфология. Открыты в 1880 г. независимо друг от друга Л. Пастером и Огстеном. Родовое название дано Огстеном, а более подробное описание представителей рода сделано в 1884 г. Розенбахом. Неподвижные грамположительные бактерии, имеют правильную шаровидную форму диаметром 0,5–1,5 мкм, делятся в нескольких плоскостях, образуя скопления, напоминающие гроздь винограда. Основными компонентами клеточной стенки являются пептидогликан и рибиттейхоевая или глицеринтейхоевая кислоты. В состав клеточной стенки *S. aureus* входит белок А, реагирующий с Fc-фрагментами IgG человека и большинства млекопитающих. Многие стафилококки способны к формированию поверхностно расположенной капсулы, основным компонентом которой являются урновые кислоты. Содержание ГЦ в ДНК рода составляет 30–40 моль %. Наибольший интерес для медицины и ветеринарии представляет *Staphylococcus aureus*.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы, но более быстро и обильно растут при наличии кислорода; хемоорганотрофы с окислительным и ферментативным метаболизмом, каталазаположительны; содержат цитохромы, но обычно оксидазаотрицательны, чувствительны к действию лизостафина (но не лизоцима), что обусловлено лабильностью пентаглициновых мостиков, соединяющих мурамовую кислоту и тетрапептиды в пептидогликанах клеточной стенки. При выращивании в аэробных условиях нуждаются в аминокислотах и витаминах, в анаэробных — требуют дополнительно урацил и ферментируемые источники углерода. Это очень нетребовательные микробы, которые хорошо растут на простых питательных средах. Температурный оптимум роста 35–40 °С, но могут расти в интервале температур от 6,5 до 46 °С; оптимум рН 7,0–7,5, но возможен рост в пределах рН от 4,2 до 9,3. Хорошо выдерживают повышенное осмотическое давление, поэтому элективной средой для них служат среды с высокой концентрацией соли — желточно-солевой или молочно-солевой агар. При росте на желточно-солевом агаре образуют мутные круглые ровные колонии кремового, желтого или оранжевого цвета. Цвет колоний обусловлен наличием липохромного пигмента; его образование происходит только в присутствии кислорода и наиболее выражено на средах, содержащих кровь, углеводы или молоко, однако пигментообразование не является видовым признаком. На желточно-солевом агаре образуют колонии, окруженные радужным венчиком за счет образования фермента лецитовиллазы. На кровяном агаре образуют колонии с зоной гемолиза. На жидких средах дают равномерное помутнение, а затем рыхлый осадок, превращающийся в тягучую массу.

Ферментативная активность. Биохимически очень активны: продуцируют каталазу, большинство штаммов образует ацетоин на среде с глюкозой (положительная реакция Фогеса—Проскауэра), выделяют аммиак при росте в аргениновом бульоне, восстанавливают нитраты до нитритов или азота, активно гидролизуют белки, гиппурат, жиры и твины, расщепляют многие углеводы в аэробных условиях до уксусной кислоты и углекислого газа. Эскулин и крахмал, как правило, не

гидролизуют, индола не образуют. Родовым свойством является ферментация глюкозы в анаэробных условиях с образованием молочной кислоты, что отличает стафилококки от микрококков. Дифференциацию видов стафилококков проводят по следующим свойствам (табл. 16.2).

Антигенная структура. Сложная, как у всех грамположительных бактерий. Антигенными свойствами обладают пептидогликан и тейхоевые кислоты клеточной стенки, типоспецифические АГ, хлопьеобразующий фактор и капсула. Видоспецифичными АГ являются тейхоевые кислоты: для *S. aureus* — рибиттейхоевая, а для *S. epidermidis* — глицеринтейхоевая; у *S. saprophyticus* выявляют оба типа кислот.

Факторы патогенности. Стафилококки — условно-патогенные микробы. Факторами патогенности возбудителя являются микрокапсула, компоненты клеточной стенки, ферменты агрессии и токсины.

Микрокапсула защищает бактерии от фагоцитоза полиморфно-ядерными фагоцитами, способствует адгезии микробов и их распространению по тканям. При выращивании *in vitro* обычно не образуется.

Компоненты клеточной стенки стимулируют развитие воспалительных реакций: усиливают синтез ИЛ-1 макрофагами, активируют систему комплемента и являются мощными хемоаттрактантами для нейтрофилов. **Тейхоевые кислоты** запускают каскад комплемента по альтернативному пути, активируют свертывающую и калликреин-кининовую системы, а также облегчают адгезию к эпителиальным поверхностям. **Белок А** (агглютиноген А) неспецифически связывает Fc-фрагменты молекул IgG (что активирует компоненты комплемента по классическому и альтернативному путям) и усиливает активность естественных киллеров. Активация комплемента приводит к проявлению различных местных и системных реакций, например анафилаксии, феномена *Артюса*, угнетению активности фагоцитов и т. д.

Ферменты агрессии проявляют различное действие: **каталаза** защищает бактерии от действия O₂-зависимых микробицидных механизмов фагоцитов; **β-лактамаза** разрушает молекулы β-лактамовых антибиотиков; **липазы** облегчают адгезию и проникновение

Таблица 16.2. Дифференциальные признаки стафилококков, имеющих основное медицинское значение

| Признак | <i>S. aureus</i> | <i>S. epidermidis</i> | <i>S. saprophyticus</i> |
|---|------------------|-----------------------|-------------------------|
| Наличие каратиноидного пигмента | +/- | - | + |
| Способность к росту в анаэробных условиях (тиогликолевая среда) | + | + | +/- |
| Рост на средах с 10% NaCl | + | +/- (слабо) | + |
| Рост при: | • 15 °С | - (слабо) | + |
| | • 45 °С | + | +/- |
| Образование кислоты при ферментации углеводов в аэробных условиях: | | | |
| • ксилоза | - | - | - |
| • арабиноза | - | - | - |
| • раффиноза | - | - | - |
| • сахароза | + | + | + |
| • манит | + | - | +/- |
| • манноза | + | +/- | - |
| • трегалоза | + | - | + |
| • лактоза | + | +/- | +/- |
| • галактоза | + | +/- | - |
| • фруктоза | + | + | + |
| • ксилит | - | - | +/- |
| Восстановление нитратов | + | + | - |
| Щелочная фосфатаза | + | + | - |
| Гиалуронидаза | + | +/- | ? |
| Уреаза | +/- | + | + |
| Коагулаза (на сыворотке кролика) | + | - | - |
| Фибринолизин | +/- | +/- | ? |
| Гемолитическая активность | + | - (слабо) | - |
| ДНКаза | + | - (слабо) | - |
| Чувствительность к новобиоцину (минимальная ингибирующая концентрация > 1,6 мкг/мл) | + | + | - |

ткани. *Коагулаза*, существующая в трех антигенных формах, вызывает свертывание сыворотки; сам фермент не взаимодействует с фибриногеном, а образует тромбиноподобное вещество, предположительно взаимодействующее с протромбином.

Выделяют четыре антигенных типа *гемолизинов*, вызывающих полный гемолиз кровяных сред; золотистые стафилококки способ-

ны одновременно синтезировать несколько подобных продуктов.

α-гемолизин (α-токсин) наиболее часто выявляют у бактерий, выделенных из клинических образцов; не активен в отношении эритроцитов человека, но быстро лизирует эритроциты барана. При введении подопытным животным вызывает кожные некротические реакции и гибель животных после внутривенного введения.

β-гемолизин (сфингомиелиназа) оказывает умеренное действие на эритроциты человека; выявляют у 20 % изолятов. Проявляет выраженные свойства холододового гемолизина (максимальная активность проявляется при низких температурах).

γ-гемолизин — двухкомпонентный гемолизин с умеренной активностью в отношении эритроцитов человека; поскольку один из компонентов инактивируют содержащие серу полимеры, присутствующие в агаре, то эффект этого гемолизина на кровяных средах обычно не проявляется.

δ-гемолизин — агрегат низкомолекулярных соединений, проявляющих детергентные свойства; последние обуславливают цитотоксичность широкого спектра.

Среди *токсинов* наибольшее значение имеют: *эксфолиатины А и В*, обуславливающие развитие синдрома «ошпаренной кожи»; *токсин синдрома токсического шока (TSST-1)*, ответственный за развитие специфического симптомокомплекса; *δ-токсин* (лейкоцидин), ингибирующий всасывание воды и активирующий образование цАМФ (что имеет значение при стафилококковых диареях), а также оказывающий цитотоксическое действие на полиморфно-ядерные лейкоциты; *энтеротоксины А–F*, ответственные за развитие пищевых интоксикаций (энтеротоксины В и С также приводят к развитию синдрома токсического шока в случаях, не связанных с менструациями).

Устойчивость в окружающей среде. Хорошо переносят высушивание, сохраняя вирулентность; погибают при прямом воздействии солнечного света в течение 10–12 ч. Довольно устойчивы к нагреванию — при 70–80 °С погибают за 20–30 мин, при 150 °С — за 10 мин; сухой жар убивает их за 2 ч. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов, но резистентны к воздействию чистого этанола. Нередко обладают множественной лекарственной устойчивостью к целому ряду антибиотиков, в том числе к β-лактамам, особенно госпитальные штаммы. Значительная часть изолятов продуцирует β-лактамазу, либо ее синтез индуцируют β-лактамовые антибиотики. Большие (2×10^7 Да) плазмиды кодируют образование β-лактамаз и резистентность к эритромицину. Мелкие (3×10^6 Да) плазмиды кодируют резистентность к тетрациклинам и хлорамфениколу (левомецетину). В отличие

от граммотрицательных бактерий, образование золотистым стафилококком β-лактамаз и хлорамфениколтрансфераз — индуцибельный процесс, т. е. они образуются только в присутствии антибиотиков.

Эпидемиология. Являются представителями нормальной микрофлоры человека и животных. Стафилококки густо колонизируют различные биотопы организма человека: кожу, слизистую носа, зева, ротовой полости и т. д. Особенно много стафилококков на кожных покровах, где они являются доминирующей микрофлорой, особенно *S. epidermidis*.

Источник инфекции — больные со стертыми формами стафилококковой инфекции или носители, значительно реже — больные животные, например, больные маститом коровы при пищевых стафилококковых отравлениях и энтероколитах. Наибольшую эпидемиологическую опасность представляет медицинский персонал лечебно-профилактических учреждений, который может являться носителем госпитальных штаммов стафилококка. В соответствии с Международной классификацией, различают постоянных носителей, у которых при посеве из полости носа всегда выделяется стафилококк, и перемежающихся носителей, у которых стафилококк выделяется время от времени.

Поскольку стафилококки, как и все УПМ, не имеют органного тропизма, то для стафилококковых инфекций характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи. Они могут передаваться контактно через нестерильный медицинский инструмент, руки медперсонала, алиментарно с молочными продуктами, кондитерскими изделиями, аэрогенно, парентерально при инъекциях.

Восприимчивость к стафилококкам, как и ко всем УПМ, очень низкая у лиц с нормальным иммунным статусом и повышенная у иммунокомпромиссных хозяев. Очень часто стафилококковая инфекция развивается на фоне вторичных иммунодефицитов, например, после перенесенной ОРВИ.

Патогенез. Стафилококки, как и все УПМ, вызывают *оппортунистическую инфекцию*. При целом ряде патологических состояний, ведущих к снижению иммунного статуса организма, стафилококки, наряду с другими УПМ, приобретают способность покидать свои нормальные биотопы на по-

верхности кожи и слизистых оболочек, преодолевать тканевые барьеры, в норме для них непреодолимые, причем даже и неповрежденные, и транслоцироваться во внутреннюю стерильную среду организма, т. е. в незаселенную экологическую нишу, размножаться там и вызывать типовую патологическую реакцию — воспаление. Клинически это проявляется в виде гнойно-воспалительных процессов различной локализации и степени тяжести — от местных ограниченных до тяжелых генерализованных, таких как сепсис и септикопиемия. Таким образом, стафилококковая инфекция в большинстве случаев развивается у иммунокомпромированных хозяев, как эндогенная оппортунистическая инфекция.

Клиника. Стафилококки, как и все УПМ, не имеют органного тропизма, для стафилококковых инфекций характерно поражение различных органов и тканей организма человека. Клинические проявления болезни могут быть самые разнообразные, они обусловлены не столько видом микроба, сколько характером пораженного органа. Выделяют следующие нозологические формы, при которых этиологическим фактором является стафилококк:

- *болезни кожи и подкожной клетчатки*, из которых у новорожденных наиболее распространенными являются пиодермия, везикулопустулез, пемфигус, эксфолиативный дерматит; у более старших детей и взрослых — абсцесс, фурункул, гидроадениты, панариций, множественные абсцессы и др.;

- *болезни органов дыхания*, из которых наиболее часты ангина, плеврит, пневмония;

- *болезни нервной системы и органов чувств* — менингит, отит, конъюнктивит, дакриоцистит и др.;

- *болезни органов пищеварения* — стоматит, перитонит, парапроктит, энтерит, энтероколит, пищевая интоксикация;

- *болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани* — артриты, остеомиелит, периостит и др.;

- *болезни системы кровообращения* — эндокардит, перикардит, флебит и др.;

- *болезни мочеполовых органов* — пиелит, цистит, уретрит, мастит, эндометрит, орхит и др.;

- *стафилококковый сепсис.*

подавляющее большинство заболеваний, вызываемых стафилококками, носит гнойно-воспалительный характер. Они характеризуются образованием воспалительных очагов в поражаемых органах и тканях, сопровождаются температурой, интоксикацией,

нарушением самочувствия, выраженных в зависимости от степени поражения и поражаемого органа. Протекают остро или хронически. В то же время стафилококки могут вызывать нетипичные заболевания, такие как синдром «ошпаренных младенцев» и др.

Синдром «ошпаренных младенцев» (болезнь Риттера) наблюдают у новорожденных, инфицированных штаммами, продуцирующими эксфолиатину. На коже образуются пузыри (как при термических ожогах) и мокнущие эрозированные участки.

Синдром «ошпаренной кожи» (синдром Лайелла) наблюдают у более старших детей и взрослых. На коже образуются очаги эритемы и пузыри, с отхождением субэпидермального слоя.

Синдром токсического шока — эндотоксинавая инфекция, развивающаяся при инфицировании штаммами-продуцентами токсина TSST-1 и, реже, энтеротоксинов В и С. Впервые поражение зарегистрировано в 1980 г. у женщин 15–25-летнего возраста, использующих сорбирующие тампоны в период менструаций; синдром может также развиваться после родов или как осложнение после хирургических вмешательств, особенно на полости носа и придаточных пазухах носа. Проявляется высокой температурой тела (38,8 °C и выше), рвотой, диареей, скарлатиноподобной сыпью (чаще на ладонях и подошвах) с последующей десквамацией через 1–2 недели, а также снижением артериального давления с развитием шока, часто приводящего к летальному исходу. После появления тампонов с пониженными сорбирующими свойствами и без полиакриловых наполнителей частота случаев развития шоков резко сократилась.

Пищевые отравления клинически проявляются рвотой, абдоминальными болями и водянистой диареей уже через 2–6 часов после употребления в пищу инфицированных продуктов, обычно кондитерских изделий с кремом, консервов, мясных и овощных салатов и т. д. Поражения носят самоограничивающийся характер, их проявления исчезают или значительно ослабевают через 24 ч даже без лечения.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет — клеточно-гуморальный, нестойкий и ненапряженный, как при всех оппортунистических инфекциях.

Микробиологическая диагностика. Условно-патогенный характер возбудителя, широкое распространение стафилококков в нормофлоре человека и в окружающей среде затрудняют оценку этиологической значимости стафилококков, выделенных из патологическо-

Таблица 16.3. Бактериологическая диагностика стафилококковых инфекций

| День исследования | Вид исследования |
|-------------------|--|
| 1-й день | Посев исследуемого материала на желточно-солевой агар |
| | Посев крови в сахарный бульон |
| 2-й день | Пересев выросших колоний стафилококков для выделения чистой культуры |
| 3-й день | Изучение культуральных свойств. |
| | Микроскопия мазков из колоний, окрашенных по Граму. |
| | Постановка коагулазной пробы. |
| | Посев на среду с маннитом для проверки анаэробной ферментации. |
| | Определение ДНКазной активности. |
| 4-й день | Определение фаголизабельности. |
| | Определение антибиотикограммы |
| | Учет результатов |

го материала, особенно открытых полостей. Предположить стафилококковую этиологию заболевания позволяют выделение стафилококка в чистой культуре, повторность выделения одного и того же фаговара, динамика специфических иммунологических показателей.

Материал для исследования — гной, кровь, моча, мокрота, мазки со слизистой носа и зева, рвотные массы, испражнения и др., — выбирается в зависимости от клинической картины болезни.

Лабораторная диагностика включает *бактериологический* и *серологический* методы. Бактериоскопия мазков из исследуемого материала не проводится, так как в них стафилококки могут располагаться поодиночке, парами, тетрадами, иным образом, а поэтому их невозможно морфологически отличить от других грамположительных кокков.

Исследуемый материал сеют на плотную элективную среду желточно-солевой агар, кровь предварительно засевают в сахарный бульон, а при появлении роста в бульоне делают высев на желточно-солевой агар. У культуры, выросшей на желточно-солевом агаре, определяют наличие пигмента, лецитовителлазы, морфологию клеток, наличие каталазы, ферментацию 1% глюкозы в полужидкой среде Гисса под вазелиновым маслом, наличие плазмокоагулазы и ДНКазы.

У штаммов *S. aureus*, выделенных при пищевой стафилококковой интоксикации, определяют наличие энтеротоксинов в биологических и иммунологических тестах. Для

выявления продукции энтеротоксина ставят биопробу на новорожденных котятках либо определяют токсигенность выделенных культур реакцией преципитации в геле.

Культуры стафилококка, выделенные от людей в эпидемических очагах стафилококковой инфекции, фаготипируют с помощью 22 фагов международного набора для проведения эпидемического маркирования с целью выявления источника инфекции.

Чувствительность стафилококков к антибиотикам определяют методом диффузии в агаре с помощью стандартных дисков или методом серийных разведений.

Предварительные результаты по идентификации стафилококков можно получить через 1–2 суток. Схема бактериологического исследования на стафилококки представлена в табл. 16.3.

Серологический метод диагностики стафилококковой инфекции применяют главным образом в случаях хронической инфекции, особенно если больной получал массивную предшествующую антибиотикотерапию и выделить возбудителя не удастся. Наиболее часто с этой целью определяют титр анти- α -токсина в сыворотке крови больных реакцией торможения гемолиза по Выгодчикову. В ряде случаев определяют титр АТ к риботейхоевой кислоте — одному из компонентов клеточной стенки или проводят реакцию аутоагглютинации. Титрование антител осуществляют в динамике.

Лечение. Определяется особенностями клинических форм стафилококковой инфекции. Общие принципы лечения основываются на

комплексной терапии, включающей адекватное хирургическое вмешательство (санация гнойных очагов), рациональную антибиотикотерапию и иммунотерапию. Принимая во внимание широкое распространение антибиотикорезистентных штаммов стафилококков, необходимо назначать антибиотики с учетом результатов антибиотикограммы. При невозможности направленной антибиотикотерапии, до получения результатов антибиотикограммы следует отдать предпочтение антибиотикам широкого спектра действия, например полусинтетическим пенициллинам, обладающим устойчивостью к β -лактамазе. Высокоэффективны комбинированные препараты, содержащие блокаторы β -лактамазы, например амоксиклав (амоксициллин в комбинации с клавулановой кислотой).

С учетом того, что стафилококковой инфекцией страдают преимущественно иммунокомпромиссные лица, таким больным показана иммуностимулирующая терапия.

Профилактика. Проводится комплекс мер, направленных на ликвидацию источника инфекции: выявление и лечение больных и носителей инфекции. Важное значение имеет ежедневный осмотр медперсонала, особенно в родильных, реанимационных и хирургических отделениях, с целью выявления и отстранения от работы лиц с ГВЗ (особенно кистей рук и носоглотки), а также своевременное и полное выявление заболевших стафилококковой инфекцией среди пациентов стационара и их изоляция в специальном отделении или отдельной палате. В хирургии с этой целью широко практикуется раздельное ведение «чистых» и «гнойных» больных.

Необходимо проведение планового обследования медперсонала на носительство стафилококка в верхних дыхательных путях, выявление резидентных носителей и их санация с помощью стафилококкового бактериофага, хлорофиллипта, эктерицида, лизоцима. Санация антибиотиками носителей стафилококков недопустима.

С целью разрыва механизмов и путей передачи, в стационарах устанавливают строгий санитарно-гигиенический режим, соблюдение правил асептики, антисептики, дезинфекции и стерилизации.

Наконец, в отдельных случаях для создания искусственного приобретенного активного иммунитета проводят вакцинацию стафилококковым анатоксином или вводят стафилококковый иммуноглобулин, противостафилококковую донорскую гипериммунную плазму. Показано также назначение иммуностимуляторов.

16.1.1.2. Семейство *Streptococcaceae*

Семейство *Streptococcaceae* включает семь родов, шесть из которых патогенны для человека: *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* и *Lactococcus*. Наибольшее клиническое значение имеют стрептококки и энтерококки, тогда как остальные вызывают лишь спорадические или редкие случаи заболевания.

Бактерии семейства *Streptococcaceae* вызывают ГВЗ различных органов и систем, причем для каждого представителя этого семейства характерна локализация процесса.

16.1.1.2.1. Стрептококки (род *Streptococcus*)

Морфология. Впервые обнаружены в тканях человека при рожистом воспалении и раневых инфекциях Билротом (1874), септицемиях и гнойных поражениях Пастером (1879) и Огстоном (1881); в чистой культуре их выделили Феляйзен (1883) и Розенбах (1884). *S. pneumoniae* впервые выделил Пастер (1881); этиологическую роль в развитии пневмоний у человека доказали Френкель и Вайхсельбаум (1884). Представляют собой сферические или овоидные клетки размером 0,5–2,0 мкм; в мазках располагаются парами или короткими цепочками (особенно при выращивании на жидких средах); под различными воздействиями могут приобретать вытянутую или ланцетовидную форму, напоминая коккобациллы. Неподвижны, спор не образуют; некоторые виды имеют капсулу; грамположительные. Способны образовывать L-формы. Клеточная стенка состоит из трех слоев: наружный слой содержит типоспецифические белковые T- и M-антигены, а также ряд неспецифических белковых антигенов, связанных или не связанных с M-АГ; в состав среднего слоя входит групповой полисахарид, построенный из N-ацетилглюкозамина и рамнозы;

внутренний слой содержит пептидогликан. Из клеточной стенки через капсулу выходят фимбрии, содержащие М-АГ и липотейхоевую кислоту. Основным адгезином является липотейхоевая кислота, покрывающая поверхностные фимбрии.

Пневмококки — овальные или ланцетовидные кокки диаметром около 1 мкм; в мазках из клинического материала располагаются парами, каждая из которых окружена толстой капсулой; в мазках из чистой культуры могут располагаться цепочками и быть более округлыми. При росте на простых средах образуют тонкую капсулу; ее развитие стимулирует внесение крови, сыворотки или асцитической жидкости; неподвижны, спор не образуют.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы; капнофилы; некоторые — микроаэрофилы, предпочитают анаэробные условия. Растут в интервале температур 25–45 °С; оптимум — 37 °С. Питательные потребности сложные, стрептококки более требовательны к средам культивирования, чем стафилококки. Растут на сложных питательных средах с добавлением крови, сыворотки, асцитической жидкости, углеводов. При росте на агаре с кровью барана образуют колонии с зоной α- (частичный гемолиз и позеленение среды), β- (полный гемолиз) и γ-гемолиза (визуально невидимый гемолиз); основными возбудителями болезней человека являются β-гемолитические виды, большая часть которых относится к серогруппе А.

Пневмококки — факультативные анаэробы; капнофилы. Хорошо растут на кровяных или сывороточных средах, дополненных 0,1% глюкозой; температурный оптимум — 37 °С; оптимум рН — 7,8. На жидких средах дают равномерное помутнение и небольшой хлопьевидный осадок; при длительном культивировании осадок увеличивается. На агаре образуют нежные полупрозрачные, четко очерченные колонии около 1 мм в диаметре; иногда они могут быть плоскими с центральным углублением; подобно прочим стрептококкам колонии никогда не сливаются между собой. На кровяном агаре колонии окружает зона α-гемолиза в виде зеленоватой обесцвеченной зоны.

Ферментативная активность ниже, чем у стафилококков. Хемоорганотрофы; метаболизм

бродильный; клинически значимые виды, ферментируют глюкозу с образованием молочной кислоты. Каталазаотрицательны.

Для дифференцировки пневмококка от прочих стрептококков используется проба с оптохином (угнетает их рост); от зеленящих стрептококков пневмококк отличают способность ферментировать инулин, а также чувствительность к желчи (дезоксихолатная проба).

Антигенная структура сложная. По предложению Р. Лэнсфилд (1933) стрептококки классифицируют по наличию специфических полисахаридов в клеточной стенке; выделяют 20 серогрупп, обозначаемых заглавными латинскими буквами (от А до V). Ряд α- и γ-гемолитических стрептококков не вошел ни в одну из серогрупп. В патологии человека основная роль принадлежит стрептококкам группы А. По специфичности белковых АГ — М, Р, и Т стрептококки внутри групп разделяют на серовары. Белок М — типоспецифический АГ; антитела к нему обеспечивают длительную невосприимчивость к повторным заражениям; однако выделяют более 80 серотипов белка М, что значительно снижает эффективность гуморальных защитных реакций. Белок М проявляет свойства суперантигена, вызывая поликлональную активацию лимфоцитов и образование АТ с низким аффинитетом; подобные свойства играют существенную роль в нарушении толерантности к собственным тканевым АГ и развитии иммунопатологии.

Пневмококк не содержит группового АГ и серологически не однороден: по АГ капсульных полисахаридов выделяют 84 серовара.

Факторы патогенности. Стрептококки — УПМ. Факторами патогенности являются микрокапсула, компоненты клеточной стенки, ферменты агрессии и токсины. Фимбриальный белок или белок М — основной фактор патогенности. Он обладает антифагоцитарным действием; связывает фибриноген, фибрин и продукты его деградации; адсорбирует их на своей поверхности, маскируя рецепторы для компонентов комплемента и опсоинов. Вирулетные, свежесыведенные от больных штаммы, содержащие М-АГ, способны расти и размножаться в крови человека, а культуры, лишенные М-АГ, — ави-

рулентны и фагоцитируются в крови человека без добавления антител против М-АГ гомологичного типа. Вторым по значимости фактором патогенности является капсула, защищающая стрептококки от фагоцитоза и облегчающая адгезию к эпителию; поскольку капсула образована гиалуроновой кислотой, то она проявляет минимальную иммуногенную активность. Интерес представляет способность бактерий самостоятельно разрушать капсулу при инвазии в ткани за счет синтеза гиалуроновой кислоты. Третьим фактором, подавляющим активность фагоцитов, является C_{5a} -пептидаза. Фермент расщепляет и инактивирует C_{5a} -компонент комплемента, являющийся мощным хемоаттрактантом.

Стрептококки продуцируют ферменты *агрессии* (стрептолизины S и O, гиалуронидаза, ДНКазы, НАДазы и стрептокиназа) и *эритрогенные токсины*.

Стрептолизин O чувствителен к кислороду; проявляет иммуногенные свойства и вызывает гемолиз эритроцитов; *стрептолизин S* резистентен к кислороду, не обладает антигенными свойствами и вызывает поверхностный гемолиз на кровяных средах. Оба фермента разрушают не только эритроциты, но и другие клетки; в частности, продуценты стрептолизина S способны разрушать фагоциты, поглотившие их.

Стрептококки группы A и некоторых других групп продуцируют ДНКазу четырех типов (A, B, C, D) или *стрептодорназу*. При стрептококкозах человека обнаружен высокий титр антител против ДНКазы B; выявление АТ к стрептодорназе B используют в диагностике различных осложнений, вызванных стрептококками группы A. Стрептококки группы A продуцируют *гиалуронидазу I* и II типов; АТ к гиалуронидазе I типа в высоких титрах встречаются при стрептококкозах человека. Гиалуронидаза облегчает распространение стрептококков по соединительной ткани. Стрептококки группы A продуцируют *никотинамидадениндинуклеотидазу*, обладающую кардиотоксическим и лейкоцитоксическим действием. *Стрептокиназу* продуцирует большинство стрептококков группы A и ряд культур групп C и G. Стрептокиназа активизирует пламиноген, что приводит к образованию

плазмина и растворению фибриновых волокон. Клиническое применение нашла очищенная смесь стрептокиназы, стрептодорназы и других протеолитических ферментов стрептококков (стрептокиназа-стрептодорназа), используемая для рассасывания тромбов, фибринозных и гнойных экссудатов.

Эритрогенные (пирогенные) *токсины* весьма схожи с токсинами стафилококков; разделяются на три типа (A, B и C); проявляют пирогенную активность (за счет непосредственного действия на гипоталамус), а также ведут к появлению обусловленных иммунными механизмами высыпаний на коже. Эритрогенные токсины проявляют суперантигенные свойства, оказывая митогенный эффект на Т-клетки, а также стимулируют секрецию макрофагами ИЛ-1 и фактора некроза опухолей, являющихся медиаторами септического шока.

Кардиогепатический токсин продуцируют некоторые штаммы стрептококков группы A; токсин вызывает поражения миокарда и диафрагмы, а также образование гранулем в печени.

Основной фактор вирулентности пневмококков — капсула, защищающая бактерии от фагоцитоза и действия опсонинов. Некапсулированные штаммы практически авирулентны и встречаются редко. Важное значение имеет субстанция C — холинсодержащая тейхоевая кислота клеточной стенки, специфически взаимодействующая с C-реактивным белком. Следствием подобного реагирования является активация комплемента и высвобождение медиаторов острой фазы воспаления.

Устойчивость в окружающей среде у стрептококков ниже, чем у стафилококков. Стрептококки различных групп, кроме энтерококков, погибают при нагревании до 56 °С в течение 30 мин, при кипячении — моментально; хорошо выдерживают высушивание, особенно в белковой среде, сохраняя жизнеспособность, но быстро теряя вирулентность. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Большинство стрептококков чувствительно к β-лактамам антибиотикам и макролидам; все стрептококки группы A высокочувстви-

тельны к антибиотикам пенициллинового ряда и не приобретают к ним устойчивости.

Эпидемиология. Являются представителями нормофлоры организма человека и животных. Стрептококки группы А колонизируют кожные покровы и слизистые оболочки человека; группы В колонизируют носоглотку, ЖКТ и влагалище. Известны штаммы пневмококка, колонизирующие организм человека и животных.

Источник инфекции — больные люди или носители, значительно реже — больные животные; при пневмококковой инфекции — больные люди и носители.

Поскольку стрептококки, как и все УПМ, не имеют органного тропизма, то для стрептококковых инфекций характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи, хотя доминирует аэрогенная передача воздушно-капельным путем.

Восприимчивость к стрептококкам, как и ко всем УПМ, очень низкая у лиц с нормальным иммунным статусом и повышенная у иммунокомпромиссных хозяев. Очень часто стрептококковая инфекция развивается на фоне вторичных иммунодефицитов, например, после перенесенной ОРВИ.

Патогенез. Стрептококки, как и все УПМ, вызывают *оппортунистическую инфекцию*; патогенез аналогичен патогенезу стафилококковых поражений и обусловлен действием многочисленных факторов патогенности микроба.

Патогенез большинства пневмоний включает аспирацию слюны, содержащей пневмококки, и проникновение бактерий в нижние отделы дыхательных путей. Существенное значение имеет нарушение защитных дренирующих механизмов — кашлевого толчка и мукоцилиарного клиренса.

Клиника. Для стрептококковых инфекций характерно поражение различных органов и тканей организма человека. Клинические проявления болезни могут быть самые разнообразные, они диктуются не столько видом микроба, сколько характером пораженного органа.

Стрептококковые инфекции — большая и разнородная группа острых и хронических, специфических и неспецифических заболеваний человека, вызываемых стрептококками.

Стрептококковые инфекции подразделяют на:

- *острые стрептококковые заболевания*, при которых стрептококк является главным или единственным возбудителем (скарлатина, рожа, ангина, импетиго, острый гломерулонефрит, острый и подострый бактериальные эндокардиты, послеродовой сепсис);

- *хронические стрептококковые заболевания*, при которых стрептококк — главный или единственный возбудитель (ревматизм и хронический тонзиллит);

- *острые и хронические заболевания*, при которых стрептококк является одним из множества возбудителей. В эту группу включают различные ГВЗ.

Пневмококк — один из основных возбудителей бактериальных пневмоний, регистрируемых вне стационаров (2–4 случая на 1000 человек); ежегодно в мире наблюдают не менее 500 000 случаев пневмококковых пневмоний (реальная величина значительно больше). Классическая пневмококковая пневмония начинается внезапно; отмечают подъем температуры тела, продуктивный кашель и боли в груди. У ослабленных лиц и стариков заболевание развивается медленно, с незначительной лихорадкой, нарушением сознания и признаками легочно-сердечной недостаточности. У взрослых чаще наблюдают долевые поражения легких; у детей и лиц преклонного возраста доминируют периферические или очаговые поражения.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет нестойкий и ненапряженный, как при всех оппортунистических инфекциях.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — гной, кровь, моча, мокрота, мазки со слизистой носа и зева, ликвор и др. — определяется клинической картиной болезни.

Лабораторная диагностика включает *бактериологический* и *серологический* методы, а при подозрении на пневмококковую инфекцию — еще *бактериоскопический* и *биологический* методы. Бактериоскопия мазков из исследуемого материала не проводится, так как в них стрептококки могут располагаться поодиночке, парами, тетрадами и другими способами и поэтому их невозможно морфологически отличить от других грамположительных кокков. В мазках из клинического

материала пневмококки располагаются парами, каждая из которых окружена толстой капсулой; овальные или ланцетовидные грамположительные диаметром около 1 мкм.

Для выделения чистой культуры стрептококка материал, взятый тампоном, погружают в полужидкий агар на дно пробирки, содержащей каплю крови барана. После инкубации в течение 3–4 ч при 37 °С производят высев на кровяной агар. Идентификация β-гемолитических стрептококков проводится на основании обнаружения на агаре характерных колоний, окруженных зоной гемолиза, и микроскопии мазков, окрашенных по Граму. Для определения серогруппы применяют реакцию преципитации в жидкой среде с использованием солянокислых экстрактов, полученных из стрептококков, и диагностических групповых сывороток, а также коаггутинацию стрептококков с помощью специфических антител, связанных за счет Fc-фрагментов со стафилококком, содержащим А-белок.

Типирование стрептококков группы А по наличию Т- или М-АГ выполняется при проведении эпидемиологического анализа. Типирование по Т-АГ проводят в реакции агглютинации на стекле (метод Гриффитса) с Т-антисыворотками. Типирование по М-АГ

проводят в реакции преципитации в жидкой среде с типоспецифическими адсорбированными М-антисыворотками (метод Лэнсфилд). Стрептококки необходимо дифференцировать с энтерококками, для которых характерны следующие отличительные признаки:

- способность расти в диапазоне температур от 10 до 45 °С;
- устойчивость к высоким концентрациям NaCl;
- устойчивость к пенициллину;
- устойчивость к щелочной среде (pH 9,6).

Антибиотикограмму определяют только в том случае, если выделенная культура не относится к группе А. Схема бактериологического исследования на стрептококки представлена в табл. 16.4.

Серологический метод диагностики стрептококковой инфекции применяют главным образом в случаях хронической инфекции, особенно если больной получал массивную предшествующую антибиотикотерапию и выделить возбудителя не удастся. Наиболее часто с этой целью определяют наличие в крови стрептококкового АГ в РСК и специфических стрептококковых антител к токсинам, в частности к стрептолизину О или стрептодорназе. Антистрептолизин О определяют в реакции

Таблица 16.4. Бактериологическая диагностика стрептококковых инфекций

| День исследования | Вид исследования |
|-------------------|---|
| 1-й день | Посев крови в «мартеновский» бульон и на среду Тароцци (полуанаэробные условия). Посев других видов исследуемого материала (гной, слизь и т. п.) на кровяной агар |
| 2-й день | Высев с бульона на кровяной агар (в течение 3–4 недель при инкубации первичного посева в термостате). Пересев выросших колоний стрептококков на кровяной агар для выделения чистой культуры |
| 3-й день | Изучение культуральных свойств. Микроскопия мазков из колоний, окрашенных по Граму. Посев на: <ul style="list-style-type: none"> • сахарный бульон, • бульон с повышенной концентрацией NaCl, • желчный бульон и др. Определение температурных границ роста (10–45 °С). Изучение биохимической активности. Определение серогруппы и серовара. Определение антибиотикограммы |
| 4-й день | Учет результатов |

нейтрализации. Серологические исследования также позволяют выявлять носителей. Следует помнить, что АГ к стрептолизину О не образуются при кожных инфекциях, вызываемых стрептококками группы А.

При пневмококковой инфекции с целью выделения чистой культуры возбудителя ставят биопробу — внутрибрюшинно заражают белых мышей материалом от больного. Однако при смешанной инфекции, вызванной ассоциацией пневмококков с некоторыми другими УПМ, например клебсиеллами, к которым белые мыши также высокочувствительны, выделить чистую культуру биологическим методом не представляется возможным.

Лечение. Аналогично лечению стафилококковой инфекции. При выделении от больного стрептококка группы А препарат выбора — пенициллин. Среди пневмококков часто встречаются штаммы, резистентные к пеницилинам; химиотерапию проводят антибиотиками, к которым выявлена чувствительность микроба — левомицетином, цефтриаксоном, ванкомицином, рифампицином и др. Лечебные иммунобиологические препараты против стрептококков не разработаны.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая такая же, как и при стафилококковой инфекции.

Для профилактики пневмококковых инфекций разработана поливалентная вакцина, включающая 23 различных полисахаридных АГ сероваров, вызывающих 90 % гематогенных инфекций. Иммунизация показана группам повышенного риска и осуществляется двукратно с 5–10-летним интервалом.

16.1.1.2.2. Энтерококки (род *Enterococcus*)

Морфология. Представляют собой овальные бактерии диаметром $0,6 \div 2,0 \times 0,6 \div 2,5$ мкм; в мазках из культур, выращенных на жидких средах, располагаются парами или короткими цепочками. Спор и капсул не образуют; некоторые виды ограниченно подвижны (имеют небольшие жгутики). Ранее микробы систематизировали как стрептококки группы D (некоторые также реагируют с антисыворотками к группе Q), а с 1984 г. они выделены в отдельный род. Поводом для этого яви-

лось открытие уникального для всех стрептококков группового АГ — глицеринтейхоевой кислоты, содержащей D-аланин и глюкозу. Типовой вид — *E. faecalis*.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы; хемоорганотрофы. Пищевые потребности сложные; энтерококки хорошо растут на простых средах; на кровяном агаре могут давать зоны полного (редко) или неполного гемолиза; селективными являются среды Диф-3 или Диф-5. Через 24 ч образуют сероватые колонии 0,4–1 мм в диаметре; признаками, дифференцирующими их от зеленеющих стрептококков, является способность расти на средах, содержащих 6,5% NaCl, а также способность изменять окраску лакмусового молока или молока с метиленовым синим через 4–6 ч при 37 °С. Растут в интервале температур 10–45 °С (оптимум — 37 °С).

Ферментативная активность. Метаболизм ферментативного типа; расщепляют различные углеводы с образованием кислоты (преимущественно молочной) без газа; каталаза-отрицательны; в редких случаях восстанавливают нитраты. Основные дифференциальные признаки клинически значимых энтерококков представлены в табл. 16.5.

Антигенная структура аналогична таковой стрептококков; относятся к серогруппе D.

Факторы патогенности. Энтерококки являются УПМ. Факторы патогенности возбудителя — компоненты клеточной стенки, ферменты агрессии и токсины.

Экологическая ниша. Широко распространены в природе; обитают в кишечнике различных позвоночных и человека. Энтерококки входят в состав микрофлоры ротовой полости, кишечника и мочеполовой системы взрослых; так, *E. faecium* выделяют из испражнений у 25 % клинически здоровых лиц.

Устойчивость в окружающей среде более высокая, чем у стрептококков, и приближается к таковой стафилококков, поэтому энтерококки используются в санитарной микробиологии в качестве санитарно-показательных микробов. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов. Обладают природной устойчивостью к большинству антибиотиков, кроме того, все антибиотики, даже последних поколений,

Таблица 16.5. Основные дифференциальные признаки клинически значимых энтерококков

| Признак | <i>E. durans</i> | <i>E. faecalis</i> | <i>E. faecium</i> |
|-----------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Подвижность | — | ± (11–20 % изолятов) | ± (11–20 % изолятов) |
| Рост при 45 °С | + | + | + |
| Рост при 50 °С | — | ± (11–20 % изолятов) | + (80–89 % изолятов) |
| Рост на средах, содержащих: | | | |
| • 6,5% NaCl | + | + | + |
| • 0,04% теллурита | — | + | — |
| • молоко с 0,1% метиленовым синим | + | + | ? |
| Образование желтого пигмента | — | — | — |
| Гемолиз | α-, β- | Иногда β- | Иногда α- |
| Гидролиз гиппурата | + | + | + (80–89 % изолятов) |
| Образование кислоты из: | | | |
| • рамнозы | — | + | — |
| • сахарозы | — | + | + |
| • арабинозы | — | — | + |
| • глицерина | — | + | + |
| • сорбита | — | + (80–89 % изолятов) | — |
| • маннита | ± (11–20 % изолятов) | + | + (80–89 % изолятов) |
| Серологическая группа Лэнсфилд | D | D | D |

действуют на энтерококки только бактериостатически.

Эпидемиология и патогенез аналогичны таковым стрептококковых инфекций.

Клиника. Часто вызывают поражения мочеполовой системы, особенно у катетеризированных пациентов; также вызывают 10–20 % всех бактериальных эндокардитов и 5 % бактериемий. Гемолизирующие энтерококки также способны вызывать пищевые отравления и дисбактериозы кишечника. В патологии человека наибольшее значение имеют *E. faecalis*, *E. faecium* и *E. durans*.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — гной, кровь, моча, и др. — определяется клинической картиной болезни.

Лабораторная диагностика включает *бактериологический* и *серологический* методы. Бактериоскопия мазков из исследуемого материала не проводится, так как в них энтерококки могут располагаться поодиночке,

парами, тетрадами и другими способами и поэтому их невозможно морфологически отличить от других грамположительных кокков. Выделение возбудителя обычно не представляет трудностей, энтерококки дифференцируют со стрептококками.

16.1.1.2.3. Аэрококки (род *Aerococcus*), лейконостоки (род *Leuconostoc*), педиококки (род *Pediococcus*) и лактококки (род *Lactococcus*)

Микробы родов *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* и *Lactococcus* обладают низкой патогенностью; заболевания, вызванные ими у человека, регистрируют достаточно редко (обычно у иммунокомпрометированных хозяев).

Под *Aerococcus* образуют неподвижные шаровидные клетки 1,0–2,0 мкм в диаметре; в мазках из культур, выращенных на жидких средах, располагаются тетрадами. Факультативные анаэробы, но лучше растут в микроаэрофильных условиях. Образуют H₂O₂, вызывая позеленение кровяного агара. Хемоорганотрофы с окис-

лительным метаболизмом; углеводы ферментируют с образованием кислоты. Каталазаотрицательны или слабоположительны. Желатину не разжижают, нитраты не восстанавливают. Температурный оптимум — 30 °С (также растут при 10 °С, но не при 45 °С). Типовой вид — *A. viridans*. Сапрофиты, широко распространенные в стационарах; иногда могут загрязнять оборудование для инвазивных исследований. Контаминирование медицинского инструментария способно приводить к эндокардитам и инфекциям мочевыводящих путей. Принципы выделения аэрококков аналогичны таковым при индикации стрептококковых инфекций; бактерии образуют беловато-серые колонии, сформированные крупными кокками, собранными в тетрады или пары. Подобно энтерококкам способны расти на средах, содержащих 6,5% NaCl, однако не растут при 10 °С и чувствительны к бацитрацину.

Pod Leuconostoc — неподвижные неспорообразующие сферические, овальные или палочковидные (с закругленными концами) бактерии; средние размеры — 0,5÷0,7×0,7÷1,2 мкм. Факультативные анаэробы, хемоорганотрофы; нуждаются в наличии углеводов при культивировании; преимущественно ферментируют моно- и дисахариды с образованием кислоты и газа. Основные ферментативные продукты — лактат и этанол. Каталазаотрицательны; аргинин не гидролизуют; индол не образуют; нитраты не восстанавливают; гемолитическую активность не проявляют. Растут медленно; колонии мелкие, на средах с сахарозой образуют более крупные слизистые колонии. Широко распространены в природе, часто колонизируют пищевые продукты. Типовой вид — *L. mesenteroides*. До 1985 г. отдельные сведения указывали на возможную роль лейконостоков в развитии пищевых токсикоинфекций, но затем появились многочисленные сообщения о выделении бактерий из крови новорожденных и больных с иммунодефицитами, страдающих бактериемиями, эндокардитами, пневмониями, а также из спинномозговой жидкости при менингитах. Колонии лейконостоков сероватого цвета; на кровяных средах гемолиза не вызывают. Отличительными особенностями являются способность гидролизовать эскулин в присутствии желчных солей, образование газа при ферментации глюкозы и резистентность к ванкомицину.

Pod Pediococcus представлен шаровидными бактериями 1,0–2,0 мкм в диаметре; в мазках встречаются в виде тетрад или парно. Неподвижны, спор не образуют. Факультативные анаэробы, но некоторые виды растут в микроаэрофильных или анаэробных условиях. Хемоорганотрофы; пищевые потребности

сложные, нуждаются в наличии ферментируемых углеводов (моно- и дисахаридов). Глюкозу расщепляют с образованием газа; основной ферментативный продукт — лактат. Цитохромов не имеют; каталазаотрицательны; нитраты не восстанавливают. Температурный оптимум — 25–40 °С. Широко распространены в природе, обычно на растениях и пищевых продуктах. Типовой вид — *P. damnosus*. Патогенность микробов остается недоказанной, несмотря на то что *P. acidilactici* можно выделить из ран и крови пациентов с иммунодефицитами. Колонии гладкие, беловато-серые, не дающие гемолиза на кровяных средах; образованы крупными кокками, собранными в тетрады или пары. Бактерии гидролизуют эскулин в присутствии желчных солей, не образуют газа при ферментации глюкозы и резистентны к ванкомицину.

Pod Lactococcus представлен сферическими или овальными клетками 0,5÷1,2×0,6÷2,5 мкм; в мазках из бульонных культур располагаются парами или короткими цепочками. Неподвижны; спор не образуют; капсул не имеют. Факультативные анаэробы; хемоорганотрофы с ферментативным метаболизмом. Углеводы расщепляют с образованием преимущественно молочной кислоты. Пищевые потребности сложные. Каталаза- и оксидазаотрицательны; растут при 10 °С, но не при 45 °С (оптимум — 30 °С). По системе Лэнсфилд АГ относятся к группе N. Колонизируют растения и пищевые продукты. Типовой вид — *L. lactis*. В настоящее время патогенность не доказана, имеются лишь сообщения о выделении из организма человека *L. garviae*, образующего беловатые негемолизирующие колонии, организованные коккобациллярными или нитчатыми клетками.

16.1.2. Аэробные грамотрицательные кокки

16.1.2.1. Нейссерии (род *Neisseria*)

Нейссерии — грамотрицательные аэробные кокки, относятся к роду *Neisseria*, включающему восемь видов: *Neisseria meningitidis* (менингококки), *Neisseria gonorrhoeae* (гонококки), *N. flava*, *N. subflava*, *N. perflava*, *N. sicca*, *N. mucosa*, *N. flavescens*. Обитают на слизистых оболочках человека и млекопитающих; 7 видов встречаются у человека, из них 5 видов являются представителями нормофлоры носоглотки и верхних дыхательных путей (*N. sicca*, *N. flavescens*, *N. perflava*, *N. mucosa* и *N. lactamica*), хотя описаны единичные случаи их выделения при гнойных менингитах, отитах, синуситах и других ГВЗ у иммуно-

ГЛАВА 16. Частная бактериология

компромиссных лиц. Нейссерии содержат аллергены и могут быть причиной аллергических заболеваний (бронхиальная астма). Наибольшее клиническое значение имеют менингококки и гонококки. Основные отличительные признаки бактерий рода *Neisseria* представлены в табл. 16.6.

Морфология. Грамотрицательные неспорообразующие кокки диаметром 0,6–1,0 мкм, неподвижны. Отличаются склонностью к образованию пар и тетрад, связанной с делением клеток в двух плоскостях; обращенные друг к другу поверхности бывают утолщены. Исключением считают *Neisseria elongata*, образующую короткие (0,5 мкм) палочки (диплобациллы и короткие цепочки). Некоторые виды имеют капсулу и микроворсинки.

Культуральные свойства. Аэробы, хемоорганотрофы. Температурный оптимум роста — 35–37 °С, патогенные виды могут расти в интервале температур 24–41 °С, а непатогенные способны к росту при температурах ниже 24 °С. Оптимум pH 6–8. Патогенные виды прихотливы к условиям культивирова-

ния, не растут на обычных питательных средах; непатогенные виды менее прихотливы. Виды, обитающие в носоглотке, образуют желтый пигмент — от слабо-желтого до яркого, особенно заметный у 48-часовых культур на плотных средах с добавлением куриного желтка. Наличие в питательной среде свободных жирных кислот ингибирует рост нейссерий, что инактивируют внесением крахмала, сыворотки или древесного угля.

Ферментативная активность низкая, особенно у патогенных видов. Имеют каталазу (исключая *Neisseria elongata*), цитохромоксидазу; ферментация углеводов по оксидативному типу зависит от вида; конечный продукт — уксусная кислота. Сахаролитические свойства выражены нечетко. Некоторые виды образуют сходный с крахмалом полисахарид на среде с 5 % сахара. Многие виды редуцируют нитриты, некоторые восстанавливают нитраты. Биохимические свойства нейссерий представлены в табл. 16.6.

Антигенная структура. Все виды нейссерий имеют полисахаридный соматический О-АГ;

Таблица 16.6. Основные дифференциально-диагностические свойства нейссерий

| ВИД | Рост на агаре без сыыворотки | Зависимость роста от CO ₂ | Желтый пигмент | Ферментация: | | | | | Образование полисахарида на среде с 5 % сахара | РЕДУКЦИЯ** | |
|------------------------|------------------------------|--------------------------------------|----------------|--------------|----------|----------|----------|---------|--|------------|----------|
| | | | | глюкоза | 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 | – | – | + |

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

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

***Биовар *N. perflava* положителен.

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

штаммы, образующие капсулу, также имеют капсульный антиген.

Факторы патогенности: капсула, пили, эндотоксин, поверхностные белки наружной мембраны. Патогенными для человека являются менингококки и гонококки.

Устойчивость в окружающей среде низкая, поэтому в культурах старше 1–2 суток практически не содержится живых клеток. Клинический материал транспортируют в лабораторию в утепленных контейнерах при 30–35 °С. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов. Высокочувствительны к пенициллинам, тетрациклинам, стрептомицину.

16.1.2.1.1. Менингококки

Менингококковая инфекция — это острое инфекционное заболевание человека, вызываемое *Neisseria meningitidis*, которое передается воздушно-капельным путем и характеризуется локальным поражением слизистой оболочки носоглотки с последующей генерализацией в виде менингококковой септицемии (менингококцемия) и воспаления мягких мозговых оболочек (менингококковый менингит).

Заболевание выделено в самостоятельную нозологическую форму после открытия возбудителя (Вайхельбаум, 1887 г.). Описание морфологии менингококка дал Флекснер в 1907 г., а в 1899 г. Ослер выделил менингококк из крови больного, что позволило окончательно установить этиологию инфекции.

Морфология. Клетки имеют округлую форму диаметром 0,6–1,0 мкм, располагаются парно. Поверхности, обращенные друг к другу, вогнутые или ровные. Клетки полиморфны. Грамотрицательны, но отношение к окраске по Граму выражено недостаточно четко, поэтому в мазках наблюдается неравномерное окрашивание — молодые клетки окрашиваются интенсивно, а отмирающие и мертвые клетки — очень слабо. Жгутиков не имеют, спор не образуют. Клинические изоляты образуют макрокапсулу, которая утрачивается при росте на питательных средах.

Культуральные свойства. Строгий аэроб, капнофил. Очень требователен к питатель-

ным средам и условиям культивирования. На простых питательных средах не растет, поэтому для его культивирования к основным средам добавляют нативные белки (сыворотка, кровь, яичный желток и др.). В качестве источников углерода и азота используют аминокислоты (глутамин, таурин, аспарагин, L-аргинин, глицин, тирозин), поэтому их необходимо включать в среду культивирования. Наиболее подходящей бессывороточной средой следует считать среду Мюллера–Хинтона, включающую полный набор аминокислот и мясной экстракт как источник факторов роста. Оптимум pH среды 7,2–7,4. Температурный оптимум роста 37 °С, рост наблюдается в пределах 30–38 °С. Повышенная концентрация CO₂ и влажность стимулируют рост менингококков. На сывороточном агаре образует круглые бесцветные нежные колонии маслянистой консистенции диаметром от 0,5 до 1,5 мм. В отличие от условно-патогенных нейссерий не образует пигмента. На кровяном агаре образует нежные округлые колонии слегка сероватого цвета с блестящей поверхностью. Не дает гемолиза, что отличает его колонии от колоний стафилококков, стрептококков и гемофилов. При первичном посеве очень требователен к условиям культивирования, поэтому отсутствие роста на бессывороточном агаре при 37 °С, на сывороточном агаре при 20 °С и среде с 5 % желчи дифференцируют менингококки от условно-патогенных нейссерий.

Биохимическая активность низкая (см. табл. 16.6). Разлагает глюкозу и мальтозу до кислоты, не разжижает желатин, не образует индол и сероводород, не восстанавливает нитраты. Ферментация глюкозы и мальтозы является дифференциально-диагностическим признаком. В отличие от условно-патогенных нейссерий не образует крахмалоподобный полисахарид из сахарозы. Данный признак выявляется на сывороточном агаре с 5 % сахарозы с помощью водного раствора Люголя. Обладает, как и все аэробы, цитохромоксидазой и каталазой, что отличает его от пневмококков и гемофилов. Отсутствие β-галактозидазы и наличие γ-глутаминтрансферазы отличают менингококки от *N. lactamica*, колонизирующей слизистую носоглотки у детей.

Антигенная структура. Имеет несколько АГ: *родовые*, общие для рода нейссерий (белковые и полисахаридные, которые представлены полимерами аминсахаров и сиаловых кислот); *видовой* (протеиновый); *группоспецифические* (гликопротеидный комплекс); *типоспецифические* (белки наружной мембраны), которые разграничивают серотипы внутри серогрупп В и С; специфичность их достаточно ограничена, так как подобные АГ обнаруживают у представителей различных серогрупп и гонококков. По капсульным АГ выделяют девять серогрупп (А, В, С, D, X, Y, Z, W₁₃₅ и 29Е), а также сравнительно недавно выделенные еще четыре серогруппы (H, I, K, L). Капсульные АГ некоторых серогрупп иммуногенны для человека. Штаммы серогруппы А вызывают эпидемические вспышки, В, С и Y — спорадические случаи заболевания. Высокая вирулентность представителей серогруппы А связана, по-видимому, с их высокой инвазивной активностью. На основании различий типоспецифических АГ выделяют серотипы, которые обозначают арабскими цифрами (серотипы выявлены в серогруппах В, С, Y, W₁₃₅). Особый интерес среди серотиповых АГ представляет АГ серотип 2 группы В. Он наиболее изучен и является общим для штаммов, принадлежащих к группам В, С, Y, W₁₃₅. Выявлено, что штаммы, выделенные от больных с генерализованной формой менингококковой инфекции, часто относятся к серотипу 2. В связи с этим наличие АГ серотипа 2 рассматривается как фактор патогенности менингококка. Серотипирование имеет большое значение в эпидемиологии, так как периодически наблюдающиеся подъемы заболеваемости связаны со сменой циркулирующих серогрупп. Во время эпидемий преобладают менингококки групп А и С, которые являются наиболее патогенными.

Факторы патогенности. Основной фактор патогенности — *капсула*, защищающая менингококки от различных воздействий, в первую очередь от фагоцитоза. АТ, образующиеся к полисахаридам капсулы, проявляют бактерицидные свойства. Токсические проявления менингококковой инфекции обусловлены высокотоксичным *эндотоксином*,

который по летальности для лабораторных животных сравним с эндотоксинами энтеробактерий. Оба они оказывают сенсибилизирующее действие и индуцируют феномен Шварцмана в концентрациях, в 5–10 раз меньших, чем ЛПС грамотрицательной кишечной микрофлоры. Для генерализованных форм менингококковой инфекции характерны кожные высыпания, неотличимые от таковых при феномене Шварцмана. ЛПС менингококков проявляют выраженное пирогенное действие, а также вызывают образование АТ. Тяжесть болезни определяется количеством эндотоксина в крови больного. Эндотоксину принадлежит ведущая роль в патогенезе поражений сосудов и кровоизлияний во внутренние органы. Наиболее постоянный и диагностически значимый признак менингококцемии — экзантема в виде характерной геморрагической сыпи (петехии, пурпура, экхимозы).

К другим факторам патогенности относятся *пили*, *белки наружной мембраны*, наличие *гиалуронидазы* и *нейроминидазы*. Пили являются фактором адгезии к слизистой оболочке носоглотки и, предположительно, тканям мозговой оболочки. Менингококки выделяют IgA-протеазы, расщепляющие молекулы IgA в шарнирной области, что защищает бактерии от действия Ig.

Лабораторные животные мало восприимчивы к менингококку. Субдуральное введение живой культуры может вызвать заболевание у кроликов, обезьян и коз. Внутривентрикулярное заражение белых мышей и морских свинок вызывает их гибель с явлениями интоксикации. Заражение в алантоисную полость 11–18-дневных куриных эмбрионов вызывает гибель эмбриона через 48 ч.

Устойчивость в окружающей среде. Слабо устойчив к внешним воздействиям, в оптимальных условиях на плотных и жидких средах культура гибнет через 48–72 ч, на полужидких средах сохраняется до месяца (рекомендуют сохранять на среде Дорсе, полужидком агаре и среде со сливками). Наиболее приемлемый способ консервации культуры — лиофильное высушивание. Вне организма человека довольно быстро погибает, а при низкой температуре быстро теряет способность к обра-

зованию колоний, что необходимо учитывать при доставке материала в микробиологическую лабораторию; при высыхании погибает. При температуре 10 °С погибает через 2 ч, температура 55 °С убивает его через 5 мин, 80 °С — за 1–2 мин, кипячение — моментально (аналогичный эффект оказывает ультрафиолетовое облучение). Чувствителен к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов, особенно к солям тяжелых металлов. Под действием 1% раствора фенола гибнет в течение 1 мин, аналогичное действие оказывают 0,5–1% раствор хлорамина, 70% этанол, 3–5% раствор карболовой кислоты. Чувствителен к большинству применяемых в клинике антибиотиков, однако в последние годы отмечается тенденция к росту числа резистентных штаммов.

Эпидемиология. Экологической нишей для менингококка является слизистая оболочка носоглотки человека. Источник инфекции — больной человек или носитель. Различают три группы источников инфекции: *больные генерализованными формами* (около 1 % от общего числа инфицированных лиц), *больные назофарингитом* (10–20 % от общего числа инфицированных лиц) и *здоровые носители*. Основное значение имеют здоровые носители, которые составляют до 80–90 %. Здоровое носительство у детей 1–2 лет встречается очень редко; с возрастом количество носителей нарастает, достигая максимума к 14–19 годам. Носительство продолжается в среднем 2–3 недели, при наличии хронических воспалительных процессов носоглотки может длиться 6 недель и более.

Механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-капельный. В отличие от других респираторных инфекций заражение происходит при длительном и тесном контакте. Заболеваемость носит сезонный характер, увеличиваясь в осенне-зимний период.

Восприимчивость к менингококку невысокая. 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 школ и техникумов, студентов в общежитиях, новобранцев в казармах и т. п. Заболевания возникают при низком

распространении носительства менингококка в коллективе (2 % и ниже). В коллективах, где носительство составляет 20 % и выше, заболевания не регистрируются, поскольку интенсивная циркуляция менингококка иммунологически перестраивает организм, обеспечивая «естественную иммунизацию» населения в эндемичных очагах заболевания.

Упоминания об эпидемиях цереброспинального менингита встречаются в трудах античных врачей. Первые клинические описания менингококкового менингита сделали в XVII в. Уиллис (Виллизии) и Сиденхэм. В настоящее время менингококковая инфекция зарегистрирована более чем в 150 странах мира, в том числе в России. В Африке имеется гиперэндемическая зона заболеваемости менингококковой инфекцией, так называемый «менингитный пояс», которая охватывает районы, расположенные между югом Сахары и экваториальным лесом, Красным морем и Атлантическим океаном. В «менингитном поясе» расположены 15 стран, через которые проходит трансконтинентальная дорога, с которой связывают распространение менингококковой инфекции, — эпидемии отмечаются здесь через каждые 10–15 лет.

Патогенез. Менингококки внедряются в организм человека через слизистые оболочки носоглотки. Размножаясь, они формируют первичный очаг воспаления. По окончаниям обонятельного нерва воспалительный процесс может распространиться на оболочки мозга. Возможно и гематогенное распространение менингококка по организму. Важная роль в патогенезе принадлежит эндотоксину, который участвует в развитии токсического шока и угнетении фагоцитарной активности нейтрофилов. Патогенез заболевания включает поражения токсического и септического характера в сочетании с аллергическими реакциями. Преобладание того или иного компонента проявляется в различных клинических формах.

Клиника. Менингококковая инфекция клинически протекает в локализованной форме: менингококконосительство, острый назофарингит или в генерализованной форме: менингококцемия, менингит, менингоэнцефалит, эндокардит, артрит, полиартрит, иридоциклит, пневмония.

Эпидемический цереброспинальный менингит начинается внезапно, после 5–7-дневного инкубацион-

ного периода. В начале болезни отмечают сильную головную боль, рвота, высокая лихорадка, затем развиваются менингеальные симптомы. Однако следует отметить, что степень проявления менингеальных симптомов значительно варьирует. Поскольку клиническая картина не отличается от клиники менингитов, вызванных другими микробами, то поставить этиологический диагноз клинически крайне сложно, поэтому ведущая роль здесь отводится методам лабораторной микробиологической диагностики.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет при генерализованных формах инфекции довольно стойкий, повторные случаи заболевания почти не наблюдаются, однако иммунитет носит гуморальный и группоспецифический характер.

Невосприимчивость к менингококку обусловлена наличием сывороточных противоменингококковых бактерицидных АТ. Новорожденные дети обладают естественным приобретенным пассивным трансплацентарным иммунитетом в течение 2–6 месяцев. Изучение уровня АТ у представителей разных возрастных групп выявило, что дети с 6 месяцев до 10 лет имеют низкий уровень АТ. У детей 10–15 лет наблюдается рост титра АТ к полисахаридному, белковому и ЛПС АГ. Развитие иммунных реакций вызывают капсульные полисахариды менингококков групп А и С. Зашиту обеспечивают АТ, проявляющие комплементзависимую бактерицидность. Элиминацию возбудителя со слизистой оболочки и из тканей осуществляют комплементсвязывающие IgM и IgG. Для эффективного уничтожения менингококков необходима активация комплемента, вызывающего лизис бактерий. При менингококконосительстве выявлены гомологичные и группоспецифические АТ к менингококкам. Это явление рассматривается как естественная иммунизация «живой» вакциной.

Микробиологическая диагностика. Выбор материала для исследования обусловлен клинической формой болезни. Материалом для исследования служат носоглоточная слизь (от больных и носителей), ликвор, кровь, гной с мозговых оболочек, соскоб из элементов геморрагической сыпи на коже и др. При цереброспинальном менингите основным исследуемым материалом является ликвор,

который берут в день госпитализации больного асептически люмбальной пункцией в количестве 2–5 мл. Ликвор собирают в стерильную пробирку и сразу же сеют на питательные среды или же немедленно, не допуская охлаждения, отправляют в лабораторию. Носоглоточную слизь берут специальным тампоном, изогнутым под углом, с задней стенки глотки при визуальном контроле, вводя тампон за мягкое небо. От трупа исследуемый материал (гной с оболочек мозга, из кожных поражений и т. п.) берут во время вскрытия. Поскольку менингококки очень неустойчивы вне организма человека, клинический материал транспортируют в утепленных контейнерах при 30–35 °С.

Для микробиологической диагностики применяют *бактериоскопический*, *бактериологический* и *серологический* методы.

Бактериоскопическое исследование ликвора и крови позволяет определить наличие возбудителя. При наличии гнойного ликвора готовят мазки без предварительной обработки; если ликвор прозрачный или мутный, его центрифугируют при 3500 об/мин в течение 5 мин, а затем из осадка готовят мазки, которые окрашивают по Граму, метиленовым синим и другими методами для определения лейкоцитарной формулы, выявления менингококков и определения их количества. При микроскопии мазков ликвора в положительных случаях наблюдают полинуклеарные лейкоциты, эритроциты, нити фибрина и менингококки в виде типичных грамотрицательных диплококков бобовидной формы, окруженных капсулой в виде плохоокрашенного ореола. Результаты микроскопического исследования используются только в качестве предварительного, ориентировочного ответа, поскольку морфологически нельзя дифференцировать менингококк от других грамотрицательных бактерий, способных вызывать менингит (гонококки, другие нейссерии, гемофилы, бранхамеллы). Для микроскопического исследования крови готовят препарат «толстой капли», который высушивают и окрашивают метиленовой синькой без фиксации. При микроскопии в положительных случаях обнаруживают на голубом фоне менингококки, имеющие типичную морфологию, окру-

женные капсулой в виде бесцветного ореола. Трупный материал исследуют только бактериоскопически из-за низкой жизнеспособности менингококка. Носоглоточная слизь не микроскопируется из-за наличия в ней условно-патогенных нейссерий, морфологически сходных с менингококком.

Бактериологическое исследование проводят с целью выделения и идентификации чистой культуры менингококка. Бактериологическому исследованию подвергают носоглоточную слизь, кровь и ликвор. Посев материала для получения чистой культуры производят на плотные или полужидкие питательные среды, содержащие сыворотку, кровь или асцитическую жидкость. Культуры инкубируют в течение 18–24 ч при 37 °С в сосуде со свечой или в специальном термостате с повышенным содержанием (8–10 %) CO₂. Идентификацию выделенной культуры проводят на основании следующих свойств:

- оксидазаположительные колонии рассматривают как возможно принадлежащие к роду *Neisseria*;
- наличие в культуре *Neisseria meningitidis* подтверждают образованием уксусной кислоты при ферментации глюкозы и мальтозы (но не лактозы, сахарозы и фруктозы);
- принадлежность к серогруппам определяют в реакции агглютинации.

Проводят дифференциацию выделенной культуры с другими бактериями, вызывающими менингит. Основные свойства возбудителей бактериальных менингитов, учитываемые через 24 ч от начала бактериологического исследования, представлены в табл. 16.7.

Серологический метод используют для обнаружения растворимых бактериальных АГ в ликворе и других видах исследуемого материала или АТ в сыворотке крови. Для обнаружения АГ применяют ИФА, РИА, иммуноэлектрофорез, реакцию коаггутинации. У больных менингококковой инфекцией АТ обнаруживаются с конца первой недели болезни, достигая максимума на 2–3-й неделе, а затем их титр снижается. У больных и лиц, перенесших менингококковую инфекцию, в сыворотке обнаруживаются специфические АТ: бактерицидные, агглютинины, гемагглютинины. В разгар менингококковой ин-

фекции повышается уровень IgM, особенно при генерализованных формах; в период реконвалесценции, в основном, обнаруживаются IgG.

Лечение. Препарат выбора — бензилпенициллин, эффективны также полусинтетические пенициллины (ампициллин, оксациллин). Оптимально назначение антибиотиков в сочетании с диуретиками. При непереносимости пенициллинов назначают левомецетин или рифампицин. Антимикробную терапию следует сочетать с симптоматическими средствами, корригирующими водно-солевой и кислотно-щелочной баланс, а также с седативными средствами и глюкокортикоидами.

Профилактика. Проводится комплекс мер, направленных на ликвидацию источника инфекции: больных необходимо выявлять, изолировать и лечить; носителей — выявлять и санировать. Проводится бактериологическое обследование в окружении больного с целью выявления здоровых носителей менингококка. Выявленные носители saniруются антибиотиками.

С целью разрыва механизма и путей передачи разуплотняют и разобщают детские коллективы, общежития, казармы. Роспуск контактировавших лиц производится на срок от 10 до 30 дней. В очаге проводятся текущая дезинфекция, проветривание помещений, ультрафиолетовое облучение и т. п.

В очаге инфекции проводится специфическая активная и пассивная профилактика. Для создания пассивного иммунитета детям дошкольного возраста вводят однократно иммуноглобулин в дозе 1,5–3,0 мл не позднее 7-го дня после регистрации первого случая заболевания. Профилактический эффект иммуноглобулина сохраняется в течение нескольких месяцев после введения. Для активной иммунизации используют вакцины из очищенных капсульных полисахаридов менингококков серогрупп А и С. В России проводят вакцинацию групп риска менингококковой вакциной А или бивакциной А+С. Кроме того, возможно проведение химиопрофилактики с применением антибиотиков в замкнутых коллективах, если имеет место хотя бы один случай менингококковой инфекции.

Таблица 16.7. Свойства различных возбудителей для сериальных исследований

| Морфология выделенного микроба | Интенсивность роста на агаре | | Изменение цвета ША вкрупт колоний | Обработка колонии 3% раствором КОН* | Окраска по Граму | Ферменты**** | | | Предполагаемый микроб |
|---------------------------------------|------------------------------|------|-----------------------------------|-------------------------------------|------------------|--------------|----------|--------|-------------------------------------|
| | СА* | ША** | | | | Оксалаза | Каталаза | Уреаза | |
| Капсульные полиморфные кокки | +++ | +++ | - | + | - | + | + | - | <i>Neisseria meningitidis</i> |
| Мелкие полиморфные палочки | - | +++ | - | + | - | - | - | - | <i>Haemophilus influenzae</i> |
| Капсульные удлиненные парные кокки | +++ | +++ | Желто-зеленый | - | + | - | - | - | <i>Streptococcus pneumoniae</i> |
| Цепочки и пары из кокков | +++ | +++ | Зеленый | - | + | - | - | - | <i>Streptococcus B, D, viridans</i> |
| Мелкие палочки частоколом и под углом | +++ | +++ | Зелено-вато-коричневый | - | + | - | + | - | <i>Listeria monocytogenes</i> |
| Пары и цепочки кокков | +++ | +++ | - | + | - | - | + | + | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> |

* СА – 20% сывороточный агар.

** ША – шоколадный агар.

*** В каплю 3% раствора КОН петлей вносят колонию культуры и эмульгируют. Образование студенистой массы, тянущейся за петлей, указывает на наличие грамотрицательной микрофлоры (грамположительные бактерии образуют крошащуюся массу).

**** Постановку проб на оксалазу, каталазу и уреазу проводят согласно приказу МЗ СССР № 535 от 22.04.85 г.

16.1.2.1.2. Гонококки

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

Возбудитель гонореи был открыт Нейссером в 1879 г. Первые культуры получили Лейстков и Леффлер (1882), этиологическую роль доказал Бумм (1885).

Морфология. Неподвижные аспорогенные грамотрицательные диплококки (средний размер клетки $1,25 \pm 1,0 \times 0,7 \pm 0,8$ мкм), образующие капсулу. Полиморфны — встречаются более мелкие или более крупные клетки, а также палочковидные формы. Хорошо окрашиваются анилиновыми красителями (метиленовым синим, бриллиантовым зеленым и др.), цитоплазма имеет осмиефильные включения. Под действием пенициллина образуют L-формы; под влиянием химиопрепаратов быстро меняют свойства и становятся грамположительными.

Культуральные свойства. Аэробы, хемоорганотрофы; для роста требуют свежеприготовленных влажных питательных сред с добавлением нативных белков крови, сыворотки или асцитической жидкости; широко используют безазотные среды (например, среда КДС-1 с гидролизатом казеина, дрожжевым аутолизатом и нативной сывороткой); оптимум pH 7,2–7,4, температуры — 37 °С. Не вызывают гемолиза на средах, содержащих кровь; на средах с добавлением молока, желатина и картофеля не растут. Через 24 ч на плотных питательных средах гонококки, содержащиеся в клеточной стенке протеин II, образуют слегка мутные бесцветные колонии; бактерии, не содержащие протеин II, образуют круглые прозрачные колонии в виде капель росы (1–3 мм в диаметре) с ровными краями. На жидких питательных средах растут диффузно и образуют поверхностную пленку, через несколько дней оседающую на дно.

Биохимическая активность крайне низкая (см. табл. 16.6). Разлагают только глюкозу с образованием кислоты, измененные формы иногда не ферментируют ни одного углевода, продуцируют каталазу и цитохромоксидазу. Протеолитическая активность отсутствует. Аммиака, сероводорода и индола не образуют.

Антигенная структура сложная. Содержат соматический и капсульный антигены. ЛПС проявляет сильные иммуногенные свойства. Основной пул антител, синтезируемых в организме, составляют Ig к ЛПС, которые обладают бактерицидным действием. Основную антигенную нагрузку несут пили и поверхностные белки наружной мембраны. Пили состоят из цепочек белковых субъединиц (молекулярная масса около 20 000 Да), остатков сахаров и фосфорной кислоты; нарушение последовательности соединения субъединиц изменяет антигенные свойства. Наружная мембрана содержит протеины I, II и III классов, которые проявляют сильные иммуногенные свойства. На основании их состава выделяют 16 серотипов. В присутствии комплемента АТ к белкам клеточной стенки проявляют бактерицидные свойства. Варибельность протеинов, детерминированная кодированием в нескольких генах, определяет высокую частоту антигенных вариантов. Экспрессия некоторых АГ гонококка определяется изменением условий окружающей среды.

Факторы патогенности: капсула, пили, эндотоксин, поверхностные белки наружной мембраны, протеазы.

Все свежeweделенные культуры имеют капсулу, которая обладает антифагоцитарным действием (препятствует прямому контакту микробицидных субстанций с клеточной стенкой, маскирует ее антигенные детерминанты). АТ-опсоины к АГ капсулы стимулируют фагоцитоз гонококков. Полисахариды в капсулах не обнаружены, присущие им функции выполняют высокомолекулярные поверхностные полифосфаты.

Пили обеспечивают адгезию к эпителию. Генетически опосредованная варибельность строения пилей обеспечивает прикрепление и выживаемость гонококков на клетках эпителия при смене хозяина и воздействии АТ. У авирулентных штаммов отсутствуют.

Клеточная стенка содержит эндотоксин.

Наружная мембрана содержит белки трех классов. *Поверхностный белок I класса* обуславливает устойчивость к бактерицидным факторам слизистых оболочек, а также инвазивные свойства бактерий и их способность вызывать системные инфекции. *Поверхностный белок II класса* образует отдельную белковую фракцию, называемую протеинами мутности или Ора-протеинами (от англ. *opacity* — мутность). Их считают первичными факторами вирулентности гонококков, и они обуславливают прикрепление к эпителию, а также ингибируют фагоцитарные реакции.

Синтезируют *IgA-протеазу*, действующую внеклеточно и разрушающую пролин-треониновые связи в тяжелых цепях Ig, а также расщепляющую молекулу IgA в шарнирной области. Эти эффекты инактивируют АТ, препятствующие адгезии, что облегчает прикрепление к рецепторам эпителиальных клеток, а также защищает бактерии от фагоцитоза, опосредованного АТ.

Устойчивость в окружающей среде. Гонококки очень неустойчивы во внешней среде, что следует помнить при заборе и транспортировке исследуемого клинического материала. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов, особенно к солям тяжелых металлов. Высококочувствительны к пенициллинам, тетрациклинам, стрептомицину. Способность к синтезу β-лактамаз обусловлена R-плазмидой, но среди выделенных в клинике штаммов число продуцентов β-лактамаз невелико.

Эпидемиология. Термин «гонорея» ввел Талон во II в. н. э., хотя заболевание известно очень давно; во всяком случае, в вавилонских, ассирийских и греческих мифах упоминается болезнь, являющаяся, судя по описанию клинической картины, гонореей. В настоящее время гонореей относят к наиболее распространенным инфекционным заболеваниям, передаваемым половым путем.

Источник инфекции — больной человек, особенно хронической бессимптомно протекающей формой гонореи. Экологической нишей являются слизистые оболочки мочеполовых путей человека. Механизм передачи — контактный, путь — половой, крайне редко — бытовой (например, больная гонореей мать может заразить маленькую дочь при пользовании общей мочалкой, сиденьем унитаза и т. п.). Восприимчивость к гонококкам очень высокая.

Патогенез. Входными воротами для возбудителя служит цилиндрический эпителий уретры, шейки матки, конъюнктивы и пря-

мой кишки. Взаимодействие гонококков с эпителиальными клетками опосредовано пиллями, взаимодействующими с рецепторами эпителиальных клеток, что имеет решающее значение в развитии инфекции. Гонококки прикрепляются к эпителию, где мишенью для их цитотоксического действия служат поверхностные структуры клеток. Бактерии вызывают гибель и слущивание клеток, что нарушает процесс самоочищения слизистых оболочек. Нарушение функций слизистых вызывают как сами бактерии, так и ЛПС, а также пептидогликаны клеточных стенок гонококков. Микроворсинки клеток, лишенных ресничек, действуя как псевдоподии, захватывают бактерии, попадающие внутрь этих «непрофессиональных» фагоцитов. Подобное явление известно как эндоцитоз, опосредованный патогенным микробом. В цитоплазме клеток фагосомы сливаются в гигантские вакуоли, где гонококки размножаются, оставаясь недоступными действию АТ, фагоцитов и многих антибиотиков. Вакуоли сливаются с базальной мембраной, и бактерии попадают в прилегающую соединительную ткань, где вызывают местное воспаление, либо проникают в кровотоки с возможным последующим диссеминированием. Прикрепившись к эпителию, гонококки становятся недоступными для фагоцитоза. Размножение *Neisseria gonorrhoeae* внутри нейтрофилов остается предметом дискуссии. В окрашенных мазках клинического материала гонококки видны как внутри, так и вне нейтрофилов. Создается впечатление, что большинство фагоцитированных нейтрофилами бактерий подверглось внутриклеточному лизису, однако это положение не бесспорно, поскольку имеются отдельные сведения о способности гонококков выживать и реплицировать в фагоцитах за счет нарушения регуляции образования каталазы и подавления активности эндоперекисей в фаголизосомах. Гематогенное диссеминирование инфекции отмечают у 1 % заболевших.

Клиника. Гонококковая инфекция проявляется в виде гнойного воспаления слизистой оболочки мочеполовых путей (гонорея), конъюнктивы глаз (бленнорея), других органов. Инкубационный период 2–4 дня. Заболевание характеризуется резью при мочеиспускании, выде-

Таблица 16.8. Локализация и виды гонококковой инфекции

| |
|--|
| Инфекции нижних отделов мочеполового тракта: |
| 1. Цервицит |
| 2. Уретрит (у мужчин и женщин) |
| 3. Абсцессы желез, прилежающих к влагалищу (преддверные и парауретральные железы) |
| Инфекции верхних отделов мочеполового тракта: |
| 1. Эндометрит |
| 2. Эпидидимит |
| 3. Воспалительные заболевания тазовых органов (воспаление фаллопиевых труб, яичника и тканей придатков) |
| Инфекции прочих органов и тканей: |
| 1. Проктит (ректальная гонорея) |
| 2. Фарингит |
| 3. Бленнорея |
| 4. Тазовый перитонит и перигепатит (синдром Фитц-Хью — Куртиса) |
| 5. Фарингеальная гонорея |
| Диссеминированная гонококковая инфекция: |
| 1. Синдром дерматита-артрита-тендосиновиита (лихорадка, полиартрит, тендосиновиит и кожные поражения в виде геморрагических папул и пустул, вызванные иммунными комплексами или гонококками) |
| 2. Септический моноартикулярный артрит |
| 3. Редко развивающиеся поражения (эндокардит с поражением клапанов и менингит) |

лением гноя из уретры. Заболевание имеет тенденцию к переходу в хроническую бессимптомную форму. Нелеченая гонорея является одной из основных причин бесплодия как у мужчин, так и у женщин. Нелеченая бленнорея ведет к слепоте.

Гонококковая инфекция проявляется воспалением тазовых органов и бесплодием у женщин. Диссеминирование возбудителя может приводить к пельвиоперитониту, менингитам, артритам, эндокардитам и септицемиям. Женщины более склонны к диссеминированным поражениям. Заболевание у них часто протекает бессимптомно, поэтому своевременное лечение не проводится, что делает женщин основным резервуаром инфекции. У мужчин бессимптомное течение гонореи наблюдают редко. Клинические формы гонококковой инфекции представлены в табл. 16.8.

Иммунитет — нестерильный, практически отсутствует после перенесенного заболева-

ния, поэтому часто регистрируются повторные заболевания.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служит гнойное отделяемое из уретры, влагалища и шейки матки, из прямой кишки и глотки (*Neisseria gonorrhoeae* часто обнаруживают при бессимптомном течении болезни в отделяемом из прямой кишки у женщин и мужчин-гомосексуалистов), с конъюнктивы глаза (при бленнорее), а также сыворотка крови. У мужчин-гомосексуалистов материал необходимо забирать также из ротовой полости, глотки и прямой кишки. Результаты микробиологического исследования зависят от соблюдения правил забора материала из передней уретры и простаты. За 2–3 суток перед забором материала необходимо прекратить применение дезинфицирующих и антибактериальных пре-

паратом, воздерживаться от мочеиспускания в течение 4–6 ч и провести туалет окружающих кожных покровов. Забор материала должен проводить лечащий врач.

Для диагностики применяют *бактериоскопический, бактериологический и серологический* методы.

Бактериоскопическое исследование является основным методом диагностики острой гонореи и бленнореи. Готовят два мазка, один из которых окрашивают по Граму, а второй — метиленовым синим, и микроскопируют. В мазке, окрашенном по Граму, в положительном случае можно обнаружить грамотрицательные диплококки бобовидной формы, а в мазке, окрашенном метиленовым синим, — картину незавершенного фагоцитоза. Окраска по Граму позволяет дифференцировать гонококки с другими бактериями. Для получения более четких очертаний гонококков мазки фиксируют диметилсульфоксидом. В связи с тем, что в исследуемом материале могут находиться и другие грамотрицательные бактерии, морфологически сходные с гонококками, применяют прямой и непрямой варианты РИФ. При прямом варианте мазки обрабатывают флюоресцирующими антителами против гонококков, при непрямом — используют гонококки, сыворотку больного и антиглобулиновую сыворотку.

Бактериологическое исследование проводят в тех случаях, когда гонококки в мазках не обнаруживают или находят атипичные, измененные формы. Культуральный метод позволяет выявлять гонококки в 1,5–4 раза чаще, чем бактериоскопический метод. Особенно показаны посевы при хронической гонорее, гонорейном проктите и контроле на излечение. Из-за низкой устойчивости гонококка в окружающей среде посев производят непосредственно после забора материала на чашки с сывороточным или асцитическим агаром, КДС-1. Добавление к среде ристоминина и полимиксина М (10 ЕД/мл) значительно повышает высеваемость гонококков. Перед посевом питательную среду нагревают в термостате, чашки с посевами инкубируют в эксикаторе в атмосфере, обогащенной 10 % CO₂. Выделение и идентификацию возбудителя проводят по стандартной схеме.

Серологический метод используют при хронической гонорее, при отсутствии у больного выделений. Проводят РСК по Борде—Жангу по стандартной схеме, которая бывает положительной с 3–4-й недели болезни; в острых случаях реакция положительна у 35 % больных, при хронических — у 65 % (слабоположительная у 100 %). В качестве АГ для РСК применяют гоновакцину или АГ из убитых гонококков.

Лечение зависит от формы заболевания (острая или хроническая), топического диагноза, наличия осложнений и состояния организма. При острой и подострой гонорее обычно применяют препараты пенициллина. Другие антибиотики, как правило, применяют при непереносимости пенициллина. В результате антибиотикотерапии воспалительные явления в течение 5–7 дней резко уменьшаются, выделения становятся скудными, слизистыми, гонококки в них отсутствуют. При успешном лечении по истечении 7–10 дней приступают к установлению излеченности.

При хронической осложненной гонорее, а также свежей торпидной лечение сводится к специфической или неспецифической иммунотерапии и к местному воздействию на пораженный орган. После такого воздействия в условиях стационара проводят курс антибиотикотерапии, причем курсовая доза препарата в 2 раза выше, чем при лечении острой гонореи. Чем больше давность гонорейного процесса, чем значительнее выражены соединительнотканые изменения, тем интенсивнее должны быть иммунотерапия и местное лечение. Иммунотерапия, которая может быть специфической (гоновакцина) или неспецифической (пирогенал и т. п.), способствует более быстрому и полному рассасыванию воспалительных инфильтратов. Чаще всего применяют гоновакцину, которую вводят внутримышечно через 1–2 дня; курс лечения состоит из 6–8 инъекций. Для местного лечения применяют различные химические, механические и термические раздражители. Для физиотерапии применяют компрессы, местные ванны, микроклизмы и др.

Излеченным больного следует считать тогда, когда после продолжительного наблюдения не удается обнаружить гонококки в организме, и больной пе-

рестает быть источником инфекции. Для контроля излеченности прибегают к провокации. Для последней используют различные методы: химический (инсталляция в уретру 0,5% раствора ляписа), механический (массаж уретры на буже), биологический (введение гонококков), алиментарный (острая или соленая пища, алкоголь), термический (прогревание диатермическим током половых органов). Сочетание всех перечисленных способов обострения воспаления дает наибольшую частоту выявления гонококков; через 7–10 дней от момента последней манипуляции необходимо провести комбинированную провокацию. Через 24, 48 и 72 ч после провокации исследуют выделения, а при их отсутствии — соскоб из уретры, нити из мочи, секрет простаты и семенных пузырьков. При отсутствии после провокации гонококков в мазках и посевах больного оставляют для диспансерного наблюдения, а через месяц повторяют комбинированную провокацию и делают уретроскопию. Общая продолжительность диспансерного наблюдения за больными, перенесшими гонорею, составляет 2 месяца. Если в течение этого срока возбудитель и клинические проявления болезни отсутствуют, то таких лиц снимают с диспансерного учета.

Профилактика. Проводится комплекс мер, направленных на ликвидацию источника инфекции: больных необходимо выявлять и лечить. Особое внимание следует уделить активному выявлению больных гонореей среди пациентов урологических клиник, мужей женщин, страдающих воспалительными заболеваниями женских половых органов неясной этиологии, в обязательном порядке обследовать всех членов семьи больного гонореей, декретированных групп населения (работники детских дошкольных учреждений и общепита) перед поступлением на работу и в последующем через каждые три месяца. Выявленные больные подлежат лечению с последующим контролем на излеченность. Законом предусмотрено наказание за уклонение от лечения и заведомое заражение других лиц.

Большое значение имеет санитарно-просветительная работа, направленная на пропаганду здорового образа жизни, исключение случайных половых связей.

Предохранительные мероприятия включают использование презервативов, обработку наружных половых органов антисептиками

сразу же после случайных половых контактов. Для профилактики бленнореи новорожденным при первичной обработке сразу же после рождения в глаза закапывают нитрат серебра.

16.1.3. Анаэробные кокки

16.1.3.1. Анаэробные грамположительные кокки

Наибольшее значение в патологии человека имеют грамположительные анаэробные кокки родов *Peptococcus* (включая единственный вид *P. niger*) и *Peptostreptococcus* (*P. asaccharolyticus*, *P. prevotii*, *P. anaerobius*, *P. micros*). Прочие анаэробные грамположительные кокки родов *Ruminococcus*, *Coprococcus*, *Gemella*, *Sarcina* большого клинического значения не имеют.

Морфология. В мазках, окрашенных по Граму, очень напоминают стафилококки. Род *Peptostreptococcus* образуют неподвижные кокки и коккобациллы диаметром 0,5–1,2 мкм. Клетки *Peptostreptococcus anaerobius* чаще выглядят как коккобациллы, образующие короткие цепочки, а *Peptostreptococcus tetradius* — тетрады. *Peptostreptococcus magnus* представлен крупными (более 0,7 мкм) клетками, располагающимися поодиночке или бесформенными массами; клетки *Peptostreptococcus micros* мелкие и образуют короткие цепочки. Типовые виды — *Peptococcus niger* и *Peptostreptococcus anaerobius*.

Культуральные свойства. Пептококки и пептострептококки — облигатные анаэробы, капнофилы, при росте образуют большое количество молочной кислоты. Хемоорганотрофы; для роста нуждаются в обогащенных питательных средах. На анаэробном кровяном агаре колонии пептококков и пептострептококков мелкие, выпуклые, блестящие, прозрачные или мутные, образуются через 48 ч анаэробной культивирования. Некоторые штаммы пептококков на анаэробном кровяном агаре формируют черные колонии. Температурный оптимум роста — 37 °С. Колонии *Peptostreptococcus anaerobius* несколько крупнее, мутные, имеют характерный сладковатый запах; чувствительны к анетолсульфонату натрия, что используется для их дифференциации с помощью дисков.

Биохимическая активность. Инертны по отношению к углеводам, энергию получают расщеплением пептона. Обычно каталазаотрицательны; индол не образуют, не восстанавливают нитраты. Некоторые виды пептострептококков выделяют индол и восстанавливают нитраты в нитриты.

Антигенная структура изучена недостаточно; антигенными свойствами обладают пептидогликан и тейхоевые кислоты клеточной стенки.

Факторы патогенности изучены недостаточно; возможно, патогенность обусловлена наличием капсулы, продукцией гиалуронидазы и коллагеназы.

Экологическая ниша. Пептококки и пептострептококки колонизируют слизистую полости рта, верхних дыхательных путей, влагалища и толстой кишки.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антибиотикам. Пептококки и пептострептококки чувствительны к пенициллину; более 70 % изолятов пептострептококков чувствительны к метронидазолу. Препараты выбора — клиндамицин, левомецетин и имипенем.

Чувствительность к антисептикам и дезинфектантам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.1.3.2. Анаэробные грамотрицательные кокки

Наибольшее значение в патологии человека имеют грамотрицательные анаэробные кокки рода *Veillonella*.

16.1.3.2.1. Вейлонеллы (род *Veillonella*)

Морфология. Неподвижные грамотрицательные кокки диаметром 0,3–0,5 мкм. В мазках располагаются парами, беспорядочными скоплениями или короткими цепочками. Типовой вид — *Veillonella parvula*.

Культуральные свойства. Оптимальная температура роста 30–37 °С, оптимум pH 6,5–8,0. На молочном агаре образуют звездчатые блестящие колонии диаметром 1–3 мкм.

Биохимическая активность. Каталазаотрицательны, но некоторые виды продуцируют порфирины с каталазной активностью. Метаболизм — ферментативного типа, расщепляют пируват, лактат, малат, fumarat, оксалоацетат. Не гидролизуют желатину, не сворачивают молоко, не образуют индол, восстанавливают нитраты в нитриты. При ферментации лактата образуют ацетат, пропионат, CO₂ и H₂.

Антигенная структура изучена недостаточно; антигенными свойствами обладает ЛПС клеточной стенки.

Факторы патогенности изучены недостаточно; возможно, патогенность обусловлена наличием эндотоксина.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистую полости рта, верхних дыхательных путей и кишечника.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антибиотикам. Чувствительны к метронидазолу и клиндамицину.

Чувствительность к антисептикам и дезинфектантам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Инфекции, вызываемые анаэробными кокками, носят эндогенный характер. Как правило, они не способны вызывать моноинфекции; часто их выделяют в составе ассоциатов при различных гнойно-воспалительных оппортунистических инфекциях.

Лабораторная диагностика включает микроскопию клинического материала (гнойное отделяемое, кровь, аспираты суставных жидкостей и костей) и выделение возбудителя с использованием анаэробной бактериологической техники. Для экспресс-диагностики используют ГЖХ.

16.2. Палочки грамотрицательные факультативно-анаэробные

16.2.1. Энтеробактерии (семейство *Enterobacteriaceae*)

Общая характеристика. Семейство *Enterobacteriaceae* является самым многочисленным семейством патогенных и условно-патогенных бактерий. Объединяет более 20 родов. Семейство обладает большой степенью гетерогенности. Процент ГЦ-пар в ДНК, определяющих степень гетерогенности, варьирует от 38–42 % (роды *Proteus*, *Providencia*) до 52–60 % (роды *Klebsiella*, *Enterobacter*). Центральное положение занимает род *Escherichia* (50–52 % ГЦ-пар), который является типовым родом семейства. Близкородственное к нему положение занимают роды *Shigella* (50–52 % ГЦ-пар) и *Salmonella* (50–53 % ГЦ-пар).

Морфология и физиология. Семейство энтеробактерий представлено грамотрицательными палочками, размером 1÷5×0,4÷0,8 мкм. Могут быть подвижными за счет перитрихальных жгутиков. Некоторые образуют капсулу. Спор не образуют. Растут на простых питательных средах, большинство хорошо культивируется при 37 °С, некоторые (род *Yersinia*) наибольшей метаболической активностью обладают при 25–30 °С. Факультативные анаэробы. Обладают дыхательным и бродильным метаболизмами. Оксидазаотрицательны. Каталазаположительны.

Таблица 16.9. Дифференциация по биохимическим свойствам родов *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella* семейства *Enterobacteriaceae*

| | <i>Escherichia</i> | <i>Shigella</i> | <i>Salmonella</i> |
|---|--------------------|-----------------|-------------------|
| Реакция Фогеса—Проскауэра | — | — | — |
| Образование: | | | |
| Индола | + | ± | — |
| H ₂ S | — | — | + |
| Утилизация: | | | |
| Цитрата | — | — | + |
| Малоната | — | — | — |
| Гидролиз мочевины | — | — | — |
| Продукция: | | | |
| Лизиндекарбоксилазы | + | — | + |
| Орнитиндекарбоксилазы | — | — | + |
| Газообразование при расщеплении глюкозы | + | — | + |
| Образование кислоты при ферментации: | | | |
| Лактозы | + | — | — |
| Маннита | + | ± | + |
| Сахарозы | ± | — | — |

Способны восстанавливать нитраты за счет наличия нитратредуктазы.

Энтеробактериям присущи два типа ферментации глюкозы муравьино-кислым брожением. При смешанном типе, выявляемом реакцией с метил красным, образуется большое количество кислот, в некоторых случаях — газ. При бутандиоловом типе основными продуктами являются 2,3-бутандиол и этанол, выявляемые реакцией Фогеса—Проскауэра.

Энтеробактерии обладают широким спектром биохимической активности, который служит основой подразделения внутри семейства на роды, а внутри некоторых родов — на виды. Ключевыми тестами при идентификации энтеробактерий являются тесты на определение продуктов ферментации глюкозы (газообразование, реакции с метил красным и Фогеса—Проскауэра), способности продуцировать сероводород, индол, утилизировать цитрат на агаре Симмонса, расщеплять мочевины, продуцировать ферменты, превращающие аминокислоты: декарбоксилазы лизина и орнитина, дезаминазу фенилаланина; а также способность использовать различные моно-, олиго- и полисахариды и спирты в качестве энергетического материала. Биохимическая характеристика

некоторых представителей семейства *Enterobacteriaceae* представлена в табл. 16.9.

Распространение в природе. Патогенность. Энтеробактерии разнообразны по экологии и кругу хозяев. Они распространены повсеместно: в почве, воде, в составе микрофлоры различных животных, человека. Могут вызывать заболевания у человека, животных, птиц, насекомых, растений.

Представители родов *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella* вызывают у человека ОКИ, энтеропатогенные иерсинии, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* — псевдотубкулез и кишечный иерсиниоз соответственно, а *Y. pestis* — чуму. Представители родов *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* являются возбудителями внутрибольничных (нозокомиальных) инфекций, а некоторые из них вызывают пищевые токсикоинфекции, заболевания органов респираторного и мочевыделительного трактов.

Факторы патогенности разнообразны и в различных комбинациях присутствуют в определенных видах. Все энтеробактерии содержат эндотоксин, который освобождается после разрушения микробных клеток. Некоторые представители семейства продуцируют белковые токсины, обладающие цитотоксическим и энтеротоксическим эффектами, могут вы-

Таблица 16.10. Механизмы взаимодействия возбудителей ОКИ с поверхностным кишечным эпителием

| Тип взаимодействия | Возбудитель | Механизм патогенного действия |
|--------------------|--|--|
| 1-й тип | ЭТКП | Размножение на поверхности эпителия без повреждения эпителия тонкой кишки |
| 2-й тип | ЭПКП ЭГКП | Размножение на поверхности эпителия тонкой и толстой кишок с разрушением микроворсинок, повреждением апикальной поверхности эпителия |
| 3-й тип | ЭИКП род <i>Shigella</i> | Внедрение и размножение в эпителиальных клетках слизистой толстой кишки, цитотоксическое повреждение и гибель эпителиоцитов |
| 4-й тип | Род <i>Salmonella</i> , род <i>Yersinia</i> | Транспитоз эпителия тонкой кишки через М-клетки с инфицированием пейеровых бляшек, с последующим размножением в макрофагах |

делять гемолизины. Антифагоцитарная активность обеспечивается факторами, присущими определенным видам. К ним относятся капсула, ферменты супероксиддисмутаза и аденилатциклаза, поверхностные белки и специфические антигены. Начальные этапы инфекции опосредуются структурами, обеспечивающими взаимодействие с поверхностным эпителием. К ним относятся поверхностные структуры 3-го типа: фимбрии 3-го типа, фибриллярные белки, белки наружной мембраны, О-антиген. Установлено 4 типа механизмов взаимодействия возбудителей ОКИ с поверхностным эпителием кишечника (табл. 16.10).

Антигенная структура энтеробактерий представлена соматическим О-антигеном. Могут также встречаться жгутиковый Н-антиген и поверхностный (капсульный) К-антиген. Антигенной активностью обладают также фимбрии 3-го типа. Представители некоторых родов, в частности рода *Yersinia*, имеют дополнительные видоспецифические антигены.

Основу микробиологической диагностики инфекционных процессов, вызванных представителями семейства *Enterobacteriaceae*, составляет бактериологический метод исследования. Используются также серологический метод и ПЦР.

16.2.1.1. Эшерихии (род *Escherichia*)

Род *Escherichia* включает несколько видов, из которых в патологии человека и животных имеет основное значение вид *E. coli*, впервые описанный в 1885 г. Т. Эшерихом.

Морфология. *E. coli* представлены прямыми грамотрицательными палочками, размером

0,4÷0,6×2,0÷6,0 мкм, подвижные за счет перитрихально расположенных жгутиков. Для некоторых характерно наличие микрокапсулы, построенной из гомополимера сиаловой кислоты; такие штаммы обозначаются как К⁺.

Культуральные свойства. На плотных средах образуют колонии в S- и R-формах. Колонии в S-форме гладкие, блестящие, полупрозрачные. На жидких средах образуют диффузное помутнение и придонный осадок.

Биохимические свойства. Обладает выраженной биохимической активностью (см. табл. 16.9). Биохимические свойства, составляющие основу дифференциальной диагностики при проведении бактериологического исследования, следующие:

- продукция кислоты и газа при ферментации глюкозы,
- ферментация лактозы,
- неспособность образовывать сероводород,
- продукция индола.

Антигенная структура. *E. coli* обладает сложной антигенной структурой:

а) имеет соматический О-антиген, определяющий серогруппу. Известно около 171 разновидностей О-антигена;

б) поверхностный К-антиген может быть представлен 3 антигенами: А, В и L, отличающимися по чувствительности к температуре и химическим веществам. У эшерихий встречается более 97 разновидностей К-антигена, преимущественно В типа. К-антиген обладает способностью маскировать О-антиген, вызывая феномен О-инагглютинабельности. В этом случае О-антиген можно выявить только после разрушения К-антигена кипячением;

в) типоспецифическим антигеном является Н-антиген, определяющий серовар, которых насчитывается более 57.

Антигенная структура обозначается формулами серогруппы как О:К, серовара — О:К:Н, например: О12:В6:Н2.

Резистентность. В течение нескольких месяцев сохраняется в воде и почве. Погибает при нагревании до 55°C в течение 60 мин, при 60°C — в течение 15 мин. Эшерихии в окружающей среде способны переходить в некультивируемую форму.

Экология, особенности распространения и патогенеза. Вид *E. coli* не является однородным, а подразделяется на подвиды. Различают условно-патогенные эшерихии и диареегенные.

Условно-патогенные эшерихии входят у человека в состав микрофлоры кишечника и влагалища. *E. coli* также составляют микрофлору кишечника млекопитающих, птиц, рептилий, рыб. С испражнениями микроб выделяется в окружающую среду. Присутствие кишечной палочки в воде, почве, продуктах, предметах обихода является показателем фекального загрязнения.

Условно-патогенные *E. coli* способны вызывать эндогенные гнойно-воспалительные процессы различной локализации, называемые парентеральными эшерихиозами. Парентеральный эшерихиоз может протекать в виде сепсиса, нагноения ран, вторичной пневмонии, инфекции мочевыводящих путей. Часто возникает на фоне иммунодефицита.

Штаммы *E. coli*, вовлеченные в инфекционный процесс нижних отделов мочевыводящих путей, обладают специфическим О-антигеном, позволяющим им адгезироваться на поверхности эпителия мочевого пузыря. Те штаммы *E. coli*, которые вызывают инфекцию верхних отделов мочевыводящих путей (пиелонефрит), имеют особые Р-фимбрии, обладающие антигенными свойствами. Эти Р-фимбрии позволяют микробу адгезироваться на эпителии собирательных канальцев. *E. coli*, вызывающие инфекцию мочевыводящих путей, чаще относятся к серогруппам О2, О6, О9. Некоторые из них обладают гемолитической активностью за счет наличия Hly-плазмиды.

Подавляющее число (около 80 %) менингитов новорожденных вызваны *E. coli*, которой новорожденный заражается через родовые пути. *E. coli*, вызывающая неонатальный менингит, часто обладает микрокапсулой, состоящей из гомополимера сиаловой кислоты. Наличие микрокапсулы придает возбудителю антифагоцитарные свойства, так как микроб перестает опсонизироваться из-за потери способности активировать комплемент.

Из условно-патогенных *E. coli* могут формироваться полирезистентные к антибиотикам штаммы за счет приобретения R-плазмид, которые становятся возбудителями ВБИ.

Патогенные *E. coli*, которые являются возбудителями кишечного эшерихиоза, ОКИ, получили название диареегенных.

Диареегенные *E. coli* не являются однородной группой. Они подразделяются на 4 основные категории, исходя из наличия у них определенных факторов патогенности, генетической детерминации, особенностей эпидемиологии, патогенеза и клинических проявлений вызываемого ими заболевания. В пределах каждой категории имеется определенный состав О-серогрупп или О:Н-сероваров. Именно по составу О-серогрупп и проводится первичная дифференциация диареегенных *E. coli* от условно-патогенных.

Четыре основных категории *E. coli* составляют:

энтеротоксигенные кишечные палочки (ЭТКП), энтероинвазивные кишечные палочки (ЭИКП), энтеропатогенные кишечные палочки (ЭПКП), энтерогеморрагические кишечные палочки (ЭГКП).

Кроме них, имеются еще 2 (пока недостаточно изученных) категории энтероагрегативных и диффузноприлипаемых кишечных палочек.

ЭТКП являются возбудителями холероподобных заболеваний у детей и взрослых.

Патогенность определяется выработкой термостабильного (LT), структурно и функционально связанного с холерным токсином, и термостабильного (ST) энтеротоксинов, детерминированных Ent-плазмидой, и факторами колонизации CF (colonization factor, англ.), синтез которых также детерминируется плазмидами. Благодаря CF, ЭТКП размножаются

на поверхности эпителия тонкой кишки (см. табл. 16.10). Колонизация ЭТКП поверхности слизистой тонкого кишечника обеспечивает массивный выброс энтеротоксинов, которые нарушают водно-солевой обмен в кишечнике, приводя к развитию водянистой диареи. Механизм развития диарейного синдрома связан с активацией ЛТ аденилатциклазы кишечника, а СТ — гуанилатциклазы. С ЭТКП связано 17 серогрупп, среди них серовары O6:H16, O8:H9, O78:H11, O148:H28. Заражение ЭТКП происходит водным и алиментарным путями.

ЭИКП способны внедряться и размножаться в эпителиальных клетках слизистой стенки толстого кишечника, вызывая их деструкцию. Это обусловлено наличием у ЭИКП плазмиды размером 140 мДа, идентичной таковой у шигелл, кодирующей синтез поверхностных белков, опосредующих процесс инвазии в клетки слизистой толстого кишечника. Следствием этого является развитие дизентериеподобного заболевания. Заражение ЭИКП происходит водным и алиментарным путями, возможны вспышки ВБИ, вызванных ЭИКП. С ЭИКП связаны серогруппы O124, O144, O152 (более 9 серогрупп).

ЭПКП вызывают диарею у детей первого года жизни. Заболевание передается в основном контактно-бытовым путем, часто протекает как ВБИ в отделениях для новорожденных и грудных детей, находящихся на искусственном вскармливании. ЭПКП обладают способностью размножаться на поверхности эпителия тонкого кишечника с разрушением микроворсинок и повреждением апикальной поверхности эпителия (см. табл. 16.10). Процесс обеспечивается белком наружной мембраны, детерминированным хромосомным геном, который получил название ИНТИМИНА, и белком, синтез которого детерминирован плазмидой размером 60 мДа. С ЭПКП связаны серогруппы O55, O111, O26, O18 (всего 13), некоторые серовары которых, например O55:H10, O111:H2, O26:HNM, продуцируют шигаподобные токсины.

ЭГКП способны вызывать у людей кровавый понос (геморрагический колит) с последующим осложнением в виде гемолитического уремического синдрома, тромботической тромбоцитопенической пурпуры. Наибольшее эпидемическое значение имеет ЭГКП серовара O157:H7 и

O157:HNM. Источником инфекции являются крупный рогатый скот и овцы. Основной путь передачи — алиментарный через мясо, прошедшее недостаточную термическую обработку. Поражаются слепая, восходящая и поперечная толстые кишки. Механизм взаимодействия ЭГКП с поверхностным эпителием кишки происходит так же, как и у ЭПКП, по 2-му типу (см. табл. 16.10). В этом взаимодействии участвует белок наружной мембраны интимин, синтез которого детерминирован хромосомным геном, и, возможно, фимбрии, детерминированные плазмидой размером 60 мДа, которую называют плазмидой O157. Плаزمида O157 детерминирует также синтез гемолизина, который способствует нарушению барьерной функции кишечника. Развитие геморрагического колита связано со способностью ЭГКП продуцировать шигаподобные токсины (см. гл. 16.2.1.3), синтез которых обеспечивается конвертирующими фагами. У ЭГКП встречается 2 типа шигаподобных токсинов. Серовар ЭГКП O157 может продуцировать как один тип шигаподобного токсина, так и оба сразу. Серовар ЭГКП O157:H7 не обладает способностью утилизировать сорбит, что используется при проведении бактериологического исследования.

Иммунитет. Парентеральные эшерихиозы чаще возникают на фоне иммунодефицитных состояний. Надежный иммунитет к ним не вырабатывается.

При кишечных эшерихиозах наблюдается выработка местного иммунитета, опосредованного секреторным IgA. После кишечного эшерихиоза, вызванного ЭТКП, происходит выработка антител к субъединице В ЛТ, иммунологически родственной субъединице В холерного токсина.

У детей первого года жизни пассивный трансплацентарный иммунитет к ЭИКП обеспечивается проходящими через плаценту IgG. Естественный иммунитет детей первого года жизни обеспечивается колонизацией кишечника к 5-му дню жизни бифидобактериями и антителами, находящимися в материнском молоке.

Специфическая профилактика. Не разработана.

Неспецифическая профилактика. Сводится к соблюдению санитарно-гигиенических правил, санитарному контролю за источниками

водоснабжения, пищевыми предприятиями, продуктами питания.

Микробиологическая диагностика. Осуществляется проведением бактериологического исследования. Материалом для исследования при кишечных эшерихиозах служат испражнения, при парентеральных — материал из соответствующего инфекционного очага (моча, отделяемое раны, кровь). Исследуемый материал (кроме крови) засеивается на дифференциальные лактозосодержащие среды; после инкубации при 37 °С в течение 18 ч отбираются колонии, агглютинирующиеся поливалентной ОВ-агглютинирующей сывороткой, которые подвергаются идентификации до вида по биохимическим тестам, с последующим определением их серологического варианта.

16.2.1.2. Клебсиеллы (род *Klebsiella*)

Получил название в честь Э. Клебса, который впервые описал микроб в 1875 г. Род *Klebsiella* включает в себя 4 вида: *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. planticola*, *K. terrigena*, которые различаются по биохимическим свойствам. В патологии человека наибольшее значение имеют виды *K. oxytoca* и *K. pneumoniae*, состоящий из 3 подвидов: *K. subsp. pneumonia*, *K. subsp. ozaenae*, *K. subsp. rhinoscleromatis*, которые дифференцируют по биохимическим свойствам.

Морфология. Клебсиеллы — не образующие спор неподвижные палочки, размером 0,3÷1,5×0,6÷6,0 мкм, располагающиеся одиночно, парами или короткой цепочкой. Обычно они локализованы в капсуле, которая является характерным морфологическим признаком.

Культуральные свойства. Клебсиеллы хорошо растут на простых питательных средах. На поверхности плотных питательных сред образуют куполообразные крупные слизистые колонии. В жидких средах вызывают интенсивное помутнение.

Физиология. Клебсиеллы обладают выраженной биохимической активностью. Дифференциация между видами внутри рода и подвидами внутри вида *K. pneumoniae* осуществляется по биохимическим свойствам (табл. 16.11).

Антигенная структура клебсиеллы имеют соматические О-антигены (более 10 серогрупп)

и более 80 вариантов капсульных К-антигенов. Некоторые варианты К-антигена клебсиелл родственны термостабильному А-варианту К-антигена *E. coli*.

Факторы патогенности. К факторам патогенности относятся: капсула полисахаридной природы, обладающая антифагоцитарной активностью; маннозорезистентные фимбрии 3-го типа; термостабильный и термолабильный энтеротоксины, а также встречающиеся у некоторых вирулентных штаммов ферменты патогенности: ДНКаза, нейраминидаза, фосфатаза.

Экология и распространение. *K. pneumoniae* входит в состав факультативной микрофлоры кишечника, верхних дыхательных путей, влажной кожи; также обнаруживается на коже и слизистых оболочках. Клебсиеллы устойчивы к факторам окружающей среды благодаря наличию капсулы и могут в течение длительного времени сохраняться в почве, воде, помещениях. Клебсиеллы погибают при температуре 65 °С через 60 мин, в растворах обычных дезинфицирующих веществ.

Патогенез и заболевание у человека. *K. pneumoniae* подвида *pneumoniae* является возбудителем неспецифических инфекций дыхательных путей (бронхитов, пневмоний), органов мочевыводящей системы, пищевой токсикоинфекции.

Этот микроб может также вызывать гнойные послеродовые осложнения, неонатальную инфекцию, которая проявляется в виде пневмоний у новорожденных, кишечной инфекции и токсико-септических состояний, заканчивающихся летальным исходом. *K. subsp. pneumonia*, обладающая фактором множественной лекарственной устойчивости, в настоящее время занимает ведущее место среди возбудителей ВБИ, которые протекают с поражением дыхательных и мочевыводящих путей.

Возбудитель подвида *ozaenae* вызывает поражение слизистой оболочки носа и придаточных пазух, сопровождающееся выделением зловонного секрета.

Klebsiella subsp. rhinoscleromatis вызывает риносклерому, при которой поражается слизистая оболочка верхних дыхательных путей, с образованием гранулем, в которых микроб

Таблица 16.11. Биохимическая дифференциация бактерий рода *Klebsiella*

| Показатель | <i>K. oxytoca</i> | <i>K. pneumoniae</i> | | |
|---------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|
| | | <i>ozaenae</i> | <i>pneumoniae</i> | <i>rhinoscleromatis</i> |
| Индолообразование | + | — | — | — |
| Реакция метил-рот | ± | + | — | — |
| Реакция Фогеса—Проскауэра | + | — | + | — |
| Утилизация цитрата | + | ± | + | — |
| Утилизация малоната | + | ± | + | — |
| Расщепление мочевины | + | ± | + | — |
| Лизиндекарбоксилаза | + | ± | + | — |
| Ферментация лактозы | + | ± | + | — |

находится как вне-, так и внутриклеточно. Болезнь может протекать хронически и заканчиваться склеротическими изменениями на месте гранулем.

K. oxytoca вызывает ВБИ в урологической клинике.

Иммунитет. Гуморальный иммунный ответ защитной активностью не обладает. В защите от инфекции главная роль принадлежит фагоцитозу, опсонизированному специфическими антителами клебсиелл. При хронических формах клебсиеллезов, при которых микроб расположен внутриклеточно, развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. Применяется бактериологический метод исследования, который предусматривает выделение чистой культуры возбудителя из мокроты, мочи, испражнений, крови, гноя, в зависимости от локализации процесса, путем посева исследуемого материала на лактозосодержащие дифференциальные питательные среды с последующим выделением чистой культуры возбудителя и его идентификации до вида и подвида. Серодиагностика проводится путем постановки РСК с О-антигеном.

Профилактика и лечение. Средств специфической профилактики не существует. Для лечения используют клебсиеллезный бактериофаг и антибиотики, чему предшествует определение антибиотикограммы.

16.2.1.3. Шигеллы (род *Shigella*)

Род получил название по имени К. Шига, который в 1898 г. детально изучил микроб, известный в настоящее время под названием *S. dysenteriae* 1 серовара.

Род *Shigella* включает 4 вида, которые различаются по биохимическим свойствам и антигенной структуре:

S. dysenteriae — 12 сероваров,

S. flexneri — 9 сероваров,

S. boydii — 18 сероваров,

S. sonnei — 1 серовар.

Морфология. Шигеллы представлены неподвижными палочками, размером $0,5 \div 0,7 \times 2 \div 3$ мкм. Спор и капсул не образуют.

Культуральные свойства. Хорошо культивируются на простых питательных средах. На плотных средах образуют мелкие гладкие, блестящие, полупрозрачные колонии; на жидких — диффузное помутнение. Жидкой средой обогащения является селенитовый бульон. У *S. sonnei* отмечена при росте на плотных средах S R-диссоциация.

Физиология. Обладают слабой биохимической активностью по сравнению с представителями родов *Escherichia* и *Salmonella*.

Основные биохимические признаки, необходимые для идентификации при выделении чистой культуры:

— отсутствие газообразования при ферментации глюкозы,

— отсутствие продукции сероводорода,

— отсутствие ферментации лактозы в течение 48 ч.

S. sonnei способен ферментировать лактозу медленно, в течение 72 ч. Является наиболее биохимически активным видом; по биохимической активности подразделяется на хемовары. *S. dysenteriae* не ферментирует маннит.

Резистентность. В зависимости от температуры, влажности, pH и вида возбудителей выжи-

ваемость шигелл во внешней среде, на предметах обихода колеблется от нескольких дней до нескольких месяцев. Наиболее неустойчив во внешней среде вид *S. dysenteriae*. Шигеллы хорошо переносят высушивание, низкие температуры, но быстро погибают под воздействием прямых солнечных лучей и нагревании (при 60 °С — через 30 мин; при 100 °С — мгновенно). Благоприятной средой для шигелл являются пищевые продукты. *S. sonnei* в молоке и молочных продуктах способны не только длительно переживать, но и размножаться. Дезинфицирующие средства (гипохлориты, хлорамин, лизол и др.) в обычных концентрациях убивают шигеллы. У некоторых видов, в частности у *S. dysenteriae*, отмечен переход в некультивируемую форму.

Антигенная структура. Все шигеллы обладают соматическим О-антигеном, в зависимости от строения которого происходит их подразделение на серовары, а *S. flexneri* внутри сероваров подразделяется на подсеровары. *S. sonnei* обладает антигеном 1-й фазы, который является К-антигеном.

Факторы патогенности. Все виды шигелл обладают способностью вызывать инвазию с последующим межклеточным распространением и размножением в эпителии слизистой толстого кишечника. Эта способность связана с функционированием крупной плазмиды инвазии, которая имеется у всех 4 видов шигелл. У *S. sonnei* эта плазида имеет молекулярную массу 120 мДа и, в отличие от аналогичных плазмид других видов, детерминирует добавочно синтез антигена 1-й фазы. У остальных трех видов плазида инвазии имеет молекулярную массу 140 мДа.

Плазида инвазии детерминирует синтез ира ВCD-инвазинов (invasion plasmide antigen, англ.), белков, входящих в состав наружной мембраны, которые обеспечивают процесс инвазии слизистой. ира ВCD-инвазины чувствительны к трипсину, поэтому патологический процесс ограничивается толстым кишечником.

Помимо ира ВCD-инвазинов, в патогенезе играют роль белки внутриклеточного распространения, которые вызывают лизис мембран эукариотических клеток, обеспечивая внутриклеточное и межклеточное распространение шигелл.

Плазмидные гены начинают экспрессироваться при 37 °С и в условиях осмотического давления в кишечнике.

Шигеллы продуцируют шига и шигаподобные белковые токсины. Шига-токсин продуцируется *S. dysenteriae* 1 серовара, остальные шигеллы продуцируют шигаподобные токсины. Это белковые токсины, состоящие из 1 энзиматической субъединицы А и 5 рецепторных субъединиц В, имеющих сродство к рецептору Gb3 (globotriaosylceramide), который локализуется на мембранах эндотелия капилляров. Субъединица А, проникнув в клетку, взаимодействует с 60S-субъединицей рибосом, необратимо блокируя синтез белка. Эти токсины не имеют гомологии с холерным токсином и LT-токсином ЭТКП. Шига и шигаподобные токсины накапливаются после гибели шигелл. У шигелл, отличных от *S. dysenteriae* 1 серовара, количество шигаподобных токсинов вырабатывается в 1000 раз меньше, поэтому ареал действия токсина ограничивается стенкой кишечника. У *S. dysenteriae* 1 серовара токсин попадает в кровь и наряду с эндотелием подслизистой поражает также гломерулы почки, вследствие чего помимо кровавого поноса развивается гемолитический уремический синдром с развитием почечной недостаточности.

Эндотоксин защищает шигеллы от действия низких значений рН и желчи.

Эпидемиология и патогенез

Шигеллы вызывают заболевания, называемые шигеллезами (старое название — бактериальная дизентерия), которые являются антропонозными инфекциями с фекально-оральным механизмом передачи. Заболевание, вызываемое *S. dysenteriae*, имеет контактно-бытовой путь передачи, *S. flexneri* — водный, а *S. sonnei* — алиментарный. Естественная восприимчивость людей высокая, поэтому шигеллезы распространены повсеместно, чаще всего возникают в виде вспышек алиментарного и водного характера. Ежегодно шигеллезами болеют более 200 млн человек. Чаще болеют дети и жители городов, характерна летне-осенняя сезонность.

Патогенез и клиника заболевания

Шигеллезы — это инфекционные заболевания, характеризующиеся поражением толстого кишечника, с развитием колита и интоксикацией организма.

Заболевание характеризуется сложными начальными этапами патогенеза. Шигеллы взаимодействуют с эпителием слизистой толстой кишки по 3-му типу (см. табл. 16.10). Прикрепляясь ира-инвазинами к М-клеткам, которые покрывают регионарные лимфатические образования подслизистой кишечника, шигеллы пенетрируют через М-клетки в подслизистую, где поглощаются макрофагами. Взаимодействие шигелл с макрофагами приводит к их гибели, следствием чего является выделение ИЛ-1, который инициирует воспаление в подслизистой. Апоптоз фагоцитов позволяет шигеллам сохраниться и проникнуть в эпителиальные клетки слизистой через базальную мембрану. Внутри энтероцитов происходит размножение шигелл и их межклеточное распространение, следствием чего является развитие эрозий. При гибели шигелл происходит выделение шига и шигаподобных токсинов, действие которых приводит к появлению крови в испражнениях. Патологический процесс ограничивается кишечником. Бактериемии при шигеллезах не наблюдается. Наиболее тяжело протекает шигеллез, вызванный *S. dysenteriae* I серовара. *S. sonnei* вызывает развитие заболевания в легкой форме, часто в виде бактерионосительства. Осложнением шигеллезом может быть развитие кишечного дисбактериоза. Летальность при шигеллезах достигает 0,3 %.

Иммунитет. В защите от инфекции основная роль принадлежит секреторным IgA, предотвращающим адгезию, и цитотоксической антителозависимой активности интраэпителиальных лимфоцитов, которые вместе с секреторными IgA уничтожают шигеллы.

Микробиологическая диагностика. Основным методом диагностики является *бактериологический*, материалом для исследования служат испражнения. Для посева отбираются гнойно-слизисто-кровяные образования из средней порции кала, которые при диагностике заболевания непосредственно высеваются на лактозосодержащие дифференциальные питательные плотные среды. В случае выявления

бактерионосителей посев испражнений обязательно проводится в селенитовый бульон с последующим выделением возбудителя на плотных лактозосодержащих дифференциальных питательных средах. Среди выросших на этих средах отбирают лактозонегативные колонии, которые идентифицируют до вида и серовара, а выделенные культуры *S. flexneri* — до подсероваров, *S. sonnei* — до хемоваров. В качестве вспомогательного используют *серологический* метод с постановкой РНГА.

Профилактика и лечение. Для лечения по эпидемиологическим показаниям используют бактериофаг орального применения, антибиотики после определения антибиотикограммы; в случае возникновения дисбактериоза — препараты пробиотиков для коррекции микрофлоры. Неспецифическая профилактика сводится к соблюдению санитарно-гигиенических правил приготовления, хранения и реализации пищевых продуктов, при водоснабжении, соблюдению правил личной гигиены и других мероприятий аналогичных таковым при кишечном эшерихиозе.

Многочисленная практика разработки и применения вакцинопрофилактики свидетельствует о неэффективности метода специфической профилактики шигеллезом.

16.2.1.4. Сальмонеллы (род *Salmonella*)

Род получил название в честь Д. Сальмона, который в 1885 г описал микроб, выделенный из свиньи и известный в настоящее время под названием *S. Choleraesuis*.

Морфологические и культуральные свойства. Подвижные грамтрицательные палочки, размером 0,7×1,5×2–5 мкм. Капсулу не образуют. Хорошо растут на простых питательных и желчсодержащих средах. На плотных средах могут образовывать колонии в R- и S-формах, на жидких — диффузное помутнение. Колонии в S-форме средних размеров (некоторые серовары, например *S. Abortus ovis*, формируют мелкие колонии), гладкие, блестящие, полупрозрачные, с голубоватым оттенком. Серовар *S. Schottmuelleri* (*S. Paratyphi* B) при росте на плотных средах образует слизистые валики. Жидкими средами обогащения при посеве крови является желчный бульон, при посеве содержащих дополнительную флору материалов (фе-

калий, желчи, мочи) — селенитовый бульон. На лактозосодержащих дифференциальных средах образуют бесцветные колонии, на висмут-сульфитном агаре — колонии черного цвета.

Физиология. Обладают выраженной биохимической активностью. По биохимическим свойствам род однороден. Основные биохимические свойства, необходимые для идентификации:

- ферментация глюкозы до кислоты и газа (за исключением *S. Typhi*),
- отсутствие ферментации лактозы,
- продукция сероводорода,
- отсутствие индолообразования.

Антигенная структура и классификация. Сальмонеллы обладают соматическим О-антигеном, жгутиковым Н-антигеном. Некоторые сальмонеллы обладают К-антигеном.

В связи с тем, что по основным биохимическим свойствам представители рода *Salmonella* однотипны, дифференциация внутри рода проводится по антигенной структуре.

Имеется несколько классификаций сальмонелл. Наиболее старой является классификация по Кауфману—Уайту. В основе этой классификации лежит подразделение сальмонелл на серогруппы по общности строения О-антигена, а внутри серогруппы — на серовары, в соответствии с различиями в строении Н-антигена.

О-антиген состоит из R-ядра и боковой S-цепи. К S-цепи присоединяются сахара, которые называют рецепторами и обозначают цифрами. Критерием для объединения в серогруппу является общность конечного сахара, который по химической природе является 3,6-дидезоксигексозой.

Н-антиген является двухфазным. Это связано с тем, что его синтез кодируется двумя независимыми генами, работа одного из которых исключает работу другого. Поэтому в каждой клетке может быть синтезирован только один белок (фаза). Первая фаза обозначается буквами, она считается специфической, вторая фаза — цифрами, ее принято считать неспецифической.

В таблице Кауфмана—Уайта (табл. 16.12) внутри серогруппы серовары расположены в алфавитном порядке. В прежних классификациях каждый серовар соответствовал виду, которых насчитывалось более 2500.

Согласно последней классификации, род *Salmonella* состоит из двух видов — вида *S. enterica*, в который включены все сальмонеллы, являющиеся возбудителями человека и теплокровных животных, и вида *S. bongori*, который подразделяется на 10 сероваров и включает в себя сальмонеллы, изолированные от холоднокровных животных.

Вид *S. enterica* разделен на 6 подвидов, которые в свою очередь подразделены на серовары. Все серовары подвида *enterica* имеют названия, которые соответствуют прежним видовым названиям. Например: *S. typhi* — *S. Typhi*.

Некоторые серовары сальмонелл, в частности *S. Typhi*, имеют полисахаридный Vi-антиген, являющийся разновидностью К-антигена. Vi-антиген по химической структуре является полимером N-ацетилгалактозоаминоуроновой кислоты. Этот антиген является рецептором для бактериофагов. По спектру чувствительности к набору Vi-фагов устанавливается фаговар *S. Typhi*, который необходим для эпидемического анализа вспышек брюшного тифа с целью определения источника инфекции. Vi-антиген может придавать бактерии явление О-инагглютинабельности.

Патогенность и патогенез. Сальмонеллы обладают множественностью факторов патогенности, многие из которых еще недостаточно изучены. Совокупность действия факторов патогенности обеспечивает сальмонеллам транцитоз, т. е. инвазию слизистой через М-клетки, а также резистентность к фагоцитозу, позволяющую сальмонеллам сохраняться и размножаться внутри фагоцитов. Транцитоз обеспечивается белками секреторной системы 3 типа, синтез которых детерминирован «островком патогенности 1», среди которых имеется белок наружной мембраны *инвазин*. Особенность синтеза этих белков заключается в том, что он индуцируется в среде с высоким осмотическим давлением, соответствующим таковому в тонком кишечнике.

Резистентность к фагоцитозу обеспечивается многими факторами. В этом процессе принимают участие продукты генов, расположенных на «островке патогенности 2», синтез которых индуцируется внутрифагоцитарным окружением. Установлено, что в формирова-

Таблица 16.12. Классификация сальмонелл по антигенной структуре по Кауфману—Уайту

| Название серовара | Серогруппа | Антиген | | |
|------------------------|----------------|----------------|-----------------|--------|
| | | О | Н | |
| | | | фаза 1 | фаза 2 |
| <i>S. Paratyphi A</i> | A | 1, 2, 12 | a | — |
| <i>S. Derby</i> | B | 1, 4, 5, 12 | f, g | 1, 2 |
| <i>S. Haifa</i> | | 1, 4, (5), 12 | z ₁₀ | 1, 2 |
| <i>S. Paratyphi B</i> | | 1, 4, 5, 12 | b | 1, 2 |
| <i>S. Typhimurium</i> | | 1, 4, 5, 12 | i | 1, 2 |
| <i>S. Infants</i> | | 6, 7 | R | 1, 5 |
| <i>S. Choleraesuis</i> | C ₁ | 6, 7 | c | 1, 5 |
| <i>S. Virchow</i> | | 6, 7 | R | 1, 5 |
| <i>S. Newport</i> | | 6, 8 | eh | 1, 2 |
| <i>S. Dublin</i> | D | 1, 9, 12 (vi) | g, p | — |
| <i>S. Enteritidis</i> | | 1, 9, 12 | g, m | — |
| <i>S. Panama</i> | | 1, 9, 12 | e, v | 1, 5 |
| <i>S. Typhi</i> | | 9, 12 (vi) | d | — |
| <i>S. Anatum</i> | | E ₁ | 3, 10 | ch |

нии антифагоцитарной активности сальмонелл принимает также участие фермент супероксиддисмутаза, инактивирующая O₂-радикалы.

Все сальмонеллы обладают эндотоксином, который вызывает развитие лихорадки в случае бактериемии, вызванной сальмонеллами. При достижении критической концентрации эндотоксин активирует каскад арахидоновой кислоты в тканях. Некоторые сальмонеллы образуют белковый энтеротоксин, который обладает гомологией с холерным энтеротоксином и LT-токсином ЭТКП.

Попав после перорального заражения в тонкий кишечник, сальмонеллы инвазируют транцитозом слизистую кишечника через М-клетки без повреждения слизистой. Из М-клеток сальмонеллы транспортируются в субэпителиальное пространство, где захватываются макрофагами и привносятся в прилегающие к М-клеткам пейеровы бляшки, где, размножаясь в макрофагах, формируют первичный очаг инфекции

Резистентность. Сальмонеллы устойчивы к воздействию факторов внешней среды. Выдерживают рН в диапазоне 4–9; в водоемах, сточных водах, почве сохраняют жизнеспособность до 3 месяцев, в комнатной пыли — от 80 до 550 дней. Хорошо переносят низкие температуры. В зараженных продуктах сохраняются:

в колбасе — 3 месяца, в замороженном мясе и яйцах — до 1 года, на овощах и фруктах — 5–10 дней. При нагревании до 56 °С сальмонеллы гибнут в течение 45–60 мин, температура 100 °С убивает их мгновенно. Растворы дезинфицирующих веществ (5% фенол, 3% хлорамин, 3% лизол) убивают сальмонеллы в течение 2–3 мин. При неблагоприятных условиях сальмонеллы могут переходить в некультивируемую форму.

Вызываемые заболевания. В зависимости от источника инфекции, путей передачи и особенностей патогенеза и форм проявления инфекционного процесса, среди заболеваний, вызываемых сальмонеллами, различают: брюшной тиф и паратифы, сальмонеллезы, госпитальный (нозокомиальный) сальмонеллез.

Возбудители брюшного тифа и паратифов (*S. Typhi*, *S. Paratyphi B*, *S. Paratyphi A*)

Брюшной тиф представляет собой острую антропонозную системную инфекцию, характеризующуюся циклическим течением, поражением лимфатического аппарата тонкого кишечника, бактериемией, лихорадкой, сыпью и интоксикацией организма.

Возбудителем брюшного тифа является *S. Typhi*, впервые обнаруженный К. Эбертом

в 1880 г. в срезах селезенки, лимфатических узлов и пейеровых бляшек людей, умерших от брюшного тифа. В 1884 г. Т. Гаффки выделил возбудитель в чистой культуре. *S. Paratyphi A*, описанный А. Брионом и Х. Кайзером, и *S. Paratyphi B*, описанный Г. Шоттмюллером, являются возбудителями паратифов, которые схожи с брюшным тифом по патогенезу, клиническим проявлениям и эпидемиологии заболевания. Брюшной тиф и паратифы являются антропонозами, т. е. *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* вызывают заболевание только у человека. Источником инфекции является больной или бактерионоситель, которые выделяют возбудитель во внешнюю среду с испражнениями, мочой, слюной. Возбудители этих инфекций, как и другие сальмонеллы, устойчивы во внешней среде, сохраняются в почве, воде. Благоприятной для них средой являются пищевые продукты (молоко, сметана, творог, мясной фарш, студень), в которых сальмонеллы способны размножаться. Передача возбудителей осуществляется водным путем, играющим в настоящее время существенную роль, а также алиментарным и контактно-бытовым путями. Заражающая доза равняется приблизительно 1000 клеток. Естественная восприимчивость людей к возбудителям тифа и паратифа высокая.

Патогенез и клиника. Сформировав первичный очаг инфекции в пейеровых бляшках, после инвазии транскитиозом слизистой тонкого кишечника, возбудители тифа и паратифов вызывают их воспаление с развитием лимфаденита. В результате воспаления нарушается их барьерная функция, и сальмонеллы попадают в кровь, вызывая бактериемию. Это совпадает с концом инкубационного периода, который длится 10–14 суток. Во время бактериемии, которая сопровождает весь лихорадочный период, возбудители тифа и паратифов с током крови разносятся по организму, оседая в ретикулоэндотелиальных элементах паренхиматозных органов: печени, селезенке, легких, а также в костном мозге, где размножаются в макрофагах, а также в желчном пузыре, куда они попадают по желчным протокам, диффундируя из Купферовских клеток печени. К концу 2-й недели заболевания возбудитель начинает выделяться из организ-

ма с мочой, путем, материнским молоком, слюной. Накапливаясь в желчном пузыре, сальмонеллы вызывают его воспаление и с током желчи реинфицируют тонкий кишечник. Повторное внедрение сальмонелл в сенситивизированные пейеровы бляшки приводит к развитию в них гиперергического воспаления по типу феномена Артюса, их некрозу и изъязвлению, что может привести к кишечному кровотечению и прободению кишечной стенки. Выделяются сальмонеллы из организма с испражнениями и мочой.

Клиника брюшного тифа и паратифов характеризуется циклическим течением и проявляется лихорадкой (повышение температуры до 39–40°), интоксикацией, появлением розеолезной сыпи, нарушениями со стороны нервной системы (бред, галлюцинации) и сердечно-сосудистой системы (падение кровяного давления, коллапс и др.). Паратифы протекают в основном так же, как брюшной тиф.

Иммунитет. Иммунитет после перенесенного заболевания напряженный и длительный. Протективный иммунный ответ обеспечивается синергичным действием клеточного иммунного ответа, в котором ведущая роль принадлежит активированным макрофагам.

Гуморальный иммунитет самостоятельно не обладает протективной активностью, а является свидетелем инфекционного процесса. Причем первыми к концу 1-й недели заболевания появляются антитела к О-антигену, которые максимальных титров достигают к разгару заболевания, а затем исчезают. Антитела к Н-антигену появляются в период реконвалесценции и у привитых лиц и длительно сохраняются. У бактерионосителей брюшного тифа обнаруживаются антитела к Vi-антигену. Возникновение бактерионосительства связано с функциональной недостаточностью макрофагов.

Микробиологическая диагностика. Учитывая цикличность течения заболеваний, материал для исследования и метод исследования определяются стадией течения болезни.

В первые дни заболевания наблюдается бактериемия, поэтому на 1-й неделе заболевания и в течение всего лихорадочного периода используют метод гемокультуры: посев крови в желчный бульон с последующим пересе-

вом на дифференциально-элективные среды (Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитный агар). Выделенную культуру идентифицируют по биохимическим свойствам и антигенной структуре, а выделенную культуру *S. Typhi* типировать Vi-фагами для определения источника инфекции. С конца 2-й недели заболевания производят выделение копро-, урино- и биликultur, т. е. материалом для исследования являются моча, испражнения, желчь.

Начиная со 2-й недели заболевания проводят серологическое исследование с целью определения наличия и типа антител. Исследование проводится постановкой РНГА. РНГА ставят с О-, Н- и Vi-диагностикумами. Положительным считают диагностический титр не менее 1:200. Ранее для серологической диагностики применяли развернутую реакцию агглютинации Видаля. В настоящее время серологическое исследование проводят также постановкой ИФА.

Профилактика и лечение. Для специфической профилактики брюшного тифа используют брюшнотифозную сорбированную и брюшнотифозную спиртовую, обогащенную Vi-антигеном, вакцины. Для профилактики, по эпидемическим показаниям, лицам, которые проживают совместно с больным и которые употребляли продукты и воду, зараженные или подозрительные на заражение *S. Typhi*, назначают сухой брюшнотифозный бактериофаг.

Лечение — этиотропная антибиотикотерапия.

Неспецифическая профилактика включает: санитарно-бактериологический контроль за системами водоснабжения, соблюдение санитарно-гигиенических правил при приготовлении пищи, выявление бактерионосителей среди работников пищеблоков, торговли, своевременное выявление и изоляцию больных.

Сальмонеллез (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Choleraesuis*)

Сальмонеллез — острая кишечная зоонозная инфекция, вызываемая многочисленными сероварами сальмонелл, характеризующаяся преимущественным поражением ЖКТ и протекающая чаще в виде локальной, в форме гастроэнтерита, инфекции, реже — генерализованных форм: тифоподобной или септико-пиемической.

Этиология и Эпидемиология. Возбудителями сальмонеллеза является большая группа сальмонелл, входящая, согласно современной классификации, в подвид *enterica*, которые вызывают заболевание как у животных, так и у человека. Наиболее часто возбудителями сальмонеллезом у человека являются серовары *S. Typhimurium*, *S. Dublin*, *S. Choleraesuis*. В настоящее время на территории России доминирует в качестве возбудителя сальмонеллеза серовар *S. Enteritidis*. Основным резервуаром возбудителей в природе являются сельскохозяйственные животные. Развитие промышленного животноводства способствует распространению сальмонелл среди животных (крупного рогатого скота, свиней), у которых сальмонеллез протекает как в форме клинически выраженной системной инфекции, так и в форме бактерионосительства, при этом животные выделяют возбудителя с мочой, испражнениями, слюной и молоком. Резервуаром сальмонелл являются также птицы (водоплавающие) и куры, у которых происходит трансвариальная передача возбудителя. Основные факторы передачи — мясо, молоко, яйца, субпродукты, особенно печень крупного рогатого скота и свиней, а также вода. Естественная восприимчивость людей к сальмонеллам высокая. Заражение происходит алиментарным и водным путями. Заражающая доза — от одного миллиона до ста миллионов микробных клеток. Больной сальмонеллезом человек выделяет сальмонеллы в период от 3 дней до 3 недель, иногда до 1 года.

Патогенез и клиника. Заболевание чаще протекает в локальной форме гастроэнтерита, ведущим синдромом которого является диарейный. Инвазивно проникая в слизистую тонкого кишечника транскитозом через М-клетки и проникнув в подслизистую, сальмонеллы частично захватываются макрофагами, переносясь ими в пейеровы бляшки, где, размножаясь в макрофагах, формируют первичный очаг инфекции. Частично размножаются в подслизистой. При этом выделяются эндотоксин и белковый энтеротоксин, который у сальмонелл накапливается в периплазматическом пространстве клетки.

Энтеротоксин активирует Са-зависимую аденилатциклазу эпителиальных клеток крипт

тонкого кишечника, результатом чего является повышение уровня цАМФ, что влечет за собой поступление в просвет кишечника большого количества жидкости, К, Na и хлоридов. У больных возникают понос и рвота, приводящие к обезвоживанию организма.

Добавочным источником накопления цАМФ является активация аденилатциклазы клеток *lamina propria* простагландинами. Накопившийся в результате гибели сальмонелл эндотоксин усиливает синтез простагландинов из арахидоновой кислоты, входящей в состав фосфолипидов клеточных мембран.

При нарушении барьерной функции лимфатического аппарата кишечника происходит генерализация процесса, и возникает бактериемия, в результате которой сальмонеллы заносятся в различные внутренние органы и костный мозг, формируя вторичные гнойные очаги (септико-пиемическая форма). Патогенез возникающей при этом тифоподобной формы аналогичен патогенезу брюшного тифа и паратифов.

Иммунитет. Ненапряженный, серовароспецифический, опосредован секреторным IgA, который предотвращает процесс пенетрации сальмонеллами слизистой тонкого кишечника. В крови могут определяться антитела, которые являются свидетелями инфекционного процесса.

Микробиологическая диагностика. Проводится бактериологическим и серологическим методами. Бактериологическому исследованию подвергают рвотные массы, промывные воды желудка, испражнения, желчь, мочу, кровь (при генерализованных формах заболевания).

Для серологического исследования применяют РНГА, ИФА. Важное диагностическое значение имеет нарастание титра антител в динамике заболевания.

Профилактика. Основную роль играет Специфическая профилактика сальмонеллеза у сельскохозяйственных животных и птицы. Большое значение имеет не специфическая профилактика, включающая проведение ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на предупреждение распространения возбудителей среди сельскохозяйственных животных и птицы, а также соблюдение санитарно-гигиенических правил при убое на

мясоперерабатывающих предприятиях, при хранении мяса и мясных продуктов, приготовления пищи, правильная кулинарная и достаточная термическая обработка пищевых продуктов.

Лечение. Применяется патогенетическая терапия, направленная на нормализацию водно-солевого обмена. При генерализованных формах — этиотропная антибиотикотерапия.

Внутрибольничный (нозокомиальный) сальмонеллез

Этиология. Возбудителями внутрибольничного сальмонеллеза являются полиантибиотикорезистентные штаммы *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Virchow*, *S. Infants*, *S. Haife* и некоторые другие.

Госпитальные штаммы сальмонелл представляют собой особую биологическую разновидность. Для них характерно: наличие криптичной плазмиды с характерной для определенного серовара молекулярной массой; отсутствие типизируемости типовыми бактериофагами; изменение биохимических свойств.

Эпидемиология. Источником инфекции и основным резервуаром возбудителей являются дети и взрослые (больные и бактерионосители), находящиеся или поступающие в стационар. В эпидемический процесс вовлекаются прежде всего дети в возрасте до 1 года, особенно новорожденные, а также взрослые, пациенты хирургических и реанимационных отделений, перенесшие обширные оперативные вмешательства, лица пожилого и старческого возраста, больные с тяжелой соматической патологией, сопровождающейся иммунодефицитами.

Передача возбудителя при внутрибольничном сальмонеллезе осуществляется: воздушно-пылевым путем (при вдыхании воздуха, содержащего пылевые частицы с адсорбированными на них сальмонеллами); контактно-бытовым путем (через предметы обихода, посуду, грязные руки персонала); алиментарным путем. Заражающая доза — порядка от одной тысячи до десяти тысяч клеток.

Клиническое течение. Характеризуется длительным инкубационным периодом от 8 до 43 суток. Проявление болезни варьирует от бессимптомного носительства до выраженных кишечных расстройств с развитием генера-

лизированных форм инфекции с септическими осложнениями.

Иммунитет не формируется. Профилактика осуществляется поливалентным бактериофагом. Для лечения применяют этиотропную антибиотикотерапию.

16.2.1.5. Протеи (род *Proteus*)

Протеи относятся к условно-патогенным микроорганизмам. Вызывают инфекцию мочевыводящих путей и гнойную раневую инфекцию, в том числе сепсис. Заболевания могут протекать как эндоинфекция, а также быть результатом внутрибольничной инфекции.

Род *Proteus* состоит из четырех видов: В патологии человека наибольшее значение имеют два вида: *P. vulgaris* и *P. mirabilis*. Впервые были выделены Г. Хаузером в 1885 г.

Морфология. Палочки, размером $0,4 \div 0,6 \times 1 \div 3$ мкм, располагающиеся попарно или цепочками. Капсулу не образуют, подвижны.

Культуральные свойства. Хорошо растет на обычных питательных средах. На плотных средах образует два типа колоний. В Н-форме (нем. *hauch* — дыхание) колонии имеют вид «роения», с образованием дочерних отростков. Это типичная форма роста. При неблагоприятных условиях, в частности на средах с добавлением желчи, образуют О-формы (нем. *ohne hauch* — без дыхания) колоний: крупные, с ровными краями.

Физиология. Обладает выраженной биохимической активностью. Подразделение на виды производится по биохимическим свойствам (табл. 16.13). Основные биохимические признаки, дифференцирующие от других представителей семейства *Enterobacteriaceae*:

- продукция фенилаланиндезаминазы, уреазы, сероводорода,
- отсутствие расщепления лактозы,
- разжижение желатины.

Антигенная структура. Обладает О- и Н-антигенами.

Резистентность. Устойчив к воздействию факторов окружающей среды. Переносит нагревание до 60°C в течение 1 ч. Сохраняет длительную жизнеспособность в слабых растворах фенола и других дезинфицирующих веществ.

Экология. Протеи входят в состав факультативной флоры толстого кишечника и влагалища женщин, их можно обнаружить в сточных водах.

Патогенез. В патогенезе инфекции мочевыводящих путей, вызванных протеем, важную роль играет продуцируемая им уреазы, которая, расщепляя мочевины, вызывает освобождение аммиака, что ведет к повышению pH. Зашелачивание мочи снижает растворимость кальция и магния, создавая благоприятные условия для отложения кальциевых и магниевых солей и образования почечных камней.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана. Для лечения используют коли-протейный бактериофаг и антибиотики после определения антибиотикограммы.

Иммунитет. Протективный иммунитет не формируется

Микробиологическая диагностика. Используют бактериологический метод исследования. Посев материала проводится на лактозосодержащие дифференциальные среды и на скошенный агар по Шукевичу (в конденсационную воду в месте скоса агара). Выделенная культура идентифицируется по биохимическим свойствам.

16.2.1.6. Иерсинии (род *Yersinia*)

Род *Yersinia* включает 11 видов, из которых в патологии человека основное значение имеют 3 вида: возбудитель чумы *Y. pestis* и энтеропатогенные иерсинии, возбудитель псевдотуберкулеза *Y. pseudotuberculosis* и возбудитель кишечного иерсиниоза *Y. enterocolitica*.

Род назван в честь А. Иерсена, который в 1894 г. совместно с С. Китасато открыл возбудителя чумы. Подразделение внутри рода на виды производится на основе биохимических свойств и подвижности (табл. 16.14).

16.2.1.6.1. Возбудитель чумы (*Y. pestis*)

Чума — острая инфекционная природно-очаговая болезнь, относящаяся к группе карантинных (конвенционных) инфекций, характеризующаяся тяжелой интоксикацией, лихорадкой, поражением кожи, лимфатических узлов, легких, сепсисом и высокой летальностью.

Таблица 16.13. Дифференциация по биохимической активности внутри рода *Proteus*

| Биохимический признак | Утилизация | | | Продукция | | |
|-----------------------|------------|---------|--------|-----------|------------------|-----------------------|
| | Глюкоза | Лактоза | Цитрат | Индола | H ₂ S | Орнитиндекарбоксилаза |
| <i>P. vulgaris</i> | + | — | — | + | + | — |
| <i>P. mirabilis</i> | + | — | + | — | + | + |

Морфология. *Y. pestis*, представляет собой неподвижную палочку овоидной формы, размером 1,5×0,7 мкм, с биполярным окрашиванием анилиновыми красителями. Образует нежную капсулу.

Культуральные свойства. Факультативный анаэроб. Растет на простых питательных средах. Оптимальная температура роста 28 °С, но может расти в широком диапазоне температур от 2 до 40 °С. Для ускорения роста в питательные среды добавляют стимуляторы, сульфит натрия и гемолизированную кровь. При росте на плотных питательных средах через 8–12 ч появляются колонии в виде «битого стекла». Через 18–20 ч инкубации вирулентные бактерии образуют колонии в R-форме, которые имеют форму «кружевных платочков»: со светлым центром и фестончатыми краями. Менее вирулентные бактерии образуют колонии в S-форме. На жидких средах бактерии растут в виде пленки, от которой спускаются нити, напоминающие пещерные сталактиты; на дне образуется хлопьевидный осадок.

Биохимическая активность достаточно высокая. Синтезирует плазмокоагулазу, фибринолизин, гемолизин, лецитиназу, РНКазу. Основные Биохимические свойства, необходимые для идентификации:

- не разжижает желатину, не расщепляет мочевины,
- не ферментирует рамнозу и сахарозу,
- ферментирует декстрин.

По отношению к утилизации глицерина подразделяется на хемовары.

Антигенная структура. Обладает комплексом антигенов, многие из которых относятся к факторам патогенности. Имеет термостабильные O-антигены и термолабильные капсульные антигены. Протективной активностью обладает F1-антиген. Имеет антигены, общие с антигенами эритроцитов 0-группы крови человека.

Резистентность. Микроб обладает психрофильностью. При понижении температуры увеличиваются сроки выживания бактерий. При температуре –22 °С бактерии сохраняют жизнеспособность 4 месяца, в замороженных трупах и блохах — до 1 года. При нагревании до 50 °С гибнет в течение 10 мин, до 100 °С — в течение 1 мин. Чувствителен к сулеме в концентрации 0,1 %, к 3–5% растворам лизола и фенола, ультрафиолетовому облучению.

Патогенность. *Y. pestis* обладает многочисленными факторами патогенности, генетическая детерминация которых осуществляется как хромосомой, так и тремя плазмидами: pPst (6 мДа), pCad, (45 мДа), pFra (60 мДа).

Синтез ферментов патогенности: фибринолизина и плазмокоагулазы, а также пестицина детерминирует pPst плазида; синтез F1-антигена — гликопротеидной природы, который продуцируется при температуре 37 °С и препятствует поглощению микроба фагоцитами, детерминируется pFra плазмидой; этой же плазмидой детерминируется синтез F2-фракции, «мышинного токсина», функция которого окончательно не ясна. Известно, что он обладает способностью блокировать адренергические рецепторы и ингибировать дыхательную активность митохондрий, понижая активность НАДФ-редуктазы.

Синтез V- и W-антигенов (V-антиген является пептидом, а W-антиген — внеклеточным липопротеином), обеспечивающих способность бактерий сохраняться в фагоцитах, детерминирует pCad плазида. К факторам патогенности, обеспечивающим антифагоцитарную активность микроба, относят также внеклеточную аденилатциклазу и цитохромоксидазу, а также пигмент, связывающий гемин и способность к синтезу эндогенных пуринов.

Эпидемиология. Резервуаром возбудителя природной чумы являются дикие, синантро-

Таблица 16.14. Дифференциация на виды внутри рода *Yersinia*

| Показатель | <i>Y. pestis</i> | <i>Y. pseudotuberculosis</i> | <i>Y. enterocolitica</i> |
|---------------------------|------------------|------------------------------|--------------------------|
| Подвижность | — | ± (28 °С) | + |
| Уреаза | — | + | + |
| Декстрин | + | — | — |
| Эскулин | + | — | ± |
| Рамноза | — | + | — |
| Сахароза | — | — | + |
| Лизиндекарбоксилаза | — | — | — |
| Орнитиндекарбоксилаза | — | — | + |
| Продукция индола | — | — | ± |
| Реакция Фогеса—Проскауэра | — | — | ± |
| Гидролиз желатины | — | — | — |

ропные и домашние животные (всего около 300 видов). Основными носителями являются грызуны (сурки, суслики, полевки, песчанки, крысы, зайцы и др.). У грызунов, впадающих зимой в спячку, чума протекает в хронической латентной форме. Эти животные являются источником инфекции в межэпидемический период.

Вторичные очаги, связанные с деятельностью человека, обнаруживаются в географических зонах между 35° северной широты и 35° южной широты. В них источниками и хранителями возбудителя служат домовые виды крыс и мышей, от них заражаются некоторые виды домашних животных, в частности верблюды и, возможно, кошки.

Специфическими переносчиками возбудителя в обоих типах очагов служат блохи. Винфицированной блохе возбудитель размножается в преджелудке, а при кровососании человека попадает в ток его крови. Человек заражается в очаге трансмиссивно — через укусы инфицированных блох, контактным путем при контакте с инфицированными животными (разделка шкур и мяса зараженных животных) и алиментарным путем — при употреблении в пищу продуктов, обсемененных чумными микробами. От больных легочной формой чумы происходит аэрогенное заражение.

Восприимчивость людей к чуме очень высокая. Индекс контагиозности приближается к единице. Эпидемии чумы обычно следуют за эпизоотиями. В истории человечества извест-

ны три пандемии чумы. Первая, «юстинианова чума» свирепствовала в странах Ближнего Востока, Европы в VI в. и вызвала гибель около 100 млн человек. Вторая пандемия, известная под названием «черная смерть», была занесена из Азии в Европу в 1348 г.; она унесла жизни более 50 млн человек, т. е. четверти населения Европы. Третья пандемия началась в 1894 г. в Кантоне и Гонконге; особенностью этой пандемии явилось то, что она охватывала только портовые города, не распространяясь за их пределы. Природные очаги чумы существуют и сейчас на всех континентах, кроме Австралии и Антарктиды. В настоящее время ежегодно регистрируется несколько сот случаев чумы человека. В России такими очагами являются регионы Закавказья, Поволжья.

Патогенез и клиника заболевания. Зависят от пути заражения. При контактном пути, проникая через неповрежденную кожу, и трансмиссивном пути заражения возбудитель с током лимфы заносится в регионарные лимфатические узлы, где происходит его размножение. Вследствие незавершенности фагоцитоза в лимфатических узлах развивается серозно-геморрагическое воспаление, с развитием бубона, т. е. увеличенного лимфатического узла, иногда достигающего размеров куриного яйца. Так возникает первичная бубонная форма. Утрата лимфатическим узлом барьерной функции приводит к генерализации процесса. Возбудитель разносится гематогенно в отдаленные лимфатические узлы, где формируются вторичные бубоны,

а также в органы, где развиваются септикопиемические очаги. Гематогенный занос чумных микробов в легкие приводит к развитию вторично-легочной формы заболевания, которая характеризуется развитием пневмонии с обильным серозно-геморрагическим экссудатом, содержащим большое число микробов. При воздушно-капельном заражении возникает первично-легочная форма, а при контактном и алиментарном путях заражения развиваются соответственно кожная и, в редких случаях, кишечная формы заболевания.

Инкубационный период — от нескольких часов до 2–6 дней, у привитых — до 10 дней. Заболевание начинается остро: температура тела повышается до 39 °С и выше, возникает озноб, наблюдаются явления интоксикации, которая проявляется резкой головной болью, разбитостью, мышечными болями, помрачением сознания. Больной возбужден. При бубонной форме на 1–2-й день болезни появляется лимфаденит (чумной бубон). Различают несколько клинических форм чумы: кожную, бубонную, первично- и вторично-септическую, первично- и вторично-легочную формы. Летальность до применения антибиотиков при диссеминированных формах чумы достигла 100 %, при локальных формах — до 70 %; при антибиотикотерапии достигает 10 %.

Иммунитет. Различной длительности и напряженности. Отмечены случаи повторных заболеваний. Протективная активность обеспечивается главным образом клеточным иммунным ответом, реализующимся через иммунные макрофаги.

Микробиологическая диагностика. Используют бактериоскопический, бактериологический, биологический и серологический методы исследования, которые проводят в специальных лабораториях, работающих в соответствии с инструкциями о режиме работы противочумных учреждений. Материалами для исследования являются: пунктаты бубонов мокрота, отделяемое карбункулов и язв, кровь, моча, рвотные массы, трупный материал. Материал засевают на питательные среды (мясопептонный агар — МПА, бульон Хоттингера, элективные среды), и ставят биопробу на морских свинках и белых мышах. В качестве экспресс-диагностики используют РИФ, позволяющую

поставить предварительный диагноз уже через 2 ч. Серологическое исследование проводится постановкой РНГА, ИФА, РН антител.

Профилактика и лечение. Больные чумой подлежат строгой изоляции и обязательной госпитализации. Для лечения используют этиотропную антибиотикотерапию. Прогноз неблагоприятный, так как при генерализованных формах болезни летальность может достигать 100 %.

Специфическая профилактика осуществляется живой вакциной из штамма EV. После вакцинации развивается иммунитет продолжительностью до 6 месяцев. Вакцина вводится однократно накожно или подкожно с помощью безыгольного инъектора; разработана таблетированная живая вакцина из штамма EV для перорального применения (А. А. Воробьев, Е. М. Земсков), а также аэрозольная вакцина (В. А. Лебединский и соавт.).

Большое значение имеет не специфическая профилактика, которая включает: предупреждение заболевания людей и возникновения эпизоотий в природных очагах, предупреждение завоза чумы на территорию страны, которое осуществляется согласно специальным «Международным санитарным правилам»; предупреждение заражения лиц, работающих с заразным *Y. pestis* материалом, осуществляемое регламентом работы противочумных учреждений. Вся работа с заразным *Y. pestis* материалом и в госпиталях для больных чумой должна проводиться в специальных защитных противочумных костюмах с соблюдением строгого порядка их надевания и снятия. В случае появления больного чумой проводятся карантинные мероприятия.

16.2.1.6.2. Энтеропатогенные иерсинии

К энтеропатогенным иерсиниям относят возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза: *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* соответственно. Дифференциация между видами осуществляется по биохимическим свойствам и антигенной структуре.

Особенность экологии. Энтеропатогенные иерсинии являются сапронозами. Способны существовать в окружающей среде. Обладают свойствами, которые определяют особенности эпидемиологии вызываемых ими заболеваний:

1) способностью к сапрофитическому существованию в окружающей среде;

2) психрофильностью.

Оптimum роста +22...–25 °С. Сохраняют жизнеспособность при температурах –15...–25 °С. Размножаются при температуре +4 °С. Энтеропатогенные иерсинии способны размножаться в воде, почве, растениях, в которые они через корневую систему попадают из почвы. Размножение при низких температурах сопровождается многомесячной (до полугода) продолжительностью стационарной фазы, что способствует накоплению большой биомассы бактерий. Популяция иерсиний во внешней среде поддерживается свободноживущими инфузориями вида *Tetrahymena pyriformis*. При этом происходит селекция устойчивых к фагоцитозу бактерий.

Генетическая детерминация синтеза факторов патогенности и их температурная регуляция обеспечивают возможность перехода энтеропатогенных иерсиний из внешней среды к существованию внутри организма.

Начальные этапы инфекции, а именно транзитоз слизистой кишечника через М-клетки (IV тип), осуществляется за счет функционирования *inv*-гена хромосомной локализации, который функционирует при температурах ниже 37 °С, вырабатывая белок наружной мембраны клеточной стенки, необходимый для взаимодействия с М-клетками. Распространение микробов по организму связано с функционированием генов плазмиды (молекулярная масса 45 мДа), которые активны при температуре 37 °С. Эти гены детерминируют синтез цитотоксина, повреждающего клетки стенки кишечника, и V- и W-антигенов, обеспечивающих размножение микробов в фагоцитах, что вызывает незавершенный фагоцитоз.

16.2.1.6.2.1. Возбудитель псевдотуберкулеза (*Y. pseudotuberculosis*)

Псевдотуберкулез — инфекционное заболевание, характеризующееся полиморфностью клинической картины, затяжным течением, аллергизацией организма.

Возбудитель псевдотуберкулеза *Y. pseudotuberculosis* впервые был описан в 1883 г. Л. Малассе и В. Виньялем.

Морфология. Палочка, с биполярным окрашиванием, размером 0,8×2×0,4+0,6 мкм, подвижная, т. е. имеет жгутики, при температурах ниже 37 °С. Образует капсулу.

Культуральные свойства. Хорошо растет на простых питательных средах. Оптimum размножения 22–28 °С. При температурах ниже 37 °С на плотных средах образует колонии в S-форме. При температуре 37 °С — колонии в R-форме. На жидких средах образует пленку.

Физиология. Биохимически активен. Основные биохимические признаки, необходимые для идентификации:

- продукция уреазы,
- ферментация рамнозы,
- отсутствие ферментации сахарозы,
- отсутствие продукции индола,
- отрицательная реакция Фогеса—

Проскауэра.

Биохимически внутри рода однороден.

Возбудитель устойчив во внешней среде: в воде при комнатной температуре выживает до 1,5 месяцев, при +4 °С — до полугода; в овощах (капуста, морковь, лук) и фруктах выживает несколько месяцев. Малоустойчив к нагреванию при 60°, при кипячении, к УФ-свету, к дезинфектантам.

Антигенная структура. Обладает O-антигеном, на основании строения которого подразделяется на 8 сероваров, а также H-антигеном.

Эпидемиология. Резервуаром возбудителя в природе являются многие виды млекопитающих (рогатый скот, кошки) и птиц, грызуны (мыши, крысы), выделяющие микроб с испражнениями, а также вода, почва, в которых происходит накапливание микроба. Человек заражается водным и алиментарным путями. Основными факторами передачи являются вода и овощи. Овощи заражаются *Y. pseudotuberculosis* в результате их загрязнения в хранилищах испражнениями инфицированных возбудителем мышей, а также непосредственно из почвы и воды. Заражение человека от больного или носителя не происходит. Естественная восприимчивость людей к возбудителю высокая. Болезнь распространена повсеместно, возникает в виде спорадических и эпидемических вспышек, имеет сезонность (февраль-март). В районе Дальнего Востока РФ заболевание протекает в виде эпидемических вспышек в генерализо-

ванной форме под названием Дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка.

Патогенез и клиника заболевания. Инкубационный период 3–10 дней. Заболевание протекает в виде локальной и генерализованной форм. Начало острое или подострое, сопровождается лихорадкой. Инвазивная слизистую кишечника транцитозом через М-клетки, выделяя при этом цитотоксин, *Y. pseudotuberculosis* вследствие незавершенности фагоцитоза попадает в мезентериальные лимфатические узлы, вызывая мезентериальный лимфаденит. Следствием развития мезентериального лимфаденита являются боли в эпигастральной области, симптомы раздражения брюшины, которые имитируют симптомы острого аппендицита.

В случае прорыва лимфатического барьера наступает бактериемия, в результате которой микроб разносится по организму, вызывая образование гранул и микроабсцессов в макрофагальных элементах печени, селезенки, легких, суставов. При этом происходит алергизация организма. На 1–6-й день появляется розеолезная сыпь. Возможен летальный исход.

Иммунитет. Непрочный, нестерильный. Антитела не обладают протективной активностью. В организме происходит развитие ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. Применяют бактериологический и серологический методы исследования. Материалами для исследования при бактериологическом методе являются испражнения, кровь, желчь, суставная жидкость, бронхиальная жидкость. Материал помещают в фосфатный буфер и подвергают холодовому обогащению при температуре 4 °С в течение 21 дня, периодически делая высев на плотные среды (Эндо, Серова).

Серологическое исследование проводят на 2-й неделе и 3–5-й неделе постановкой РНГА и ИФА.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана. Лечение — этиотропная антибиотикотерапия.

Неспецифическая профилактика включает: постоянный санитарный контроль за водоснабжением, технологическим режимом обработки и хранения пищевых продуктов, борьбу с грызунами.

16.2.1.6.2.2. Возбудитель кишечного иерсиниоза (*Y. enterocolitica*)

Кишечный иерсиниоз — инфекционное заболевание с поражением тонкого и толстого кишечника и развитием мезентериального лимфаденита.

Этиология. Возбудителем кишечного иерсиниоза является *Y. enterocolitica*, который впервые был описан Дж. Шлейфстейном и М. Калеманом в 1939 г. Заболевание стало широко распространяться с конца 1960 годов.

Морфология. Грамотрицательные палочки, размером $1,8 \div 2,7 \times 0,7 \div 0,9$ мкм, подвижные, капсулу не образуют.

Физиология. Хорошо растут на обычных питательных средах. Оптимум роста 22–28 °С. Обладают выраженной биохимической активностью. Внутри вида по спектру биохимической активности — индолообразованию, утилизации эскулина, реакции Фогеса–Проскауэра — подразделяется на 5 хемоваров. Заболевание чаще вызывают биовары 2.3.4. Основные биохимические признаки, необходимые для идентификации:

- расщепление мочевины,
- ферментация сахарозы,
- отсутствие ферментации рамнозы,
- продукция орнитиндекарбоксилазы.

Антигенная структура. Обладает О- и Н-антигенами. По строению О-антигена подразделяется более чем на 30 сероваров. Наиболее часто заболевание у человека вызывают серовары О3, О5, О9, О8.

Патогенность. Помимо общих для энтеропатогенных иерсиний факторов патогенности, *Y. enterocolitica* обладает термостабильным энтеротоксином, гомологичным термостабильному энтеротоксину ЭТКП.

Эпидемиология. Кишечный иерсиниоз является во всех странах, возникает в виде групповых, семейных, внутрибольничных вспышек. Резервуаром возбудителя в природе являются почва, вода, инфицированные через них растения. Инфицированные вода и растения способствуют распространению инфекции среди сельскохозяйственных животных. Резервуаром и источником инфекции могут быть крупный рогатый скот, свиньи,

собаки, кошки, птицы. Основные пути передачи — водный и алиментарный, через воду, молоко, овощи. В отличие от *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* может передаваться от человека к человеку, являясь даже причиной внутрибольничной инфекции.

Патогенез и клиническая картина. Начальные этапы патогенеза аналогичны таковым при псевдотуберкулезе. Инвазивно проникая трансцитозом через М-клетки слизистую подвздошной кишки, *Y. enterocolitica* внедряется в ее лимфоидные образования, из которых микроб попадает в мезентериальные лимфоузлы, вызывая в них развитие аденита. Действие цитотоксина и энтеротоксина вызывает воспалительный процесс в стенке кишечника и развитие диареи.

При прорыве лимфатического барьера кишечника развивается бактериемия, следствием которой является развитие генерализованной формы инфекции, которая протекает с поражением селезенки, развитием полиаденита, полиартрита, менингита, с аллергизацией организма. У иммунодефицитных лиц может развиваться сепсис.

Инкубационный период составляет в среднем 3–7 суток. Начало острое: с лихорадкой, интоксикацией, болями в животе, расстройствами стула, появлением сыпи на коже. Различают гастроинтестинальную, абдоминальную, генерализованную и вторично-очаговую формы болезни. Болезнь может протекать хронически до 1,5–2 лет.

Микробиологическая диагностика. Используют бактериологический и серологический методы исследования. Материалом для бактериологического метода исследования служат испражнения, ликвор, кровь, моча, иногда червеобразный отросток. Как и при диагностике псевдотуберкулеза, материал для исследования помещают в фосфатный буфер и подвергают холодному обогащению. Серологическая диагностика проводится постановкой РНГА, с диагностическим титром 1:160. Важное диагностическое значение имеет наблюдение за нарастанием титра антител в динамике.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана. Лечение — этиотропная антибиотикотерапия. Неспецифическая профилактика аналогична таковой при псевдотуберкулезе.

16.2.2. Вибрионы (семейство *Vibrionaceae*)

Семейство *Vibrionaceae* включает в себя патогенные для человека роды *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*. Все они являются изогнутыми подвижными палочками размером 1,4÷5,0×0,3÷1,3 мкм. Подвижность их обеспечивается жгутиками, расположенными полярно. Хемоорганотрофы. Метаболизм — окислительный и бродильный. Температурный оптимум для большинства видов 37 °С, для некоторых морских видов — 25 °С. Оксидазоположительны (большинство видов). Глюкозу и другие углеводы детерминируют до кислоты и газа. Могут расти на средах, содержащих 2–3% NaCl. Распространены повсеместно в морской, пресной воде, в гидробионтах.

16.2.2.1. Вибрионы холеры (род *Vibrio*)

В род *Vibrio* входят прямые или изогнутые палочки 1,4÷2,6×0,5÷0,8 мкм. Их подвижность обеспечивается одним или несколькими жгутиками. Хемоорганотрофы. Окислительный и бродильный метаболизм. Температурный оптимум для разных видов — от 20 до 30 °С. Большинство видов оксидазоположительны. Углеводы ферментируют только до кислоты (мальтозу, маннозу, трегалозу). Вибрионы распространены в пресных и соленых водоемах, покрывают дно, растительность, а также в гидробионтах. Часть вибрионов патогенны для человека. Наибольшее медицинское значение имеют *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*. Типовой вид рода — *V. cholerae*.

16.2.2.1.1. Возбудитель холеры (*Vibrio cholerae*)

Холера — особо опасная карантинная болезнь, вызываемая *Vibrio cholerae*, серогрупп О1 и О139, характеризующаяся токсическим поражением тонкого кишечника, нарушением водно-солевого баланса и высокой летальностью.

Заболелаемость холерой с древнейших времен регистрируется на полуострове Индостан, особенно в период военных действий. В Европу и в Россию холера проникла через Ближний Восток, Египет. В середине XIX в. Р. Кох открыл холерный вибрион («запятая Коха»),

благодаря применению питательных плотных сред (желатин на стеклах). После открытия холерного вибриона было выделено большое количество гемолитических штаммов вибрионов, которые считались непатогенными. В 1906 г. в Египте F. Gotschlich выделил на карантинной станции Эль-Тор из трупов паломников — мусульман, умерших при явлении диареи, гемолитический вибрион, названный затем eltor. Поскольку в то время эпидемии холеры не было, роль вибриона eltor в патологии человека осталась сомнительной. В 1939 г. S. de Moog описал сезонные диареи на о. Сулавеси (Индонезия), при которых постоянно выделялся вибрион eltor. В 1961 г. на о. Сулавеси диареи потеряли сезонный характер, и разразилась жестокая эпидемия, которая переросла в VII пандемию. В 1962 г. состоялось внеочередное заседание экспертного комитета ВОЗ, на котором впервые было принято решение считать вибрионы (eltor) такими же возбудителями холеры, как и классический (Коховский) вибрион. В начале 1993 г. появились сообщения о случаях холеры в Юго-Восточной Азии, вызванных вибрионами ранее неизвестной серогруппы «O139»; отдельные случаи «новой» холеры уже появились и на территории нашей страны. Холерные вибрионы O139 серогруппы «Бенгал» принято считать возбудителями эпидемической холеры.

В мировой литературе подробно описано шесть пандемий холеры, а в 1961 г. началась VII пандемия холеры, где в качестве основного этиологического агента выступает биовар Эль-Тор. Эта пандемия продолжается до настоящего времени.

Морфологические и культуральные свойства. Холерный вибрион размером $1,5 \div 4,0 \times 0,2 \div 0,4$ мкм имеет один полярно расположенный жгутик. В мазках из клинического материала и колоний, выросших на плотных средах наблюдаются типичные вибрионы. В висячей или раздавленной капле можно наблюдать подвижность вибрионов. В старых культурах наблюдаются инволюционные нитевидные, кокковидные формы. Под действием пенициллина образуются фильтрующиеся L-формы. Тинкториальные свойства такие же, как у энтеробактерий. Грамотрицательны, спор не образуют. Факультативный анаэроб с преобладанием аэробных свойств. Не требователен к питательным средам. Температурный оптимум 37°C , оптимум pH — $7,6-8,0$.

На плотных средах вибрионы образуют мелкие круглые прозрачные S-колонии с ровными

краями, маслянистые, голубоватые в проходящем свете. Колонии старых культур желтеют, грубеют. На скошенном агаре образуется желтоватый налет. На агаре TCBS образует желтые колонии. На желатиновом столбике вызывают воронкообразное разжижение. В непрозрачных R-колониях бактерии становятся устойчивыми к действию бактериофагов, антибиотиков и не агглютинируются O-сыворотками.

На жидких средах вибрионы вызывают образование поверхностной пленки, которая разрушается при встряхивании. На 1% пептонной воде (pH 9,0) опережают рост энтеробактерий.

Биохимические свойства. Холерные вибрионы биохимически активны: сбраживают до кислоты глюкозу, мальтозу, сахарозу, маннит, лактозу (медленно), левулезу, гликоген и крахмал. Не сбраживают арабинозу, рамнозу, дульцит, инулин, инозит. По Хейбергу, все вибрионы делятся на шесть групп по отношению к трем сахарам (манноза, сахароза, арабиноза). Первую группу, к которой относятся истинные возбудители холеры, составляют вибрионы, разлагающие маннозу и сахарозу и не разлагающие арабинозу: они разжижают также желатин с образованием «воронки», гидролизуют казеин, свертывают плазму кролика, разжижают свернутую сыворотку, молоко, разлагают белки до аммиака и индола. H_2S не образуют. Остальные пять групп Хейберга объединяют нехолерные вибрионы (табл. 16.15).

Антигенная структура. Холерные вибрионы обладают термостабильными O-антигенами и термолабильными H-антигенами.

H-АГ являются общими для большей группы вибрионов.

По структуре O-АГ выделяют > 200 серогрупп, определяемых в реакциях агглютинации.

Возбудители классической холеры и холеры Эль-Тор объединяются в серогруппу O1.

Антигены серогруппы O1 включают в различных сочетаниях A-, B- и C-субъединицы. Сочетание субъединиц АВ называется сероваром Огава, сочетание АС — сероваром Инаба, сочетание АВС — Гикошима. R-формы (шероховатые) колоний утрачивают O-АГ, M-формы (слизистые) изменяют структуру O-АГ; обе эти формы не агглютинируются стандартными O-сыворотками. Вибрионы се-

Таблица 16.15. Дифференциальные признаки возбудителей холеры

| Признак | <i>V. cholerae, cholerae</i> | <i>V. cholerae, eltor</i> | <i>V. cholerae</i> O139 |
|---|------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Чувствительность к классическому монофагу | + | — | — |
| Чувствительность к монофагу Эль-Тор | — | + | — |
| Агглютинация куриных эритроцитов | — | ± (чаще +) | ± (чаще +) |
| Чувствительность к полимиксину (50 ЕД) | + | — | — |
| Гемолиз эритроцитов барана | — | + | — |
| Гексаминовый тест | — | + | — |

рогруппы O139 агглютинируются только сывороткой O139.

Холерные вибрионы дифференцируют также с помощью бактериофагов. *V. cholerae, cholerae* лизируются бактериофагами IV группы (по Mukerjee); *V. cholerae, eltor* лизируется бактериофагами V группы. Бактериофаги применяются для диагностики и лечения холеры.

Резистентность. Вибрионы плохо переносят солнечную радиацию, высушивание, конкуренцию со стороны другой микрофлоры. В водоемах холерные вибрионы могут сохраняться до 2–3 недель, в выгребных ямах — до 3–4 месяцев, длительно сохраняются в пищевых продуктах с щелочным рН, в одежде и постельном белье, испачканных испражнениями и рвотными массами больных. Биовар Эль-Тор более устойчив в окружающей среде, чем классический вибрион, и с этим биоваром связано большинство описанных случаев носительства. Все вибрионы высокочувствительны к действию дезинфектантов, особенно с кислым рН, а также к кислотам.

Эпидемиология. Холера — это острая кишечная инфекция с фекально-оральным механизмом передачи. Наиболее распространенным путем передачи является водный, пищевой, реже — контактно-бытовой. Определенную роль в распространении холеры играют мухи. Эпидемии могут протекать в виде острых вспышек заболеваний и в виде вялотекущих эпидемий с постоянно регистрируемой заболеваемостью, но не с такой высокой интенсивностью.

Источник инфекции — больной человек или вибрионоситель. Резервуаром инфекции является также водная среда. Животные к возбудителю холеры нечувствительны.

Факторами передачи могут служить пресная и морская вода, пищевые продукты (молоч-

ные, овощи, фрукты, гидробионты), объекты окружающей среды. Большую роль играет несоблюдение правил личной и коммунальной гигиены. Подъем заболеваемости обычно отмечается в теплый, влажный сезон, что связано с лучшей сохраняемостью возбудителя в окружающей среде, обилием мух, скученностью населения.

Факторы патогенности. Большая часть вибрионов, попавших в организм через рот, погибает в кислой среде желудка; лишь небольшая часть вибрионов достигает кишечника. К факторам патогенности, обеспечивающим колонизацию кишечника, относятся: **пили адгезии**; фермент муциназа, разжижающий слизь и обеспечивающий им доступ к эпителию. Эпителиальные клетки выделяют щелочной секрет, который в сочетании с желчью является прекрасной питательной средой для размножения вибрионов. Клиническая картина холеры связана с токсинообразованием вибрионов, которые вырабатывают эндо- и экзотоксины.

Экзотоксин (энтеротоксин) холероген — термолabileльный белок, инактивируется фенолом и формалином, чувствителен к протеолитическим ферментам. Холероген содержит 2 субъединицы: А и В. Субъединица В образована пятью пептидами, которые взаимодействуют с ганглиозидами — клетками эпителия и обуславливает проникновение в них компонента А. С компонентом В связана антигенная специфичность токсина. Компонент А состоит из субъединиц А1 (активный центр) — пептид, реализующий энтеротоксигенное действие, и пептид А2, связывающий оба компонента. Компонент А1 активизирует внутриклеточную аденилатциклазу, что, в свою очередь, приводит к повышению содер-

жания цАМФ и к выходу экстрацеллюлярно электролитов и других жидкостей в просвет кишечника. Переполнение кишечника жидкостью приводит к профузной диарее и рвоте. Бактерии серогруппы O139 также продуцируют энтеротоксин с такими же свойствами, но в меньших количествах. **Фермент нейраминидаза** усиливает связывание холерного экзотоксина с эпителием слизистой кишечника. Синтез факторов патогенности опосредован двумя лизогенизирующими бактериофагами.

Эндотоксин запускает каскад арахидоновой кислоты, которая входит в состав фосфолипидов клеточных мембран. Арахидоновая кислота запускает синтез простагландинсинтетазы, которая синтезирует простагландин (E, F). Простагландины вызывают сокращение гладкой мускулатуры тонкого кишечника и подавляют иммунный ответ, чем обусловлены тенезмы, диарея.

Клинические проявления. Инкубационный период варьирует от нескольких часов до 5 дней (в среднем 2–3 дня). Клинически холера проявляется в виде боли в животе, тенезмы, рвоты, диареи. Тяжелый больной в сутки выделяет до 30 л жидкости. Стул носит характер «рисового отвара», т. е. бесцветные обильные испражнения со сладковатым запахом (не фекальный). Помимо клинической картины энтерита (или гастроэнтерита) в тяжелых случаях может развиваться почечная недостаточность, афония, гипотензия, сердечная недостаточность, гипотермия («холерный алгид»). При неправильном лечении летальность при алгиде достигает 60 %.

Иммунитет. Гуморально-клеточный. При выздоровлении возникает напряженный непродолжительный иммунитет. Существует индивидуальная предрасположенность к холере.

Микробиологическая диагностика. В основе диагностики лежат выделение и идентификация возбудителя. Материалом для исследования могут быть выделения от больных и носителей (испражнения, рвотные массы, желчь), объекты окружающей среды (вода, пищевые продукты, белье, сточные воды, гидробионты, смывы с объектов окружающей среды и др.).

Для экспресс-диагностики используют РИФ, ПЦР. Бактериоскопический метод в настоящее время не используется.

Лечение проводится в двух направлениях:

а) регидратация (восполнение потерь жидкости и электролитов введением изотонических, апиrogenных солевых растворов, а также плазмозаменяющих жидкостей внутривенно или *per os*);

б) антибактериальная терапия (антибиотики широкого спектра действия: тетрациклины, хлорамфеникол, а также фторхинолоны).

Профилактика. Учитывая фекально-оральный механизм передачи инфекции, основу профилактики составляют мероприятия, направленные на разрыв путей передачи (предупреждение заноса инфекции на территорию страны, санитарно-просветительная работа с населением, обеспечение населения доброкачественной питьевой водой, канализацией, пищевыми продуктами, дезинфекцией и т. п.). Важно обеспечение населения современной и полноценной медицинской помощью (выявление, диагностика, госпитализация, Лечение, карантин). Менее важным является экстренная профилактика антибиотиками широкого спектра действия, а также вакцинопрофилактика. Современная вакцина представляет собой комплексный препарат, состоящий из холероген-анатоксина (70 %) и химического O-антигена (30 %) обоих биоваров и сероваров Огава и Инаба. Прививка обеспечивает выработку вибриоцидных антител и антитоксинов в высоких титрах.

Вакцинация населения проводится по эпидемическим показаниям.

16.2.2.2. Вибрионы парагемолитические (род *Vibrio*)

Патогенные свойства других бактерий, относящихся к этому роду, недостаточно изучены. В табл. 16.16 приведены основные свойства представителей рода *Vibrio*, имеющие медицинское значение. Однако наибольший интерес представляют *V. parahaemolyticus* и *V. vulnificus*.

Vibrio parahaemolyticus. Галофильный вибрион, часто (до 20 % всех диарей) вызывает острые диареи в Японии, других странах Юго-Восточной Азии, в Латинской Америке. Заражение происходит при употреблении в пищу гидробионтов (устрицы, крабы, рыбы и т. д.), приготовленных с нарушением технологии (недостаточная термическая обработка).

Возбудитель вырабатывает энтеротоксин, похожий на холерный экзотоксин (холероген).

У половины заразившихся наблюдаются клинические проявления болезни: сильные боли в животе, водянистая обильная диарея. У детей и пожилых людей (с сопутствующей патологией) могут быть летальные исходы. Диагностика такая же, как при холере. На TCBS-агаре возбудитель образует зеленоватые колонии, так как не ферментируют сахарозу и способен утилизировать орнитин.

Vibrio vulnificus часто встречается в морской воде и в устьях рек Тихоокеанского и Атлантического побережий. Особенно часто обнаруживается в гидробионтах («природных фильтрах») — устрицах, мидиях, гребешках и др. После употребления в пищу моллюсков у лиц с заболеваниями печени, почек, с сахарным диабетом могут развиваться буллезные поражения кожи с тяжелой клиникой и высокой летальностью. При купании в контаминированной воде через поврежденную кожу может проникать возбудитель и вызывать раневую инфекцию (целлюлиты, миозиты), похожие на газовую гангрену.

Среди факторов патогенности *V. vulnificus* необходимо отметить капсулу, защищающую бактерий от фагоцитоза, и комплекс ферментов (цитотоксин — гемолизин, эластазу, коллагеназу, фосфолипазы).

Диагноз ставят бактериологически (как при холере) с высевом на TCBS-агар (образует желтые колонии, так как ферментирует сахарозу) и по ферментации лактозы. Лечение включает интенсивную антибактериальную терапию (гентамицин, тетрациклин, левомицетин). Остальные виды рода *Vibrio* сходны по морфологии и физиологии. Встречаются в природе редко, малоопасны для человека, редко идентифицируются в микробиологических лабораториях.

16.2.2.3. Представители родов

Aeromonas, Plesiomonas

Биологические свойства. Бактерии рода *Aeromonas* представляют собой подвижные коккобациллы размером $1,0 \pm 3,5 \times 0,3 - 1,0$ мкм с одним полярным жгутиком. В мазках располагаются одиночно, парами, короткими цепочками. Хемоорганотрофы. Метаболизм окислительный и бродильный. Температурный оптимум 22–28 °С, большинство растет при 37 °С. Оксидаза- и каталазаположительны. Разжижают желатин, восстанавливают нитраты, продуцируют ДНКазу, органилдегидролазу, уреазу. Устойчивы к вибриоциду O/129. Обитают в пресной и морской воде, в сточных водах. Род *Aeromonas* включает в себя виды *A. hydrophila* и

A. veronii. Типовой вид *A. hydrophila* патогенен для рыб и амфибий; для человека условно-патогенны: у лиц с иммунодефицитами могут вызывать гастроэнтериты.

Эпидемиология. Поскольку аэромонады встречаются в пресной и морской воде и патогенны для гидробионтов, человек может заразиться при проведении ремонтных работ в мелиоративных системах и при купании. Возбудитель проникает через поврежденную кожу и вызывает раневые инфекции (целлюлиты, мионекрозы). При наличии заболеваний желудочно-кишечного тракта, печени в случае проглатывания инфицированной воды при купании могут возникнуть гастроэнтериты.

Патогенез. *A. veronii* и *A. hydrophila* образуют холероподобный токсин (токсин Азао), индуцирующий обильную водянистую диарею с болями в животе. К факторам патогенности можно отнести внеклеточные ферменты: протеазы, амилазы, липазы, нуклеазы, цитотоксин, гемолизин.

Клиника. Аэромонады могут вызывать: 1) раневые инфекции при контакте инфицированной водой, почвой в теплый сезон; 2) диареи, регистрируемые в теплый сезон (купальные вспышки); 3) септицемии, обычно наблюдающиеся после раневых инфекций (мионекроз, целлюлит); 4) редко наблюдают внутрибрюшинные абсцессы, перитониты, эндокардиты, пневмонии.

Микробиологическая диагностика. Бактериологическая диагностика основана на выделении и идентификации возбудителя. Материалом для исследования служат испражнения или ректальные мазки, кровь, раневое отделяемое. Аэромонады хорошо растут на обычных средах; на кровяном агаре с ампициллином (10 мкг/л) образуют зоны β-гемолиза; большинство аэромонад не ферментируют лактозу (агар Плоскирева). Дифференциацию аэромонад проводят на средах для идентификации энтеробактерий. В отличие от последних они оксидазоположительны, устойчивы к вибриоциду O/129 (что отличает их от вибрионов) и образуют индол (что отличает их от псевдомонад).

Лечение и профилактика. Обычно диареи, вызываемые аэромонадами, не требуют этиотропного лечения (только симптоматическое). Другие формы болезни требуют антибактериальной терапии. Возбудители обычно резистентны к пенициллинам и цефалоспорином I и II поколений; чувствительны к аминогликозидам, фторхинолонам и цефалоспорином III поколения.

Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика носит санитарно-просветительный характер.

Таблица 16.16. Представители рода *Vibrio*, имеющие медицинское значение (кроме *V. cholerae*).

| Название видов | Эпидемиология | Клинические проявления |
|----------------------------|--|--|
| <i>V. parahaemolyticus</i> | Распространен повсеместно в пресной и морской воде. Заболевание эпидемично в Японии и других странах Юго-Восточной Азии, заражаются при употреблении сырых морских продуктов и при купании | Острый гастроэнтерит, раневая инфекция |
| <i>V. vulnificus</i> | Распространен в прибрежных водах морей и устьях рек; заражаются при употреблении гидробионтов (устриц, рыб, крабов) и при купании | Энтерит, целлюлит, септицемия |
| <i>V. alginolyticus</i> | Распространен в морской воде; заражение происходит (через поврежденные кожные покровы) при купании | Раневая инфекция, поражение мягких тканей |
| <i>V. minicus</i> | Распространен в прибрежных водах морей; заражение происходит при употреблении сырых гидробионтов (устрицы и др.) | Диарея |
| <i>V. hollisae</i> | Распространен в прибрежных водах Атлантического и Тихоокеанского побережья США; заражаются при употреблении сырых гидробионтов | Диарея, гастроэнтерит, патогенность предполагается |
| <i>V. furnissii</i> | Распространен в морской воде и устьях рек стран Ближнего Востока и Юго-Восточной Азии; заражаются при купании (через поврежденную кожу) и при употреблении гидробионтов. | Диарея, гастроэнтерит, поражение мягких тканей |
| <i>V. fluviales</i> | Распространен повсеместно, эндемичен в Бангладеш, США; заражаются при употреблении сырых гидробионтов и при купании в контаминированной воде | Холероподобный гастроэнтерит |
| <i>V. damsela</i> | Распространен в морской воде, заражение происходит через поврежденную кожу при купании в контаминированной воде | Раневая инфекция |
| <i>V. metschnikovi</i> | Распространен повсеместно в пресной и морской воде; заражаются при употреблении сырых гидробионтов и при купании | Инфекции мочевого тракта, перитониты, раневая инфекция |

Плезиомонады (род *Plesiomonas*)

К роду *Plesiomonas* относится единственный (типовой) вид — *Plesiomonas shigelloides* (ранее входил в семейство *Enterobacteriaceae*). Его образуют прямые подвижные (лофотрихи) палочки размером 3,0×0,8–1,0 мкм. Хемоорганотрофы. Метаболизм ферментативный и окислительный. Температурный оптимум 30 °С. Углеводы. Ферментируют с образованием кислоты (но не газа). Оксидаза- и каталазаположительны. Образуют индол, восстанавливают нитраты, реакция Фогеса—Проскауэра отрицательна, образуют орнитин и лизин, декарбоксилазу и аргинин, дегидролазу. Большинство штаммов чувствительны к вибриоциду O/129.

Выделяются из гидробионтов (моллюски, рыбы) и млекопитающих. У человека могут вызывать диарею.

Плезиомонады встречаются в почве и в поверхностных слоях пресноводных водоемов, в устьях субтропических и тропических рек. В теплый сезон их можно выделить из морской воды. Бактерии можно обнаружить в амфибиях, рептилиях, свиньях, коровах, курах,

кошках, собаках. В тропиках их можно обнаружить в моллюсках, рыбах. Человек заражается, употребляя в пищу контаминированную воду, сырых моллюсков, неправильно приготовленных ракообразных, мясо птицы. Заболевание регистрируется редко.

К факторам патогенности относятся цитотоксины и энтеротоксин, похожие на холероген, а также адгезины (обеспечивающие колонизацию тонкого кишечника); жгутики и эндотоксин.

Плезиомонады вызывают гастроэнтериты, реже — внекишечные поражения (на фоне иммунодефицита). Обычно заболевания встречаются редко и протекают легко (хотя не исключены кровавые диареи). У иммунодефицитных больных могут быть менингиты, септицемии, артриты, холециститы и т. п.; особенно тяжело протекают менингиты у новорожденных (летальность — до 80 %).

Микробиологическая диагностика. Основана на выделении и идентификации возбудителя. Исследуемый материал — испражнения или ректальные мазки, при внекишечных локализациях — мазки из очагов пора-

жений. Возбудитель хорошо растет на простых средах. На кровяном агаре вырастают серые, мутные негемолизирующие S-колонии, на среде Плоскирева — лактозаотрицательные колонии. Идентификация возбудителя проводится по биохимическим тестам для энтеробактерий.

Для лечения рекомендуется антибиотикотерапия. Возбудитель обычно чувствителен к большинству антибиотиков широкого спектра действия, устойчив к пенициллинам.

16.2.3. Семейство *Pasteurellaceae*

В семейство *Pasteurellaceae* входят гемофильные бактерии (род *Haemophilus*) и пастереллы (род *Pasteurella*).

16.2.3.1. Гемофильные бактерии (род *Haemophilus*)

В группу гемофильных бактерий объединены мелкие, грамотрицательные бактерии, которые способны расти только на обогащенных питательных средах, содержащих цельную или лизированную кровь или ее производные в качестве факторов роста.

В названии рода *Haemophilus* отражена зависимость этих бактерий от крови при росте на искусственных питательных средах (от греч. *haima* — кровь, *philos* — любить). Многие микроорганизмы этого рода в норме обитают на слизистых оболочках дыхательных путей человека.

Наиболее важными патогенами для человека являются *Haemophilus influenzae*, преимущественно типа b, вызывающие инфекции с респираторным механизмом заражения (менингиты, синуситы, бронхиты и др.), а также возбудитель мягкого шанкра *H. ducreyi*.

Haemophilus influenzae

Гемофильные палочки впервые были выделены русским бактериологом М. И. Афанасьевым в 1891 г. и позднее, в 1892 г., немецким бактериологом Р. Пфейффером от больных, умерших от гриппа. Поэтому *H. influenzae* долгое время считали возбудителем гриппа; в связи с этим бактерии носили названия «палочка инфлюэнцы» (от англ. *influenza* — грипп) или «палочка Пфейффера».

Таксономическое положение. Бактерии рода *Haemophilus* относятся к семейству *Pasteurellaceae* и насчитывают около 20 видов. Наибольшее значение в патологии человека имеют *H. influenzae* (в том числе, биовар *aegyptius*) и *H. ducreyi*.

Морфология и тинкториальные свойства. Гемофилы представляют собой мелкие грамотрицательные сферические, овоидные или палочковидные бактерии обычно менее 1 мкм в ширину и различные по длине, иногда образующие пары, короткие цепочки или нити. Такое свойство микробов принято называть «плеоморфизмом». Морфология этих бактерий зависит от возраста чистой культуры или типа питательной среды. Гемофильные бактерии неподвижны, спор не образуют, имеют пили (фимбрии). Образование капсулы является непостоянным признаком, и ее обнаружение может служить своеобразным маркером вирулентности штамма (см. далее).

Культуральные свойства. Гемофильные бактерии — факультативные анаэробы, однако лучше растут в аэробных условиях. Практически все виды нуждаются в готовых факторах роста, присутствующих в крови: X-факторе (протопорфирин IX в составе гематина или гемина), а также V-факторе (никотинамидадениндинуклеотид — НАД или НАД-фосфат — НАДФ). Это связано с тем, что гемофилы не способны синтезировать гем, входящий в состав ферментов дыхательной цепи, и/или НАД (НАДФ), являющийся кофактором окислительно-восстановительных ферментов.

Для культивирования гемофильной палочки применяют шоколадный агар — питательную среду коричневого цвета, которую получают путем прогревания кровяного агара при 80 °С в течение 15 мин. В результате нагревания происходит гемолиз и высвобождение из эритроцитов гемина и НАД. Оптимальная температура роста бактерий 35–37 °С. Колонии появляются через 36–48 ч. Для *H. influenzae* характерна способность к образованию R- и S-форм колоний (R-, S-диссоциация). Слизистые, более крупные (3–4 мм в диаметре) радужные S-формы колоний характерны для капсульных штаммов. Слабовирулентные бескапсульные варианты гемофильной палочки образуют R-колонии —

более мелкие (около 1 мкм), мелкозернистые, с неровными краями.

Для гемофильных бактерий характерен так называемый «феномен кормушки» или «феномен сателлита», который проявляется в их способности расти на кровяном агаре вокруг колоний стафилококков или других бактерий, продуцирующих НАД или вызывающих α -гемолиз. Для самих гемофильных палочек способность вызывать гемолиз не характерна. Таким образом, мелкие радужные колонии гемофильных бактерий могут быть обнаружены на кровяном агаре в зоне гемолиза, образуемой *S. aureus*.

Идентификация гемофильных палочек основана на их потребности в факторах роста (табл. 16.17) и некоторых биохимических тестах.

Биохимическая активность. Гемофильные бактерии — хемоорганотрофы. Метаболизм дыхательный и бродильный. Утилизируют глюкозу до кислоты, восстанавливают нитрат до нитрита. Другие углеводы ферментируют плохо. *H. influenzae* разделяют на 8 биоваров (I—VIII) в зависимости от их способности продуцировать индол, уреазу, орнитиндекарбоксилазу. Кроме того, вид *H. influenzae* включает биовар *aegyptius* (табл. 16.18). Каталазная и оксидазная активность у различных видов гемофильных бактерий — переменный признак.

Антигенные свойства. *H. influenzae* обладают соматическим O-антигеном и капсульным полисахаридным K-антигеном. Различают 6 серотипов *H. influenzae* (a, b, c, d, e, f) в зависимости от особенностей строения капсульного антигена. Капсульный антиген гемофильной палочки серотипа b, имеющего наибольшее значение в патологии человека, представляет собой полимер рибозы и рибитола — полирибозорибитол фосфат (PRP). Капсульные варианты гемофилов могут быть типированы с помощью теста «набухания капсулы» или РИФ с помощью специфических сывороток. Большинство вариантов *H. influenzae*, представителей нормальной микрофлоры верхних отделов респираторного тракта, являются бескапсульными формами, которые принято называть «нетипируемыми».

Факторы вирулентности. Ведущим фактором вирулентности *H. influenzae* является *кап-*

сула, которая защищает бактерии от фагоцитоза, обеспечивает выживаемость бактерий в организме и способствует распространению инфекции. Штаммы, имеющие капсулу (преимущественно типа b), вызывают наиболее тяжело протекающие инфекции.

Гемофильные палочки могут продуцировать *IgA-протеазу*, способную инактивировать секреторные антитела. *Пилы* и *IgA-протеаза* возбудителя играют ведущую роль в прикреплении микроорганизмов к эпителию респираторного тракта и его колонизации.

Эзотоксин *H. influenzae* не продуцирует. ЛПС наружной мембраны играет роль эндотоксина, участвуя также в процессах адгезии и инвазии гемофильной палочки. *Эндотоксин* может также вызывать паралич ресничек мерцательного эпителия респираторного тракта человека, способствуя тем самым микробной колонизации верхних дыхательных путей.

Резистентность. Бактерии малоустойчивы в окружающей среде: быстро погибают, находясь вне организма человека. Гемофилы довольно чувствительны к нагреванию и обычным дезинфицирующим средствам. Однако у *H. influenzae* выявлена способность к продукции β -лактамаз, что обуславливает их высокую устойчивость к некоторым β -лактамам антибиотикам.

Эпидемиология. *H. influenzae* патогенны только для человека.

Источник инфекции — человек, больной или бактерионоситель. Бескапсульные маловирулентные штаммы способны в норме колонизировать слизистые оболочки верхних дыхательных путей здоровых детей (около 60–90 %) и взрослых (около 35 %). Однако и имеющие капсулу штаммы *H. influenzae* типа b выделяются из носоглотки у 2 % бессимптомных носителей.

Ведущий механизм заражения гемофильной инфекцией — респираторный, путь передачи — воздушно-капельный (при распылении капель секрета верхних дыхательных путей при кашле, разговоре, чихании).

Наиболее подвержены гемофильной инфекции дети в возрасте от 2 месяцев до 6 лет. Однако менингиты и септицемии, вызванные *H. influenzae* типа b, чаще встречаются у детей от 6 месяцев до 2 лет. Пневмонии, синуситы

и другие инфекции дыхательных путей встречаются также и у пожилых людей, пациентов с хронической легочной патологией, со сниженным иммунитетом, а также у курильщиков.

Патогенез. Проникая через верхние дыхательные пути, *H. influenzae* прикрепляется к мерцательному эпителию и колонизирует его. Бескапсульные варианты гемофильных бактерий часто остаются во входных воротах инфекции, не вызывая симптомов заболевания (бессимптомное носительство). Тем не менее, у людей со сниженным иммунитетом они способны проникать в подслизистый слой и с помощью эндотоксина вызывать местные ГВЗ — средние отиты (поражение среднего уха), синуситы (воспаление придаточных пазух носа), ларинготрахеиты, бронхиты, пневмонии.

H. influenzae, преимущественно типа b, может распространяться в организме гематогенно, вызывая септицемию, септический артрит, эндокардит. После проникновения через гематоэнцефалический барьер, капсульные варианты гемофильной палочки вызывают тяжелые гнойные менингиты. Поражение мозга является следствием воспалительной реакции в ответ на инвазию возбудителя. Воспалительный экссудат накапливается в спинномозговом канале и желудочках мозга и служит хорошей питательной средой для гемофильной палочки, способствуя ее размножению. Нарушение оттока жидкости из субарахноидального пространства приводит к повышению внутричерепного давления, субдуральному отеку, а васкулит и тромбофлебит мягкой мозговой оболочки ведут к некротическим изменениям мозговой ткани. Гнойный менингит, вызванный *H. influenzae* типа b, заканчивается летально в 5 % случаев, даже при проведении адекватной терапии.

H. influenzae типа b является также возбудителем острого бактериального эпиглоттита (воспаление надгортанника) у детей 2—5 лет, который приводит к нарушению проходимости дыхательных путей и асфиксии.

Клиника. Клиническая картина заболевания определяется локализацией воспалительного процесса. Симптомы менингита, вызванного гемофильными бактериями, не отличаются от таковых при менингококковой или пневмококковой инфекциях, поэтому диагностика базируется, главным образом, на выделении

и идентификации возбудителя. Гнойные поражения твердой и мягкой мозговых оболочек приводят к тяжелым осложнениям — потере зрения, глухоте, гидроцефалии, слабоумию.

У детей возможны фулминантные молниеносные формы ларинготрахеита и эпиглоттита с отеком гортани, требующие срочной трахеотомии и интубации.

По данным мировой статистики, гемофильная инфекция занимает одно из первых мест среди причин детской смертности. Летальность при гнойном менингите, сепсисе и эпиглоттите в отсутствие адекватного лечения составляет 90 %.

Иммунитет. В течение первых 3—6 месяцев жизни дети защищены от инфекции материнскими IgG, полученными пассивно через плаценту. Поэтому в этом возрасте заболевания редки, а пик заболеваемости гемофильной инфекцией (в особенности типа b) приходится на возраст от 6 месяцев до 2 лет, когда концентрация материнских IgG снижается, а ребенок не способен самостоятельно синтезировать необходимое количество антител к полисахаридному капсульному антигену *H. influenzae*. Это объясняется тем, что полирибозорибитолфосфат капсульного антигена типа b является Т-независимым антигеном, антитела к которому образуются без участия Т-хелперов. У младенцев способность синтезировать антитела к таким антигенам снижена. Антитела же против других антигенов *H. influenzae* не способны опсонизировать капсульные штаммы гемофильной палочки.

Иммунитет после перенесенной гемофильной инфекции мало изучен. Однако известно, что к 5—6 годам в сыворотке крови многих детей (даже не иммунизированных и не переболевших) имеются естественно приобретенные протективные антитела против капсульного антигена *H. influenzae* типа b (анти-PRP антитела). Тем не менее, пневмония и артрит, вызванные *H. influenzae*, могут развиваться у взрослых в присутствии таких антител.

Микробиологическая диагностика. *Материал для исследования* — мазок из носоглотки, кровь, мокрота или ликвор. При отитах или синуситах исследуют также гнойное отделяемое, а при септических артритах — суставную жидкость.

Методы диагностики. Микроскопическое исследование малоинформативно, однако применяется при гнойном менингите (изучение мазков из цереброспинальной жидкости, окрашенных по Граму). Для ускоренной диагностики и дифференциации гемофильной палочки от других возбудителей менингита используют серологические тесты с целью обнаружения b-капсульного антигена *H. influenzae*: встречный иммуноэлектрофорез, прямую РИФ или реакцию латекс-агглютинации с анти-b-антителами. При высокой концентрации возбудителя в исследуемом материале возможна также постановка «теста набухания капсулы».

Для выделения и идентификации возбудителя из материала от больных применяют бактериологический метод исследования. Посев для выделения гемофилов производят на шоколадный или кровяной агар (как описано выше) и инкубируют до появления колоний в течение 24–48 ч. *H. influenzae* дифференцируют от других близкородственных грамотригативных палочек по их потребности в X- и V-факторах роста, отсутствию гемолиза на кровяном агаре и другим тестам.

Лечение. Проводят с помощью антибиотиков. Для антимикробной терапии «гемофильного менингита» важным принципом выбора антибиотика является его способность накапливаться в ликворе. В отсутствие адекватного лечения уровень летальных исходов составляет около 90 %, причем смерть может наступить в первые 24 ч от начала заболевания. Поэтому лечение назначают эмпирически до получения результатов антибиотикограммы. Препаратами выбора являются цефалоспорины III поколения (например, цефтриаксон, цефотаксим). Многие штаммы *H. influenzae* типа b чувствительны к ампициллину, но около 25 % продуцируют β-лактамазу, которая контролируется трансмиссивной плазмидой.

При синуситах, отитах и других инфекциях дыхательных путей, вызванных гемофилами, назначают β-лактамы антибиотиков с ингибиторами β-лактамазы (например, амоксициллин с клавулановой кислотой) или бисептол.

Профилактика. Для создания искусственно приобретенного активного иммунитета против *H. influenzae* типа b применяют субкорпус-

кулярную вакцину, содержащую очищенный капсульный антиген (PRP). Однако ввиду низкой иммуногенности этого препарата его назначают только детям старше 1,5 лет.

Для повышения эффективности вакцинации против *H. influenzae* b-инфекции предложено использовать конъюгированные вакцины, содержащие PRP-антиген на белке-носителе. В качестве таких носителей применяют дифтерийный либо столбнячный анатоксины, или белки наружной мембраны менингококка группы B (комбинированная вакцина для профилактики менингококкового и гемофильного менингитов). Схема вакцинации предусматривает повторное многократное введение препарата детям, начиная с 2–3-месячного возраста, вместе с введением АКДС, а также вакцин против гепатита B и полиомиелита.

Массовая вакцинация против гемофильной инфекции за рубежом позволила значительно снизить частоту развития менингитов гемофильной этиологии у детей. Применение вакцины, однако, не защищает от носительства гемофильных палочек. В России отечественной вакцины нет, но разрешены к применению зарубежные препараты. Иммунизация против гемофильной инфекции в России пока не включена в календарный план обязательной вакцинации детей.

Пассивная иммунизация с помощью донорских сывороточных препаратов, содержащих высокие концентрации IgM, может быть назначена детям со слабым иммунным ответом на вакцину и иммунодефицитным лицам.

Контакт с пациентами, страдающими гемофильной инфекцией, малоопасен для взрослых, но представляет определенный риск для неиммунизированных детей. Поэтому детям в возрасте до 4 лет, находившимся в тесном контакте с больным, а также для санации бактерионосителей рекомендуется введение рифампицина с профилактической целью. Рифампицин выделяется со слюной, что уменьшает концентрацию возбудителя в верхних дыхательных путях, снижая тем самым риск распространения возбудителя в популяции. Однако злоупотреблять химиопрофилактикой гемофильной инфекции не следует из-за возможности развития лекарственной устойчивости *H. influenzae*.

Haemophilus influenzae* биовар *aegyptius

H. influenzae биовар *aegyptius* (прежнее название — *H. aegyptius*) был выделен Р. Кохом в 1883 г. в Египте от больного с гнойным конъюнктивитом. Эти бактерии принято называть «бацилла Коха—Уикса» или «*H. influenzae* биотип III».

Морфологические, тинкториальные и культуральные свойства этих бактерий не отличаются от таковых *H. influenzae*. **Биохимические признаки** для их дифференциации приведены в табл. 16.18.

H. influenzae биовар *aegyptius* вызывает гнойный конъюнктивит с высокой контагиозностью, распространенный повсеместно. Передается от человека к человеку контактным путем через грязные руки, полотенце, контактные линзы, косметику (тушь для ресниц), а также иногда респираторно. Инкубационный период составляет 1–3 дня.

Полагают также, что биовар *aegyptius* гемофильной палочки вызывает пурпурную (красную) бразильскую лихорадку — тяжелое инфекционное заболевание детей, которое характеризуется лихорадкой, пурпурой, шоком и заканчивается гибелью больного. Механизм заражения бразильской лихорадкой — респираторный.

При конъюнктивите **исследуют** мазок со слизистой оболочки глаз или гнойное отделяемое. **Для диагностики** бразильской лихорадки берут кровь пациента. Применяют бактериоскопический и бактериологический методы исследования. Идентификацию возбудителя проводят с помощью реакции агглютинации со специфической сывороткой. **Для лечения** применяют антибиотики, при конъюнктивите антибиотики назначают местно — мази и глазные капли с тетрациклином, аминогликозидами и сульфаниламидами. **Специфическая профилактика** не разработана.

Haemophilus ducreyi

Возбудитель мягкого шанкра был выделен русским врачом О. В. Петерсеном (1887), а подробно описан итальянским венерологом А. Дюкре (1890).

Мягкий шанкр (син. шанкроид) — это венерическое (сексуально-трансмиссивное) заболевание, симптомы которого напоминают сифилис.

Источником инфекции является больной человек. Механизм заражения — контактный, путь инфицирования — половой и контактно-бытовой. Заболевание довольно распространено в странах Африки и Южной Америки.

Инкубационный период составляет 3–5 дней, одно первые симптомы заболевания (красное пятно

в месте проникновения возбудителя) можно наблюдать уже в первые сутки после инфицирования. Характерные для шанкроида поражения появляются в очаге инвазии возбудителя: на гениталиях или иногда — экстрагенитально в результате аутозаражения. Локально процесс представляет собой мягкую шероховатую язву со значительным отеком. Регионарные лимфоузлы увеличены и болезненны. Мягкий шанкр отличается от твердого шанкра при сифилисе болезненностью при пальпации и кровоточивостью. Язва заживает медленно, и существует риск проникновения возбудителя в кровотоки. Заболевание необходимо дифференцировать с сифилисом, простым герпесом и венерической лимфогранулемой.

Иммунитет после перенесенного заболевания не вырабатывается.

Микробиологическая диагностика. Основана на обнаружении мелких грамтрицательных палочек в отделяемом из язвы, обычно в ассоциации с другими гноеродными микробами. При бактериологическом исследовании определяют потребность *H. ducreyi* в факторах роста (требует X-фактор, но не нуждается в добавлении V-фактора). Растет на шоколадном агаре, содержащем ванкомицин (3 мкг/мл), при температуре 33 °С в атмосфере с 10 % CO₂. *H. ducreyi* образуют мелкие сероватые колонии без гемолиза.

В некоторых странах для идентификации возбудителя применяют ПЦР. С этой целью также исследуют содержимое язвы.

Лечение. Проводят с помощью антибиотиков: назначают внутримышечно цефтриаксон, перорально триметоприм — сульфаметоксазол (бисептол) или эритромицин в течение 2 недель. Тетрациклин, сульфаниламиды и пенициллин в настоящее время не применяют из-за формирования у *H. ducreyi* устойчивости к ним.

Специфическая профилактика. Не разработана.

Другие виды бактерий рода *Haemophilus*

H. parainfluenzae напоминает *H. influenzae* и является обычным обитателем респираторного тракта человека. Не нуждается в X-факторе для роста. Вирулентность значительно ниже, чем у *H. influenzae*, но иногда этот возбудитель выделяется от больных с пневмонией, при инфекционном эндокардите и уретрите.

H. haemoglobinophilus нуждается в X-факторе и не требует V-фактора; вызывает заболевания у собак, для человека непатогенна.

Таблица 16.17. Характеристика потребности бактерий рода *Haemophilus* в факторах роста

| Вид | Потребность в факторах роста | | Способность к гемолузу |
|--|------------------------------|----------|------------------------|
| | X-фактор | V-фактор | |
| <i>H. influenzae</i> (в том числе, <i>H. influenzae</i> биовар <i>aegyptius</i>) | + | + | - |
| <i>H. parainfluenzae</i> | - | + | - |
| <i>H. ducreyi</i> | + | - | - |
| <i>H. haemolyticus</i> | + | + | + |
| <i>H. parahaemolyticus</i> | - | + | + |
| <i>H. aphrophilus</i> | - | - | - |

Примечание. «+» — наличие признака; «-» — отсутствие признака; X — гемин; V — никотинамидадениндинуклеотид

Таблица 16.18. Дифференциация биоваров *H. influenzae*

| Признак | Биовары <i>H. influenzae</i> | | | | | | | | |
|-----------------------|------------------------------|----|-----|----|---|----|-----|------|------------------|
| | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | <i>aegyptius</i> |
| Образование индола | + | + | - | - | + | - | + | - | - |
| Уреазная активность | + | + | + | + | - | - | - | - | + |
| Орнитиндекарбоксилаза | + | - | - | + | + | + | - | - | - |
| D-ксилоза | + | + | + | + | + | + | + | + | - |

H. haemolyticus встречается в норме в носоглотке человека и может вызывать инфекции верхних дыхательных путей у детей.

H. aphrophilus является представителем нормальной микрофлоры полости рта и респираторного тракта и иногда обнаруживается в материале от больных при инфекционном эндокардите и пневмонии. По своим свойствам напоминает бактерии рода *Actinobacillus*, которые также относятся к семейству *Pasteurellaceae*, и вызывает заболевание, симптомы которого напоминают актиномикоз.

16.2.3.2. Пастереллы (род *Pasteurella*)

Род *Pasteurella* включает группу бактерий, преимущественно патогенных для животных, которые могут также обнаруживаться на слизистых оболочках верхних дыхательных путей и пищеварительного тракта человека. Первоначально к этому роду относили также все иерсинии и франциселлы.

Некоторые виды пастерелл вызывают болезни человека. Это — бактериальные зоонозные инфекционные заболевания с контактным механизмом передачи, которые носят локальный характер и характеризуются поражением наружных покровов и лимфаденитами.

Таксономическое положение. Бактерии рода *Pasteurella* относятся к семейству *Pasteurellaceae*. Род

Pasteurella включает 4 вида бактерий: *P. multocida*, *P. haemolytica*, *P. pneumotropica* и *P. ureae*.

Морфологические и тинкториальные свойства. Пастереллы — это мелкие неподвижные грамотрицательные коккобактерии сферической или овальной формы, а также палочки, располагающиеся одиночно, попарно или, реже, в коротких цепочках, размером $0,2 \div 0,4 \times 0,4 \div 2,0$ мкм. Пастереллы обычно окрашиваются биполярно, особенно в препаратах, приготовленных из инфицированных тканей животных.

Культуральные и биохимические свойства. Пастереллы — факультативные анаэробы, которые хорошо растут на обычных питательных средах при температуре 37 °С. Все они оксидаза- и каталаза-положительные, ферментируют глюкозу до кислоты (без газообразования), восстанавливают нитрат до нитрита. Внутри рода бактерии различаются по биохимической активности.

Антигенные свойства. Мало изучены. У пастерелл имеется О-антиген, как и у прочих грамотрицательных бактерий.

Факторы патогенности. Пастереллы, подобно франциселлам и иерсиниям, являются факультативными внутриклеточными паразитами. Среди факторов патогенности следует отметить наличие *эндотоксина*.

Эпидемиология. Ведущий механизм заражения человека при инфекциях, вызванных пастереллами, —

контактный, путь — раневой (обычно при укусе, нанесенным животным).

Резервуаром возбудителя являются различные виды диких и домашних животных и птиц. *Pasteurella multocida* вызывает геморрагическую септицемию различных животных (лошадей, овец, свиней, кур, кроликов, кошек и др.); холеру птиц и пневмонию сельскохозяйственных животных. Бактерии этого вида распространены повсеместно. Выделяют их из респираторного и пищеварительного тракта многих домашних и диких животных. Этот микроорганизм иногда обнаруживается в составе нормальной микрофлоры человека. *P. multocida* может также вызывать заболевания различных органов у человека и является наиболее частым микроорганизмом, обнаруживаемым у человека в ране от укуса, нанесенного кошкой или собакой.

Pasteurella haemolytica обнаруживается в верхних отделах респираторного тракта крупного рогатого скота, овец, свиней, лошадей и кур. Вызывает пневмонию и «транспортную лихорадку» у крупного рогатого скота, овец и коз. *P. haemolytica* является частой причиной эпизоотии пневмонии крупного рогатого скота и овец или куриной холеры у цыплят и индеек, приводящих к большим экономическим потерям. Инфекции человека вызывает редко.

Pasteurella pneumotropica — нормальный обитатель респираторного тракта и кишечника мышей и крыс, может вызывать пневмонию и сепсис при дисбактериозе у грызунов. Некоторые инфекции человека могут быть связаны с укусами животных.

Pasteurella ureae редко обнаруживается у животных, но встречается в ассоциации с другими микроорганизмами при хронических респираторных заболеваниях и других гнойных инфекциях человека.

Клиника. Наиболее часто проявление инфекции, вызванной бактериями рода *Pasteurella*, связано с укусом животного. Инкубационный период 1–5 дней. Заболевание характеризуется острым началом с покраснением, отеком и болью в очаге в первые часы после укуса. Возможна регионарная лимфаденопатия, температура тела повышается незначительно.

Иногда бактериемия или хроническая респираторная инфекция, вызванные пастереллами, развиваются без видимого контакта с животными. В этих случаях возможный механизм заражения — аэрогенный.

Иммунитет после перенесенного заболевания мало изучен.

Микробиологическая диагностика. Поскольку клиническая симптоматика заболеваний, вызываемых пастереллами, неспецифична, микробиологическая

диагностика позволяет помочь клиницистам в постановке правильного диагноза. Основной метод исследования — бактериологический. *Материал для исследования* — кровь, раневое отделяемое, мокроту — засевают на питательные среды, культивируют и проводят идентификацию выделенных микроорганизмов. Следует дифференцировать пастереллы и сходные с ними по ряду признаков бактерии родов *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Yersinia* и *Francisella*.

Лечение. Проводят с помощью антибиотиков (например, тетрациклинов).

Специфическая профилактика. Не разработана.

16.2.4. Другие роды

16.2.4.1. Возбудитель донованоза (род *Calymmatobacterium*)

Донованоз (гранулема венерическая, син. пятая венерическая болезнь) вызывается *Calymmatobacterium granulomatis* (палочка Арагана—Вианны). Характеризуется хроническим течением (инкубационный период — от одной недели до 3 месяцев), поражением кожи половых органов в виде неравномерных папилломатозных разрастаний эпидермиса и сосочкового слоя дермы, наличием язв. Передается половым, реже бытовым путем. Мужчины болеют чаще, чем женщины. Встречается, главным образом, в тропических и субтропических странах.

Бактерии рода *Calymmatobacterium* — плеоморфные палочки размером $0,5 \div 1,5 \times 1,0 \div 2$ мкм с закругленными концами. Имеют капсулу, неподвижны. Могут выращиваться в желточном мешке куриного эмбриона или на средах, содержащих яичный желток.

Микробиологическая диагностика. Основывается на клинических и микроскопических данных. При микроскопии мазков из пораженных участков кожи, окрашенных по Романовскому—Гимзе, обнаруживают внутриклеточные бактерии (тельца Донована).

Лечение. Эффективны ампициллин, тетрациклины.

Профилактика. Неспецифическая, такая же, как при гонорее.

16.2.4.2. Эйкенеллы (род *Eikenella*)

Представители нормальной микрофлоры человека, способные при определенных условиях вызывать гнойно-воспалительные процессы (абсцессы) различной локализации.

Таксономия. Род *Eikenella*. Вид *Eikenella corrodens*.

Морфология и тинкториальные свойства. Эйкенеллы — мелкие грамотрицательные палочки размером

0,3÷0,4 × 1,5÷4 мкм. В мазке располагаются беспорядочно, могут образовывать короткие цепочки. Жгутиков не имеют, неподвижны, спор не образуют.

Культуральные и биохимические свойства. По типу дыхания эйкенеллы — факультативные анаэробы. Оптимальная температура культивирования 35–37 °С. Требовательны к питательным средам. На жидких средах с добавлением холестерина или 3% сыворотки крови дают скудный рост. Для выделения в аэробных условиях необходимо добавление к питательной среде гемина. На плотных средах образуют мелкие колонии, которые вырастают как бы в углублениях среды. Культуры на плотных средах имеют запах хлорной извести. Рост микроорганизмов стимулирует повышение концентрации CO₂ до 5–10 %.

Эйкенеллы обладают слабой ферментативной активностью. Разлагают лизин, восстанавливают нитраты в нитриты, дают положительную оксидазную реакцию. Не имеют уреазы и каталазы. Глюкозу и аргинин не разлагают, индол не продуцируют.

Факторы патогенности. Обладают слабой *гемолитической активностью* (α-гемолиз).

Распространение. Встречаются в полости рта и в кишечнике человека.

Могут вызывать оппортунистические инфекции, высеваются в ассоциациях с другими микробами при абсцессах головы, шеи, органов брюшной полости. Выделяются из крови при сепсисе.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — гной, кровь, раневое отделяемое. Основной метод диагностики — бактериологический.

Лечение. Применяют антибиотики тетрациклинового ряда, цефалоспорины, аминогликозиды.

Специфическая профилактика. Не разработана.

16.3. Палочки грамотрицательные аэробные

16.3.1. Бордетеллы (род *Bordetella*)

Бордетеллы — это группа мелких грамотрицательных бактерий, обитающих в респираторном тракте человека и некоторых видов животных. Для человека патогенны *Bordetella pertussis* и *B. parapertussis*, которые вызывают коклюш и паракоклюш соответственно. Возбудитель коклюша впервые был выделен из мокроты больного ребенка в 1906 г. бельгийским бактериологом Ж. Борде и французским ученым О. Жангу, отчего получил назва-

ние «палочка Борде—Жангу». Современное название рода *Bordetella* — в честь Ж. Борде.

Возбудители коклюша и паракоклюша — *B. pertussis* и *B. parapertussis*

Коклюш и паракоклюш — это острые антропонозные инфекционные заболевания человека, которые характеризуются поражением верхних дыхательных путей и приступами спазматического кашля.

Таксономическое положение. Возбудители коклюша *Bordetella pertussis* и паракоклюша *Bordetella parapertussis* относятся к роду *Bordetella*.

Морфология и тинкториальные свойства. *Bordetella pertussis* и *Bordetella parapertussis* — очень мелкие короткие грамотрицательные палочки (их размер 0,2÷0,5 × 0,5÷2,0 мкм). Имеют микрокапсулу, неподвижны. При окраске толуоидиновым синим у них выявляются метакроматически окрашенные гранулы (липоиды), расположенные биполярно.

Культуральные свойства. Все бордетеллы — строгие аэробы. *B. pertussis* очень требовательны к условиям культивирования: для их выделения используют сложные питательные среды с добавлением сорбентов или веществ с высокой сорбционной способностью (активированный уголь, кровь, альбумин), так как в процессе жизнедеятельности эти бактерии выделяют ненасыщенные жирные кислоты, сульфиды и перекиси, способные ингибировать их рост. Для выделения бордетелл из клинического материала применяют казеиново-угольный агар (КУА) или среду Борде—Жангу (картофельно-глицериновый агар с добавлением 20 % крови и пенициллина). Посевы инкубируют при температуре 35–37 °С в течение 3–5 дней при высокой влажности воздуха (например, в запечатанном пластиковом пакете). Другие виды бордетелл (*B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. avium*) могут расти на простых питательных средах, образуя видимые колонии уже через 24–48 ч культивирования. На среде Борде—Жангу *B. pertussis* образует мелкие сероватые блестящие колонии, напоминающие капли ртути или жемчужины, у вирулентных штаммов — с небольшой зоной гемолиза.

Таблица 16.19. Дифференциация различных видов бордетелл

| Признак | Вид микроорганизма | | | |
|--|---------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------|
| | <i>B. pertussis</i> | <i>B. parapertussis</i> | <i>B. bronchiseptica</i> | <i>B. avium</i> |
| Подвижность | — | — | + | + |
| Время культивирования на среде Борде—Жангу | 3–5 суток | 1–2 суток | 1 сутки | 1 сутки |
| Рост на МПА | — | + | + | + |
| Пигментообразование | — | + | — | —/+ |
| Биохимическая активность: | | | | |
| ➤ тест на уреазу | — | + | + | — |
| ➤ тест на оксидазу | + | — | + | + |
| ➤ восстановление нитратов до нитритов | — | — | + | — |
| ➤ тест на каталазу | + | + | + | + |
| Факторы патогенности: | | | | |
| ➤ пертуссис-токсин | + | — | — | — |
| ➤ внеклеточная аденилатциклаза | + | + | + | — |
| ➤ трахеальный цитотоксин | + | + | + | + |

Для бордетелл характерна R–S-трансформация. Свежие изоляты бордетелл, т. е. чистая культура бактерий, выделенная непосредственно от больного, представляет собой вирулентную S-форму (I фаза), продуцирующую токсины. В процессе пассирования на питательных средах бордетеллы, постепенно утрачивая поверхностные антигены, превращаются в авирулентную R-форму (IV фаза), проходя при этом ряд промежуточных стадий (фазы II и III). Бордетеллы IV фазы не продуцируют факторов патогенности, типичных для возбудителя коклюша.

Биохимическая активность. Очень низкая. Бордетеллы расщепляют глюкозу и лактозу до кислоты без газа (табл. 16.19).

Антигенные свойства. Бордетеллы имеют соматический термостабильный родоспецифический O-антиген, обнаруживаемый у S-форм всех видов бордетелл. Кроме того, у них имеются 16 поверхностных термолабильных капсульных K-антигенов, которые принято называть «факторами» и обозначать арабскими цифрами. K-антигены бордетелл часто называют агглютиногенами, так как их выявляют в реакции агглютинации.

7-й фактор является общим для всего рода *Bordetella*, а 1-й — основным для *B. pertussis*. В зависимости от наличия 2-го и 3-го агглютиногенов выделяют 4 серотипа *B. pertussis*: 2,0; 0,3; 2,3; 0,0.

Общевидовым агглютиногеном для *B. parapertussis* является 14-й, для *B. bronchiseptica* — 12-й.

Серотипирование *B. pertussis* осуществляется в реакции агглютинации с моноклональными антителами к белкам фимбрий. Авирулентные R-формы бордетелл утрачивают капсулу и не агглютинируются K-сыворотками.

Разновидности (вариации) бордетелл. Бордетеллы, выделенные от больных, различаются по вирулентности, гемолитической активности и способности продуцировать токсины. Выделяют два механизма «превращения» бордетелл в авирулентные негемолитические и нетоксигенные формы. **Фенотипическая (модификационная) изменчивость** связана с появлением авирулентных разновидностей в результате культивирования *B. pertussis* в неблагоприятных для них условиях: при температуре +25...+28 °C или в присутствии MgSO₄. **Генотипическая изменчивость** обусловлена необратимыми изменениями (мутациями), возникающими в геноме бордетелл при длительном пассировании на искусственных питательных средах, т. е. вне человеческого организма, в результате чего происходит образование новых малоавирулентных и авирулентных фаз возбудителя (фазы II, III и IV).

Факторы патогенности. *B. pertussis* обладает целым рядом факторов патогенности, которые вовлечены в патогенез развития коклюша.

Факторы адгезии: *пили (фимбрии), филаментозный гемагглютинин, пертактин* — белок наружной мембраны клеточной стенки (молекулярная масса 69 кДа) и *капсульные агглютиногены* играют роль в адгезии бактерий к мерцательному эпителию верхних дыхательных путей (bronхов, трахеи). Ведущая роль в процессе адгезии к эпителию респираторного тракта человека принадлежит *филаментозному гемагглютинину*, который является белком, способным избирательно связываться с гликолипидными рецепторами ресничек эпителия трахеи и бронхов.

Токсины бордетелл

а) Пертуссис-токсин (син. пертуссин, коклюшный токсин, лимфоцитоз-стимулирующий фактор, гистамин-сенсibiliзирующий фактор) стимулирует работу аденилатциклазы в клетках респираторного тракта путем ингибирования регуляторного белка G_i — трансдуцина, который является белком клетки-мишени. Пертуссин представляет собой фермент, который относится к категории АДФ-рибозилтрансфераз и состоит из 2 основных субъединиц: *A* (от англ. *active* — активная субъединица) и *B* (от англ. *binding* — связывающая субъединица). С помощью субъединицы *B* пертуссис-токсин прикрепляется к клеткам-мишеням. Субъединица *A* участвует в рибозилировании регуляторного белка G_i . Этот белок в норме ингибирует аденилатциклазу. Измененный под действием субъединицы *A*, белок G_i не способен больше регулировать активность клеточной аденилатциклазы. В результате этого процесса происходит неконтролируемый синтез цАМФ. Накопление цАМФ в клетках приводит к их извращенному функционированию.

Пертуссис-токсин повышает проницаемость сосудов; усиливает чувствительность к гистамину и серотонину; стимулирует миграцию лимфоцитов, моноцитов; подавляет киллинг-активность фагоцитов; может вызывать повышение синтеза инсулина и, как следствие, снижение концентрации глюкозы в крови и пр.

Пертуссин является экзотоксином, обладает высокой иммуногенностью. Под действием формалина он превращается в анатоксин.

б) Внеклеточная аденилатциклаза (син.: аденилатциклазный гемолизин) за счет поступления внутрь эпителиоцитов дыхательных путей еще более усиливает синтез и накопление цАМФ

внутри клеток хозяина. Этот фактор патогенности бордетелл также подавляет хемотаксис фагоцитов, нарушает «переваривающую» способность фагоцитов за счет ингибирования «респираторного взрыва» внутри фаголизосомы.

в) Трахеальный цитотоксин, являясь фрагментом пептидогликана бордетелл, повреждает эпителиоциты респираторного тракта. Он стимулирует продукцию ИЛ-1, в ответ на который синтезируется оксид азота, обладающий цитотоксичностью. В экспериментах *in vitro* этот токсин повреждает эпителиальные клетки трахеи и вызывает *циллиостаз*. При этом нарушение оттока слизи создает условия для персистенции инфекции.

г) Дерматонекротический токсин (син.: термолabile токсин) инактивируется при нагревании до 56 °С в течение 15 мин. Наряду с трахеальным цитотоксином, дерматонекротический токсин оказывает повреждающее действие на эпителий респираторного тракта, вызывая местную воспалительную реакцию. При внутрикожном введении лабораторным животным вызывает некроз в месте инъекции. При внутривенном и внутрибрюшинном введении мышам вызывает их гибель.

д) Термостабильный эндотоксин — ЛПС клеточной стенки бордетелл, который стимулирует выработку цитокинов, участвующих в повреждении эпителиальных клеток верхнего отдела респираторного тракта, а также активирует комплемент.

Синтез факторов вирулентности бордетелл регулируется двухкомпонентной сигнальной системой *BvgAS (Bordetella virulence genes)*.

Резистентность. Вне человеческого организма бордетеллы быстро погибают. Они довольно чувствительны к дезинфектантам, быстро инактивируются при нагревании.

Эпидемиология. Коклюш и паракоклюш — типичные антропонозные инфекции: болеют только люди. Источником инфекции является больной человек (особенно в катаральном периоде заболевания) и иногда — бактерионоситель. Возбудитель проникает в организм через дыхательные пути при кашле, разговоре, чихании (респираторный механизм заражения, путь передачи инфекции — воздушно-капельный).

Контагиозность коклюша очень высока: индекс контагиозности колеблется около

0,75–0,9, т. е. после контакта неиммунизированного человека с коклюшным больным вероятность развития заболевания составляет 75–90 %.

Естественная восприимчивость людей высокая, поэтому коклюш распространен повсеместно и может быстро приобретать эпидемический характер среди неиммунных лиц. Болеют, главным образом, дети до 5 лет. Наиболее опасен коклюш для детей первого года жизни, у которых, вследствие развития осложнений, заболевание может закончиться летальным исходом.

Паракоклюш встречается значительно реже, носит эпизодический характер и, как правило, протекает легче коклюша.

Патогенез. Бордетеллы являются неинвазивными микробами, т. е. они не проникают внутрь клетки-мишени. В кровь бактерии не поступают.

В патогенезе коклюша выделяют три стадии:

I стадия — адгезия. В ней участвуют фимбрии, филаментозный гемагглютинин, пертактин и пертуссис-токсин. Эти адгезины действуют последовательно или одновременно.

II стадия — местное повреждение. После адгезии и размножения в месте входных ворот *B. pertussis* начинает продуцировать различные токсины. К основным токсинам, действующим на этой стадии, относятся трахеальный цитотоксин и внеклеточная аденилатциклаза, нарушающие функции эпителиальных клеток и фагоцитов дыхательных путей. Пертуссис-токсин оказывает повреждающее действие на ткани. Позднее может развиваться некроз отдельных участков эпителия и полиморфно-нуклеарная инфильтрация с развитием перибронхиального воспаления и интерстициальной пневмонии.

III стадия — стадия системных проявлений. В этой стадии ведущая роль отводится коклюшному токсину.

Присоединение вторичной инфекции, вызванной *H. influenzae* или стафилококками, может провоцировать бактериальную пневмонию. Обструкция (закупоривание) мелких бронхиол слизистыми пленками (пробками) приводит к ателектазам и снижению насыщенности крови кислородом. Это, вероятно,

способствует развитию судорог и затяжных приступов кашля у младенцев.

Клиника. Инкубационный период при коклюше составляет около 2 недель, после чего начинается *катаральный период*, характеризующийся легким кашлем и чиханием. Температура тела повышается незначительно. В этом периоде возбудитель выделяется в большом количестве с каплями слизи, и большой является опасным источником инфекции. Во время следующего, *пароксизмального периода* кашель усиливается и приобретает характер «петушиного крика» (от франц. *coqueluche*). Приступообразный спазматический кашель сопровождается тяжелой гипоксией, судорожным синдромом и нередко заканчивается рвотой. Частые продолжительные приступы сухого кашля могут приводить к перевозбуждению дыхательного центра, развитию апноэ и гипоксической энцефалопатии.

Тяжелые формы коклюша с развитием осложнений встречаются преимущественно у новорожденных детей, у детей же старшего возраста и иногда у взрослых людей заболевание характеризуется обычно периодическими приступами кашля. В формуле крови отмечается выраженный лейкоцитоз (16 000–30 000 в 1 мл) в сочетании с абсолютным лимфоцитозом. Выздоровление наступает очень медленно (иногда в течение 1–2 месяцев). Характерно преобладание легких, стертых и атипичных форм течения коклюша.

Симптомы, напоминающие коклюш, могут вызывать некоторые типы аденовирусов и *Chlamydia pneumoniae*.

Иммунитет. После перенесенного заболевания формируется прочный иммунитет. Повторные случаи заболевания встречаются очень редко и протекают легко. Большое значение имеют антитела (IgA), препятствующие прикреплению возбудителя к цилиарному эпителию верхних дыхательных путей.

Следует подчеркнуть, что иммунитет видоспецифический, поэтому антитела против *B. pertussis* не защищают от заболеваний, вызванных *B. parapertussis* или *B. bronchiseptica*.

Микробиологическая диагностика. *Материал для исследования* — слизь с задней стенки глотки) — принято забирать методом «кашлевых пластинок». С помощью этого метода мате-

риал от больного засевают во время приступа кашля непосредственно на чашку Петри с питательной средой, держа ее перед лицом пациента. Мазки из носоглотки исследуют редко, так как возбудитель коклюша быстро погибает на ватном тампоне при высушивании (хлопок подавляет рост бордетелл). При необходимости исследуют мазки с задней стенки глотки, используя специальные тампоны из альгината кальция, смоченные в растворе пенициллина.

Методы диагностики. Для ускоренной диагностики применяют прямую РИФ со специфической флюоресцентной сывороткой и материалом из зева больного. Однако чувствительность и специфичность этого метода составляют не более 60 %, поэтому возможны ложноположительные и ложноотрицательные результаты. Применяют также ПЦР и ИФА.

Бактериологический метод позволяет выделить и отдифференцировать возбудители коклюша и паракоклюша. Бактериологическое исследование проводят, делая посев на плотные питательные среды с антибиотиками (см. выше). Для идентификации возбудителя применяют реакцию агглютинации на стекле с К-сыворотками или моноклональными антителами.

Серологическая диагностика малоинформативна, поскольку в процессе заболевания титр агглютининов и преципитирующих антител увеличивается лишь к 3-й неделе заболевания. Тем не менее, для подтверждения клинического диагноза применяют развернутую реакцию агглютинации, РПГА и РСК с парными сыворотками, а также ИФА.

Лечение. *B. pertussis* чувствительна ко многим антимикробным препаратам (кроме пенициллина). Однако антимикробную терапию (эритромицин, ампициллин) назначают лишь в тяжелых случаях коклюша и детям в возрасте до 1 года. Нормальный человеческий иммуноглобулин также применяют для лечения тяжелых или осложненных форм коклюша. Назначение эритромицина в катаральном периоде заболевания способствует элиминации микроба. Лечение антибиотиками после начала пароксизмальной стадии заболевания редко ускоряет выздоровление.

В качестве поддерживающей терапии назначают кислородные ингаляции и антигистаминные или седативные препараты.

Пребывание на свежем воздухе, проветривание помещений снижают частоту приступов кашля у заболевших.

Профилактика. В течение первого года жизни каждому ребенку необходима базовая трехкратная вакцинация убитой коклюшной вакциной в составе АКДС (адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакцины). Вакцина содержит инактивированные нагреванием или мертиолатом *B. pertussis* I фазы (цельные микробные клетки) в комбинации с дифтерийным и столбнячным анатоксинами, сорбированными на гидроокиси алюминия. Иммунизацию проводят, начиная с 3-месячного возраста, трехкратно, с интервалами между введением препарата в 4–6 недель. К сожалению, при введении этой вакцины возможно развитие поствакцинальных осложнений, в том числе неврологических (энцефалопатия и даже энцефалит). Однако вероятность и частота возникновения таких осложнений значительно ниже, чем опасность развития заболевания, и составляет 1 случай на 1 млн доз вакцины. Прекращение вакцинации против коклюша с помощью АКДС в некоторых регионах привело к значительному росту заболеваемости.

В настоящее время разработаны и применяются *бесклеточные (ацеллюлярные, субкорпускулярные вакцины)*, содержащие очищенные антигены возбудителя коклюша (филаментозный гемагглютинин, пертактин, агглютиногены или пертуссис-анатоксин) в различных комбинациях.

Для экстренной профилактики коклюша у контактировавших неиммунизированных лиц назначают нормальный человеческий иммуноглобулин и/или эритромицин в первые 5 дней после контакта с заболевшим.

Bordetella bronchiseptica, Bordetella avium, B. holmecii, B. hinzii

B. bronchiseptica и *B. avium* представляют собой мелкие граммотрицательные палочки, имеющие жгутики. Являются паразитами млекопитающих и птиц. Локализуются и размножаются среди ресничек эпителия дыхательного тракта. Антигенные и другие свойства, а также принципы идентификации и дифференциальной диагностики описаны выше.

B. bronchiseptica крайне редко вызывает у людей заболевание, напоминающее паракоклюш. Иногда

обнаруживается в носоглотке людей со сниженным иммунитетом, а также у людей, содержащих домашних животных (кроликов, собак и др.). Возможно бессимптомное носительство у человека.

Патогенность *B. avium* для человека не доказана.

B. holmecii и *B. hinzii* были выделены от пациентов с нарушениями функции иммунной системы. Обсуждается их роль в развитии оппортунистических инфекций у больных СПИДом.

16.3.2. Бруцеллы (род *Brucella*)

Бруцеллы являются возбудителями бруцеллеза — остро или хронического антропозоонозного инфекционного заболевания, которое характеризуется интоксикацией, преимущественным поражением опорно-двигательного аппарата, нервной, сердечно-сосудистой, мочеполовой систем и других органов, аллергизацией организма, затяжным течением, приводящим, как правило, к инвалидизации.

Возбудители бруцеллеза относятся к роду *Brucella*, который включает в себя следующие виды: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. teotomae*. Название рода связано с именем Д. Брюса, открывшего в 1886 г. возбудителя бруцеллеза.

Морфология. Бруцеллы — мелкие грамотрицательные микробы шаровидной, овоидной или палочковидной формы. Спор не образуют, неподвижны. При действии специфического бактериофага или при выращивании на среде с 10 % иммунной сыворотки образуют нежную капсулу.

Культуральные свойства. Аэробы. Требовательны к питательным средам: на простых питательных средах не растут, растут на сложных питательных средах (сывороточно-декстрозный и кровяной агар). Характеризуются замедленным ростом на питательных средах, посеы инкубируют не менее 3 недель. В жидких средах вызывают равномерное помутнение с небольшим осадком, но без пленки на поверхности. На плотных средах формируют мелкие круглые выпуклые гладкие прозрачные голубовато-серые колонии. Гемолиза не дают, пигмента не образуют. Наблюдается диссоциация от S- к R-формам колоний. В гладкой форме некоторые штаммы бруцелл

лизируются бруцеллезным фагом. Температурный оптимум роста — 37 °С, оптимум pH 6,6–7,4. Под действием антибиотиков превращаются в L-формы. Хорошо культивируются в желточном мешке куриного эмбриона.

Биохимическая активность. Очень низкая: содержат каталазу и оксидазу, нитраты редуцируют в нитриты, цитраты не утилизируют, реакция Фогеса—Проскауэра отрицательна, продуцируют сероводород. Дифференциально-диагностические признаки бруцелл представлены в табл. 16.20.

Антигенная структура. Сложная и близкая для разных видов бруцелл. Имеют соматический O- и капсульный антигены. Различные виды бруцелл различаются количественным соотношением A- (абортус) и M- (мелитензис) антигенов.

Факторы патогенности. Бруцеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами млекопитающих, включая человека. Обладают высокой инвазивной способностью, образуют фермент агрессии гиалуронидазу. Основными факторами вирулентности являются эндотоксин и капсула.

Устойчивость в окружающей среде и к антимикробным препаратам. Бруцеллы длительно сохраняются в окружающей среде: в молоке — до 45 дней; в масле, сливках, простокваше и свежих сырах — в течение всего периода их пищевой ценности; в брынзе — до 60 дней; в замороженном мясе — свыше 5 мес., в засоленных шкурах — 2 мес., в шерсти — до 3-4 мес., в воде — до 5 мес.; в почве — до 3 мес. Малоустойчивы к высокой температуре, при кипячении погибают моментально, при 60 °С — в течение 30 мин.

Чувствительны к большинству антибиотиков; к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов в обычных концентрациях.

Эпидемиология. Резервуаром возбудителя в природе являются сельскохозяйственные и домашние животные — крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, реже — олени, лошади, собаки, кошки.

Бруцеллез распространен на всех континентах, особенно в странах с развитым животноводством. Источник инфекции — больные сельскохозяйственные и домашние животные.

Возбудителями бруцеллеза крупного рогатого скота являются *B. abortus*, мелкого рогатого скота — *B. melitensis*, свиней — *B. suis*, оленей — *B. neotome*, собак — *B. canis*, баранов — *B. ovis*. Наибольшее эпидемическое значение для человека имеют *B. melitensis*, *B. abortus* и *B. suis*. Больной человек не заразен, является биологическим тупиком. Как для всех зоонозов, для бруцеллеза характерна множественность механизмов и путей передачи. Больные животные выделяют бруцеллы с молоком, мочой, калом, околоплодными водами и др. Человек заражается главным образом фекально-орально пищевым путем (сырое молоко, молочные продукты, мясо и др.) и контактно при уходе за больными животными и т. п. Восприимчивость человека к бруцеллам высокая. Заболевания носят спорадический характер или в виде отдельных вспышек, что зависит от видовой принадлежности возбудителей.

Патогенез. Бруцеллы проникают в организм через кожу или слизистые оболочки и распространяются по лимфатическим путям. В отличие от туляремии, сибирской язвы, при бруцеллезе на месте внедрения не развивается первичный аффект. Иногда наблюдается увеличение регионарных лимфатических узлов. Дальнейшая судьба возбудителя зависит от ряда факторов: вирулентности, величины инфицирующей дозы, иммунореактивности организма. При попадании в организм больших доз вирулентных бруцелл очень быстро может наступить диссеминация возбудителя. При малых инфицирующих дозах и при пониженной вирулентности бруцеллы могут длительно задерживаться в регионарных лимфатических узлах, фаза генерализации запаздывает или вообще отсутствует. В основе развивающихся в ранний период бруцеллеза диффузных изменений сосудов и паренхиматозных органов лежит токсическое действие бруцелл. Из кровотока бруцеллы оседают в воспалительных очагах, лимфатических узлах, селезенке и костном мозге, где длительно могут сохраняться, располагаясь внутриклеточно. При обострениях процесса бруцеллы вновь усиленно размножаются, попадают в кровоток, вызывая повторные волны генерализации. Длительное пребывание возбудителя в организме приводит к его алергизации. Со 2–3-й недели, а иногда и с самого начала заболевания на первый план в патогенезе выдвигаются алергические поражения. Аллергия при бруцеллезе играет двоякую роль. С одной стороны, алергическое воспаление лежит в основе большинс-

тва клинических проявлений болезни, особенно в хронической стадии. С другой стороны, алергическая реакция препятствует распространению бруцелл в организме, что имеет большое значение для предупреждения повторных генерализаций процесса.

Клиника. Инкубационный период колеблется в пределах 1–3 недель, но может затягиваться и до нескольких месяцев. Болезнь начинается постепенно, иногда — остро. Болезнь протекает с длительной лихорадкой, ознобами, потливостью, болями в суставах, мышцах, с симптомами поражения сердечно-сосудистой, нервной, мочеполовой систем, опорно-двигательного аппарата и т. д. Клиника бруцеллеза характеризуется большим полиморфизмом и зависит от характера пораженного органа. Выделяют острый (с давностью до 3 мес.), подострый (с давностью до 6 мес.), хронический (с давностью свыше 6 мес.) и латентный бруцеллез. При хроническом бруцеллезе возможны состояния компенсации, субкомпенсации и декомпенсации. Хронический бруцеллез может быть первично-хронический или вторично-хронический; то же относится и к латентному бруцеллезу.

Иммунитет при бруцеллезе клеточно-гуморальный, в основном нестерильный и относительный. После выздоровления иммунитет угасает, возможна реинфекция. Ввиду относительности иммунитета, большие инфицирующие дозы бруцелл могут вызвать его прорыв у больных хроническим или латентным бруцеллезом, что ведет к тяжелому течению болезни.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат: кровь, пунктат красного костного мозга, моча, испражнения, молоко и молочные продукты, кусочки органов.

Для диагностики бруцеллеза используют все методы микробиологической диагностики. Серодиагностику и алергические пробы проводят в базовых лабораториях, чистую культуру бруцелл выделяют и идентифицируют в специальных лабораториях с соблюдением правил техники безопасности.

Посев крови для выделения гемокультуры проводят в первые дни болезни при наличии лихорадки; при отрицательных результатах исследование многократно повторяют (бактериemia может наблюдаться в течение года и более). Учитывая медленный рост бруцелл, посеvy выдерживают в термостате до 1 мес. Пунктат костного мозга засевают на те же среды; миелокультуры при бруцеллезе удаётся

получить в 1,5–2 раза чаще, чем гемокультуру. Миелокультуры могут быть получены в остром, подостром и даже хроническом периоде заболевания. Мочу для выделения уринокультуры предварительно центрифугируют, из осадка делают посевы. Уринокультуры выделяют как при остром бруцеллезе, так и в период реконвалесценции. Процент высеваемости невелик и зависит от периода заболевания (5–14%). Аналогичным образом поступают с молоком. Копрокультуры выделяют крайне редко. Нередко культура бруцелл выделяется из желчи. Незначительный процент положительных результатов дают бактериологические исследования мокроты, суставной жидкости, влагалищных выделений и др. Наибольшую высеваемость бруцелл, особенно из бактериально загрязненного материала, получают при посевах исследуемого материала в желток свежего куриного яйца или в желточный мешок куриного эмбриона. Зараженные яйца выдерживают в термостате 5 дней, а затем делают высев на питательные среды.

Для биопробы используют белых мышей и морских свинок. Животных заражают кровью внутрибрюшинно; осадком мочи и молока — подкожно. Через 20–30 дней у зараженного животного берут кровь и ставят с ней реакцию агглютинации. Затем животных забивают, вскрывают и делают посевы крови из сердца, взвеси внутренних органов и лимфатических узлов. Выделенные чистые культуры бруцелл дифференцируют по способности роста в отсутствие повышенной концентрации углекислого газа, выделению сероводорода, чувствительности к бруцеллезному фагу и бактериостатическому действию анилиновых красителей (фуксина и тионина). Преимуществом биологического метода исследования является возможность выделения бруцелл из материалов, контаминированных посторонней микрофлорой или содержащих небольшое количество возбудителей.

В сыворотке больных бруцеллезом накапливаются агглютинирующие (вначале IgM, затем IgG), неполные блокирующие (IgA, IgG) и опсонические (IgG) антитела. Для их выявления с диагностической целью используют реакцию Райта (развернутая агглютинация) и Хеддельсона (пластинчатая агглютинация),

РПГА, РИФ, ИФА, реакцию Кумбса, опсонофагоцитарную реакцию. Реакция агглютинации — один из основных диагностических методов при бруцеллезе у людей и сельскохозяйственных животных. Агглютинины, как правило, появляются в крови в ранние сроки после заражения, поэтому наибольшую диагностическую ценность реакция агглютинации представляет при остром бруцеллезе. РСК также является специфической для бруцеллеза, она появляется позже, чем реакция агглютинации, но держится дольше, что повышает ее диагностическую ценность у больных хроническим бруцеллезом. Гемагглютинирующие антитела в РПГА можно обнаружить в 91–100% случаев у больных острым и подострым бруцеллезом; при хроническом бруцеллезе и резидуальных явлениях гемагглютинины обнаруживаются реже, однако значительно чаще, чем агглютинины. РИФ выявляет антитела в сыворотке при остром, подостром и хроническом бруцеллезе чаще, чем реакция агглютинации. Реакция Кумбса рекомендуется в качестве диагностического метода при хронических и латентных формах бруцеллеза. Опсонофагоцитарную реакцию проводят с 15–20-го дня болезни. Она основана на способности сегментоядерных нейтрофилов фагоцитировать бруцеллы благодаря наличию в крови человека специфических опсонин, нарастающих в процессе бруцеллезной инфекции. Реакция специфична и чувствительна, однако не отражает количества опсонин в крови. В условиях массового обследования на бруцеллез применяют пластинчатую реакцию агглютинации Хеддельсона в сочетании с кожно-аллергической пробой Бюрне. Рекомендуется определять состав сывороточных иммуноглобулинов в различные фазы заболевания. В ранние сроки после заражения появляются IgM, в более поздние — IgG. Эти иммуноглобулины дифференцируют с помощью цистеиновой пробы.

Аллергический метод применяют для выявления ГЗТ к бруцеллам, наблюдающейся у больных бруцеллезом, инфицированных бруцеллами лиц и привитых живой бруцеллезной вакциной. Ее ставят с 15–20-го дня болезни. Аллергическая реакция бывает положительной в течение многих лет после перенесенного заболевания и у привитых. Серологические реакции и кожно-аллергическая проба по

своему диагностическому значению не равноценны, вследствие чего не могут заменить друг друга. Это обуславливает необходимость применения комплексного сероаллергического метода, являющегося наиболее надежным способом диагностики бруцеллеза.

Лечение. При остром и хроническом бруцеллезе с выраженными признаками активности необходимо назначение антибиотиков широкого спектра. Наиболее эффективно сочетание стрептомицина с препаратами широкого спектра действия. Антибиотики не действуют на бруцеллы, расположенные внутриклеточно, поэтому их можно назначать только при наличии бактериемии, а при хроническом бруцеллезе они неэффективны. Кроме того, антибиотики не предупреждают рецидивов бруцеллеза, поэтому широко применяется специфическая иммунотерапия убитой лечебной бруцеллезной вакциной (5–7 внутривенных вливаний в нарастающих дозах 1–2 раза в неделю) или бруцеллина (внутримышечно по 2 раза в неделю). При острых и рецидивирующих формах назначают бруцеллезный иммуноглобулин.

Профилактика. Направлена на ликвидацию источника инфекции; на разрыв механизма и путей передачи инфекции и на создание невосприимчивости коллектива. Для специфической профилактики применяют живую бруцеллезную вакцину, предложенную П. А. Вершиловой, из штамма ВА-19А, полученную из *B. abortus* и создающую перекрестный иммунитет против других видов бруцелл. Вакцинацию проводят по эпидпоказаниям. Неспецифическая профилактика такая же, как и при других зоонозах, и сводится в основном к санитарно-ветеринарным мероприятиям.

16.3.3. Франциселлы (род *Francisella*)

Francisella tularensis является возбудителем туляремии — острого или хронического системного природно-очагового заболевания человека и животных, которое характеризуется лихорадкой, интоксикацией и поражением лимфатических узлов.

Возбудитель туляремии *Francisella tularensis* был открыт в местечке Туляре (Калифорния) в 1911 г. Г. Мак-Коем и Х. Чепином; детально

изучен Э. Френсисом. Выделяют 3 подвида, отличающихся по антигенным свойствам и вирулентности: голарктический, распространенный в Европе, Азии и Северной Америке, умеренно патогенный для домашних кроликов; среднеазиатский, распространенный в долинах рек Средней Азии, умеренно патогенный для домашних кроликов; неарктический, или американский, распространенный в Северной Америке, высокопатогенный для домашних кроликов. Голарктический подвид делится на биовары: японский, распространенный на Японских островах; эритромициночувствительный, распространенный в Европе, Азии, Северной Америке и чувствительный к антибиотикам-макролидам; эритромицинустойчивый, распространенный в Восточной Европе и Западной Сибири.

Морфология. Возбудитель туляремии представляет собой очень мелкие (0,3–0,5 мкм) полиморфные грамтрицательные палочки; спор не образует, неподвижен, может образовывать капсулу.

Культуральные свойства. Факультативный анаэроб. На простых питательных средах не растет. Культивируются на желточных средах (среда Мак-Коя или Чепина) или на средах с добавлением крови и цистеина (среда Френсиса). Оптимальная температура роста 37–38 °С, оптимум рН 6,8–7,4. На плотных средах образует мелкие колонии молочно-белого цвета. Хорошо культивируется в желточном мешке куриного эмбриона. При культивировании на искусственных питательных средах происходит аттенуация бактерий и превращение их из вирулентной S-формы в авирулентную и неиммуногенную R-форму. Вакцинные штаммы бактерий представляют собой промежуточную форму изменчивости, которую обозначают как SR-вариант.

Биохимическая активность. Очень низкая, ферментируют до кислоты глюкозу и мальтозу; непостоянно ферментируют маннозу, левулезу, образуют сероводород.

Антигенная структура. Содержит соматический O- и поверхностный Vi-антигены. Имеют антигенную близость с бруцеллами. В R-форме теряют Vi-антиген, а вместе с ним вирулентность и иммуногенность.

Таблица 16.20. Дифференциально-диагностические признаки бруцелл

| Вид бруцелл и их биотип | Потребность в CO ₂ | | Образование H ₂ S | | Основной флюксин | | Рост на средах с красками | | Агглютинация | | | Окисление субстрата | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|-------------------------------|---|------------------------------|---|------------------|---|---------------------------|-----------|--------------|--------------|-------------------|---------------------|---------|-----------|----------------------|-----------|-----------|--------|---------|-----------|---------|---------|-------|---|
| | | | | | | | тионин | | А-сывороткой | М-сывороткой | анти-Р-сывороткой | Лизис фагом | элантин | аспарагин | глутаминовая кислота | арабиноза | галактоза | рибоза | глюкоза | эритритол | ксилоза | аргинин | лизин | |
| | | | | | | | 1:25 тыс. | 1:50 тыс. | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Brucella melitensis</i> 1 | - | - | - | - | + | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2 | - | - | + | - | + | - | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 3 | - | - | + | - | + | - | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Brucella abortus</i> 1 | + | + | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2 | + | + | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 3 | + | + | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 4 | + | + | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 5 | - | - | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 6 | - | - | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 7 | - | - | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 8 | + | + | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 9 | - | - | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Brucella suis</i> 1 | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2 | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 3 | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 4 | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Brucella neotome</i> | - | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Brucella ovis</i> | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Brucella canis</i> | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

Факторы патогенности. Неарктический подвид обладает высокой патогенностью для человека при кожном пути заражения, голарктический и среднеазиатский подвиды умеренно патогенны. Вирулентными являются S-формы колоний. Патогенные свойства связаны с оболоченным антигенным комплексом и токсическими веществами типа эндотоксина. Возбудитель патогенен для млекопитающих многих видов, особенно для мелких грызунов и зайцев. Из лабораторных животных к нему высокочувствительны морские свинки и белые мыши.

Экологическая ниша. Резервуаром возбудителя в естественных условиях являются дикие животные (около 50 видов), главным образом мелкие грызуны и зайцы; среди домашних животных — овцы, свиньи, крупный рогатый скот.

Устойчивость в окружающей среде. В окружающей среде бактерии могут долго сохраняться, особенно при низкой температуре. Они нестойки к высоким температурам и УФ-лучам. При 60 °С гибнут через 5–10 мин, а при кипячении — через 1–2 мин. При 0–4 °С сохраняются в воде и фураже до 6 мес. Чувствительны к большинству антибиотиков (стрептомицин, тетрациклин, левомицетин, эритромицин и др.). Высокочувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов (лизол, хлорамин убивают их через 3–5 мин).

Эпидемиология. Туляремия — природно-очаговое заболевание. Источником инфекции в естественных условиях являются главным образом мелкие грызуны (полевые мыши, водяные крысы, ондатры, хомяки) и зайцы. На территории природных очагов туляремией могут заражаться овцы, свиньи, крупный рогатый скот. Как и для всех зоонозов, для туляремии характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи. Передача возбудителя среди млекопитающих чаще всего происходит через кровососущих членистоногих: иксодовые клещи, комары, в меньшей степени блохи, слепни и гамазовые клещи. Человек заражается контактным, алиментарным, аэрозольным и трансмиссивным путями. Восприимчивость человека очень высока.

Туляремия распространена в Европе, в том числе в России, а также в Азии, Северной Америке; встречается в виде спорадических случаев или эпидемических

вспышек. Болеют чаще жители сельской местности и лица, имеющие профессиональный контакт с грызунами (сельскохозяйственные работы, охота и т. д.).

Патогенез. Возбудитель туляремии попадает в организм человека через кожу, слизистые оболочки глаз, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта. В патогенезе туляремии выделяют несколько фаз: внедрение и первичная адаптация возбудителя, лимфогенное распространение, первичные регионарно-очаговые и общие реакции организма, гематогенные метастазы и генерализация процесса, вторичные очаги, реактивно-аллергические изменения, обратный метаморфоз и выздоровление. Ведущее значение в патогенезе имеет фаза лимфогенного распространения возбудителя. В месте его внедрения нередко развивается первичный аффект с регионарным первичным лимфаденитом. Периаденит выражен умеренно. Микроб и его токсины проникают в кровь, что приводит к бактериемии и генерализации процесса, метастазированию и развитию вторичных туляремийных бубонов.

Иммунитет. После перенесенной инфекции сохраняется длительно, иногда пожизненно; развивается аллергия организма к антигенам возбудителя.

Клиника. Инкубационный период длится от нескольких часов до 3 недель, в среднем 3–7 дней. Болезнь начинается остро, внезапно, без prodroma с повышения температуры тела до 38–39 °С; появляется озноб, резкая головная боль, интоксикация. Клиническая картина обусловлена характером пораженных органов. Различают бубонную, язвенно-бубонную, глазо-бубонную, абдоминальную, легочную и генерализованную (септическую) клинические формы туляремии. Болезнь протекает длительно (около месяца). Летальность при заражении неарктическим подвидом — около 6%; при заражении другими подвидами — 0,1% и ниже.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — кровь, пунктат из бубона, соскоб из язвы, отделяемое конъюнктивы, налет из зева, мокрота и др. — определяется клинической формой болезни. Кроме того, на исследование можно брать воду и пищевые продукты. В природных очагах туляремии проводят плановые систематические исследования для выделения возбудителя туляремии от грызунов.

Для диагностики применяют все методы микробиологической диагностики. Исследование проводят в режимных лабораториях.

Бактериологический метод в диагностике туляремии у человека редко дает положительные результаты. Чистую культуру, как правило, вы-

деляют после накопления ее на восприимчивых лабораторных животных. Для биопробы применяют белых мышей и морских свинок. Мышей заражают подкожно, морских свинок — внутрибрюшинно; животные погибают на 3–6-е сутки, иногда позднее. Зараженных животных содержат в особых условиях (как при диагностике чумы) и наблюдают за ними в течение 6–14 дней. Если экспериментальные животные на протяжении 7–15 дней не погибают, их забивают на 15–20-й день и трупы вскрывают. При наличии туляремии обнаруживают патологоанатомические изменения в виде продуктивного процесса с некрозом. Чистую культуру выделяют из внутренних органов на желточном среде, глюкозоцистеиновом кровяном агаре, среде Емельяновой и др. При идентификации опираются на морфологию и тинкториальные свойства возбудителя, отсутствие роста на МПА, агглютинацию гомологичной сывороткой, патогенность для белых мышей и морских свинок. Чистую культуру можно выделить, заражая 12-дневные куриные эмбрионы в желточный мешок. Для выделения чистой культуры возбудителя из воды последнюю центрифугируют или фильтруют через бактериальные фильтры и полученным осадком заражают лабораторных животных. При исследовании пищевых продуктов их промывают мясопептонным бульоном — МПБ, центрифугируют и осадком заражают лабораторных животных.

Параллельно с бактериологическим исследованием из исследуемого материала готовят мазки-отпечатки, которые окрашивают по Романовскому—Гимзе. В мазках из органов можно обнаружить мелкие кокковидные и палочковидные бактерии, которые располагаются внутриклеточно и в виде скоплений, образуя нежную капсулу.

Для серодиагностики используют развернутую реакцию агглютинации, РПГА, РСК на холоде, РИФ.

Аллергические пробы применяют для ранней диагностики туляремии (с 5-го дня от начала болезни). Используют два вида тулярина и, соответственно, 2 способа их введения: кожный и внутрикожный. Так как концентрация аллергена в обоих видах тулярина различная, недопустимо использовать кожный тулярин для внутрикожной пробы и наоборот.

Результаты аллергической реакции учитывают в динамике через 24–36–48 ч. За положительный результат принимают инфильтрат диаметром не менее 5 мм. У вакцинированных или переболевших туляремией лиц в течение ряда лет аллергические пробы остаются положительными (анамнестическая реакция).

Лечение. Применяют антибиотики стрептомицинового и тетрациклинового ряда. В случаях затяжного течения заболевания проводят комбинированную антибиотикотерапию и вакцинотерапию с применением убитой лечебной вакцины, которая вводится различными путями в дозах от 1 до 15 млн микробных тел с интервалом 3–6 дней. Курс лечения 6–10 инъекций.

Профилактика. Проводится в направлении всех трех звеньев эпидемического процесса: мероприятия 1-й группы направлены на источник инфекции; мероприятия 2-й группы — на разрыв механизма и путей передачи; мероприятия 3-й группы — на восприимчивый коллектив. Для специфической профилактики применяют живую туляремию-вакцину, полученную отечественными учеными Б. Я. Эльбертом и Н. А. Гайским из штамма № 15. Вакцина обеспечивает прочный иммунитет при заражении европейским и голарктическим подвидами и эффективна против американской разновидности возбудителя. Вакцинацию проводят по эпидемическим показаниям, а также лицам, относящимся к группам риска. Допускается одновременная вакцинация против туляремии и бруцеллеза; туляремии и чумы; а также против туляремии и некоторых других инфекций.

Не специфическая профилактика такая же, как при других зоонозах, и направлена, в первую очередь, на борьбу с грызунами.

16.3.4. Легионеллы (род *Legionella*)

Болезнь легионеров (син. питтсбургская пневмония, лихорадка Понтиак, лихорадка Форт-Брагг) — группа инфекционных болезней, вызываемых *Legionella pneumophila*, характеризующихся поражением респираторного тракта, развитием тяжелых пневмоний и сопровождающихся нарушениями со стороны ЦНС и почек.

Болезнь получила название в связи со вспышкой среди участников съезда организации «Американский легион» в 1976 г. в г. Филадельфии (США).

Морфологические и культуральные свойства. Возбудитель был открыт в 1977 г. Д. Мак-Дейдом и С. Шепардом; отнесен к семейству *Legionellaceae* роду *Legionella* и является наиболее важным представителем этого рода.

Легионеллы — грамотрицательные палочки размером $2 \div 3 \times 0,5 \div 0,7$ мкм, иногда встречаются нитевидные формы до 20 мкм; подвижны, имеют жгутики и фимбрии. Спор не образуют. Характерно наличие внутренней и внешней мембран; полисахаридная капсула отсутствует; имеют внутриклеточные жировые вакуоли, а также множество рибосом. Нуклеоид диффузно распределен в цитоплазме. Геномная ДНК имеет молекулярную массу $2,5 \times 10^9$ Да, что соответствует примерно 3000 генов. Аэробы. Требовательны к условиям культивирования. Растут при определенном наборе аминокислот, ростовых факторов, рН среды и температуре 37°C на искусственных питательных средах (угольно-дрожжевом агаре). Легионеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами, поэтому растут в желточном мешке куриных эмбрионов, в культуре клеток животных и человека (фибробласты легкого человека). Время генерации составляет 2–4 ч, характерно высокое накопление возбудителя (до 10^{12} – 10^{13} микробных клеток/мл).

На плотной среде через 3–5 суток образуют характерные колонии с коричневым пигментом, диффундирующим в агар.

Легионеллы имеют сложную ферментативную систему: набор протеолитических ферментов, эстераз, гликолитических ферментов. Ферментативная активность зависит от среды культивирования и условий обитания.

Антигенность и вирулентность. Антигенная структура достаточно сложная, основными антигенами являются тип- и группоспецифические. По антигенам у легионелл выделяют не менее 8 серогрупп. Имеется антигенное родство между *L. pneumophila* и *Chlamydia psittaci*.

Факторами патогенности являются термостабильный белково-полисахаридный эндотоксин, проявляющийся гемолитической

активностью, и цитолизин, обладающий цитотоксическим, а также протеолитическим действием.

Резистентность. Легионеллы устойчивы к действию физических и химических факторов. Устойчивость к большинству дезинфектантов такая же, как у неспорообразующих бактерий. Чувствительны к УФ-облучению, а также к антибиотикам (рифампицин, эритромицин, тетрациклин и др.). В водопроводной воде и водоемах выживают до одного года.

К легионеллам чувствительны морские свинки, белые мыши, обезьяны (гамадрилы, макаки).

Эпидемиология. Легионеллы распространены повсеместно, обитают в естественных и искусственных водоемах, часто паразитируют в амебах. Наибольшее эпидемиологическое значение имеет наличие возбудителя в системах водоснабжения и кондиционирования воздуха. Поступление возбудителя в организм происходит при вдыхании водных аэрозолей, образующихся в душевых, в кондиционерах, в ваннах. Заболевания чаще встречаются в летне-осенние месяцы, от больного человека здоровому не передается. Легионеллез зарегистрирован в странах Европы, в том числе в России и в США.

Заболевания животных и птиц неизвестны.

Патогенез и клиника. Входные ворота инфекции — дыхательные пути. Возбудитель вызывает пневмонию, т. е. воспалительно-некротическое воспаление, захватывающее бронхиолы и альвеолы. При гибели бактерий высвобождается эндотоксин, который вызывает интоксикацию, обуславливает системное поражение с дыхательной и почечной недостаточностью, энцефалопатией, нарушениями деятельности сердечно-сосудистой системы.

Инкубационный период — от 2 до 10 дней. Выделяют три клинические формы легионеллеза: 1) болезнь легионеров, протекающую с тяжелой пневмонией; 2) лихорадка Понтиак — респираторное заболевание без пневмонии; 3) лихорадка Форт-Браг — острое лихорадочное заболевание с экзантемой.

Заболевание начинается остро, протекает с повышенной до 40°C температурой, ознобом, головными болями, кашлем с мокротой (иногда с примесью крови), недомоганием, диареей и другими симптомами. Иногда раз-

вивается инфекционно-токсический шок со смертельным исходом. Летальность при легионеллезе достигает 20 %.

Иммунитет. Иммунитет после перенесенного заболевания носит выраженный клеточный характер, штаммоспецифичен. Антитела и фагоцитоз большой роли не играют.

Микробиологическая диагностика. Поскольку клиническая диагностика легионеллеза сложна, решающими при постановке диагноза являются данные микробиологических и серологических исследований: обнаружение на 2–10-е сутки антигенов в крови и в моче (в ИФА, РИА и другими методами с помощью моноклональных антител), обнаружение через 1–3 недели антител в крови (ИФА). Применяют генодиагностику (ПЦР), а также выявление возбудителя в мокроте, слизи, биоптатах. Для посева материала обычно используют среду Мюллера—Хинтона с добавлением солей железа и L-цистеина. Можно использовать биопробу на морских свинках или белых мышах.

Лечение. Применяют антибиотики: эритромицин в сочетании с рифампицином. Могут применяться фторхинолоны.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Меры неспецифической санитарно-гигиенической профилактики сводятся в основном к гигиеническому содержанию, периодической очистке кондиционеров, душевых установок, выявлению водного резервуара возбудителей и его оздоровлению.

16.3.5. Бартоanelлы (род *Bartonella*)

Бартоanelлы объединяют группу грамотрицательных факультативно-аэробных внутриклеточных бактерий, нуждающихся для своего роста в гемине или продуктах расщепления эритроцитов. Бартоanelлы вызывают ряд болезней, именуемых бартоanelлезами.

Возбудители бартоanelлезов выделены в отдельные семейство *Bartonellaceae* подгруппы альфа-2 протеобактерий, включающее 12 видов, 5 из которых патогенны для человека.

Морфологические и культуральные свойства. Бартоanelлы — короткие палочки размером $0,3\text{--}0,5 \times 1\text{--}3$ мкм, иногда кокковидной формы.

Грамотрицательны, по Романовскому—Гимзе окрашиваются в красно-фиолетовый цвет. Для *B. henselae* и *B. bacilliformis* характерно наличие 1–4 жгутиков, имеются пили. Бактерии имеют трехслойную клеточную стенку, состоящую из 12 протеинов (молекулярная масса 28–174 кДа); размер генома невелик.

Внутриклеточные паразиты, размножаются простым делением в эритроцитах и клетках системы моноцитарных фагоцитов, эндотелиальных клетках; требовательны к условиям культивирования. Растут на сложных питательных средах, содержащих кровь, могут культивироваться в РКЭ, в платяных вшах, кошачьих блохах. Оптимальная температура 26–37 °С.

Бартоanelлы чувствительны к действию обычных дезинфектантов.

Факторы патогенности. Плохо изучены. Известно, что внедрение бартоanelл в клетку происходит с помощью адгезинов, т. е. протеинов внешней мембраны. На месте внедрения иногда возникает «первичный аффект» (например, при болезни кошачьих царапин). Основными мишенями бартоanelл являются эритроциты и эндотелиальные клетки. В местах прикрепления бартоanelл к чувствительным клеткам формируются скопления (кластеры) микроорганизмов, возникает воспалительная реакция с разрастанием клеток эндотелия и прилегающих тканей. Часть клеток эндотелия подвергается некрозу. В результате этого процесса развивается ангиоматоз или лимфоаденопатия с поражением клеток костного мозга и эритроцитов. Бактерии при этом могут быть обнаружены в эритроцитах и клетках эндотелия сосудов, селезенки, лимфатических узлах, печени, костного мозга, кожи.

Эпидемиология, клиника и диагностика. Человек высоковосприимчив к некоторым видам бартоanelл. Резервуаром и источником возбудителя является больной или носитель, иногда — обезьяны. Механизм передачи трансмиссивный или парентеральный.

Бартоanelлез широко распространен, встречается в Южной и Северной Америке, а также в Европе, в том числе в России. Клиника болезней, вызываемых бартоanelлами, крайне разнообразна — от легких местных расстройств лимфо- и кровообращения (болезнь кошачьих царапин, лимфоаденопатия, бациллярный ангиоматоз кожи) до более тяжелых

острых, часто рецидивирующих (траншейная лихорадка) или длительно текущих болезней (пурпурный гепатит, эндокардит, перуанская бородавка и др.). Наиболее злокачественно протекает лихорадка Оройя, при которой смертность достигает 40 %.

После перенесенного заболевания остается иммунитет.

Диагноз ставится на основании клинико-эпидемиологических данных и подтверждается микробиологическими методами. Исследуют микроскопически мазки крови, окрашенные по Романовскому—Гимзе, применяют посев крови на среды с кровяным агаром, заражение РКЭ, культур клеток, а также серологические методы (РСК, РПГА, ИФА) и ПЦР.

Лечение. Прогноз зависит от формы барто-неллеза. Лечение — антибиотиками (группа тетрациклина, макролиды, фторхинолоны), а также другими антибактериальными препаратами.

Специфическая профилактика не разработана. Неспецифические меры борьбы сводятся к уничтожению переносчиков (москиты, вши, блохи, клещи), устранению контактов с больными, санации домашних животных (кошек).

Возбудитель болезни кошачьих царапин (син. лимфоретикулез доброкачественный). Известен в США, Франции и России. Возбудитель *B. henselae* назван в честь Д. Хенсель, выделившей возбудителя.

Заражение человека происходит контактным путем, через повреждения кожи или конъюнктиву глаза. Инкубационный период 3–12 суток. Проявляется в виде одиночных или группы папул, а также папулопустул на месте царапин или укуса кошки с последующим развитием лимфаденита и нарушением общего самочувствия. Возможно заражение через укус кошачьих блох.

Лечение — антибиотиками. Прогноз благоприятный.

Возбудитель окопной или траншейной лихорадки (син. воынская лихорадка и др.). Возбудитель *B. quintana*. Острая форма барто-неллеза, отличается полиморфностью клинического проявления с острым началом (тем-

пература 39–39,5 °С), нарушением общего самочувствия, появлением розеолезной сыпи (у 20–80 %). Возможны повторные приступы лихорадки и рецидивы.

Заражение — фекалиями платяных вшей через расчески. Заболевание неконтагиозно. Инкубационный период 10–14 суток. Прогноз благоприятный. Диагноз ставится на основании клинико-эпидемиологических данных, а также обнаружения антигенов и антител в крови. Применяют ПЦР. **Иммунитет** непродолжительный. **Лечение** — антибиотиками.

Возбудитель болезни Карриона (*B. bacilliformis*). Болезнь распространена в Южной Америке (Перу, Эквадор, Колумбия и др.). Выделяют две формы: 1) острая, протекающая с высокой температурой, резко выраженной анемией и летальностью до 40 %, известная как лихорадка Оройя; 2) кожная форма, развивающаяся спустя 1–2 мес. после острой формы с формированием на коже и слизистых оболочках сыпи и множественных кровотокающих папул. Болезнь получила название перуанской бородавki.

Тождество двух форм болезни доказано студентом медицинского факультета г. Лимы Д. Каррионом (в опыте самозаражения), по имени которого и названо заболевание.

Переносчиками инфекции являются москиты. Инкубационный период 17–21 сут. Резервуар возбудителя — мышевидные грызуны. Заболевание неконтагиозно. После перенесенного заболевания остается пожизненный иммунитет.

Клинико-эпидемиологический **диагноз** подтверждается выявлением барто-нелл в крови и серологическими реакциями.

Лечение — антибиотиками.

16.3.6. Аэробные неферментирующие грамотрицательные палочки

Группа аэробных неферментирующих бактерий включает оксидазаположительные грамотрицательные палочки, окисляющие, а не ферментирующие углеводы (см. ниже). К неферментирующим относят представителей родов *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Eikenella*, *Flavobacterium*, *Kingella*, *Moraxella* и некоторые другие. Многие из этих бактерий хорошо растут на простых пита-

тельных средах и в норме обитают в окружающей среде (почве, воде, на растениях), а также обнаруживаются в организме человека. В то же время они являются возбудителями оппортунистических инфекций человека и животных.

16.3.6.1. Псевдомонады (род *Pseudomonas*)

Таксономическое положение. Псевдомонады и буркгольдерии относятся к семейству *Pseudomonadaceae*. Современная классификация псевдомонад основана на методах молекулярной гибридизации и культуральных особенностях микроорганизмов. Некоторые бактерии рода *Pseudomonas* сравнительно недавно получили новое наименование — *Burkholderia*.

Род *Pseudomonas* включает вид *Pseudomonas aeruginosa* — синегнойную палочку, возбудитель многих ГВЗ; род *Burkholderia* — виды *Burkholderia (Pseudomonas) mallei* — возбудитель сапа и *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei* — возбудитель мелиоидоза и другие.

Pseudomonas aeruginosa (синегнойная палочка)

А. Люкке в 1862 г. было впервые описано нагноение раны с характерным сине-зеленым окрашиванием повязок, вызванное синегнойной палочкой. В чистой культуре *Pseudomonas aeruginosa* была выделена лишь в 1882 г. С. Жессаром. *P. aeruginosa* относится к семейству *Pseudomonadaceae*.

Морфологические и тинкториальные свойства. Это грамотрицательные прямые палочки размером $0,5 \div 1,0 \times 1,5 \div 5,0$ мкм, расположенные одиночно, попарно или в виде коротких цепочек. Синегнойные палочки подвижны за счет наличия одного, редко двух полярно расположенных жгутиков. Спор не образуют, имеют пили (фимбрии). При определенных условиях могут продуцировать капсулоподобную внеклеточную слизь полисахаридной природы. Встречаются также, так называемые, мукоидные штаммы, образующие повышенное количество слизи. Такие бактерии выделяются чаще всего из мокроты больных муковисцидозом.

Культуральные свойства. Все псевдомонады — облигатные аэробы, которые хорошо растут на простых питательных средах. Возбудитель довольно часто находится в патологическом

материале в ассоциации с другими микроорганизмами, поэтому для выделения чистой культуры синегнойной палочки применяют селективные или дифференциально-диагностические питательные среды с добавлением антисептиков — малахитовый агар с добавлением бриллиантового зеленого или ЦПХ-агар с ацетамидом или N-цетипиридоний хлоридом. Оптимальная температура роста 37 °С, однако синегнойная палочка способна расти при 42 °С, что позволяет отличать ее от других псевдомонад. На жидкой питательной среде бактерии образуют характерную серовато-серебристую пленку на поверхности. Колонии синегнойной палочки гладкие округлые, суховатые или слизистые (у капсульных штаммов). Культуры синегнойной палочки, выделенные от больных муковисцидозом, продуцируют мукоидные колонии вследствие избыточной продукции альгината и экзополисахаридов. На кровяном агаре вокруг колоний синегнойной палочки наблюдаются зоны гемолиза.

При культивировании на плотных питательных средах *P. aeruginosa* продуцирует триметиламин, придающий культурам этих бактерий своеобразный сладковатый запах жасмина, земляничного мыла или карамели. Характерным биологическим признаком бактерий вида *P. aeruginosa* является способность синтезировать водорастворимые пигменты, окрашивающие в соответствующий цвет повязки больных или питательные среды при их культивировании. Чаще всего они вырабатывают феназиновый пигмент — пиоцианин сине-зеленого цвета, но могут образовывать и зеленый флюоресцирующий в УФ-лучах пигмент флюоресцеин (пиовердин), а также красный (пиорубин), черный (пиомеланин) или желтый (α -оксифеназин).

Биохимические свойства. Синегнойная палочка обладает низкой сахаролитической активностью: не ферментирует глюкозу и другие углеводы, однако для получения энергии способна их окислять. Для дифференциальной диагностики, позволяющей отличать псевдомонады от других грамотрицательных палочек, применяют OF-тест (тест окисления-ферментации глюкозы) на среде Хью-Лейфсона. С этой целью делают посев чистой культуры псевдомонад в две пробирки с этой

полужидкой или, иногда, жидкой средой. Одну пробирку инкубируют в аэробных условиях, другую — в анаэробных. Псевдомонады способны только окислять глюкозу (цвет индикатора меняется только в пробирке после аэробного инкубирования). *P. aeruginosa* восстанавливает нитраты в нитриты, редуцируя их до газообразного азота, а также обладает протеолитической активностью: разжижает желатину, гидролизует казеин. Синегнойная палочка имеет каталазу и цитохромоксидазу (псевдомонады оксидазапозитивны), участвующую в переносе электронов при дыхании.

Многие штаммы синегнойной палочки продуцируют бактериоцины, называемые пиоцинами, — протеины, обладающие бактерицидными свойствами. Для эпидемиологического маркирования и внутривидовой идентификации *P. aeruginosa* проводят пиоцинотипирование штаммов, выделенных от больных и из окружающей среды. С этой целью определяют спектр продуцируемых исследуемым штаммом пиоцинов или чувствительность этого штамма к пиоцинам других псевдомонад.

Антигенные свойства. Синегнойная палочка имеет сложную антигенную структуру: у нее обнаружены O- и H-антигены. Липополисахарид клеточной стенки является типом- или группоспецифическим термостабильным O-антигеном, на основе которого проводят серотипирование штаммов *P. aeruginosa*. Термолabile Н-антиген бывает двух типов и обладает протективным действием, поэтому на его основе созданы вакцинные препараты. На поверхности клеток синегнойной палочки обнаружены также антигены пилей (фимбрий). Кроме того, *P. aeruginosa* продуцирует целый ряд внеклеточных продуктов, обладающих антигенными свойствами: экзотоксин А, протеазу, эластазу, внеклеточную слизь.

Факторы патогенности. *P. aeruginosa* обладает целым рядом факторов патогенности, которые вовлечены в патогенез синегнойной инфекции.

Факторы адгезии и колонизации. Адгезивные свойства бактерий определяются наличием пилей (фимбрий) на поверхности клеток *P. aeruginosa*. Синегнойная палочка обладает тропизмом к эпителию мочевого пузыря, респираторного тракта, конъюнктивы глаз.

Экстрацеллюлярная слизь синегнойной палочки покрывает поверхность микробной клетки, но в отличие от капсулы, не имеет четких границ и легко выделяется во внешнюю среду. **Гликолипопротеид**, входящий в состав внеклеточной слизи *P. aeruginosa*, также принимает участие в процессе адгезии (преимущественно на мушине эпителии дыхательных путей). Это капсулоподобное вещество обладает антигенными и токсическими свойствами, защищает бактерии от фагоцитоза, вызывает лейкопению. Мукоидные штаммы синегнойной палочки, продуцирующие большое количество слизи, обуславливают хроническое течение заболевания, в особенности при муковисцидозе, остеомиелите, хроническом отите.

Токсины. ЛПС наружной мембраны клеточной стенки *P. aeruginosa* обладает свойствами **эндотоксина** и участвует в развитии лихорадки, олигурии, лейкопении у больных.

Экзотоксин А синегнойной палочки является цитотоксином, который вызывает глубокие нарушения клеточного метаболизма в результате подавления синтеза белка во всех клетках и тканях. Подобно дифтерийному токсину, он является АДФ-рибозилтрансферазой, которая ингибирует фактор элонгации EF-2 и поэтому вызывает нарушение синтеза белка. Доказано, что он также подавляет синтез иммуноглобулинов, вызывает нейтропению. Экзотоксин А обладает высокой летальностью при введении его в очищенном виде животным. Например, при внутрибрюшинном введении мышам 0,1 мг токсина они погибают через 40–50 ч после инъекции. Токсинообразование у различных штаммов синегнойной палочки контролируется структурным геном в составе хромосомы, а также регуляторным геном-репрессором при участии ионов железа. Экзотоксин А продуцируется в неактивной форме и активируется при участии различных ферментов внутри организма. Экзотоксин А является протективным антигеном: антитоксические антитела защищают клетки хозяина от его повреждающего действия, а также препятствуют развитию бактериемии и синегнойного сепсиса.

Экзоэнзим S (экзотоксин S) обнаруживается только у высоковирулентных штаммов синегнойной палочки. Механизм его повреждающего действия на клетки пока неясен, од-

нако известно, что инфекции, обусловленные экзоэнзим S-продуцирующими штаммами синегнойной палочки, нередко заканчиваются летально. Экзотоксины А и S нарушают также активность фагоцитов.

Лейкоцидин является цитотоксином с выраженным токсическим воздействием на гранулоциты крови человека.

Энтеротоксин и факторы проницаемости играют определенную роль в развитии местных тканевых поражений при кишечных формах синегнойной инфекции, вызывая нарушения водно-солевого обмена.

Ферменты агрессии. *P. aeruginosa* продуцирует **гемолизины** двух типов: термолабильную **фосфолипазу С** и термостабильный **гликолипид**. **Фосфолипаза С** разрушает фосфолипиды в составе сурфактантов на альвеолярной поверхности легких, вызывая развитие ателектазов (бронхоэктазов) при бронхолегочной патологии.

Нейраминидаза участвует в колонизации муцина респираторного тракта, поэтому играет важную роль в патогенезе бронхолегочных заболеваний синегнойной этиологии и муковисцидоза.

Различные протеолитические ферменты (**протеазы** трех типов, **эластаза**), а также **экзотоксин А** вызывают гемorragии, деструкцию тканей и некроз в очагах поражения при инфекциях глаз, пневмониях, септицемии синегнойной этиологии. **Эластаза** синегнойной палочки расщепляет эластин, казеин, фибрин и гемоглобин. **Протеаза** разрушает сывороточные IgA. Высокая протеолитическая активность штаммов *P. aeruginosa* является маркером их патогенности.

Резистентность. Отличительной особенностью *P. aeruginosa* является очень ограниченная потребность в питательных веществах, что обеспечивает ей сохранение жизнеспособности в условиях почти полного отсутствия источников питания. Известно, что синегнойная палочка хорошо сохраняется в пресной, морской и даже дистиллированной воде. В водопроводной воде *P. aeruginosa* живет и размножается более 2,5 месяцев. Доказано также, что культуры синегнойной палочки сохраняют жизнеспособность даже в растворах дезинфицирующих средств (например, фурациллина), предназначенных для хранения катетеров и различных медицинских

инструментов, промывания ран в ожоговых и хирургических стационарах.

В то же время *P. aeruginosa* чувствительна к высушиванию, действию хлорсодержащих дезинфицирующих препаратов. Она легко инактивируется при воздействии высоких температур (при кипячении, автоклавировании).

Довольно высокая устойчивость *P. aeruginosa* к антибиотикам объясняется плохой проницаемостью наружной мембраны бактерий из-за врожденного дефекта поринов, а также способностью синтезировать пенициллиназу.

Экология псевдомонад. Естественной средой обитания псевдомонад являются почва и различные пресные и соленые водоемы. Однако они широко распространены не только в природе. Около 5–10 % здоровых людей являются носителями различных штаммов *P. aeruginosa* (они в норме колонизируют кишечник) и около 70 % пациентов, находящихся в стационаре. В клинике псевдомонады также встречаются повсеместно: в водопроводных и вентиляционных системах, на фруктах и овощах, комнатных растениях, на поверхности мыла, щетках для мытья рук, полотенцах, в дыхательных аппаратах и т. д. Способность псевдомонад расти в очень слабых водных растворах веществ и в дистиллированной воде, применяемой для приготовления различных растворов, объясняет их возможное присутствие в препаратах антисептиков, детергентов и в растворах для инъекций.

Эпидемиология. Заболевание может развиваться в результате аутоинфицирования (эндогенное заражение) или экзогенно. Источником инфекции являются люди (больные или бактерионосители), а также различные естественные резервуары природы. Поэтому синегнойную инфекцию можно считать сапроантропонозом. Механизмы и пути заражения при инфекциях, вызванных синегнойной палочкой, могут быть различными: возможны контактный, респираторный, кровяной или фекально-оральный механизмы заражения.

Синегнойная инфекция может возникнуть как у иммунодефицитных лиц с тяжелой сопутствующей патологией (сахарный диабет, ожоговая болезнь, лейкоз, муковисцидоз, иммуносупрессия при онкологических заболеваниях и трансплантации органов), так и на фоне нормальной иммунологической реактивности

организма. Показано, что адгезивная активность *P. aeruginosa* усиливается при повышении температуры окружающей среды и атмосферного давления, поэтому посещение бассейна, бани, принятие лечебных ванн также могут спровоцировать синегнойную инфекцию.

Синегнойная палочка является возбудителем внутрибольничных (госпитальных) инфекций, т. е. заболеваний, возникающих у людей, находящихся на лечении в стационаре. Заражение синегнойной инфекцией в клинике может быть связано с медицинскими манипуляциями (катетеризация мочевого пузыря, эндоскопическое исследование, промывание ран, перевязка, обработка антисептиками ожоговой поверхности, применение аппарата для искусственной вентиляции легких и др.), когда инфицирование происходит через грязные руки персонала, инструменты или при использовании контаминированных растворов.

Патогенез. Синегнойные палочки обычно проникают в организм человека через поврежденные ткани. Прикрепляясь, они заселяют раневую или ожоговую поверхность, слизистые оболочки или кожу, и размножаются. При отсутствии у человека иммунных механизмов против синегнойной инфекции локальный процесс (инфекция мочевыводящих путей, кожи, респираторного тракта) может генерализоваться. Бактериемия приводит к диссеминации возбудителя и развитию сепсиса, часто приводящего к формированию вторичных гнойных очагов инфекции. Под воздействием факторов патогенности (экзотоксина, ферментов агрессии) происходит нарушение функционирования органов и систем. Как осложнение, может развиваться синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания, шок, а также респираторный дистресс-синдром.

Клиника. Синегнойная палочка вызывает ГВЗ различной локализации: раневые инфекции, ожоговую болезнь, менингиты, инфекции мочевыводящих путей, кожи (гангренозная эктима, *ecthyma gangrenosum*), заболевания глаз (кератит), некротическую пневмонию, сепсис. *P. aeruginosa* является возбудителем злокачественного наружного отита у диабетиков. Смертность от синегнойного сепсиса составляет около 50 %.

Иммунитет. В сыворотке крови здоровых людей, а также переболевших инфекциями синегнойной этиологии обнаруживают антитоксические и антибактериальные антитела, однако эти антитела типоспецифические и их роль в защите от повторных заболеваний мало изучена.

Микробиологическая диагностика. *Материал для исследования:* кровь (при септицемии), ликвор (при менингите), гной и раневое отделяемое (при инфицированных ранах и ожоговых поражениях), моча (при инфекциях мочевыводящих путей), мокрота (при муковисцидозе и инфекциях респираторного тракта) и др. Бактериоскопия мазков из исследуемого материала малоинформативна из-за отсутствия у синегнойной палочки морфологических и тинкториальных особенностей. Основным методом диагностики является бактериологическое исследование клинического материала, которое позволяет не только идентифицировать возбудитель, но и определить чувствительность бактерий к антимикробным препаратам. При идентификации *P. aeruginosa* учитывают их рост на ЦПХ-агаре, возможное пигментообразование, наличие специфического запаха при росте культуры на плотной питательной среде, положительный цитохромоксидазный тест, выявление термофильности (рост при 42 °С), а также способность окислять глюкозу в OF-тесте. Для внутривидовой идентификации бактерий применяют серотипирование, пиоцитипирование, а также определяют чувствительность выделенной культуры к бактериофагам.

Серологический метод исследования направлен на обнаружение специфических антител к антигенам синегнойной палочки (обычно экзотоксину А и ЛПС) с помощью РСК, РПГА, опсонофагоцитарной реакции и некоторых других тестов.

Лечение. При лечении синегнойной инфекции применяют антибиотики, причем рекомендуется использование комбинации препаратов из разных групп. Антимикробная терапия назначается только после получения результатов антибиотикограммы. При urgentных инфекциях антибиотики назначаются эмпирически. Препаратами выбора являются цефалоспорины (цефтазидим, цефоперазон) и другие β-лактамы препараты (тикарциллин, мезлоциллин, пиперациллин, имипенем), аминогликозиды

(гентамицин, тобрамицин, амикацин), а также азтреонам и ципрофлоксацин.

Для лечения тяжелых форм синегнойной инфекции применяют также гипериммунную плазму, полученную из крови добровольцев, иммунизированных поливалентной корпускулярной синегнойной вакциной.

При местном лечении инфекций кожи (трофических язвах, эктимах, ожоговых ранах), вызванных *P. aeruginosa*, применяют антисинегнойный гетерологичный иммуноглобулин, получаемый из сыворотки крови баранов, гипериммунизированных взвесью культур синегнойных палочек 7 различных иммунотипов, убитых формалином.

Кроме того, для лечения гнойных инфекций кожи, абсцессов, термических ожогов, осложненных синегнойной инфекцией, циститов, маститов и др. заболеваний синегнойной этиологии (кроме сепсиса) можно применять синегнойный бактериофаг («бактериофаг пиоцианеус») или поливалентный жидкий полибактериофаг.

Специфическая профилактика. Эффективная стерилизация, дезинфекция и антисептика, а также соблюдение правил асептики являются основными мерами неспецифической профилактики синегнойной инфекции в стационаре. План профилактических мероприятий обязательно должен включать контроль за обсемененностью объектов внешней среды (воздух, различные предметы, инструменты и аппаратура), соблюдение правил личной гигиены.

С целью неспецифической профилактики больным также рекомендуется назначать иммуномодуляторы.

Пациентам с ослабленным противоионическим иммунитетом показана также пассивная специфическая иммунизация гипериммунной плазмой или нормальным человеческим иммуноглобулином в профилактических целях.

Для создания активного иммунитета применяют вакцины. В настоящее время известно много способов получения вакцин против синегнойной инфекции: имеются вакцины из ЛПС, полисахаридные субкорпускулярные (химические) вакцины, рибосомные вакцины, препараты из жгутиковых антигенов и компонентов внеклеточной слизи, а также анатоксины из внеклеточных протеаз и экзотоксина

А. Активная иммунизация против инфекций, вызываемых *P. aeruginosa*, показана больным из групп риска (пациентам с муковисцидозом, диабетом, а также иммунодефицитным лицам). Однако в связи с тем, что иммунный ответ на вакцинные препараты у людей с иммунодефицитами бывает поздним и не всегда полноценным, большое значение придается комбинированию методов активной и пассивной иммунизации. В нашей стране применяются поливалентная корпускулярная синегнойная вакцина (из 7 штаммов *P. aeruginosa*) и стафило-протейно-синегнойная вакцина.

16.3.6.2. Буркхольдерии (род *Burkholderia*)

Возбудитель сапа — *Burkholderia (Pseudomonas) mallei*

Сап — зооантропонозная особо опасная инфекция, которая характеризуется острым или хроническим течением с образованием гранулем, пустул и абсцессов в различных органах.

Возбудитель сапа — *Burkholderia mallei* был открыт в 1882 г. Ф. Леффлером и Х. Шутцем.

Биологические свойства. Возбудитель сапа — мелкая грамтрицательная палочка; жгутиков, спор и капсул не имеет. Аэроб. Хорошо растет на простых питательных средах, пигмента не образует. Штаммы возбудителя сапа различаются по антигенной структуре. Ведущим фактором патогенности является эндотоксин (маллеин), который действует на клетки гладкой мускулатуры различных органов, вызывает лихорадку и снижение массы тела.

Резистентность. *Burkholderia mallei* чувствительна к высушиванию, нагреванию и многим дезинфектантам (кроме лизола). Во влажной среде и гниющих материалах сохраняется около месяца.

Эпидемиология

Основным резервуаром возбудителя и источником инфекции являются парнокопытные животные (лошади, ослы, мулы, верблюды, зебры), а также хищники, поедающие мясо этих животных. Случаи заражения человека от животных обычно связаны с профессиональной деятельностью человека (ветери-

нарные врачи, работники животноводства). Заболевание может передаваться от человека к человеку, однако заболеваемость людей обычно носит спорадический характер. Описаны случаи внутрисемейного заражения сапом.

Механизм заражения чаще всего контактный (при уходе за больными животными), возможны также фекально-оральный (путь заражения — пищевой) и респираторный механизмы передачи возбудителя.

Сапвстречается в странах Средиземноморья, Юго-Восточной Азии. В России существует опасность завоза инфекции из-за рубежа.

Патогенез и клиника. Входными воротами инфекции являются слизистые оболочки глаз, носа, верхних дыхательных путей, поврежденные кожные покровы. На месте проникновения возбудителя образуются папулы, которые затем превращаются в пустулы и язвы. Инфекционный процесс редко носит локальный характер. При сапе наблюдается бактериемия, септицемия с образованием вторичных гнойных очагов в мышцах и внутренних органах.

Инкубационный период составляет в среднем 1–5 дней. Заболевание протекает тяжело. Во внутренних органах формируются гранулемы и абсцессы. Острая форма сапа длится 7–14 дней и в 100 % случаев заканчивается летально.

Иммунитет. Изучен плохо.

Микробиологическая диагностика. Основана на обнаружении возбудителя в отделяемом из носа, в содержимом гнойных язв, мокроте или крови, а также в секционном материале после аутопсии. Исследование проводят только в специализированных лабораториях с соблюдением правил работы с возбудителями особо опасных инфекций. Применяют бактериоскопический (ориентировочный), бактериологический (выделение и идентификация возбудителя) и серологический (РСК, реакция агглютинации) методы. Кожно-аллергическая проба с маллеином (фильтратом бульонной культуры возбудителя) также позволяет поставить диагноз сапа.

Лечение. Применяют антибиотики — аминогликозиды, тетрациклины.

Специфическая профилактика. Не разработана. Неспецифическая профилактика сапа включает тщательное соблюдение правил индивидуальной защиты при уходе за больными

животными и при работе с инфекционным материалом, а также ветеринарный надзор с целью выявления больных животных и инфицированных продуктов животного происхождения.

Возбудитель мелиоидоза — *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei*

Возбудитель мелиоидоза (ложного сапа) — *Burkholderia pseudomallei* был выделен в 1912 г. английским врачом Р. Уайтмором в Бирме.

Биологические свойства. *Burkholderia pseudomallei* — мелкая подвижная неспорообразующая грамотрицательная палочка. Окрашивается биполярно. Аэроб. Хорошо растет на простых питательных средах, образует кремовые или оранжевые колонии, гладкие или шероховатые. Растет медленно (около 72 ч). Подобно синегнойной палочке, может расти при температуре 42 °С. Окисляет глюкозу, лактозу и некоторые другие углеводы. Имеет О- и Н-антигены. Среди факторов патогенности называют летальный и дерматонекротический токсины, ЛПС, протеазы и гемолизин.

Резистентность. *Burkholderia pseudomallei* довольно устойчива в окружающей среде: в отличие от возбудителя сапа, сохраняет жизнеспособность при высушивании, в течение месяца сохраняется в моче, фекалиях и трупах животных. Однако весьма чувствительна к различным дезинфектантам.

Эпидемиология. Возбудитель мелиоидоза распространен в природе: его выделяют из образцов почвы, воды, на рисовых полях, с поверхности овощей и фруктов.

Мелиоидоз — зоонозное инфекционное заболевание, протекающее по типу септикопиемии.

Источником инфекции являются грызуны, различные сельскохозяйственные (свиньи, лошади, крупный и мелкий рогатый скот) и дикие животные. Случаев заражения человека от человека не описано.

Возбудитель проникает в организм человека через поврежденную кожу (контактный механизм заражения), слизистые оболочки (респираторный и фекально-оральный механизмы). Не исключается также заражение через пере-

носчиков (кровяной механизм, путь передачи инфекции — трансмиссивный). Естественная восприимчивость людей невысокая.

Мелиоидоз — эндемичное заболевание, встречается преимущественно в странах Юго-Восточной Азии и Австралии.

Патогенез и клиника. Патогенез мелиоидоза мало изучен. Из первичного очага возбудитель быстро попадает в кровь, вызывая бурную интоксикацию. Оседая в различных внутренних органах, он приводит к возникновению множественных абсцессов.

Инкубационный период составляет в среднем 2–3 дня. Заболевание протекает остро, хотя возможно и латентное течение. Болезнь в большинстве случаев заканчивается летально.

Иммунитет. Не изучен.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — кровь, моча, испражнения, мокрота, рвотные массы, гной, секционный материал. Применяемые методы исследования: бактериоскопический (обнаруживают биполярно окрашенные палочки), бактериологический (выделение и идентификация возбудителя), биологический (биопроба на мышах или морских свинках) и серологический (реакция агглютинации, РСК, РПГА).

Лечение. Применяют сульфаниламидные препараты и антибиотики.

Специфическая профилактика. Не разработана. Основные профилактические мероприятия сводятся к ветеринарному надзору и санитарно-разъяснительной работе в очагах возникновения болезни.

16.3.6.3. Кингеллы (род *Kingella*)

Бактерии рода *Kingella* получили свое название в честь американского бактериолога Э. Кинг, которая впервые подробно описала их. Кингеллы относят к группе так называемых неферментирующих грамотрицательных бактерий.

Кингеллы являются представителями нормофлоры полости рта и носоглотки, однако способны вызывать оппортунистические инфекции.

Таксономическое положение. Род *Kingella* включает 3 вида: *K. kingae*, *K. denitrificans*, *K. indologenes*, из которых *K. kingae* имеет наибольшее медицинское значение. Семейство кингелл не определено.

Морфологические и тинкториальные свойства. Кингеллы — грамотрицательные прямые палочки длиной

1 мкм с закругленными или квадратно очерченными концами, расположенные попарно или в виде коротких цепочек. Спор и капсул не образуют. Жгутиков не имеют. Обычно неподвижны, однако могут иметь фимбрии (пили), благодаря которым способны передвигаться рывками, особенно по поверхности твердого субстрата.

Культуральные свойства. Аэробы или факультативные анаэробы, лучше культивируются в аэробных условиях. Оптимальная температура роста 33–37 °С. Плохо растут на простых питательных средах, так как нуждаются в факторах роста животного происхождения. На кровяном агаре образуют зоны β-гемолиза.

Кингеллы способны образовывать колонии двух типов: 1) плоские, распространяющиеся по поверхности, вызывающие коррозию плотной питательной среды, — R-формы. Этот тип колоний связан со способностью бактерий к движению благодаря наличию фимбрий; 2) гладкие, выпуклые S-колонии, характерные для неподвижных кингелл, не имеющих фимбрий.

Биохимические свойства. Кингеллы обладают слабо выраженной биохимической активностью: сбраживают глюкозу и некоторые другие углеводы до кислоты, без газообразования. Обладают слабой протеолитической активностью: расщепляют казеин, могут образовывать индол на среде с триптофаном. Оксидазоположительны, каталазотрицательны.

Антигенные свойства. Мало изучены. Имеют O-антиген.

Факторы патогенности. Вирулентность кингелл, вероятно, определяется наличием эндотоксина, а также фимбриями. Адгезины бактерий и пили обеспечивают их способность к адгезии.

Резистентность. Кингеллы малоустойчивы в окружающей среде. Довольно быстро погибают при высоких температурах: уже при температуре 45 °С их гибель наступает через 10–15 мин. Они также высокочувствительны к антисептикам и антибиотикам (например, пенициллину, ампициллину и эритромицину).

Эпидемиология и клиника. Кингеллы выделяют со слизистых оболочек верхних дыхательных путей и полости рта человека, считая их представителями нормальной микрофлоры полости рта, комменсалами носоглотки человека.

Бактерии рода *Kingella* вызывают так называемые оппортунистические инфекции у лиц со сниженным иммунитетом. *K. kingae*, например, является возбудителем менингитов, артритов и остеомиелитов, а также септических эндокардитов, в особенности у пациен-

тов с искусственными клапанами сердца. Считается, что эти бактерии способны проникать в кровотоки даже при таких простых манипуляциях, как чистка зубов, если эта процедура сопровождается повреждением десен или другими микротравмами.

Иммунитет. Мало изучен.

Микробиологическая диагностика. Основана на применении бактериологического метода исследования различных клинических материалов: крови (при септическом эндокардите или септицемии), спинномозговой жидкости (при менингите), синовиальной жидкости (при септическом артрите) и др.

Лечение. Поскольку кингеллы отличаются высокой чувствительностью к β -лактамам антибиотикам и макролидам, пенициллин, ампициллин и эритромицин могут быть назначены при лечении заболеваний, вызванных этими микроорганизмами.

Специфическая профилактика. Не разработана.

16.3.6.4. Моракселлы (род *Moraxella*) и бранхамеллы (подрод *Branhamella*)

Бактерии рода *Moraxella* являются представителями нормальной микрофлоры слизистых оболочек верхних дыхательных путей человека и некоторых животных. Могут вызывать различные заболевания у людей с нарушениями иммунитета.

Подобно кингеллам, моракселлы также относятся к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий. Впервые были выделены офтальмологами В. Мораксом и К. Аксенфельдом в 1896 г. Бактерии подрода *Branhamella* названы так в честь американского бактериолога С. Э. Брэнэма (S. E. Branham).

Таксономическое положение. Семейство моракселл не определено. Род *Moraxella* разделен на два подрода. Подрод *Moraxella* объединяет 6 видов бактерий: *Moraxella lacunata* (типовой вид), *M. atlantae*, *M. bovis*, *M. nonliquefaciens*, *M. osloensis*, *M. phenylpyruvica*. К подроду *Branhamella* относятся следующие виды бактерий: *Branhamella catarrhalis*, *B. caviae*, *B. cuniculi*, *B. ovis*.

Морфологические и тинкториальные свойства. Моракселлы — это мелкие грамотрицательные палочки (подрод *Moraxella*) или кокки (подрод *Branhamella*), расположенные попарно или в виде коротких цепочек (размер $1,0 \div 1,5 \times 1,5 \div 2,5$ мкм). Для моракселл характерен плеоморфизм — в культурах наблюдается изменчивость размера и формы клеток: встречаются нитевидные клетки и длинные цепочки бактерий. Плеоморфизм моракселл усиливается в отсутствие кислорода или при температуре выше оптимальной. У бранхамелл клетки имеют форму кокков, они обыч-

но мелкие, расположены одиночно или попарно; соприкасающиеся стороны клеток уплощены.

Клеточная стенка моракселл имеет истинные воски. Все моракселлы образуют капсулу. Они неподвижны. Бактерии подрода *Moraxella* могут иметь фимбрии. Так же как и у кингелл, у моракселл имеется способность к движению рывками по твердой поверхности благодаря наличию фимбрий.

Культуральные свойства. Моракселлы — аэробы. Оптимальная температура роста $33-35$ °С, бранхамеллы могут расти и при 22 °С. Все бактерии рода *Moraxella* требовательны к составу питательных сред, нуждаются в добавлении аминокислот, биотина, лактата (сукцината) в качестве источника углерода и энергии.

Бактерии подрода *Moraxella* на плотных питательных средах могут образовывать два типа колоний: 1) шероховатые с неровными краями, иногда с коррозией питательной среды у фимбриеобразующих штаммов; 2) очень мелкие гладкие колонии с ровными краями у штаммов без фимбрий.

Бактерии, относящиеся к подроду *Branhamella*, образуют мутные складчатые колонии с приподнятым центром.

Биохимические свойства выражены слабо. Моракселлы относятся к неферментирующим бактериям, поэтому при утилизации углеводов кислотообразование не наблюдается. Могут восстанавливать нитраты. Каталаза- и оксидазапозитивны.

Branhamella catarrhalis по своим морфологическим и тинкториальным свойствам похожа на бактерии рода *Neisseria*, однако отличается от них по биохимическим свойствам: неспособностью окислять углеводы, а также ДНКазной активностью. *B. catarrhalis* продуцирует бутират эстеразу, обнаружение которой используется при экспресс-диагностике заболеваний, вызываемых этим микроорганизмом.

Антигенные свойства моракселл мало изучены.

Факторы патогенности. Вирулентность моракселл определяется наличием эндотоксина, фимбрий. Бранхамеллы способны, кроме того, продуцировать ДНКазу.

Резистентность. Все моракселлы малоустойчивы в окружающей среде. Отличаются также высокой чувствительностью к пенициллину, за исключением *Branhamella catarrhalis*, продуцирующей β -лактамазу.

Эпидемиология и клиника. Бактерии рода *Moraxella* обнаруживаются в норме на слизистых оболочках верхних дыхательных путей человека и животных. Однако способны вызывать различные заболевания, преимущественно у людей со сниженной иммуно-

логической реактивностью. Эти заболевания развиваются как эндогенные оппортунистические инфекции. Они характеризуются различной локализацией и клинической симптоматикой. Моракселлы могут вызывать у человека эндокардит, конъюнктивит, менингит, уретрит, различные респираторные инфекции (бронхит, пневмонию, фарингит, отит, синусит).

Иммунитет. Мало изучен.

Микробиологическая диагностика. Основана на бактериологическом исследовании материала, взятого от больных.

Лечение. Большинство моракселл чувствительны к β -лактамным антибиотикам. Однако, учитывая способность бранхамелл продуцировать β -лактамазу, для лечения инфекций, вызванных всеми видами моракселл и бранхамелл, рекомендуется применять антибиотики других групп.

Специфическая профилактика. Не разработана.

16.3.6.5. Ацинетобактер (род *Acinetobacter*)

Представитель нормофлоры человека. Может вызывать госпитальные инфекции.

Таксономия. Род *Acinetobacter*, вид *Acinetobacter calcoaceticus*, 2 варианта: *anitratus* и *lwoffi*.

Морфология и тинкториальные свойства. Короткие толстые полиморфные грамотрицательные палочки длиной $1,0+1,5 \times 1,5+2,5$ мкм; часто имеют кокковидную или овоидную форму. В мазке располагаются беспорядочно, но могут наблюдаться в виде коротких цепочек. Спор не образуют. Отмечается наличие фимбрий. Жгутиков не имеют. Могут образовывать капсулу.

Культуральные и биохимические свойства. По типу дыхания ацинетобактерии — строгие аэробы. Метаболизм дыхательного типа. Хорошо растут на обычных питательных средах, при температуре $30-35^\circ\text{C}$, pH — 7. На плотных средах образуют мелкие блестящие колонии. При росте на кровяном агаре возможно образование зоны α -гемолиза. Биохимические свойства ацинетобактерий выражены слабо. Полисахариды не разлагают, но некоторые виды способны ферментировать моносахариды с образованием кислоты, на чем основана их видовая дифференциация. Индол и сероводород не образуют, лизин не декарбоксилируют.

Факторы патогенности. ЛПС клеточной стенки, Капсула, которая препятствует фагоцитозу, адгезины, обеспечивающие прикрепление микроба к эпителию.

Эпидемиология и клиника. Ацинетобактерии широко распространены в природе. Обитают в почве,

воде. Часто обнаруживаются на коже и на слизистой носоглотки здоровых людей.

Вызывают госпитальные инфекции (второе место после псевдомонад), сепсис, перитониты, эндокардиты, раневую и ожоговую инфекции, особенно у детей младшего и среднего возраста. Выделяются при поражении кожных покровов и слизистых оболочек респираторного и урогенитального трактов. Возникновение инфекции наблюдается, как правило, у иммунодефицитных лиц.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — кровь, гной, раневое отделяемое. Возможен микроскопический метод исследования. Выделяют чистую культуру, идентификация проводится по биохимическим свойствам.

Лечение. Микроб чувствителен к неомизину и полимиксину.

Специфическая профилактика. Не разработана.

16.4. Палочки грамотрицательные анаэробные

Облигатные анаэробные бактерии представляют собой чрезвычайно многочисленную сборную группу микробов, относящихся к различным родам и семействам, морфологически представленную как грамположительными, так и грамотрицательными кокками, палочками, а также извитыми и ветвящимися формами; характеризуются строгим анаэробизмом и чувствительны к токсическому действию кислорода воздуха, обладают сложными питательными потребностями.

Облигатные анаэробные бактерии, имеющие клиническое значение в патологии человека и животных, можно условно разделить на две группы: 1) образующие споры, или *кlostридии*; 2) *неспорообразующие анаэробы*.

К первой группе относятся возбудители анаэробных *кlostридиальных инфекций*: столбняка, ботулизма, газовой гангрены, псевдомембранозного колита (см. разд. 16.5).

Бактерии второй группы чрезвычайно многочисленны и разнообразны по видовому составу, принадлежат к различным таксономическим группам, но в организме человека и животных все эти микробы способны вызывать сходный патологический процесс, клинически характеризующийся гнойно-септическими заболеваниями различной локализации. Среди облигатных анаэробных бактерий есть пато-

генные (*Treponema pallidum*, *Borrelia recurrentis*), условно-патогенные и сапрофитические виды. Большинство облигатных анаэробных бактерий — условно-патогенные микробы, которые преобладают в нормальной микрофлоре человека и животных. К облигатным анаэробным бактериям относятся палочковидные бактерии — представители родов *Anaerorhabdus*, *Bacteroides*, *Bilophila*, *Butyrivibrio*, *Centipeda*, *Desulfomonas*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Mitsuokella*, *Mobiluncus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Selenomonas*, *Succinimonas*, *Succinivibrio*, *Wolinella* и кокки родов *Acidaminococcus*, *Megasphaera* и *Veillonella*. Классификация облигатных анаэробных бактерий, имеющих клиническое значение, представлена в табл. 16.21.

16.4.1. Бактероиды (род *Bacteroides*)

Морфология. Вариабельные по своим размерам грамотрицательные палочки, которые отличаются высокой степенью полиморфизма. Морфология варьирует от коккобациллярных до ветвящихся форм. Большинство неподвижно, спор не образуют. Некоторые виды образуют капсулу. Типовой вид — *Bacteroides fragilis*. Бактерии группы *Bacteroides fragilis* (*B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *B. vulgatus*, *B. distasonis*) в мазках из клинического материала представлены бледными полиморфными палочками с закругленными концами. Клетки *B. ureolyticus* и *B. gracilis* тонкие, с закругленными концами.

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы, хемоорганотрофы. Культивируются на анаэробном кровяном агаре, тиогликолевой среде; лучше растут на комплексных средах (например, агаре с сердечно-мозговым экстрактом) в условиях анаэробноза. Образуют жемчужно-серые или белые колонии. Добавление гемина и менадиона (витамин К) стимулирует рост культуры. На анаэробном кровяном агаре бактериоиды группы «фрагилис» образуют серовато-белые, прозрачные или мутноватые мелкие S-формы колоний без зоны гемолиза; *B. ovatus* чаще образует слизистые колонии, а колонии *B. thetaiotaomicron* обычно белого цвета. Ключевые признаки группы — способность расти в присутствии 20% желчных солей, резистентность к канамицину (100 мкг), ванкомицину (5 мкг) и колистину (10 мкг). На плотных питательных средах с желчью

колонии могут быть окружены осадком желчных солей. На анаэробном кровяном агаре *B. ureolyticus* и *B. gracilis* образуют мелкие полупрозрачные колонии, у некоторых изолятов — распластанные на поверхности. Вызывают зеленое окрашивание и коррозию среды. Для роста нуждаются во внесении в среду фуматов и формиатов.

Биохимическая активность. Протеолитическая активность умеренная, лецитиназу не образуют, не вызывают гемолиза эритроцитов, гиппурат не гидролизуют (родовой признак), образование индола непостоянно. *B. ureolyticus* уреазоположителен, *B. gracilis* — уреазотрицателен. Основные дифференциальные признаки представлены в табл. 16.22.

Антигенная структура. Содержат соматический О-АГ, могут иметь Н- и К-АГ.

Факторы патогенности. Образуют капсулу и продуцируют супероксиддисмутазу, что защищает бактерии от бактерицидного действия внеклеточных и внутриклеточных факторов, а также фагоцитов. Содержат эндотоксин, отличающийся от ЛПС других грамотрицательных бактерий и проявляющий умеренную биологическую активность. Штаммы *Bacteroides fragilis* продуцируют нейраминидазу, гиалуронидазу, фибринолизин, являющиеся факторами патогенности.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистые полости рта, верхних дыхательных путей, гениталий и кишечника.

Устойчивость в окружающей среде. При падении на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Резистентны к пеницилинам, цефалоспорином I и II поколений, особенно *B. distasonis* и *B. thetaiotaomicron*. Препараты выбора — левомицетин, метронидазол, имипенем. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.4.2. Порфиромонады (род *Porphyromonas*)

Морфология. Короткие грамотрицательные палочки размером $1,0 \div 3,0 \times 0,5 \div 0,8$ мкм. Неподвижны, спор не образуют. Клетки из молодых культур могут быть грамвариабельны. Род представлен тремя видами: *P. asaccharolytica* (типовой вид), *P. gingivalis* и *P. endodontalis*.

Таблица 16.22. Основные дифференциальные признаки бактерий рода *Bacteroides*

| ВИД | Образование индола | Гидролиз желатины | Гидролиз эскулеина | Образование H ₂ S | Образование кислоты при ферментации | | | |
|----------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------------------|---------|---------|----------|
| | | | | | раманозы | глюкозы | лактозы | сахарозы |
| <i>B. fragilis</i> | - | +/- ((слабо)) | + | + | - | + | + | - |
| <i>B. thetaiotaomicron</i> | + | +/- (слабо) | + | + | + | + | + | - |
| <i>B. vulgatus</i> | - | + | + | + | + | + | + | - |
| <i>B. distasonis</i> | - | +/- (слабо) | + | + | +/- | + | + | - |
| <i>B. uniformis</i> | + | - | + | ? | - | + | + | - |
| <i>B. caccae</i> | - | +/- (слабо) | + | - | +/- | + | + | - |
| <i>B. ovatus</i> | + | +/- (слабо) | + | + | + | + | + | - |
| <i>B. merdes</i> | - | +/- (слабо) | + | + | + | + | + | - |
| <i>B. stercoris</i> | + | - | + | ? | + | + | + | - |
| <i>B. ureolyticus</i> | - | +/- | - | + | - | - | - | - |
| <i>B. gracilis</i> | - | - | - | + | - | - | - | - |

Культуральные свойства. На анаэробном кровяном агаре на 6–14-е сутки культивирования образуют слизистые темно-коричневые или черные колонии. Быстрое пигментообразование наблюдается на агаре с кровью кролика. Рост существенно стимулирует внесение в питательную среду белковых гидролизатов, например пептона или дрожжевого экстракта. До появления пигмента (через 24–48 ч анаэробного культивирования) колонии флюоресцируют рубиново-красным или коралловым цветом при длинноволновом УФ-облучении. Для роста нуждаются в гемине и менадионе.

Биохимическая активность. Очень низкая. Инертны по отношению к углеводам. Дифференциальные признаки весьма немногочисленны: *P. asaccharolytica* синтезирует α-фукозидазу, а *P. gingivalis* агглютинирует эритроциты барана. Все виды образуют индол. Ключевые признаки — отсутствие способности расти в присутствии 20% желчных солей, резистентность к канамицину (100 мкг) и колистину (10 мкг), но чувствительность к ванкомицину (5 мкг).

Антигенная структура. Мало изучена.

Факторы патогенности. *P. gingivalis* связывает и разрушает фибриноген, продуцирует

коллагеназу, повреждающую дентин, а также агглютинирует эритроциты.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистые полости рта и верхних дыхательных путей.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Резистентны к пенициллинам и цефалоспорином. Препараты выбора — метронидазол, левомицетин, имипенем и клиндамицин. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.4.3. Превотеллы (род *Prevotella*)

Морфология. Полиморфные неподвижные аспорогенные палочки, близкие к бактероидам. В мазке напоминают порфиромонады. Типовой вид — *Prevotella melaninogenica*.

Культуральные свойства. Хемоорганотрофы, облигатные анаэробы. На анаэробном кровяном агаре образуют пигментированные от светло-коричневых до черных колонии. Морфология колоний может быть различной. Например, *P. intermedia* образует коричневатые-черные сухие колонии, а колонии *P. melaninogenica*, *P. loescheii* и *P. denticola*

Таблица 16.22. Основные дифференциальные признаки бактерий рода *Bacteroides*

| ВИД | Образование индола | Гидролиз желатина | Гидролиз эскулина | Образование H ₂ S | Образование кислоты при ферментации | | | |
|----------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|-------------------------------------|---------|---------|----------|
| | | | | | галактозы | глюкозы | лактозы | сахарозы |
| <i>B. fragilis</i> | — | +/- ((слабо)) | + | + | — | + | + | + |
| <i>B. thetaiotaomicron</i> | + | +/- (слабо) | + | + | + | + | + | + |
| <i>B. vulgatus</i> | — | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>B. distasonis</i> | — | +/- (слабо) | + | + | +/- | + | + | + |
| <i>B. uniformis</i> | + | — | + | ? | — | + | + | + |
| <i>B. caccae</i> | — | +/- (слабо) | + | — | +/- | + | + | + |
| <i>B. ovatus</i> | + | +/- (слабо) | + | + | + | + | + | + |
| <i>B. merdea</i> | — | +/- (слабо) | + | + | + | + | + | + |
| <i>B. stercoris</i> | + | — | + | ? | + | + | + | + |
| <i>B. ureolyticus</i> | — | +/- | — | + | — | — | — | — |
| <i>B. gracilis</i> | — | — | — | + | — | — | — | — |

Культуральные свойства. На анаэробном кровяном агаре на 6–14-е сутки культивирования образуют слизистые темно-коричневые или черные колонии. Быстрое пигментообразование наблюдается на агаре с кровью кролика. Рост существенно стимулирует внесение в питательную среду белковых гидролизатов, например пептона или дрожжевого экстракта. До появления пигмента (через 24–48 ч анаэробного культивирования) колонии флюоресцируют рубиново-красным или коралловым цветом при длинноволновом УФ-облучении. Для роста нуждаются в гемине и менадионе.

Биохимическая активность. Очень низкая. Инертны по отношению к углеводам. Дифференциальные признаки весьма немногочисленны: *P. asaccharolytica* синтезирует α-фукозидазу, а *P. gingivalis* агглютинирует эритроциты барана. Все виды образуют индол. Ключевые признаки — отсутствие способности расти в присутствии 20% желчных солей, резистентность к канамицину (100 мкг) и колистину (10 мкг), но чувствительность к ванкомицину (5 мкг).

Антигенная структура. Мало изучена.

Факторы патогенности. *P. gingivalis* связывает и разрушает фибриноген, продуцирует

коллагеназу, повреждающую дентин, а также агглютинирует эритроциты.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистые полости рта и верхних дыхательных путей.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Резистентны к пеницилинам и цефалоспорином. Препараты выбора — метронидазол, левомицетин, имипенем и клиндамицин. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.4.3. Превотеллы (род *Prevotella*)

Морфология. Полиморфные неподвижные аспорогенные палочки, близкие к бактероидам. В мазке напоминают порфиромонады. Типовой вид — *Prevotella melaninogenica*.

Культуральные свойства. Хемоорганотрофы, облигатные анаэробы. На анаэробном кровяном агаре образуют пигментированные от светло-коричневых до черных колонии. Морфология колоний может быть различной. Например, *P. intermedia* образует кирпичевато-черные сухие колонии, а колонии *P. melaninogenica*, *P. loescheii* и *P. denticola*

Таблица 16.23. Дифференциальные признаки бактерий рода *Prevotella*

| ВИД | Гидролиз желатина | Гидролиз эскулина | Гидролиз крахмала | Пигментобразование | Образование кислоты при ферментации | | | |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------------------------|---------|---------|----------|
| | | | | | рамыозы | глюкозы | лактозы | сахарозы |
| <i>P. melaninogenica</i> | + | +/- (слабо) | + | Коричневый | - | + | + | + |
| <i>P. intermedia</i> | + | - | +/- (слабо) | Коричневый | - | + | - | + |
| <i>P. loescheii</i> | + | + | + | +/- коричневый | - | + | + | + |
| <i>P. denticola</i> | + | + | + | +/- коричневый | - | + | + | + |
| <i>P. bivia</i> | + | - | + | - | - | + | + | - |
| <i>P. disiens</i> | + | - | + | - | - | + | - | - |
| <i>P. oralis</i> | + | + | + | - | +/- | + | + | + |
| <i>P. buccalis</i> | - | + | - | - | - | + | + | + |
| <i>P. veroralis</i> | - | + | + | - | - | + | + | + |
| <i>P. corporis</i> | + | - | + | Коричневый | - | - | - | - |
| <i>P. oulola</i> | - | + | - | - | - | + | + | + |

— коричневатые, гладкие и блестящие, что обусловлено наличием капсулы. Обычно пигмент образуется на 5–14-е сутки культивирования на агаре с кровью кролика. До образования пигмента колонии превотелл могут флюоресцировать ярко-красным цветом при проходящем УФ-облучении.

Биохимическая активность. Проявляют умеренную сахаролитическую активность. Основные продукты ферментации углеводов — сукцинаты и ацетаты. Дифференциальные признаки различных видов представлены в табл. 16.23. Ключевые признаки превотелл — отсутствие способности расти в присутствии 20% желчных солей, резистентность к канамицину (100 мкг) и ванкомицину (5 мкг), но чувствительность к колистину (10 мкг).

Антигенная структура. Мало изучена.

Факторы патогенности. Основной фактор патогенности — эндотоксин, активность которого выше, чем у бактериоидов (особенно у *P. bivia*). *P. melaninogenica* и *P. intermedia* выделяют также фосфолипазу А, нарушающую целостность мембран эпителиальных клеток, что вызывает их гибель.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистые полости рта, верхних дыхательных путей, гениталий и кишечника.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Резистентны к пенициллинам и цефалоспорином. Препараты выбора — метронидазол, левомицетин, имипенем и клиндамицин. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.4.4. Лептотрихии (род *Leptotrichia*)

Морфология. Прямые или слегка изогнутые неподвижные грамотрицательные палочки размером 5÷15 × 1÷1,5 мкм с закругленными или заостренными концами. Две или более клетки объединены в септированные нити различной длины. В старых культурах нити длиной до 200 мкм могут переплетаться друг с другом. При лизисе клеток в нити появляются крупные кокковидные тела или луковичеобразные вздутия. Вдоль оси клетки равномерно распределены гранулы.

Таблица 16.24. Дифференциальные признаки бактерий рода *Fusobacterium*

| ВИД | Гифролиз гишурата | Индол | Образование H ₂ S | Гемолиз | Образование кислоты при ферментации | | | | |
|-------------------------|-------------------|-------|------------------------------|-------------|-------------------------------------|---------|----------|----------|----------|
| | | | | | глюкозы | маннозы | мальтозы | сахарозы | салицины |
| <i>F. nucleatum</i> | +/- | + | +/- | +/- (β) | +/- | - | - | - | - |
| <i>F. mortiferum</i> | +/- | - | + | - | +/- | +/- | +/- | - | - |
| <i>F. necrogenes</i> | - | - | + | +/- (β) | +/- | +/- | - | +/- | +/- |
| <i>F. necrophorum</i> | - | + | + | + (α, β) | +/- | - | - | - | - |
| <i>F. periodonticum</i> | + | + | + | - | + | - | - | - | - |
| <i>F. prausnitzii</i> | + | - | + | - | +/- | +/- | +/- | +/- | +/- |
| <i>F. ulcerans</i> | - | - | - | - | + | - | - | - | - |

Культуральные свойства. Анаэробы. Для оптимального роста необходимо 5% CO₂. Гетеротрофы со сложными пищевыми потребностями.

Биохимическая активность. Ферментируют глюкозу до кислоты без образования газа; главные продукты — молочная и уксусная кислоты; масляную кислоту не образуют. Не образуют сероводород и аммиак, каталазаотрицательны. Нитраты не восстанавливают; желатину не разжижают.

Экологическая ниша. — ротовая полость человека.

Устойчивость в окружающей среде. Нагревание при 60 °С в течение 10 мин ведет к гибели клеток.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.4.5. Фузобактерии (род *Fusobacterium*)

Морфология. Полиморфные, часто веретенообразные, неподвижные аспорогенные палочки. В мазках из клинического материала фузобактерии представлены длинными тонкими веретенообразными нитевидными

клетками с заостренными концами. Иногда образуют короткие цепочки из двух (редко трех) клеток. Некоторые из них могут иметь эллиптические утолщения.

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы. Окисление среды подавляет рост многих видов. На анаэробном кровяном агаре образуют мелкие (1–2 мм) выпуклые желтоватые колонии, окруженные зоной α-гемолиза. На жидких средах образуют осадок. Через 48 ч *F. necrophorum* формирует мелкие колонии палевого цвета без зоны гемолиза, иногда наблюдается зеленое окрашивание прилегающих участков питательной среды после контакта с воздухом.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы. Утилизируют пептон и углеводы, но в целом ферментативная активность низкая (табл. 16.24). Основные продукты метаболизма — масляная (реже молочная) и уксусная кислоты. Обычно каталазаотрицательны. Характерные особенности — образование больших количеств масляной кислоты как конечного продукта метаболизма и индола, что придает культурам гнилостный запах.

Антигенная структура. Мало изучена.

Факторы патогенности. У фузобактерий обнаружены фосфолипаза А, которая облегчает инвазию бактерий в глубокие ткани, и лейкоцидин, который обладает цитотоксическим действием на различные клетки.

Экологическая ниша. Колонизируют слизистые полости рта, верхних дыхательных путей, гениталий и кишечника.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. По сравнению с бактероидами более чувствительны к антибиотикам, хотя выделены штаммы *F. necrophorum*, продуцирующие β-лактамазу. Большинство фузобактерий чувствительны к цефокситиму, левомецитину, клиндамицину, имипенему и метронидазолу. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.4.6. Селеномонады (род *Selenomonas*)

Морфология. Клетки — от изогнутых дуг до спиральных палочек, концы которых обычно сужаются и закругляются, что придает клетке форму почки или месяца. Длинные клетки и цепочки клеток имеют спиральную форму. Подвижные, лофотрихи, активно кувыркаются. Встречаются длинные клетки с несколькими пучками жгутиков. Грамотрицательные. Капсулу не образуют. Типовой вид — *Selenomonas sputigena*.

Культуральные свойства. Строгие анаэробы. Растут на сложных питательных средах, нуждаются в органических факторах роста. Температурный оптимум роста 35–40 °С, могут расти в диапазоне температур 20–45 °С; оптимум рН 4,4–5,0.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы. Метаболизм бродильного типа. Субстратами служат углеводы, аминокислоты и молочная кислота. При сбраживании глюкозы образуются ацетат, пропионат, СО₂ и лактат. Каталазу не образуют.

Антигенная структура и факторы патогенности. Изучены недостаточно.

Экологическая ниша. ЖКТ млекопитающих; встречаются также в грязной речной воде.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология анаэробной неклостридиальной инфекции плохо изучена.

Патогенез. Так как неспорообразующие анаэробные бактерии являются преобладающими представителями нормальной микрофлоры организма человека, то и подавляющее большинство анаэробных инфекций (до 90 %) носит эндогенный характер. При снижении резистентности организма анаэробы нормальной микрофлоры транслоцируются через тканевые барьеры, в норме для них непреодолимые, и вызывают гнойно-септический процесс. К патологическим состояниям, способствующим развитию анаэробной инфекции, относят: сахарный диабет, терапию кортикостероидными гормонами и цитостатиками, иммунодепрессантами, лейкопению, гипогаммаглобулинемию, спленэктомию, коллагеновые заболевания, гипоксию тканей, повреждение и некроз тканей, сопутствующую аэробную инфекцию, инородные тела, отложение солей кальция и расстройства периферического кровообращения. Плохое кровоснабжение и некроз тканей снижают их окислительно-восстановительный потенциал, что способствует бурному размножению анаэробов. В ряде случаев, например, при аспирационной пневмонии анаэробы из полости рта и верхних дыхательных путей могут быть занесены в легкие, в норме свободные от этих микробов, колонизировать их и вызывать гнойно-воспалительный процесс.

Иммунитет. Изучен недостаточно; в любом случае он нестойкий и непродолжительный.

Клиника. Облигатные анаэробные бактерии, как и все УПМ, не обладают органным тропизмом, поэтому клиническая картина анаэробной неклостридиальной инфекции, как и всех оппортунистических инфекций, весьма разнообразна и не имеет нозологической специфичности. Она определяется не видом бактерий, а состоянием иммунного статуса организма.

Наиболее частыми клиническими признаками анаэробной неклостридиальной инфекции являются:

- Зловонный запах гнойного отделяемого. Большинство облигатных анаэробных бактерий продуцирует летучие жирные кислоты, обладающие резким неприятным запахом.
- Локализация воспалительного очага около поврежденной слизистой оболочки. Нарушение при

травме или оперативном вмешательстве целостности слизистых оболочек может привести к контаминации подлежащих тканей облигатными анаэробными бактериями нормальной микрофлоры.

- Локализация воспалительного очага в месте укуса.

- Развитие инфекции на фоне лечения аминогликозидными антибиотиками. Ряд анаэробов (бактероиды) обладает природной устойчивостью к аминогликозидным антибиотикам.

- Образование газа в тканях, который может наблюдаться при целлюлитах, вызванных пептострептококками.

- Черное окрашивание экссудата, обусловленное наличием среди возбудителей темнопигментированных бактериоидов, порфиромонад, превотелл. Эти микробы продуцируют черный или темно-коричневый пигмент.

- Затяжное, вялое, часто субклиническое течение заболевания.

- Обширные некротические изменения тканей, несоответствие между выраженностью клинических симптомов и объемом деструктивных изменений (преобладание деструктивных изменений над клинической симптоматикой), мало кровоточащие на разрезе ткани.

Главное значение в постановке диагноза анаэробной неклостридиальной инфекции приобретает микробиологическая диагностика.

Микробиологическая диагностика. Для микробиологической диагностики анаэробной неклостридиальной инфекции используют *бактериоскопический* и *бактериологический* методы. Серологический метод имеет ограниченное практическое применение из-за отсутствия коммерческих наборов диагностикумов. Для экспресс-диагностики применяется *ГЖХ*.

Бактериоскопический метод при диагностике анаэробной неклостридиальной инфекции имеет незначительную информативность, поскольку анаэробы морфологически не отличаются от аэробных микробов, кроме редких случаев, когда анаэробы имеют характерную морфологию, как, например, *Fusobacterium nucleatum*.

Поскольку облигатные анаэробные бактерии высокочувствительны к токсическому действию кислорода воздуха, для работы с

ними необходимо использовать *анаэробную микробиологическую технику исследования*. Для транспортировки образцов, предназначенных для исследования на облигатные анаэробные бактерии, используют флаконы с транспортными средами, создающие анаэробные условия при транспортировке.

Бактериологическое исследование на облигатные анаэробные бактерии длительно, дорого и трудоемко. Окончательный ответ получают через 7–10 дней с момента забора патологического материала. Посев производят на кровяные среды, обогащенные факторами роста (гемин, менадион, редуцирующие добавки). Посевы инкубируют в анаэробных условиях в анаэростатах или перчаточных боксах. Идентификацию выделенных чистых культур проводят на основании изучения культуральных, морфологических и тинкториальных свойств и ферментативной активности. Антигенные свойства облигатных анаэробных бактерий изучают редко из-за отсутствия коммерческих наборов диагностических сывороток. Для создания анаэробноза в анаэростате сначала из последнего откачивают воздух, а затем заполняют бескислородной газовой смесью или используют химическое связывание свободного кислорода. Для контроля анаэробноза в процессе инкубации посевов используют индикаторы анаэробноза — резазурин или метиленовую синь. Для выявления в исследуемом материале темнопигментированных бактериоидов, превотелл, порфиромонад пробу исследуют в лучах длинноволнового ультрафиолетового света. При наличии указанных микробов, микроколонии или весь материал светятся красным светом.

Идентификацию облигатных анаэробных бактерий проводят в два этапа. На первом этапе ориентировочно определяют родовую принадлежность изолированных культур (табл. 16.25). На втором этапе проводят окончательную идентификацию до вида по биохимическим тестам, антигенным свойствам и по изучению конечных продуктов бактериального метаболизма в среде культивирования с помощью метода *ГЖХ*. При наличии в первичном посеве культур медленно растущих облигатных анаэробных бактерий, а также

Таблица 16.25. Ориентировочная идентификация облигатных анаэробных бактерий с помощью анаэродисков

| Морфология облигатных анаэробных бактерий и чувствительность к анаэродискам | Морфология клеток | Окраска по Граму | Люминесценция | Желчь 5 мкг | Бриллиантовый зеленый 100 мкг | Канамицин 1000 мкг | Пенициллин 2 ЕД | Полимиксин 100 ЕД | Эритромицин 60 мкг | Рифампицин 15 мкг | Ристомицин 5 мкг |
|---|-------------------|---------------------|---------------|-------------|-------------------------------|--------------------|-----------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| Микроорганизмы: | | | | | | | | | | | |
| Группа <i>Bacteroides fragilis</i> | п | гр ⁻ | - | у | ч | у | у | у | ч | ч | у |
| Группа <i>Prevotella melaninogenica</i> | п, кб. | гр ^{- (+)} | + | ч | ч | у | ч | ч/у | ч | ч | ч/у |
| <i>Prevotella oralis</i> | п | гр ⁻ | + | ч | ч | у | ч | ч/у | ч | ч | у |
| <i>Prevotella corrodens</i> | п | гр ⁻ | + (-) | ч | ч | ч | ч | ч | ч | ч | у |
| <i>Fusobacterium mortiferum</i> и <i>F. varium</i> | п | гр ⁻ | - | у | у | ч | ч/у | ч | у | у | у |
| <i>Fusobacterium necrophorum</i> | п | гр ⁻ | - | ч/у | у | ч | ч | ч | ч/у | ч | у |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | п | гр ⁻ | - | ч | у | ч | ч | ч | ч/у | ч | у |
| <i>Peptococcus</i> и <i>Peptostreptococcus</i> | к | гр ⁺ | - | ч | в | ч | ч | у | ч | ч | ч |
| <i>Veillonella</i> | к | гр ⁻ | - (+) | ч | в | ч | ч | ч | ч | ч | у |

Условные обозначения: п — палочки; ч — чувствительны; «-» — отсутствие; к — кокки; у — устойчивы; «+» — наличие; кб — коккобациллы; в — вариабельны;

Анаэродиски с желчью: наличие зоны задержки роста — чувствительны, отсутствие — устойчивы. Анаэродиски с антибиотиками и бриллиантовым зеленым: зона задержки роста > 12 мм — чувствительны, зона задержки роста < 12 мм — устойчивы.

при выявлении в жидкой среде видов анаэробов, не выросших в первичном посеве на плотной среде, время получения окончательного развернутого ответа затягивается на 2–3 суток.

Газовая хроматография. Для экспресс-диагностики анаэробной инфекции применяют метод ГЖХ, основанный на хроматографическом определении в материале от больных специфических продуктов метаболизма облигатных анаэробных бактерий — летучих жирных кислот, которые служат молекулярными маркерами возбудителя в исследуемом материале.

Высокоспецифичными конечными продуктами метаболизма углеводов у облигат-

ных анаэробных бактерий являются жирные кислоты: короткоцепочечные или летучие жирные кислоты C₂–C₇ и длинноцепочечные — нелетучие. Определение в исследуемом материале наличия жирных кислот с помощью ГЖХ является убедительным доказательством анаэробной этиологии воспалительного процесса. Технически проще определять ГЖХ летучие жирные кислоты; при этом молекулярными маркерами облигатных анаэробных бактерий являются изомаляновая и масляная, изовалериановая и валериановая, изокапроновая и капроновая, гексановая и каприловая кислоты. Аэробные бактерии летучие жирные кислоты не продуцируют. Обнаружение в исследуемом мате-

риале одной или нескольких летучих жирных кислот, особенно изоокислот с разветвленной углеродной цепочкой, является убедительным доказательством наличия облигатных анаэробных бактерий. Для более подробной информации о метаболической активности присутствующих в исследуемом материале микробов определяют длинноцепочечные жирные кислоты. Важное значение при индикации облигатных анаэробных бактерий в патологическом материале приобретают ложноположительные и ложноотрицательные результаты ГЖХ-анализа. Причины ложных результатов ГЖХ-анализа при исследовании на анаэробы представлены в табл. 15.2.

Лечение. Препаратами выбора для лечения анаэробной неклостридиальной инфекции являются химиопрепараты нитроимидазольного ряда: метронидазол, тинидазол, орнидазол и другие, и антибиотик клиндамицин. Препараты резерва — производные нитро-ниазолов (ниридазол и др.), которые превосходят по своей активности метронидазол и тинидазол в 100–200 раз.

Основными направлениями в лечении анаэробной неклостридиальной инфекции являются: создание в организме больного условий, делающих размножение возбудителей невозможным (дренирование гнойников, удаление мертвых тканей, антибактериальная химиотерапия, гепарин, повторные ревизии раны); предотвращение внедрения бактерий в здоровые ткани; обезвреживание и выделение токсинов возбудителей (инфузионная терапия, гепарин, экстракорпоральная дезинтоксикация); создание в организме больного условий, способствующих борьбе с возбудителем (гемотрансфузии, улучшение микроциркуляции и оксигенации очагов, коррекция системных и органических нарушений, иммуностимуляция).

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Не специфическая профилактика заключается в назначении при плановых операциях на органах брюшной полости и малого таза, за 24 ч до операции, 100 мл раствора метронидазола или другого нитроимидазольного препарата внутривенно, в своевременной обработке ран и выявлении гнойно-воспалительных очагов.

16.5. Палочки спорообразующие грамположительные

16.5.1. Сибиреязвенные бациллы (род *Bacillus*)

Сибирская язва (*anthrax*, злокачественный карбункул) — острая антропозоонозная инфекционная болезнь, вызываемая *Bacillus anthracis*, которая характеризуется тяжелой интоксикацией, поражением кожи, лимфатических узлов и других органов и высокой летальностью.

Заболевание сибирской язвой известно с глубокой древности, со времен Гиппократ, Галена и Цельса заболевание известно под названиями «священный огонь» или «персидский огонь». Болезнь впервые была описана русским врачом С. С. Андриевским в XVIII в. во время эпидемии на Урале. Возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis* выделен Р. Кохом в 1876 г.; относится к роду *Bacillus*.

Морфология. Сибиреязвенные бациллы — очень крупные ($5 \div 10 \times 1 \div 2$ мкм) грамположительные палочки с обрубленными концами, в мазке из чистой культуры располагаются в виде длинных цепочек (стрептобациллы), слегка утолщенных на концах и образующих сочленения («бамбуковая трость»). Неподвижны. Образуют расположенные центрально споры, а также капсулу. В клиническом материале располагаются парами или короткими цепочками, окруженными общей капсулой. Капсулы образуются только у бактерий, выделенных из организма либо выращенных на питательной среде, содержащей нативную сыворотку. Капсулы более устойчивы к действию гнилостной микрофлоры, чем бактериальные клетки, и в материале из гнилых трупов нередко можно обнаружить лишь пустые капсулы («тени» микробов). Для обнаружения капсул мазки окрашивают метиленовой синькой Леффлера (клетки — синие, капсулы — малиново-красные). Споры сибиреязвенных бацилл — овальной формы, размером $0,8 \div 1,0 \times 1,5$ мкм, сильно преломляют свет. В живом организме и в нескрытом трупе споры не образуются, что обусловлено поглощением свободного кислорода в процессе гниения; для спорообра-

звания необходим свободный кислород и определенная температура (12–42 °С).

Культуральные свойства. Аэробы. Хорошо растут на простых питательных средах, бактерии можно выращивать на сыром или вареном картофеле, настое соломы, экстрактах злаков и бобовых в диапазоне температур 12–45 °С; температурный оптимум роста на плотной среде — 35–37 °С, на жидкой — 32–33 °С. Оптимум pH 7,2–8,6. На жидких средах дает придонный рост в виде комочка ваты, не вызывая помутнения среды; на плотных средах образует крупные, с неровными краями, шероховатые матовые колонии (R-форма). Под лупой колонии напоминают гриву льва или голову медузы. На свернутой лошадиной сыворотке растет в виде гладких прозрачных S-форм колоний, тянущихся за петлей. На средах, содержащих 0,05–0,5 ЕД/мл пенициллина, сибиреязвенные бациллы через 3–6 ч роста образуют сферопласты, расположенные цепочкой и напоминающие в мазке жемчужное ожерелье (тест «жемчужного ожерелья»).

Биохимическая активность. Достаточно высокая: ферментирует до кислоты глюкозу, сахарозу, фруктозу, мальтозу, крахмал, инулин, характеризуется протеолитической и липолитической активностью. Гидролизуют крахмал, образуют ацетилметилкарбинол. Выделяют желатиназу, обладают слабой гемолитической, лецитиназной и фосфатазной активностью. В отличие от почвенных бацилл практически лишены фосфатазы и не разлагают фосфаты, содержащиеся в питательной среде. Очень медленно и слабо коагулируют жидкую желточную среду (5–7 суток при 37 °С), в то время как почвенные бациллы разлагают ее за 6–10 ч. Молоко свертывают за 3–5 суток, затем сгусток медленно пептонизируется и разжижается; выделяется аммиак и накапливается бурый пигмент.

Антигенная структура. Содержит родовой соматический полисахаридный антиген и видовой белковый капсульный антиген. Образует белковый экзотоксин, обладающий антигенными свойствами. Капсульные АГ и экзотоксин кодируются плазмидами, потеря которых делает бактерии авирулентными.

* Капсульные АГ представлены полипептидами, соединенными с молекулами D-глутаминовой кислоты. По капсульным АГ выделяют единственный

серовар, антитела к капсульным АГ не обладают протективным действием.

• Соматический АГ представлен полисахаридами клеточной стенки, антитела к нему не обладают протективным действием.

• Сибиреязвенный экзотоксин имеет сложную структуру и включает в себя протективный АГ.

Факторы патогенности. Патогенен для человека и многих животных (крупный и мелкий рогатый скот, лошади, свиньи, дикие животные). Вирулентные штаммы в восприимчивом организме синтезируют большое количество капсульного вещества, обладающего выраженной антифагоцитарной активностью, и сложный экзотоксин, который представляет собой белковый комплекс, состоящий из вызывающего отек (проявляет эффект аденилатциклазы, повышает концентрацию цАМФ и вызывает отеки), протективного и летального компонентов (проявляет цитотоксический эффект и вызывает отек легких). Эти компоненты по отдельности не способны проявлять токсическое действие.

Экологическая ниша. Крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, олени, буйволы, верблюды и свиньи.

Устойчивость в окружающей среде. Вегетативная форма неустойчива к факторам окружающей среды: при кипячении гибнут мгновенно, при 60 °С — через 15 мин; в нескрытых трупах погибают через 2–7 суток. Однако споры чрезвычайно устойчивы и сохраняются в окружающей среде десятки лет (в воде — до 10 лет, в почве — до 30 лет и более), выдерживают кипячение в течение 5–10 мин и автоклавирование в течение 40 мин; 1% раствор формалина и 10% раствор едкого натра убивают споры через 2 ч. Спороцидным эффектом обладают раствор хлорамина и перекиси водорода. Чувствительны к пенициллину и другим антибиотикам.

Эпидемиология. Сибирская язва распространена повсеместно, особенно в районах с развитым животноводством. Источник инфекции — больные животные, чаще всего крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, олени, буйволы, верблюды и свиньи. Резервуар возбудителя — почва. Человек является биологическим тупиком. Как и для всех зоонозов, для сибирской язвы характерна

множественность механизмов, путей и факторов передачи. Человек заражается чаще всего контактным путем, реже — алиментарно, аэрогенно и другими путями, при уходе за больными животными, убойе, переработке животного сырья, употреблении мяса и других животноводческих продуктов. Восприимчивость к возбудителю относительно невысокая.

Патогенез. Входными воротами возбудителя сибирской язвы в большинстве случаев являются поврежденная кожа, значительно реже — слизистые оболочки дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. В основе патогенеза лежит действие экзотоксина возбудителя, отдельные фракции которого вызывают коагуляцию белков, отек тканей, приводят к развитию токсико-инфекционного шока. На месте внедрения возбудителя в кожу развивается сибиреязвенный карбункул — очаг геморрагически-некротического воспаления глубоких слоев дермы на границе с подкожной клетчаткой, сопровождающийся отеком и деструкцией тканей; в центре очага — некроз кожи с образованием буро-черной корки (*anthrax* — уголь), сопровождающейся отеком. Возбудитель из входных ворот заносится макрофагами в регионарные лимфатические узлы, в которых развивается воспаление без серьезных нарушений барьерной функции, в силу чего генерализация процесса не наступает или наступает в относительно поздние сроки от начала воспалительного процесса. При вдыхании пылевых частиц, содержащих сибиреязвенные споры, макрофаги захватывают возбудителя со слизистой дыхательных путей и заносят в трахеобронхиальные лимфатические узлы, в которых развивается воспаление с исходом в тотальный некроз, способствующий гематогенной генерализации инфекции.

Клиника. Продолжительность инкубационного периода сибирской язвы — от нескольких часов до 12 дней, в среднем 2–3 дня. Клиническая картина обусловлена характером пораженных органов. Различают кожную, легочную и кишечную клинические формы сибирской язвы, которые могут закончиться сепсисом. Генерализованные формы в 100 % случаев заканчиваются летально; при кожной форме летальность не превышает 5 %.

Иммунитет. После перенесенного заболевания развивается стойкий перекрестный клеточ-

но-гуморальный иммунитет, хотя отмечаются отдельные случаи повторного заболевания.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат: содержимое карбункула и пузырьков, мокрота, испражнения, кровь и моча. При патолого-анатомическом исследовании забирают кусочки органов или целые органы. По эпидемиологическим показаниям исследуют различные объекты внешней среды, а также шерсть и щетину животных. Все образцы помещают в герметичные сосуды и транспортируют закупоренными в опломбированных боксах или деревянных ящиках в лаборатории особо опасных инфекций.

Микробиологическую диагностику проводят с соблюдением правил техники безопасности как при особо опасных инфекциях. Для диагностики применяют все пять методов микробиологической диагностики.

Первоначально из материала готовят мазки и окрашивают их по Граму и для обнаружения капсул (по Романовскому—Гимзе) и спор (по Ауэске). Наличие в мазках крупных грамположительных стрептобацилл, окруженных капсулой, дает возможность поставить предварительный диагноз. Люминесцентная микроскопия применяется как дополнительный метод диагностики сибирской язвы, при этом сибиреязвенные бациллы, обработанные люминесцирующей сывороткой, выглядят как палочки с ободком, светящиеся зеленоватым светом.

Для выделения чистой культуры исследуемый материал засевают на МПА и МПБ, а также заражают лабораторных животных (белые мыши, морские свинки). Выделенную чистую культуру идентифицируют по общепринятой схеме с учетом морфологии, характера роста на МПА и МПБ, разжижения желатина в виде перевернутой елочки, отсутствия подвижности, положительного теста «жемчужного ожерелья» и лизиса сибиреязвенным бактериофагом «ВА-9» и «Саратов». Дополнительно определяют лецитиназную, фосфатазную и гемолитическую активность. Дифференциально-диагностические признаки сибиреязвенных и почвенных бацилл представлены в табл. 16.26.

В биопробе патологический материал или испытываемую культуру вводят подкожно: мор-

Таблица 16.26. Дифференциально-диагностические признаки сибирязвенных и почвенных бацилл

| Вид бацилл | Подвижность | Капсула | Характер роста | | Патогенность для | | |
|------------------------|-------------|---------|---------------------|----------------------------------|--|----------------------|----------------------|
| | | | на бульоне с кровью | в лак-мусовой молочной сыворотке | мышей | морских свинок | кроликов |
| <i>B. anthracis</i> | — | + | Нет гемолиза | Покраснение | Гибель через 24 ч | Гибель через 24–26 ч | Гибель через 36–72 ч |
| <i>B. anthracoides</i> | Слабая | — | Гемолиз | Посинение | Патогенна при введении большого количества внутривенно | Непатогенна | |
| <i>B. subtilis</i> | Активная | — | » | » | Патогенны некоторые штаммы в больших дозах | | Непатогенна |
| <i>B. megaterium</i> | Умеренная | — | Нет гемолиза | » | То же | | » |
| <i>B. cereus</i> | Слабая | — | Гемолиз | » | » | » | » |

ским свинкам в паховой области, мышам в корень хвоста. Обычно мыши погибают через 1–2 суток, морские свинки — через 2–4 суток. Наблюдение за животными продолжают в течение 10 дней. У павших животных исследуют печень, селезенку, лимфатические узлы, почки, кровь из полостей сердца, места введения исследуемого материала. О наличии возбудителя сибирской язвы свидетельствуют типичная патолого-анатомическая картина у подопытных животных: отек в месте введения исследуемого материала, темная не свернувшаяся кровь, кровоизлияния в клетчатку, рыхлая селезенка и плотная красная печень. В мазках-отпечатках из органов и крови — наличие грамположительных капсулированных палочек.

Серодиагностика проводится в тех случаях, когда не удается обнаружить возбудителя в материале. Для определения антител в сыворотке крови больного используют реакцию латексной агглютинации или РПГА с протективным сибирязвенным АГ. Сибирязвенные антигены определяют в РИФ, ИФА, РСК, РНГА, РП в геле и реакции термореципитации по Асколи. Реакция Асколи имеет большое значение, так как позволяет обнаружить возбудитель при отрицательных результатах бактериологического

исследования. Наличие сибирязвенного антигена в разложившемся или мумифицированном трупе животного, коже (свежей, сухой, выделанной) и изделиях из нее, шкурках, мехе, шерсти определяют с помощью реакции термореципитации по Асколи. Однако для прижизненной диагностики она не дает серьезных преимуществ перед бактериологическим и серологическим методами.

Для ретроспективной диагностики при эпидемиологических исследованиях ставят кожные аллергические пробы с антраксинном. Антраксин вводят внутрикожно объемом 0,1 мл, результаты учитывают через 24–48 ч. Пробу считают положительной при наличии гиперемии диаметром более 16 мм и инфильтрата.

Лечение. Применяют антибиотики и сибирязвенный иммуноглобулин. Для антибактериальной терапии препарат выбора — пенициллин, при его непереносимости — тетрациклин.

Профилактика. Проводится в направлении всех трех звеньев эпидемического процесса: мероприятия 1 группы направлены на источник инфекции, мероприятия 2 группы — на разрыв механизма и путей передачи, мероприятия 3 группы — на восприимчивый кол-

лектив. Для специфической профилактики применяется живая сибиреязвенная вакцина СТИ (Санитарно-технический институт). Вакцина получена Н. Н. Гинсбургом с соавт. в 1942 г. Иммунизацию проводят по эпидемическим показаниям группам риска. Для экстренной профилактики назначают сибиреязвенный иммуноглобулин. Не специфическая профилактика такая же, как и при всех зоонозах, и сводится в основном к санитарно-ветеринарным мероприятиям:

1. Изоляция больных и подозрительных животных.
2. Сжигание трупов погибших животных и зараженных объектов (подстилка, навоз).
3. Обеззараживание мест содержания больных животных.
4. Очистка водоемов.
5. Осушение заболоченных участков (перепашивание, хлорирование).
6. Организация скотомогильников. При невозможности сжигания трупов их хоронят на отдельных сухих и пустынных участках; глубина ямы должна быть не меньше 2 м, труп кладут на толстый слой хлорной извести и засыпают ею сверху слоем до 10 см. Все мероприятия по захоронению следует проводить с соблюдением санитарных норм.
7. Санитарный надзор за предприятиями, занятыми переработкой животного сырья. Все поступающее сырье проверяют в реакции термопреципитации по Асколи, меховые изделия изготавливают только из сырья, давшего отрицательный результат в этой реакции.

16.5.2. Спорообразующие бактерии рода *Clostridium*

К роду *Clostridium* относятся подвижные палочки (реже неподвижные); которые образуют овальные или круглые споры, придающие клеткам веретенообразную форму (от греч. *kloster* — веретено). С возрастом могут изменять отношение к окраске по Граму, но на ранних стадиях культивирования всегда грамположительны. Хемоорганотрофы; одни виды проявляют сахаролитическую, другие — протеолитическую активность (возможно сочетание этих свойств либо их полное отсутствие). Наиболее характерные признаки — способность вызывать масляно-кислое брожение и

анаэробный распад углеводов с образованием масляной кислоты и газов (CO_2 , водород, иногда метан). Восстанавливают сульфиты до сульфидов. Большинство видов — строгие анаэробы; также имеются аэротолерантные виды. Типовой вид — *Clostridium butyricum* — первый анаэроб (вызывает масляно-кислое брожение углеводов), открытие которого позволило Луи Пастеру (1861) выделить анаэробные микробы; термин «кlostридии» ввел Трекюль (1863). Род включает виды, обитающие в почве, на дне пресных и соленых водоемов, в кишечнике человека и животных; отдельные виды патогенны, а другие нашли применение в биотехнологическом производстве некоторых органических кислот и спиртов. Современная систематика выделяет пять групп микробов, разделяемых по расположению спор, способности гидролизовать желатину и особым требованиям для роста. По экологическим свойствам выделяют 3 группы кlostридий: возбудители бродильных процессов (с преобладанием сахаролитических свойств); возбудители процессов гниения (с преобладанием протеолитических свойств) и патогенные виды (могут быть протеолитическими и сахаролитическими). Последнюю группу составляют: возбудители раневых кlostридиозов (газовой гангрены, столбняка); возбудители энтеральных кlostридиозов (ботулизм, псевдомембранозный колит) и непатогенные виды, вызывающие патологические процессы в ассоциациях с другими патогенными кlostридиями. Кlostридиозы, как правило, имеют экзогенное происхождение. Из более чем 120 видов в патологии человека играют роль около 20 видов; их основные дифференциальные признаки представлены в табл. 16.27.

16.5.2.1. Кlostридии столбняка (*Clostridium tetani*)

Столбняк (tetanus) — тяжелая раневая инфекция, вызываемая *Clostridium tetani*; характеризуется поражением нервной системы, приступами тонических и клонических судорог.

Возбудитель столбняка практически одновременно открыли Н. Д. Монастырский (1883) и А. Николаиер (1884); в чистой культуре впервые выделен С. Китазато (1889).

Таблица 16.27. Основные дифференциальные признаки патогенных для человека клостридий

| Вид | Споры | Аэробный рост | Лецитин | Липаза | Гидролиз желатина | Индол | Основные продукты метаболизма |
|------------------------|--------|---------------|---------|--------|-------------------|-------|-------------------------------|
| <i>C. botulinum</i> | | | | | | | |
| • I группа | ОС | - | - | + | + | - | УК, МК, иМК, иВК |
| • II группа | ОС | - | - | + | + | - | УК, МК |
| • III группа | ОС | - | + | + | + | - | УК, ПК, МК |
| • IV группа | КТ | - | - | - | + | - | УК, ПК, МК, иМК, ФУК |
| <i>C. tetani</i> | ОС | - | - | - | + | ± | УК, МК, ПК |
| <i>C. perfringens</i> | С | - | + | - | + | - | УК, МК |
| <i>C. difficile</i> | ОС | - | - | - | ± | - | УК, МК, иМК, ВК, иВК, иКК |
| <i>C. sordellii</i> | ОС | - | + | - | + | + | УК |
| <i>C. novyi</i> А | ОС | - | + | + | + | - | УК, ПК, МК |
| <i>C. novyi</i> В | ОС | - | + | - | + | - | УК, ПК, МК |
| <i>C. histolyticum</i> | ОС | ± | - | - | + | - | УК |
| <i>C. septicum</i> | ОС | - | - | - | + | - | УК, МК |
| <i>C. bifermentans</i> | ОС | - | + | - | + | + | УК |
| <i>C. sporogenes</i> | ОС | - | - | + | + | - | УК, МК, иВК |
| <i>C. tertium</i> | ОС | + | - | - | - | - | УК, МК |
| <i>C. ramosum</i> | К/ОС | - | - | - | - | - | УК |
| <i>C. butyricum</i> | ОС | - | - | - | - | - | УК, МК |
| <i>C. bryantii</i> | К/ОС/Т | - | + | - | - | - | УК, МК, МолК |

Примечание. Споры: О — овальные; К — круглые; С — субтерминальные; Т — терминальные. Метаболиты: УК — уксусная кислота; МК (иМК) — масляная (изомасляная) кислота; ПК — пропионовая кислота; ВК (иВК) — валериановая (изовалериановая) кислота; иКК — изокaproевая кислота; МолК — молочная кислота. КА — кровяной агар.

Морфология. Гамположительные палочки с закругленными концами, длиной 4–8 мкм и толщиной 0,3–0,8 мкм (в молодых культурах иногда образуют нитевидные клетки); располагаются одиночно или цепочками; подвижны (содержат 20 и более жгутиков, перетрихи), в старых культурах (30 суток и более) преобладают неподвижные формы. Споры круглые, реже овальные; расположены терминально; их диаметр в 2–3 раза превышает толщину бактерий, вследствие чего клетка имеет форму «барабанной палочки».

Культуральные свойства. Облигатные анаэробы; отличаются высокой чувствительностью к кислороду. На МПА и желатине в строго анаэробных условиях возбудитель растет медленно и образует тонкие прозрачные колонии с ровными или шероховатыми краями; рост колоний характерный — сначала на поверхности среды появляется «сеточка»,

образованная сливающимися колониями с отростками. Растет в виде прозрачных или серовато-желтых шероховатых (R-) и гладких (S-) колоний. При посеве столбиком в полужидкий агар через 24–48 ч формирует колонии в виде «чечевичек» (R-форма) или «пушинок» с плотным коричневым центром (S-форма). Спорообразование начинается на 2–3-е сутки; на 4–6-е сутки роста на жидкой среде вегетативные клетки разрушаются, и в среде остаются почти одни споры.

Биохимическая активность. Низкая, отсутствуют цитохромы, цитохромоксидаза, пероксидаза и каталаза. Основные продукты метаболизма — уксусная, масляная, пропионовая кислоты и этанол. Большинство штаммов не обладает сахаролитической активностью, но выделено несколько штаммов, ферментирующих глюкозу. Проявляет слабые протеолитические свойства; медленно расщепляет белки

и пептоны до аминокислот, последние разлагаются до угольной кислоты, водорода, аммиака, летучих кислот и индола. Для роста необходимы аргинин, гистидин, тирозин, валин, изолейцин, лейцин и триптофан. Образуют желатиназу и рениноподобный фермент, обуславливающий появление затемненных зон вокруг колоний на молочном агаре.

Антигенная структура. Имеют O- и H-АГ; по жгутиковым АГ выделяют 10 сероваров, все серовары продуцируют идентичные по своим антигенным свойствам экзотоксины.

Факторы патогенности. Патогенность обусловлена способностью продуцировать экзотоксины — *тетаноспазмин* и *тетанолизин*.

- *Тетаноспазмин* — полипептид; M_m — 150 000 Да; действует дистанционно, так как бактерии редко покидают рану. Антигенно однороден; хотя обнаружено 4 группы детерминант, но их структура и локализация недостаточно изучены. Токсин фиксируется на поверхности отростков нервных клеток, проникает в них за счет лиганд-опосредованного эндоцитоза и посредством ретроградного аксонного транспорта попадает в ЦНС. Механизм действия связан с подавлением высвобождения тормозных нейромедиаторов, в частности глицина и γ -аминомасляной кислоты, в синапсах (токсин связывается с синаптическими белками синаптобревином и целлюбревином). Первоначально токсин действует на периферические нервы, вызывая местные тетанические сокращения мышц. Токсин появляется в культурах на 2-е сутки, достигая пика образования к 5–7-му дню. Разрушается при длительном хранении в термостате, под действием света и кислорода.

- *Тетанолизин* (тетаногемолизин) обладает гемолитическим, кардиотоксическим и летальным эффектами, в патогенезе заболевания играет менее важную роль; максимальное накопление токсина в культуре наблюдают уже через 20–30 ч; процессы его образования не связаны с синтезом тетаноспазмина.

Устойчивость в окружающей среде. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде; в регионах с теплым климатом способны прорасти и размножиться в почве.

Чувствительность к антисептикам и дезинфектантам. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям; они выживают в течение 8–10 ч в 1% растворе сулемы и 5% растворе фенола, а также выдерживают кипячение в течение 0,5–1 ч.

Эпидемиология. Естественный резервуар и источник возбудителя инфекции — почва, хотя многие исследователи склонны считать резервуаром инфекции толстый кишечник сельскохозяйственных и диких животных. Повышенную заболеваемость отмечают в регионах с теплым климатом, создающим условия не только для длительного сохранения спор в почве, но и для их прорастания и размножения вегетативных форм. Механизм передачи — контактный, путь — раневой (бытовая травма, огнестрельные ранения и др.). Восприимчивость — высокая; заболеваемость значительно возрастает среди раненых во время военных действий; основная группа риска в мирное время — работники сельского хозяйства, жители сельских районов (80–86 % заболевших), дорожные и строительные рабочие, шахтеры и т. д. Ежегодная смертность от столбняка превышает 1,2 млн человек. Столбняк часто поражает новорожденных при родах в антисанитарных условиях. У них развивается «пупочный столбняк», от которого ежегодно гибнет более 1 млн новорожденных.

Патогенез. Входные ворота инфекции — бытовые и производственные травмы, причем наиболее часто поверхностные или колотые, когда больной не обращается за медицинской помощью. Столбняк — токсинемическая инфекция, основным патогенетическим фактором которой является столбнячный токсин. Возбудитель остается в ткани на месте входных ворот; продуцирует экзотоксин, который поступает в кровь и распространяется по организму по кровеносным и лимфатическим сосудам, а также по нервным стволам, и достигает спинного и продолговатого мозга. Токсин фиксируется на поверхности отростков нейронов, проникает в них за счет лиганд-опосредованного эндоцитоза и посредством ретроградного аксонного транспорта попадает в ЦНС. Механизм действия токсина связан с подавлением высвобождения тормозных нейромедиаторов, в частности глицина и γ -аминомасляной кислоты, в синапсах (токсин связывается с синаптическими белками синаптобревином и целлюбревином), в результате чего нарушается проведение импульсов по нервным волокнам. Первоначально токсин

действует на периферические нервы, вызывая местные тетанические сокращения мышц. При столбняке поражается не только нервная система — в патологический процесс вовлекаются все системы организма.

Клиника. Инкубационный период 6–14 дней. Легкая форма (локальный столбняк) характеризуется периодическими спазмами в пораженной области. Генерализованный столбняк — наиболее часто встречаемая форма с характерными мышечными спазмами; из других проявлений можно отметить разбитость, тахикардию, аритмии, менингит, гипокальциемию.

Ведущее проявление болезни — судорожный синдром, включающий болезненные сокращения мышц (*тетанус*) и длительное напряжение мышц (*мышечная ригидность*). Характерными проявлениями последнего считаются *опистотонус* (тетанический спазм, при котором позвоночник и конечности согнуты; больной лежит на спине и опирается на затылок и пятки) и *сардоническая улыбка* (подобие оскала, вызванного спазмом лицевых мышц). Мозговые поражения включают поражения черепно-мозговых нервов (наиболее часто — VII пары); характерны тонические спазмы лица и глотки. У человека столбняк носит нисходящий характер. Столбняк новорожденных протекает в основном так же, как и у взрослых.

Иммунитет. Естественный иммунитет у человека к столбняку отсутствует. Постинфекционный иммунитет, как правило, не формируется, поскольку токсигенная доза столбнячного токсина во много раз ниже дозы иммуногенной и отмечаются повторные случаи заболевания.

Микробиологическая диагностика. Микробиологические исследования лишь подтверждают клинический диагноз. Возбудитель обычно обнаруживают в месте его проникновения в организм больного. Поэтому наиболее рационально исследование различного материала, взятого в месте ранения. В тех случаях, когда входные ворота неизвестны, следует тщательно осмотреть больного для выявления ссадин, царапин, катаральных и воспалительных процессов; необходимо обратить внимание на старые рубцы после ранений, так как возбудитель может долго в них сохраняться; в некоторых случаях исследуют слизь из носа, бронхов, глотки, налет с миндалин, а также выделения из влагалища и матки (при послеродовом столбняке или аборте). При бактериологическом исследовании трупов также

принимают во внимание возможность генерализации инфекции. Для анализа забирают кровь (10 мл) и кусочки печени и селезенки (20–30 г).

Для диагностики применяют *бактериоскопический, бактериологический и биологический* методы.

Обнаружение в мазках из материала, взятого от больного или трупа, тонких длинных грамположительных палочек с круглыми терминальными спорами «барабанные палочки» вызывает подозрение на наличие *Clostridium tetani*, однако на основании бактериоскопии нельзя делать заключение о присутствии возбудителя, так как в материале могут находиться морфологически сходные с ним клостридии.

Выделение возбудителя проводят по обычной схеме. Исследованию подлежат материал от больного или трупа, перевязочный и шовный хирургический материал, а также почва, пыль и воздух. Исследуемый материал засевают на среду Китта—Тароцци, инкубируют в термостате 3–4 суток, после чего пересевают на плотные среды для получения колоний. Выделенную культуру идентифицируют и определяют ее токсигенность на белых мышах или в РП в геле.

При исследовании материала от больного или трупа параллельно бактериологическому анализу проводят обнаружение столбнячного токсина в РПГА с иммуноглобулиновым столбнячным диагностинумом или в *биологической пробе* на мышах. Для этого материал измельчают, добавляют двойной объем физиологического раствора, фильтруют; часть фильтрата смешивают с противостолбнячной сывороткой из расчета 0,5 мл (200 АЕ/мл) сыворотки на 1 мл экстракта и инкубируют в течение 40 мин. Затем одной группе животных вводят экстракт без предварительной инкубации с сывороткой, а другой группе — проинкубированную смесь; при наличии столбнячного токсина у животных первой группы развиваются симптомы столбняка.

Лечение направлено на нейтрализацию столбнячного токсина антитоксином. Применяют противостолбнячную лошадиную сыворотку в дозе 50–100 тыс. МЕ (курс — 2 инъекции, в тяжелых случаях — 3 инъекции дробно) или донорский противостолбнячный иммуноглобулин в дозе 900 МЕ.

Профилактика. При травмах обязательна хирургическая обработка раны, соблюдение правил асептики и антисептики при операциях; борьба с травматизмом. Для специфической профилактики проводится плановая или экстренная иммунизация.

Для создания искусственного активного иммунитета в плановом порядке применяют столбнячный анатоксин, сорбированный на гидроокиси алюминия в составе вакцин АКДС, АДСм, АСм или секстанатоксин. Первичную вакцинацию проводят детям в 3-месячном возрасте (курс включает 3 инъекции АКДС с интервалом 30–40 суток), затем в соответствии с календарем прививок периодически проводят ревакцинации. Для иммунизации военнослужащих используют секстанатоксин.

Экстренная профилактика проводится при травмах, ожогах и обморожениях, укусах животных, при внебольничных абортах путем введения ранее привитым одного столбнячного анатоксина (0,5 мл). Непривитым вводят 1 мл столбнячного анатоксина и 250 МЕ донорского иммуноглобулина (если он отсутствует, то проведя предварительную внутрикожную пробу, вводят 3000 МЕ противостолбнячной сыворотки по Безредке).

16.5.2.2. Клостридии ботулизма (*Clostridium botulinum*)

Ботулизм — острая пищевая токсикоинфекция, протекающая с преимущественным поражением центральной и вегетативной нервной системы.

В России первое клинико-эпидемиологическое описание ботулизма привел Зенгбуш (1818); возбудитель открыл Э. ван Эрменген (1869).

Морфология. Палочки с закругленными концами размером $4 \div 8 \times 0,6 \div 0,8$ мкм; подвижны, перитрихи. При неблагоприятных условиях образуют субтерминально расположенные споры; их диаметр в 2–3 раза превышает толщину бактерий, вследствие чего клетка имеет форму «теннисной ракетки». Молодые культуры окрашиваются грамположительно, 4–5-суточные — грамотрицательно.

Культуральные свойства. Строгие анаэробы. На кровяном агаре с глюкозой образуют очень

мелкие сероватые или желтоватые мутные колонии линзообразной формы с зоной гемолиза различной ширины. На печеночном агаре образуют полиморфные звездчатые колонии; на желатине — сероватые, окруженные зоной разжиженного желатина. В столбике агара можно обнаружить диссоцианты; R-формы имеют форму чечевичных зерен, S-формы — пушинок. Хорошо растут на жидких средах (на среде Китта—Тароцци, бульонах из гидролизатов казеина, мяса или рыбы) при условии предварительного удаления кислоты из среды кипячением в течение 15–20 мин с быстрым охлаждением. Вызывают помутнение среды и газообразование; иногда имеется запах прогорклого масла, но этот признак непостоянен. Оптимум pH для роста — 7,3–7,6; для прорастания спор — 6,0–7,2. Температурный оптимум роста 25–35 °C.

Биохимическая активность. По биохимическим свойствам выделяют 4 группы:

- бактерии I группы — проявляют выраженные протеолитические свойства, гидролизуют желатину и эскулин, ферментируют глюкозу и мальтозу; проявляют липазную активность на яичном агаре;

- бактерии II группы — проявляют сахаролитическую, но лишены протеолитической активности;

- бактерии III группы — проявляют липазную активность и гидролизуют желатину;

- бактерии IV группы — гидролизуют желатину, но не проявляют сахаролитических свойств и липазной активности, что послужило основанием для предложения выделить их в отдельный вид — *Clostridium argentiense*.

Все типы *Clostridium botulinum* образуют желатиназу, лецитиназу и H_2S . Проявляют широкий спектр сахаролитической активности: бактерии типов А, В, Е и F ферментируют глюкозу, левулезу, фруктозу, мальтозу и сахарозу; типов С и D — глюкозу и мальтозу, тип G инертен к углеводам. *Clostridium botulinum* типов А и В обладают выраженными протеолитическими свойствами, разлагают свернувшийся яичный белок и гидролизуют желатину.

Антигенная структура. Имеются группоспецифические жгутиковые (H-) и типоспецифические соматические (O-АГ) бактерий.

не проявляющих токсических свойств. По структуре экзотоксинов бактерии разделяют на 8 сероваров: А, В, С_{1(α)}, С_{2(β)}, D, E, F и G.

Факторы патогенности. Патогенность обусловлена сильным экзотоксином, чувствительность к которому различна у человека и животных. Человек наиболее чувствителен к токсинам типов А, В, Е, а животные и птицы — к токсинам типов С, D, F; однако известны случаи заболевания человека, вызванные токсинами типов С и F. Ботулотоксин — белок, проявляющий нейротоксическое действие, молекулярная масса может варьировать от 60 до 150 кДа. Токсин разрушается при кипячении в течение 20 мин; легко кристаллизуется в белый хлопьевидный порошок. Человек и животные очень чувствительны к токсинам ботулизма. Ботулотоксин является самым сильным ядом, известным человеку. По расчетным данным, 1 г кристаллического токсина содержит 10¹² смертельных для человека доз токсина. Токсины всех типов проявляют гемолизирующее действие. Оптимальная температура для токсинообразования переменна: для бактерий типов А, В, С и D — 35 °С, для бактерий типов Е и F — 28–30 °С.

Устойчивость в окружающей среде. *C. botulinum* обитает в почве. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде; в регионах с теплым климатом способны прорасти и размножиться. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям. Инактивация спор может быть достигнута автоклавированием при 160–170 °С в течение 60–120 мин.

Эпидемиология. Заболевание регистрируют повсеместно, исключая районы вечной мерзлоты. Наиболее часто заболевания вызывают типы А, В и Е. Типы Е и F впервые выявлены в России; тип G первично выявлен в Аргентине. Естественный резервуар и источник возбудителя инфекции — почва и различные животные. Повышенную заболеваемость отмечают в регионах с теплым климатом, создающим условия не только для длительного сохранения спор в почве, но и их прорастания и размножения вегетативных форм. Механизм передачи — фекально-оральный, путь — алиментарный. Споры, попадая в пищевые продукты (мясные, овощные, особенно консервированные), прорастают, образуют токсин, который при употреблении пищи вызывает отравление.

Патогенез. Ботулизм — токсинемическая инфекция; основным патогенетическим фактором является токсин, который поступает в кровь и распространяется по организму по кровеносным сосудам. Фармакокинетическая активность токсинов различных типов практически одинакова, они сорбируются на клетках слизистой оболочки кишечника, проникают в кровь и в периферические нервные окончания. Действие токсина включает связывание Н-цепи с мембраной, поглощение токсина и формирование пор в синаптических пузырьках (каждую пору формируют 4 молекулы токсина), что приводит к блокированию слияния синаптических пузырьков с мембраной; мишень для действия — интегральные синаптические белки. В частности, токсины серотипов В, D, F расщепляют синаптобrevин, А и Е — SNAP-25, С — синтаксин, D и F — целлюбrevин. Избирательно поражают α-моторные нейроны передних рогов спинного мозга, что обуславливает характерные параличи мышц.

Клиника. Инкубационный период обычно составляет 24 ч, но может варьировать от 4–6 до 96 ч и более. Проявления зависят от природы продукта, ставшего причиной отравления, количества накопившегося в нем и поступившего в организм токсина, состояния больного. Первые, но не постоянные признаки — расстройства ЖКТ (тошнота, рвота, боли в животе). Часто больные жалуются на сухость во рту или гиперсаливацию. Одновременно развиваются головная боль и нервно-паралитические явления — нарушение глотания, диплопия (двоение в глазах), нтоз (опущение век), анизокория (поражение сфинктера зрачка). Затем возникает парез и паралич мышц шеи, конечностей, дыхательной мускулатуры и сердечной мышцы, в результате чего наступает смерть.

Иммунитет. Естественный иммунитет человека к ботулизму отсутствует. Перенесенное заболевание не оставляет иммунитета, поскольку токсигенная доза ботулотоксина во много раз ниже дозы иммуногенной. Чувствительность к ботулиническому токсину у различных животных подвержена резким колебаниям. Абсолютно резистентные виды неизвестны, но всеядные животные обладают меньшей чувствительностью.

Микробиологическая диагностика. Исследованию подлежат остатки пищевых продуктов; рвотные массы, промывные воды желудка,

фекалии, моча, кровь, секционный материал. Кровь берут из вены в количестве 5–10 мл и разводят 3–4% раствором цитрата натрия в соотношении 2:1; промывные воды из желудка забирают в объеме 50–100 мл; кал — 50–60 г. От трупа забирают кусочки печени (50–60 г), отрезки кишечника и желудка и их содержимое, лимфатические узлы, головной и спинной мозг, кровь. До поступления в лабораторию образцы хранят на холоде.

Исследования проводят одновременно в двух направлениях: обнаружение в материале ботулотоксина и выделение возбудителя. Ботулотоксин определяют в биопробе на животных или в РНГА и ИФА. Для выявления ботулотоксина и определения его типа, что крайне важно при назначении антитоксической терапии, мышам вводят исследуемый материал и смесь материала с антитоксической ботулинической сывороткой типов А, В, Е и др. По гибели животных устанавливают наличие токсина и его тип. Кровь исследуют только на наличие токсина в биологической пробе на мышах или морских свинках. Испражнения исследуют только на наличие возбудителя посевам на питательные среды, весь остальной материал — на наличие токсина и возбудителя. Банки с консервированными продуктами выдерживают в термостате 10–12 суток, стерильно отбирают 50–100 г, растирают в ступке и центрифугируют; в надосадочной жидкости определяют токсин, в осадке — возбудитель. Мясо и рыбу обрабатывают спиртом и забирают пробы из внутренних частей; пробы рыбы рекомендуют брать от хребта и внутренних органов. Пробы изучают аналогично исследованиям консервированных продуктов.

Выделение возбудителя проводят по общепринятой схеме.

Лечение. Для лечения по Безредко больному внутривенно вводят одну международную лечебную дозу (содержит по 10 000 МЕ сывороток типов А и Е и 5000 МЕ типа В); однократного введения обычно бывает недостаточно, поэтому ее вводят ежедневно до достижения клинического эффекта. После лабораторного выявления типа возбудителя вводят сыворотку только против данного типа.

Профилактика. Для специфической профилактики применяют ботулинический полиа-

натоксин, содержащий анатоксины А, В. Для экстренной профилактики используют поливалентная (типов А, В, Е) лошадиная сыворотка, выпускаемая в жидком и сухом виде. При производстве консервированных (мясных, рыбных, овощных) продуктов необходимо соблюдать санитарно-гигиенические условия стерилизации консервов и их хранения, исключающие накопление токсина в продукте. При консервировании мяса широко применяют нитриты.

16.5.2.3. Клостридии газовой гангрены

Анаэробная раневая газовая инфекция (газовая гангрена, анаэробный миозит) — желтая раневая инфекция человека и животных, вызываемая бактериями рода *Clostridium* в ассоциации между собой и с аэробными или анаэробными УПМ, которая характеризуется острым тяжелым течением, быстрое наступающим и распространяющимся крозом преимущественно скелетных мышц с развитием отеков и газообразованием, желтой интоксикацией и отсутствием выраженных воспалительных явлений.

Впервые раневая госпитальная гангрена была описана А. Паре в 1562 г. А. Вельпо (1839) опубликовал наблюдения над подобным заболеванием, названным им «травматическая эмфизема». Полное описание клинической картины и течения различных форм газовой инфекции дал Н. И. Пирогов во время Севастопольской и Кавказской военных кампаний. В 1861 г. Л. Пастер описал *Vibrio septique* (септический вибрион), который со времени выделения культуры Пастером совпадает с *Clostridium perfringens* (Ж. Жубером (1877) длительное время оставался единственным идентифицированным микробом, которым связывали многие заболевания. М. В. Вейнберг и К. Сеген (1891) установили, что открытая ими бактерия злокачественного отека (*Clostridium oedematiens* типа А) способна вызывать инфекции у человека; позднее возбудитель был охарактеризован Ф. Нови (1894) и по имени исследователя. *Clostridium perfringens* типа А открыли американские патологи М. Уэлч и Г. Неттал (1894); чистой культуре получили А. Вейон и Ж. Жубер (1894), давшие ему название *perfringens*. Дальнейшая история открытия возбудителей анаэробных инфекций включает выделение сапрофитов *C. putrificus* (Биншток, 1898), *Clostridium sporogenes* (И. И. Мечников, 1908), а в 1910 г. — *Clostridium botulinum* (И. И. Мечников, 1910).

М. В. Вейнберг и К. Сеген выделяют *C. fallax*, «бациллу злокачественного отека» *Clostridium oedematiens* (1915) и «тканерастворяющую» бациллу *Clostridium histolyticum* (1917). *Clostridium sordellii* выделена Сорделли от больного газовой гангреной в Буэнос-Айресе (1922).

16.5.2.3.1. *Clostridium perfringens*

Морфология. Vegetативные клетки — крупные, грамположительные, неподвижные. Классические формы представлены короткими палочками с обрубленными под прямым углом концами ($0,6 \div 1,0 \times 1 \div 1,5$ мкм). Хорошо окрашиваются анилиновыми красителями; в старых культурах могут быть грамотрицательными. Форма может варьировать: например, на углеводных безбелковых средах могут образовывать коккобациллярные формы, а на белковых безуглеводных средах — нити с заостренными концами. В организме образуют капсулы; в течение некоторого времени капсулы сохраняются и при культивировании на средах, содержащих нативный белок; капсулы наиболее выражены у вирулентных штаммов, резистентных к фагоцитозу. Споры крупные, овальные, расположены центрально (у *C. perfringens* типа А — также субтерминально); клетка практически не деформируется.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы. На плотных питательных средах *C. perfringens* типа А образует S- и R-колонии. S-колонии круглые, куполообразные, с гладкими ровными краями; в начале роста прозрачные, напоминающие капли росы, позднее становятся мутными, серовато-белыми. R-колонии неправильной формы, бугристые, с шероховатыми неровными краями; в глубине агара напоминают комочки ваты. У некоторых штаммов отмечают слизистые M-колонии. Колонии окружены зоной гемолиза; который может быть полным либо частичным. Зона гемолиза может быть двойной: вокруг колоний полный гемолиз за счет действия гемолизина, на отдалении — неполный за счет действия лецитиназы. При контакте с кислородом колонии могут приобретать зеленоватую окраску. Рост на жидких и полужидких средах, особенно содержащих глюкозу, происходит очень бурно с образованием H_2 и CO_2 и обычно заканчивается через 8–12 ч; при стоянии среда постепенно светлеет,

и образуется обильный осадок; культуры *C. perfringens* типа А имеют характерный запах масляной кислоты. Оптимум pH — 7,2–7,4, но могут расти в интервале 5–8,5. Первые признаки роста на среде Китта—Тароцци могут проявляться уже через 1–2 ч особенно при 43 °С; последние проявляются появлением пузырьков газа из-под кусочков печени при встряхивании. Помутнение среды и активное газообразование можно наблюдать через 4–8 ч культивирования. На лакмусовом молоке (по Минкевичу) через 1–3 часа после посева, в результате бурной ферментации молока и разложения лакмуса в кислой среде наблюдается выраженное створаживание молока с просветлением сыворотки, образование губкообразного оранжево-красного сгустка, содержащего пузырьки газа.

Биохимическая активность. Расщепляет с образованием кислоты и газа глюкозу, ксилузу, галактозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, раффинозу, маннозу, крахмал, гликоген и инозит; глицерин разлагают не все штаммы; не сбраживает маннит, дульцит; редко ферментирует салицин и инулин. От прочих клостридий отличается способностью восстанавливать нитраты, расщеплять лактозу, образовывать лецитиназу. Протеолитическая активность слабая; разжижает желатину, не разлагает казеин; только некоторые штаммы медленно разжижают свернувшуюся сыворотку. Интенсивно створаживают молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка уже через 3 ч, феномен известен как «штормовая реакция».

Антигенная структура. Выделяют 5 сероваров (А, В, С, D, Е), различающихся по антигенным свойствам продуцируемых экзотоксинов. Все серовары образуют α-токсин (лецитиназу). Тип А включает много подтипов, идентифицируемых в РА, что облегчает диагностику в случаях пищевых токсикоинфекций и анаэробных раневых инфекций.

Факторы патогенности. Для человека патогенны *C. perfringens* типов А, С и D; типы В, С, D и Е вызывают аналогичные заболевания у сельскохозяйственных животных (см. табл. 16.31). Возбудитель образует как минимум 12 идентифицированных токсинов и ферментов, играющих роль в патогенезе газовой

Таблица 16.28. Токсины *Clostridium perfringens*

| Токсин | Биологическая активность | Тип | | | | |
|--------|---|-----|-----|---|-----|-----|
| | | A | B | C | D | E |
| α | Дерматонекротизирующее, гемолитическое, летальное действие, опосредованное лецитиназой активностью | + | + | + | + | + |
| β | Некроз тканей, летальное действие на морских свинок альбиносов | | + | + | | |
| δ | Гемолитическая активность в отношении эритроцитов барана, летальное действие на лабораторных животных | | + | + | | |
| θ | Гемолитическое, дерматонекротизирующее, летальное действие; разрушает эритроциты барана, лошади, мыши | +/- | +/- | + | +/- | +/- |
| ε | Летальное, дерматонекротизирующее действие | | + | | + | |
| ι | | | | | | + |
| κ | Летальное, некротизирующее действие, разрушает ретикулярную ткань мышц и коллагеновые волокна соединительной ткани; активность усиливает цистеин в присутствии Fe ²⁺ | + | | + | +/- | + |
| λ | Расщепляет денатурированный коллаген и желатин | | | | | |
| γ и η | Летальное действие на лабораторных животных | | | | | |
| μ | Повышение проницаемости тканей | | | | | |
| ν | Расщепляет нуклеиновые кислоты | | | | | |

гангрены (табл. 16.28). Мишенью для действия основных токсинов являются биологические мембраны клеток; в основе механизма поражения лежат ферментативные процессы, катализирующие гидролитическое расщепление и нарушение клеточной проницаемости, что в последующем ведет к отеку в области поражения тканей, который сопровождается снижением окислительно-восстановительного потенциала в клетках, активацией эндогенных протеаз, приводящих к аутолизу тканей, характерному для газовой гангрены.

C. perfringens типов А и С образуют энтеротоксин, вызывающие пищевые токсикоинфекции; по своей природе это термолабильный протеин, продуцируемый при споруляции бактерий в толстой кишке; его практически не образуют лабораторные культуры, и он быстро разрушается при термической обработке пищевых продуктов, что значительно затрудняет его биохимическое изучение и идентификацию. Энтеротоксин вызывает рвоту и диарею, оказывает летальное действие, а также обуславливает появление эритематозной кожной сыпи у лабораторных животных. Диарея развивается вследствие потери воды и электролитов за счет дилатации и повышения проницаемости капилляров.

Экологическая ниша. *C. perfringens* широко распространен в окружающей среде; его выделяют из воды, почвы, сточных вод; часто обитает в кишечнике людей и животных. Наиболее часто в почве и испражнениях обнаруживают серотип А. Место постоянного обитания представителей серотипа С, ответственных за пищевые токсикоинфекции у человека, пока не установлено; возбудителей выделяют из мясных и рыбных консервов и органов людей, скончавшихся от «некротического энтерита».

Устойчивость в окружающей среде. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде; способны вегетировать в почве, богатой гумусом. *C. perfringens* типа А относительно толерантен к кратковременным кислородным воздействиям, хотя имеются чувствительные штаммы, погибающие при воздействии O₂ на культуру в течение 3 мин. При варке мяса некоторые споры погибают в течение нескольких мин, тогда как другие выдерживают кипячение в течение 2 ч; споры, находящиеся в жировой ткани, выживают на протяжении длительного времени. Термоустойчивость спор серотипов В и D относительно невысока (погибают при кипячении в течение 15–30 мин), споры типов

Таблица 16.29. Токсины *Clostridium novyi*

| Токсин | Биологическая активность | Тип | | | |
|--------|--|---------------------|--|----------------------------------|----------------------------------|
| | | А | В | С | Д |
| α | Термолабильный; летальный, некротический | Анаэробная инфекция | Анаэробная инфекция; «черная» болезнь травоядных | Хронический остеомиелит буйволов | Бациллярная гемоглобинурия телят |
| β | Лецитиназа С; летальный, некротический, гемолитический | | | | |
| γ | Лецитиназа; некротический, гемолитический | | | | |
| δ | O ₂ -лабильный; гемолизин | | | | |
| ε | Липаза | | | | |
| ξ | Гемолизин; O ₂ -стабильный | | | | |
| η | Тропомииозиназа | | | | |
| θ | Неизвестна; вызывает помутнение лецитовителлина | | | | |

А и С более устойчивы и выживают при кипячении и даже автоклавировании в течение 1–6 ч. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

16.5.2.3.2. *Clostridium novyi*

Clostridium novyi (*Clostridium oedematiens* типа А) — наряду с *C. perfringens* основной возбудитель анаэробной раневой инфекции. В годы Второй мировой войны инфекции, вызванные *C. novyi*, составляли 42 % от всех регистрируемых случаев гангрены.

Морфология. Крупные или слегка изогнутые подвижные грамположительные палочки размером 4–10×1–2 мкм; перитрихи, имеют 20–25 жгутиков. Обладает выраженным полиморфизмом, некоторые штаммы образуют короткие палочки или нити. В молодых культурах похожи на *C. perfringens*, но отличаются подвижностью. Молодые клетки хорошо окрашиваются основными анилиновыми красителями; бактерии из старых культур могут изменять отношение к окраске по Граму. Споры овальные, расположены субтерминально. На мясных и казеиновых средах спорообразование наблюдают на 2–6-е сутки; на обогащенных средах спорообразование менее обильное и более медленное.

Культуральные свойства. Obligatный анаэроб. На плотных средах в анаэроstate уже через 48 ч образует круглые сочные сероватые полупрозрачные колонии, иногда с зернистой поверхностью и неровными краями. *C. novyi* типов А, В и С имеют тенденцию к образованию дочерних и подвижных колоний. На кровяном агаре образуют шероховатые колонии; у бактерий типов А, В и С они окружены зоной гемолиза.

Бактерии типа D эритроциты не разрушают. Колонии типов А и В, выросшие на кровяном агаре с бензидином, быстро чернеют на воздухе за счет образования H₂O₂. В глубине агара образуются колонии, напоминающие линзы, комочки ваты, снежные хлопья и т. д.; часто окрашены в желтоватый или коричневатый цвет. На жидких средах растет сравнительно медленно и вызывает сдвиг pH в кислую сторону за счет образования органических кислот и H₂S. На МПА с 0,5 % глюкозы или 3 % декстрина при 37 °C происходит равномерное помутнение среды, затем образуется рыхлый осадок.

Биохимическая активность. Типы А, В и С ферментируют глюкозу, фруктозу и мальтозу, а тип D — только глюкозу; все штаммы разлагают глицерин. Показано наличие у типа А глицерикиназы, α-амилазы и α-глюкозидазы, что указывает на способность разлагать полисахариды путем гидролиза и фосфорилирования. Протеолитические свойства выражены слабо; все штаммы разлагают желатину, медленно сворачивают молоко, но не разлагают свернувшийся яичный белок; тип D образует индол и H₂S.

Антигенная структура. У штаммов типов А, В и D представлена двумя одинаковыми соматическими АГ, находящимися в различных соотношениях; сыворотки к штаммам типа В могут иногда перекрестно реагировать с АГ других типов.

Факторы патогенности. Вырабатывает 8 токсинов, определяющих патогенность (табл. 16.29); γ- и β-токсины не тождественны одноименным токсинам *C. perfringens*, но соответствуют α-токсину. Образует гиалуронидазу, идентичную μ-токсину *C. perfringens*.

Устойчивость в окружающей среде. Широко распространены в природе; выделяются из почвы и ЖКТ здоровых животных. Устойчивы к нагреванию, выживают при кипячении в течение 1–2 ч; в костях животных сохраняются до 10 лет. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

16.5.2.3.3. *Clostridium histolyticum*

Морфология. Палочка размером $3 \div 5 \times 0,5 \div 0,8$ мкм; грамположительна (в старых культурах может быть грамтрицательной). В мазках часто образует пары или цепочки. Очень подвижна в молодых культурах, клетки из старых культур неподвижны, также известны изначально неподвижные штаммы. Почти на всех средах быстро образует субтерминальные споры с трехслойной оболочкой, не деформирующие клетку.

Культуральные свойства. Факультативный анаэроб, растет при давлении 3–15 мм рт. ст. (оптимум — 8 мм рт. ст.), обладает аэротолерантностью. В аэробных условиях растет плохо и не образует спор. В анаэробных условиях на кровяном агаре образует прозрачные выпуклые колонии диаметром 0,5–1 мм, окруженные тонкой зоной гемолиза. При продолжительном отборе можно получить штаммы, формирующие колонии в виде «головы Медузы». В толще агара неподвижные штаммы образуют «пушинки» с уплотненным центром, подвижные — чечевицеобразные колонии или колонии с протуберанцем. Вызывают сплошное помутнение жидких сред с протеолизом кусочков мяса и печени на дне. Через 2 суток среда становится прозрачной, а на дне образуется осадок, рН почти не меняется; запах отсутствует.

Биохимическая активность. Инертен к углеводам; к ферментации без образования кислоты способны лишь некоторые штаммы; не образует индол, вырабатывает в больших количествах сероводород. Проявляет выраженные протеолитические свойства — разлагают желатину, свернувшуюся сыворотку, яичный белок и коллаген (табл. 16.30).

Факторы патогенности. Продуцирует 5 типов токсинов:

- α -токсин (основной токсин), проявляющий летальное и некротическое действие;

- β -токсин (коллагеназа), расщепляющий азоколл и желатину;

- γ -токсин (протеиназа), активируемый восстановителями и не разрушающий нативный коллаген, но расщепляющий азоколл, желатину и казеин;

- δ -токсин (эластаза), проявляющий аналогичную активность;

- ϵ -токсин, проявляющий O_2 -зависимую гемолитическую активность (лабилен к кислороду, в антигенном отношении близок к стрептолизину O).

У человека *C. histolyticum* иногда вызывает газовую гангрену, обычно в ассоциации с другими анаэробами.

Устойчивость в окружающей среде. Экологическая ниша — почва. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде; вегетативные формы остаются жизнеспособными в аэробных условиях в течение 10 ч. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

16.5.2.3.4. *Clostridium septicum*

Морфология. Полиморфные подвижные палочки размером $4 \div 5 \times 0,8$ мкм; в тканях способны образовывать нити длиной до 500 мкм. В культурах клетки могут быть яйцевидные, веретеновидные, образуют цепочки. При контакте с кислородом теряют подвижность, но не так быстро, как *C. oedematiens*. Через 24 ч культивирования образуют субтерминальные споры.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы; растут при давлении 8–15 мм рт. ст. (выдерживают до 25 мм рт. ст.). На плотных средах образуют блестящие полупрозрачные колонии с неровными краями, имеют тенденцию к ползучему росту. На агаре Цейслера через 48 ч палочки образуют сплошной нежный налет, окруженный зоной гемолиза. В столбике 1% агара образуют колонии с отходящими переплетающимися нитями, на 2% агаре колонии имеют вид дисков, иногда с протуберанцем. На среде Китта—Тароши дает обильный рост; газообразование вариабельное; через 2 суток образует осадок.

Биохимическая активность. Ферментирует некоторые углеводы, не разлагает сахарозу, что используют для дифференциальной диагностики с *C. chavoiei*; протеолитическая активность выражена умеренно (см. табл. 16.30).

Таблица 16.30. Дифференциальные признаки клостридий газовой гангрены

| Признак | <i>Clostridium perfringens</i> | <i>Clostridium novyi</i> | <i>Clostridium septicum</i> | <i>Clostridium histolyticum</i> | <i>Clostridium sporogenes</i> | <i>Clostridium bifermens</i> | <i>Clostridium sordellii</i> | <i>Clostridium fallax</i> |
|---------------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| Подвижность | — | + | + | + | + | + | + | + |
| Ферментация: | | | | | | | | |
| • Глюкоза | + | + | + | ± | + | + | + | + |
| • Левулеза | + | ± | + | ± | — | — | + | + |
| • Лактоза | + | ± | + | ± | — | — | — | ± |
| • Сахароза | + | ± | ± | ± | — | — | + | + |
| • Галактоза | + | ± | + | ± | + | — | — | ± |
| • Мальтоза | + | ± | + | ± | + | — | + | + |
| • Инулин | — | — | — | ± | — | — | — | ± |
| • Маннит | ± | ± | ± | ± | — | — | ± | — |
| • Дульцит | — | — | — | — | — | — | — | — |
| • Салицин | — | ± | + | ± | — | + | — | ± |
| • Глицерин | ± | + | ± | ± | — | — | + | — |
| • Крахмал | + | — | — | — | — | — | — | — |
| Свернутая сыворотка | ± | — | — | + | + | + | + | — |
| Гемолиз | ± | + | + | + | + | + | + | ± |
| Лакмусовое молоко | КГ, сгусток через 3–16 ч | Свертывание через несколько суток | То же | Пептонизация | То же | То же | То же | Медленная пептонизация |
| Агар с бензидином | — | Почернение | — | — | — | — | — | — |

Факторы патогенности. Продуцирует 4 экзотоксина:

- *α*-токсин, проявляющий летальную, некротизирующую и гемолитическую активность;
- *β*-токсин, обладающий свойствами ДНКазы;
- *γ*-токсин (гиалуронидаза);
- *δ*-токсин, проявляющий свойства O₂-лабильного гемолизина.

Совместно с другими анаэробами вызывает газовую гангрену у человека и животных.

Устойчивость в окружающей среде. Экологическая ниша — почва. Споры способны длительное время сохраняться в окружающей среде; вегетативные формы остаются жизнеспособными при доступе кислорода в течение 10 ч. Споры отличает высокая устойчивость к химическим и физическим воздействиям.

16.5.2.3.5. *Clostridium sordellii*

Морфология. Подвижная палочка размером 2×4×0,6÷1 мкм.

Культуральные свойства. Факультативный анаэроб; на плотных питательных средах уже через 24–48 ч образует выпуклые сероватые колонии с неровными краями. На агаре с эритроцитами лошади дает узкую зону гемолиза, а на шоколадном агаре образует узкую зону просветления (за счет протеолиза). На агаре с куриным желтком, молоком и лактозой формирует зону опалесценции вокруг колоний. На жидких мясных средах дает интенсивный рост, часто с образованием слизи.

Биохимическая активность. Ферментирует многие углеводы, но не лактозу и сахарозу, проявляет выраженные протеолитические свойства (см. табл. 16.30).

Антигенная структура. Изучена недостаточно.

Факторы патогенности. Вирулентные штаммы продуцируют высоколетальный некротизирующий токсин, напоминающий α -токсин *C. novyi*; также образует лецитиназу С, серологически сходную с лецитиназой *C. perfringens* типа А, но проявляющую меньшую активность; продуцирует гемолизин типа θ -токсина *C. perfringens* типа А и δ -токсина *C. novyi* и *C. septicum*.

Экологическая ниша. Почва.

16.5.2.3.6. *Clostridium chavoiei*

Морфология. Грамположительные спорообразующие палочки.

Культуральные свойства. На среде Цейслера образует характерные колонии, напоминающие виноградные листья, нежного фиолетового цвета; на средах с кровью дает α -гемолиз. На среде Китта—Тароцци характерен обильный рост, споры образует через 24 ч, колонии не имеют неприятного запаха.

Биохимическая активность. Молоко створаживает за 3–6 суток; казеин и свернувшуюся сыворотку не разжижает; желатину не гидролизует.

Антигенная структура. По антигенным свойствам мало отличается от *C. septicum*.

Факторы патогенности. По биологическим свойствам мало отличается от *C. septicum*.

Экологическая ниша. Почва.

16.5.2.3.7. *Clostridium sporogenes*

Морфология. Подвижные палочки размером $3 \div 6 \times 0,5$ мкм.

Культуральные свойства. Напоминают другие клостридии.

Биохимическая активность. Проявляют выраженные протеолитические свойства и инертны в отношении большинства углеводов (см. табл. 16.30).

Антигенная структура. Мало изучена.

Факторы патогенности. Не образуют токсинов, участвующих в патогенезе анаэробной раневой инфекции. При смешанных анаэробных инфекциях увеличивают вирулентность *Clostridium perfringens* и *Clostridium septicum*; при попадании жизнеспособных спор в мышцы способны вызывать гнойные процессы.

Экологическая ниша. Почва.

16.5.2.3.8. *Clostridium fallax*

Морфология. Подвижная прямая палочка размером $2 \div 5 \times 0,5$ мкм с закруленными концами.

Культуральные свойства. Строгий анаэроб; на поверхности агара через 24–48 ч образует мелкие плос-

кие прозрачные колонии с неровными краями; на кровяном агаре дает узкую полоску гемолиза.

Биохимическая активность. Ферментирует углеводы; проявляет умеренную протеолитическую активность (см. табл. 16.30), сворачивает молоко с образованием кислоты. Не образует H_2S , индола, не восстанавливает нитраты.

Антигенная структура. Изучена недостаточно.

Факторы патогенности. Вырабатывает летальный токсин, не идентифицированный до настоящего времени.

Экологическая ниша. Почва.

16.5.2.3.9. *Clostridium bifermentans*

Морфология. Неподвижная палочка размером $4 \div 8 \times 1 \div 1,5$ мкм, в молодом возрасте грамположительная; в мазках располагается цепочками. Быстро образует центральные или субтерминальные споры, не деформирующие клетку.

Культуральные свойства. На агаре Цейслера образует нежный рост, напоминающий рост *C. oedematiens*. На средах с кровью дает α -гемолиз; проявляет лецитиназную активность (лецитиназа С). На среде Китта—Тароцци газ не образуется, через 24 ч культивирования появляется осадок. Рост сопровождается гнилостным запахом.

Биохимическая активность. Разжижает свернувшуюся сыворотку, гидролизует желатину, ферментирует глюкозу, левулезу и мальтозу.

Антигенная структура. Изучена недостаточно.

Факторы патогенности. Образует лецитиназу С.

Экологическая ниша. Почва.

Дифференциальные признаки клостридий газовой гангрены представлены в табл. 16.30.

Эпидемиология газовой гангрены. Естественный резервуар и источник возбудителя инфекции — почва. Механизм передачи — контактный, путь — раневой. Восприимчивость — высокая; заболеваемость значительно возрастает во время военных действий у раненых; основная группа риска в мирное время — работники сельского хозяйства, дорожные и строительные рабочие, шахтеры. В мирное время заболеваемость возрастает при стихийных бедствиях, таких как землетрясения; часто сопровождается краш-синдром.

Патогенез газовой гангрены. Все виды травматизма могут служить причиной развития газовой гангрены. Возникновению последней способствует загрязнение ран землей, наличие

Таблица 16.31. Заболевания, вызываемые *Clostridium perfringens*

| Тип | Форма патологии |
|-----|--|
| A | Газовая гангрена людей и животных, пищевые токсикоинфекции |
| B | Дизентерия молодняка сельскохозяйственных животных, энтеротоксемия овец и коз |
| C | Некротический энтерит человека; геморрагическая энтеротоксемия овец, коз, поросят и телят |
| D | Инфекционная энтеротоксемия человека; овец, коз, кроликов, телят, «травяная болезнь» лошадей |
| E | Энтеротоксемия телят и ягнят |

обширных очагов размножения и некроза тканей. В некротизированных тканях в условиях гипоксии споры прорастают и образуют вегетативные формы. Газовая гангрена — токсинемическая инфекция, основными патогенетическими факторами которой являются гангренозные токсины и ферменты агрессии, повреждающие здоровые ткани и вызывающие тяжелую общую интоксикацию организма. Возбудители продуцируют экзотоксины, которые поступают в кровь, распространяются по организму по кровеносным и лимфатическим сосудам и достигают мышечной ткани. Лецитиназа расщепляет лецитин, являющийся важным компонентом мембран клеток. Образующийся в результате биохимической активности клостридий газ расслаивает мышцы, а гиалуронидаза и коллагеназа увеличивают проницаемость тканей.

Клиника газовой гангрены. Инкубационный период составляет 1–3 дня. Клиническая картина разнообразна, проявляется отеком, газообразованием в ране, выраженной интоксикацией организма. Для поражений характерны некроз тканей и образование газа с гнилостным запахом. Характерная особенность гистологических препаратов из очагов поражения — практически полное отсутствие фагоцитов в очаге некротических поражений.

C. perfringens у человека вызывает два типа поражений — *газовую гангрену* и *пищевые токсикоинфекции* (табл. 16.31).

Газовая гангрена развивается при попадании *C. perfringens* на раневые поверхности, где бактерии активно размножаются в условиях пониженного содержания кислорода. Споры микробов могут быть занесены в раны из внешней среды, а также с кожи или из ЖКТ пациента.

Пищевые токсикоинфекции, вызванные серотипами А и С, приобретают все большую значимость, представляют актуальную проблему для здравоохранения

большинства стран мира. *C. perfringens* типа А вызывает преимущественно токсикоинфекции легкой и средней тяжести; инкубационный период составляет 6–24 ч; заболевания развиваются остро, с ощущениями боли в животе, рвотой (иногда с кровью) и диареей до 20 раз в сутки; общие нарушения проявляются слабостью, головокружениями; повышение температуры наблюдают редко. Симптомы исчезают в последующие 12–24 ч. Летальные исходы наблюдают редко, обычно у ослабленных пациентов — пожилых лиц, хронических больных и детей с нарушениями питания. Следует помнить о способности микробов проникать в кровоток и вызывать тяжелый анаэробный сепсис. Более тяжело протекает некротический энтерит, вызванный штаммами серотипа С. При острых формах болезнь может закончиться смертью пациента в течение 12–24 ч; симптомы аналогичны таковым при поражениях, вызываемых бактериями серотипа А, и обусловлены действием β-токсина; подобные пациенты нередко попадают на операционный стол с диагнозом «кишечная непроходимость»; смертность достигает 35%. Заболевание регистрируют достаточно редко, большое число случаев наблюдали в Германии после Второй мировой войны (в 1945–1948 гг. — 1056 случаев), а в настоящее время периодически отмечают в Новой Гвинее, что связано с особенностями национальной кухни.

Иммунитет. Естественный иммунитет у человека к газовой гангрене отсутствует. Перенесенное заболевание не оставляет антитоксического иммунитета, поскольку токсигенная доза гангренозных токсинов во много раз ниже иммуногенной дозы. Ведущая роль в защите от токсинов принадлежит антитоксинам.

Микробиологическая диагностика газовой гангрены. Исследуемый материал — пораженные и некротизированные ткани, взятые на границе со здоровыми, экссудат, гной, раневое отделяемое, кровь. От трупов берут кусочки

мышц, печени, селезенки; кровь из сердца, раневое отделяемое. При пищевых токсикоинфекциях исследуют рвотные массы, фекалии, кровь, остатки пищевых продуктов.

Для диагностики используют *бактериоскопический, бактериологический и биологический* методы.

Готовят мазки из исследуемого материала, окрашивают по Граму и Бурри-Гинсу (для выявления капсулы), микроскопируют, обращая внимание на наличие грубых грамположительных палочек или отдельных спор. Определяют подвижность в препарате «висячей капли». Ставят РИФ.

Сеют на казеиновые или мясные жидкие и плотные среды (кровяной агар, среда Вильсона—Блера); посеы инкубируют в анаэробе при 37 °С. Выделяют и идентифицируют чистую культуру по общепринятой схеме. Фильтраты культур или центрифугаты проверяют на наличие токсина в опытах на мышцах либо морских свинках или используют для проведения реакции нейтрализации с диагностическими сыворотками *C. perfringens, C. septicum, C. sordellii, C. oedematiens* А и В. Необходимо четко идентифицировать роль *C. perfringens* в развитии тех или иных клинических состояний, так как микроб часто входит в состав нормальной микрофлоры кишечника и его содержание может достигать 10³ микробных тел или 10 спор в 1 г фекалий здорового человека.

Для ускоренной диагностики исследуемый материал центрифугируют и с центрифугатом проводят реакцию нейтрализации со специфическими антитоксическими сыворотками.

К быстрым методам диагностики относится выявление лецитиназы в фильтрах и нейтрализация ее специфическими сыворотками; ГЖХ.

При пищевых токсикоинфекциях проводят бактериологическое исследование с целью выделения и идентификации возбудителя, определения массивности обсеменения исследуемого материала данным микробом и типа выделяемого им токсина.

Лечение. Направлено на нейтрализацию гангренозных токсинов антитоксином; хирургическое удаление некротизированных тканей. Применяют антитоксические сыво-

ротки, антибиотики и гипербарическую оксигенацию.

Профилактика. При травмах проводится хирургическая обработка раны; соблюдение правил асептики и антисептики при операциях; борьба с травматизмом.

Для специфической профилактики проводится плановая или экстренная иммунизация. Для создания искусственного активного иммунитета применяют секстанатоксин, в состав которого кроме столбнячного анатоксина и ботулинических анатоксинов типа А, В, Е входят анатоксины *C. perfringens* и *C. oedematiens*.

16.5.2.4. Клостридии диффициле (*Clostridium difficile*)

Clostridium difficile открыта Холлом и О'Тулом в 1935 г.

Морфология. Грамположительные палочки с овальными спорами.

Культуральные свойства. Как у клостридий других видов. Строгие анаэробы.

Биохимическая активность — см. табл. 16.27.

Антигенная структура. Изучена недостаточно.

Факторы патогенности. Бактерии продуцируют два вида экзотоксина: токсин А (энтеротоксин) с M_r 44 000—50 000 Да (оказывает диареягенное и летальное действие, стимулирует гуанилатциклазу) и токсин В (цитотоксин) с M_r 47 000 Да (оказывает летальное действие, значительно превосходящее действие токсина А; нарушает функции мембран с потерей K⁺ и фибронектина; ингибирует синтез белка).

Устойчивость в окружающей среде. Обитает в толстом кишечнике человека. Споры обладают высокой устойчивостью к факторам окружающей среды. Проявляет высокую резистентность к антибиотикам широкого спектра действия, что создает предпосылки для обширной колонизации кишечника и секреции больших доз токсинов, вызывающих изменения кишечной стенки; чувствительна только к действию ванкомицина.

Эпидемиология. Носительство *C. difficile* особенно распространено у новорожденных (до 50%), но именно у них наблюдают самый низкий уровень поражений. По мере развития нормальной микрофлоры (6—12 мес.) число носителей уменьшается; среди взрослых лиц не превышает 3%. Псевдомембранозный колит — госпитальная инфекция. Среди новорожденных возможна

ГЛАВА 16. Частная бактериология

контактная передача от ребенка ребенку или с руками персонала (при пеленании, кормлении и купании «одними и теми же руками»); среди взрослых доминируют контактно-бытовые пути госпитального распространения.

Патогенез. Возбудитель вызывает псевдомембранозный энтероколит на фоне нерациональной терапии антибиотиками (клиндамицином, ампициллином и цефалоспоридами) и цитостатиками, вызывающими глубокий дисбаланс микрофлоры и колонизацию кишечника *C. difficile*.

Клиника. Псевдомембранозный энтероколит характеризуется образованием и выделением с калом пленчатого материала — структур, представленных фибрином и слизью. Больные жалуются на коликообразные боли в животе, температура тела может достигать 39 °С и выше. У больных профузные водянистые диареи; у 50 % пациентов выявляют лейкоциты в кале и лейкоцитоз.

Иммунитет. Не изучен.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат фекалии. Для диагностики применяют бактериологический метод; выделяют возбудитель из фекалий. Для обнаружения токсина в фекалиях используют серологический (ставят РНГА, ИФА) и биологический метод: ставят реакцию нейтрализации на мышцах или цитотоксический тест в культуре клеток (человеческие эмбриональные фибробласты, клетки HeLa и др.). Наличие цитотоксина определяют по ЦПД (округление клеток монослоя).

Лечение. Ванкомицин.

Профилактика. Специфическая профилактика отсутствует; неспецифическая профилактика сводится к рациональной антибиотикотерапии и профилактике дисбиозов.

16.6. Палочки грамположительные правильной формы

16.6.1. Лактобациллы (род *Lactobacillus*)

Морфология. Палочковидные бактерии размером $1,0 \div 10 \times 0,5 \div 1,2$ мкм, форма которых варьирует от вытянутых палочек до коккобацилл, образующих короткие цепочки, особенно в поздней фазе логарифмического роста. Большинство видов неподвижны, подвижные — перетрихи. Спор не образуют. Грамположительны, однако

в старых культурах и при повышении pH становятся грамтрицательными; при окраске по Граму или метиленовым синим у некоторых штаммов выявляют биполярные тельца, цитоплазматическую зернистость и исчерченность. Типовой вид — *Lactobacillus delbrueckii*.

Культуральные свойства. облигатные анаэробы, некоторые штаммы аэротолерантны, капнофилы. Имеют сложные пищевые потребности в аминокислотах, витаминах, пептидах, жирных кислотах, углеводах, нуклеиновых кислотах, индивидуальные для каждого вида. Температурный оптимум роста 30–40 °С, однако способны расти в широком диапазоне температур — от 5 до 53 °С; оптимум pH — 5,5–5,8. В анаэробных условиях лучше растут при внесении в питательную среду тирогликолята и цистеина. На кровяном агаре образуют как крупные сероватые S-формы колоний, так и мелкие колонии, окруженные зоной α -гемолиза, напоминающие колонии зеленеющих стрептококков. Газообразующие лактобациллы на плотных средах, таких как молочно-печеночный агар с дрожжевым экстрактом, образуют мягкие, вязкие беловатые колонии, а газонеобразующие лактобациллы чаще образуют плоские и узорчатые колонии. Редко продуцируют пигмент от кремового до красно-кирпичного цвета.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы; метаболизм бродильного типа. Каталазаотрицательны, цитохромоксидазаотрицательны. Ферментируют сахара. При сбраживании глюкозы pH снижается на одну единицу и более, не менее половины конечных продуктов ферментации составляет лактат. Нитраты практически не восстанавливают (очень редко при $\text{pH} > 6$), желатину не разжижают, казеин не расщепляют, индол и H_2S не образуют. Разделяются на строго гомоферментативные, строго гетероферментативные и факультативно-гетероферментативные. Облигатные гомоферментативные лактобациллы ферментируют глюкозу, фруктозу, галактозу, мальтозу, сорбит с образованием преимущественно молочной кислоты (85 %). Облигатные гетероферментативные лактобациллы ферментируют глюкозу, арабинозу, ксилозу, рамнозу с образованием меньших количеств молочной кислоты (50 %). Факультативно-гетероферментативные лактобациллы занимают промежуточное положение: они ферментируют пентозы (арабинозу,

ксилозу и др.); гексозы (глюкоза, фруктоза, мальтоза и др.) сбрасывают с образованием молочной кислоты; при дефиците глюкозы расщепляют ее до уксусной кислоты и спирта.

Факторы патогенности. Практически не проявляют патогенных свойств.

Экологическая ниша. Являются представителями нормофлоры ротовой полости, кишечника и влагалища человека. В ротовой полости встречаются *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. brevis* и *L. buchneri*; в толстой кишке их содержание в 1 г фекалий достигает 10^6 – 10^{10} и более; основные виды — *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. brevis*. Являются доминирующей микрофлорой влагалища женщин детородного возраста, их число достигает 10^5 – 10^7 /мл. Преобладают следующие виды: *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. brevis* и *L. cellobiosis*.

Устойчивость в окружающей среде и к антимикробным препаратам. При попадании на воздух мгновенно погибают. Чувствительны к пенициллинам, клиндамицину и цефалотину, а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.6.2. Листерии (род *Listeria*)

Листерии получили название в честь шотландского хирурга Д. Листера. Род *Listeria* включает в себя несколько видов. В патологии человека наибольшее значение имеет вид *L. monocytogenes*, впервые описанный в 1911 г. М. Хамфесом.

Листерии вызывают зоонозную природно-очаговую инфекцию — листериоз, характеризующийся полиморфизмом клинической картины с поражением лимфатической системы, часто с септициемией и поражением нервной системы.

Морфология. Листерии — мелкие грамположительные палочки ($0,5 \pm 2 \times 0,4 \pm 0,5$ мкм), обладающие плеоморфностью. В мазках из чистой культуры располагаются под углом друг к другу, формируя структуры, напоминающие иероглифы. Подвижные, спор не образуют; могут образовывать капсулу.

Культуральные свойства. Могут расти на простых питательных средах при рН 7,0–7,2.

Но лучше растут на средах с добавлением крови. На кровяном агаре образуют мелкие полупрозрачные колонии, окруженные тонкой зоной гемолиза. Некоторые штаммы образуют желтый или красноватый пигмент. Являясь микроаэрофилами, листерии лучше растут в атмосфере 5–10% CO_2 . Температура культивирования 37 °С.

Физиология. Могут сбрасывать глюкозу и некоторые другие сахара с образованием кислоты. H_2S и индол не продуцируют, желатину не разжижают. Каталазаположительны.

Антигенная структура. Обладают O- и H-антигенами. Установлено 7 сероваров *L. monocytogenes*.

Факторы патогенности. Патогенез листериоза, в основном, связан со способностью *L. monocytogenes* вызывать незавершенный фагоцитоз. Причем микроб фагоцитируется как «профессиональными фагоцитами», так и нефагоцитарными клетками, например эндотелиальными, в которых он реплицируется в цитозоле, освобождаясь из фагосомы. Этот процесс обеспечивается следующими факторами патогенности: *интерналином* — богатым лейцином белком, связанным с клеткой бактерии, который обеспечивает поглощение микроба фагоцитами и эндотелиальными клетками; *листериолизин* — ферментом металлопротеазой, вызывающим разрушение мембраны фагосомы и могущим также вызвать гемолиз эритроцитов. Кроме того, *L. monocytogenes* обладает двумя *фосфолипазами* С, которые разрушают клеточные мембраны, позволяя микробу распространяться по тканям организма, *гемолизин* и *лецитиназой*.

Распространение в природе. *L. monocytogenes* широко распространен в природе. Микроб является сапронозом, способным к свободному существованию в почве, воде, где он может находиться в симбиотических связях с простейшими или в некультивируемом состоянии. Способность находиться в почве, воде в некультивируемом состоянии приводит к формированию эндемических очагов инфекции. Также установлено, что *L. monocytogenes* способен заражать через корневую систему растения, делая их инфицированными.

Многие животные, как дикие (кабаны, лисы, зайцы, грызуны), так и домашние (овцы, крупный рогатый скот, кошки, собаки, сви-

ны), а также куры, утки, куропатки заражаются листериями через инфицированную воду и корма. У большинства диких животных листериоз протекает доброкачественно. При этом инфицированные листериями животные, выделяя микроб с испражнениями и мочой, контаминируют окружающую среду.

Эпидемиология. Листерии хорошо переносят низкие температуры, замораживание, высушивание. В молоке и мясе при температуре +4 °С не только не гибнут, но и размножаются. Чувствительны к дезинфицирующим веществам и кипячению.

Человек заражается в основном алиментарным путем через инфицированные овощи, сырое молоко, сыры и другие молочные продукты, недостаточно термически обработанное мясо, а также через зараженную воду. Возможны контактный путь заражения при уходе за больными животными и воздушно-пылевой при вдыхании инфицированной пыли. Заражение человека от человека не установлено. Но возможно заражение плода от больной матери трансплацентарно и во время родов. Восприимчивость людей не очень высокая, заболевание возникает в основном при наличии иммунодефицитов.

Патогенез и клиническая картина. Листериоз — инфекция, характеризующаяся поражением мононуклеарных фагоцитов и различными вариантами течения, с возможностью развития септицемии и энцефаломенингитов у иммунодефицитных лиц, беременных женщин и новорожденных. У лиц с нормальным иммунным статусом заболевание может протекать в виде легкого недомогания, респираторного заболевания или ангины. Инкубационный период — от 3 до 45 дней, обычно 18–20 дней.

Из входных ворот листерии распространяются лимфогенным и гематогенным путями. Диссеминация во внутренние органы (ЦНС, миндалины, печень, селезенка, легкие, лимфоузлы) приводит к размножению в них листерий с образованием некротических узелков — листериом, представляющих собой скопление пораженных клеток соответствующего органа, мононуклеарных фагоцитов и возбудителя. Образование листериом в нервной системе обуславливает картину менингита, энцефалита и менингоэнцефалита.

У беременных женщин гранулемы образуются в плаценте, из которой возбудитель попадает в плод, вызывая внутриутробную инфекцию и перинатальный врожденный листериоз. Врожденный листериоз характеризуется образованием листериом в печени, селезенке, ЦНС и заканчивается гибелью плода, спонтанным абортom, преждевременными родами, аномалиями развития плода. При заражении плода во время родов процесс затрагивает ЦНС и характеризуется развитием менингита у новорожденного в течение первых 3 недель жизни, который в 54–90 % случаев заканчивается летально.

Иммунитет. У переболевших в сыворотке крови обнаруживаются антитела, которые не обладают протективной активностью. Наибольшее значение имеет клеточный иммунный ответ, который сопровождается аллергизацией организма.

Микробиологическая диагностика. Используются бактериологический, серологический методы, аллергическая проба и ПЦР.

Материалом для исследования при бактериологическом методе служат ликвор, кровь, пунктат лимфоузлов, слизь из носоглотки, отделяемое влагалища, околоплодные воды, плацента, трупный материал, из которых выделяют чистую культуру возбудителя. В этих материалах листерии можно обнаружить также в ПЦР.

Для серологической диагностики используют РСК, РПГА, ИФА, исследуя нарастание титра антител в парных сыворотках. Определяют также содержание IgM.

Лечение. Этиотропная антибиотикотерапия (тетрациклин, левомицетин и др.).

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к санитарно-ветеринарным мероприятиям в эндемическом очаге.

16.7. Палочки грамположительные неправильной формы, ветвящиеся бактерии

16.7.1. Коринебактерии (род *Corynebacterium*)

Коринебактерии представляют собой грамположительные прямые или слегка изогнутые неправильной формы тонкие палочки размером $0,3\pm 0,8 \times 1,5\pm 8,0$ мкм

с заостренными или, иногда, булавовидными концами. В микропрепаратах располагаются по одиночке или в парах, часто V-образной конфигурации, либо в стопках в виде частокола из нескольких параллельно лежащих клеток. Некоторые клетки по Граму окрашиваются неравномерно и имеют вид четок. Внутри клеток, как правило, образуются метакрохроматиновые гранулы полифосфата (зерна волютина). Коринебактерии неподвижны, спор не образуют, некислотоустойчивые. Факультативные анаэробы, при культивировании обычно нуждаются в богатых питательных средах, таких как сывороточная или кровяная среда. Хемоорганотрофы. Метаболизм бродильного типа. Каталазаположительные. Широко распространены на растениях; у животных и человека преимущественно являются нормальными обитателями кожи и слизистых оболочек верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и мочеполовых путей. Род состоит из 20 видов, большинство из которых являются условно-патогенными. **Типовой вид** — *Corynebacterium diphtheriae*, являющийся патогенным для человека.

16.7.1.1. Возбудитель дифтерии (*Corynebacterium diphtheriae*)

Дифтерия — это острая, антропонозная, воздушно-капельная, токсинемическая инфекция, которая характеризуется развитием воспалительных изменений слизистых оболочек ротоглотки и верхних дыхательных путей, а также слизистых оболочек половых органов, глаза, сопровождающихся образованием плотно спаянных с подлежащими тканями фибринозных пленок, на фоне симптомов специфической интоксикации макроорганизма.

Название заболевания происходит от греч. *diphthera* — пленка, перепонка, кожа, что обусловлено клиническими проявлениями данного заболевания. Возбудителем дифтерии являются токсигенные штаммы *Corynebacterium diphtheriae*.

Таксономическое положение возбудителя. Возбудитель дифтерии относится к роду *Corynebacterium*, виду *C. diphtheriae*. Название микроба происходит от греч. *koryne* — булава и *bacteria* — палочка, что связано с его морфологическими особенностями, а также греч. *diphthera*. Возбудитель дифтерии был обнаружен в 1883 г. Э. Клебсом (E. Klebs) в срезах дифтерийных пленок, снятых с зева

больных, а затем в 1884 г. выделен в чистой культуре Ф. Леффлером (F. Löffler). Вид *C. diphtheriae* гетерогенен по морфологическим, культуральным, биохимическим, антигенным свойствам и токсигенности.

Тинкториальные и морфологические свойства. *C. diphtheriae* — тонкие, слегка изогнутые или прямые грамположительные палочки размером от $1+6 \times 0,3+0,8$ мкм. Они утолщены на концах за счет наличия зерен волютина (зерен Бабеша—Эрнста) на одном или обоих полюсах клетки, что придает им вид булав или булавок. Благодаря зернам волютина, состоящим из полифосфатов, для *C. diphtheriae* характерно неравномерное окрашивание клеток, так как зерна волютина воспринимают любой анилиновый краситель более интенсивно, чем цитоплазма клетки, и вследствие присущей им метакромазии приобретают необычный цвет. Зерна волютина легко выявляются при окраске препаратов метиленовым синим по Леффлеру, а также при окраске по Нейссеру в виде гранул темно-синего или сине-черного цвета соответственно. Они резко контрастируют с бледно-синим или светлорозовым фоном микробной клетки. При окраске по Граму зерна волютина выявить не удастся. При люминесцентной микроскопии окрашиваются корифосфином в оранжево-красный цвет, в то время как тела бактерий — в желто-зеленый цвет.

Дифтерийная палочка не обладает кислотоустойчивостью, неподвижна, спор и капсул не образует; имеет микрокапсулу с входящим в ее состав корд-фактором. Клеточная стенка у *C. diphtheriae* имеет сложное строение. Она содержит вещества пептидополисахаридной природы, в состав которых входят галактоза, манноза, арабиноза. Как и микобактерии, *C. diphtheriae* содержат в составе клеточной стенки большое количество липидов, в том числе некислотоустойчивые коринеформные миколовые кислоты.

Для *C. diphtheriae* характерен полиморфизм размеров и формы. Благодаря разламывающему механизму деления, клетки не расходятся и располагаются в мазках под углом, напоминая латинские буквы L, X, V, Y или растопыренные пальцы рук, за что их называют «булавовидными двукрылками». Наличие

поверхностных липидов способствует образованию скоплений плотно прилегающих в результате спонтанной агглютинации палочек, напоминающих «свалявшуюся шерсть в войлоке» или «пакет булавок». В культуре одного и того же штамма наряду с типичными длинными, изогнутыми и изящными палочками можно обнаружить короткие, толстые, с вздутиями на одном или обоих концах клетки, а также карликовые, гигантские или ветвящиеся нитевидные клетки. Полиморфизм чаще выявляют при культивировании на искусственных питательных средах, содержащих большое количество сывороточных белков, что способствует несбалансированному росту бактерий. Данные микроорганизмы образуют также фильтрующиеся и L-формы бактерий.

Полиморфизм *C. diphtheriae*, их взаиморасположение, наличие зерен волютина по полюсам имеют дифференциально-диагностическое значение при проведении идентификации. Коринеформные бактерии, обитающие на коже и слизистых оболочках, располагаются в микропрепаратах в виде равномерно-частокола; зерен волютина не имеют или содержат их в большом количестве.

Культуральные и биохимические свойства. Неоднородность *C. diphtheriae* находит свое отражение в культуральных и биохимических свойствах. Возбудитель дифтерии относится к факультативным анаэробам, культивируется при 37 °С, оптимум рН — 7,4–8,0. Гетеротроф. В отличие от коринеформных бактерий, *C. diphtheriae* на простых питательных средах не растет, так как не продуцирует эндопротеазы, способные расщеплять нативные белки до аминокислот; аминокислоты усваиваются ими только из продуктов гидролиза белков — пептонов. Оптимальные среды для культивирования *C. diphtheriae* должны содержать аминокислоты, органические источники энергии, источники Mg^{++} , Cu^{++} , Ca^{++} , витамины, кровь или сыворотку. Питательная ценность последних обусловлена наличием в них факторов роста (правовращающая молочная кислота, никотиновая и пимелиновая кислоты), а не нативных белков, которые данный микроб не расщепляет. К стимуляторам роста относится также олеиновая кислота.

Для выделения *C. diphtheriae* из патологического материала применяется свернутая

кровяная сыворотка как таковая (элективная среда Ру) или с добавлением сахарного бульона (элективная среда Ру—Леффлера), а также кровяной агар, кровяной теллуритовый агар (среда Клауберга II), хинозольная среда Бучина, цистин-теллури-сывороточная среда Тинсдаля—Садыковой. На элективных средах возбудитель дифтерии опережает в росте банальную микрофлору и через 8–14 ч вырастает в виде изолированных точечных, выпуклых желтовато-кремовых колоний с гладкой или слегка зернистой поверхностью. Колонии не сливаются, вследствие чего они имеют вид шагреновой кожи. На теллуритовых средах *C. diphtheriae* растут медленно (в течение 24–48 ч) в виде черных или черно-серых колоний в результате восстановления теллурита до металлического теллура, который накапливается внутри бактерий в виде кристаллов. Возбудитель дифтерии устойчив к высоким концентрациям теллурита калия или натрия, ингибирующим рост сопутствующей микрофлоры. На среде Бучина через 24–48 ч на месте роста колоний *C. diphtheriae* среда приобретает фиолетовый цвет, а колонии окрашиваются в синий цвет. На среде Тинсдаля—Садыковой *C. diphtheriae* образуют серые или темно-коричневые колонии, окруженные темно-коричневым ореолом, который специфичен для возбудителя дифтерии.

В отличие от коринеформных бактерий, возбудитель дифтерии, относясь к факультативным анаэробам, растет в глубине столбика сахарного агара. Коринеформные бактерии образуют поверхностный налет, так как являются облигатными аэробами.

Возбудитель дифтерии обладает высокой ферментативной активностью. Все штаммы *C. diphtheriae* ферментируют глюкозу и мальтозу с образованием кислоты и не разлагают сахарозу, лактозу и маннит, восстанавливают нитриты в нитраты (за исключением биовара *belfanti*), что свидетельствует о наличии нитратредуктазы, не продуцируют уреазу и не образуют индол.

Отсутствие способности ферментировать сахарозу и разлагать мочевины (отрицательная проба Закса, цвет бульона с мочевиной и феноловым красным не изменяется) является важным дифференциально-диагностическим

признаком, отличающим *C. diphtheriae* от микробов-«близнецов».

Другим важным дифференциально-диагностическим признаком является способность *C. diphtheriae* продуцировать фермент цистиназу, расщепляющую цистин или цистеин до сероводорода, который, реагируя с уксуснокислым свинцом, вызывает почернение столбика сывороточного агара в результате образования в нем сернистого свинца (положительная проба Пизу) или образование коричневых ореолов на цистин-теллурит-сывороточной среде Тинсдаля—Садыковой.

C. diphtheriae образует также каталазу, сукцинатдегидрогеназу, внеклеточную ДНКазу, нейраминидазу, гиалуронидазу и другие ферменты.

Возбудитель дифтерии не однороден по культуральным и биохимическим свойствам. В соответствии с рекомендациями Европейского регионального бюро ВОЗ вид *C. diphtheriae* подразделяют на 4 биовара: *gravis*, *mitis*, *intermedius* и *belfanti*, что важно с эпидемиологической точки зрения.

На дифференциально-диагностической среде Клауберга II и других кровяных теллуритовых средах бактерии биовара *gravis* образуют сухие матовые размером 2–3 мм (крупные) плоские серовато-черные колонии, приподнятые в центре. Периферия колоний светлая, с радиальной исчерченностью и изрезанным, волнистым краем (R-форма колоний). Такие колонии напоминают цветок маргаритку. На жидкой среде данные микроорганизмы образуют пленку на поверхности, а также крошковидный или крупнозернистый осадок. Жидкость остается прозрачной. Биовар *gravis* превосходит все другие биовары по ферментативной активности. Он ферментирует глюкозу, мальтозу, крахмал и гликоген.

Бактерии биовара *mitis* образуют мелкие (1–2 мм) гладкие блестящие черные полупрозрачные колонии с ровными краями (S-формы колоний), окруженные зоной гемолиза. На жидкой среде они дают равномерное помутнение и порошкообразный осадок. На средах Гисса разлагают лишь глюкозу и мальтозу.

Бактерии биовара *intermedius* фактически относятся к варианту *mitis*, так как не разлагают крахмал, хотя ряд авторов считает, что по

своим биологическим свойствам они ближе к биовару *gravis*. Биовар *intermedius* образует изящные плоские темные гладкие колонии со слегка приподнятым центром и ровными краями (S-формы колоний) или шероховатые колонии с изрезанными краями (RS-форма колоний). Такие колонии намного мельче (менее 1 мм), чем у других биоваров. Данные микроорганизмы ферментируют глюкозу, мальтозу и гликоген. Клетки биовара *intermedius* также своеобразны по морфологии. По сравнению с другими биоварами они наиболее крупные, с бочковидными очертаниями. Примечательной особенностью является наличие у них внутри поперечных перегородок, разделяющих их на несколько сегментов, что не характерно для длинных и полиморфных палочек биовара *mitis*, или коротких и полиморфных палочек биовара *gravis*. Наиболее четко это обнаруживается при фазово-контрастной микроскопии в присутствии водного метиленового синего.

Бактерии биовара *belfanti* по морфологии колоний и биохимическим свойствам сходны с биоваром *mitis*, и длительное время считались его вариантом. В отличие от биоваров *mitis* и *gravis*, они не восстанавливают нитриты в нитраты. Однако тест на восстановление нитратов, как и разложение гликогена, не входит в перечень обязательных тестов для идентификации возбудителей дифтерии.

Обязательным и наиболее стабильным признаком является тест на крахмал. По этому показателю все возбудители дифтерии делятся на два биовара: *gravis* (грубый) и *mitis* (легкий). Все штаммы, не ферментирующие крахмал, относятся к биовару *mitis*.

Антигенная структура. *C. diphtheriae* по антигенной структуре также не однородны. Их серологическая неоднородность обусловлена поверхностными термолабильными серовароспецифическими К-антигенами (белками), а также видовыми и межвидовыми термостабильными липидными и полисахаридными фракциями О-антигенов, расположенных в глубине клеточной стенки. С помощью сывоток к К-антигену *C. diphtheriae* разделяют на серовары (около 58). Наиболее сложен в антигенном отношении биовар *mitis*, включающий 40 сероваров, в то время как биовар *gravis* состоит из 14 сероваров. Единой

Международной схемы серотипирования *C. diphtheriae* не существует. В отечественной практике для определения серовара применяют развернутую реакцию агглютинации с типовыми неадсорбированными дифтерийными агглютинирующими сыворотками. Недостатком серотипирования является способность многих штаммов, особенно нетоксигенных, к спонтанной агглютинации.

Антигенная изменчивость обуславливает вариабельность и слабую напряженность антибактериального иммунитета.

Фаготипирование. Более четкую внутривидовую идентификацию *C. diphtheriae* можно получить с помощью фаготипирования. Но, несмотря на важную роль фаготипирования для более глубокого обследования очагов дифтерии, изучения закономерностей и длительности бактерионосительства, расшифровки групповых вспышек заболевания и т. д., единых схем фаготипирования не разработано.

C. diphtheriae образуют также корицины, обладающие узким спектром действия. Их синтезируют как токсигенные, так и не токсигенные штаммы. Гены, кодирующие синтез корицинов, передаются плазмидами.

В настоящее время для идентификации применяют полимеразную цепную реакцию и рестрикционный анализ.

Факторы патогенности. Основными факторами патогенности возбудителей дифтерии являются *поверхностные структуры* липидной и белковой природы, к которым относится корд-фактор, вместе с К-антигенами и коринформными некислотоустойчивыми миколовыми кислотами входящий в состав микрокапсулы, *ферменты и токсины*. Поверхностные структуры способствуют адгезии микробов в месте входных ворот инфекции, препятствуют фагоцитозу бактерий, оказывают токсическое воздействие на клетки макроорганизма, разрушают митохондрии.

C. diphtheriae образуют ферменты агрессии и инвазии: нейраминидазу и N-ацетилнейраминатлиазу, гиалуронидазу, а также гемолизин и дермонекротоксин. Нейраминидаза и N-ацетилнейраминатлиаза действуют на эстафетной основе, обеспечивая бактерии энергетическим сырьем. Нейраминидаза отщепляет N-ацетилнейраминовую кислоту от

гликопротеинов слизи и поверхности клеток, а лиаза расщепляет ее на пируват и N-ацетилманнозамин. Пируват служит готовым источником энергии, стимулируя рост *C. diphtheriae*. Одним из последствий действия гиалуронидазы является повышение проницаемости кровеносных сосудов и выход плазмы за их пределы, что ведет к отеку окружающих тканей. Некротоксин вызывает некроз клеток в месте локализации возбудителя. Вышедший за пределы сосудов фибриноген плазмы, контактируя с тромбокиназой некротизированных клеток макроорганизма, превращается в фибрин, что и является сущностью дифтеритического воспаления. Находясь внутри дифтеритической пленки *C. diphtheriae* находят отличную защиту от действия эффекторов иммунной системы макроорганизма и антибиотиков. Размножаясь, они образуют в большом количестве *основной фактор патогенности* — *дифтерийный гистотоксин*.

Дифтерийный гистотоксин синтезируется в виде единой полипептидной цепи (**протоксина**), А- и В-фрагменты которой в интактной молекуле соединены дисульфидными мостиками. Протоксин активируется под действием протеолитических ферментов и тиоловых соединений, что ведет к образованию бифункциональной А–В-структуры токсина. Ограниченный протеолиз происходит под действием протеаз как самого микроба, так и сопутствующей микрофлоры, либо под действием протеаз макроорганизма. Восстановление дисульфидных групп в сульфгидрильные ведет к завершению фрагментирования цепи, но расхождение образовавшихся фрагментов А и В происходит только после контакта с рецепторами чувствительной клетки. Таким образом, рецепторы связывают дифтерийный гистотоксин исключительно в интактном состоянии его молекулы. Фрагмент В отвечает за взаимодействие со специфическими ганглиозидными рецепторами клетки и участвует в образовании транспортного канала для фрагмента А. Активированный фрагмент А отвечает за токсичность. Попав в цитозоль эукариотической клетки, он становится недоступным для действия антитоксических антител, которые через мембрану клетки не проникают. Внутри пораженных клеток фрагмент А обладает ферментативной активностью. Он

относится к АДФ-рибозил-трансферазам и вызывает АДФ-рибозилирование фактора элонгации EF-2 (трансферазы 2), необходимого для построения пептидных цепей на рибосомах эукариотической клетки. Блокада функциональной активности фермента ведет к нарушению синтеза белка на стадии элонгации и гибели клеток в результате некроза. Прокариотические клетки нечувствительны к действию дифтерийного гистотоксина, так как используют другой фактор элонгации (EF-6).

Дифтерийный гистотоксин оказывает свое специфическое блокирующее воздействие на синтез белка в органах, наиболее интенсивно снабженных кровью: сердечно-сосудистая система, миокард, периферическая и ЦНС, почки и надпочечники.

C. diphtheriae не однородны по токсигенным свойствам и делятся на **токсигенные** и **нетоксигенные штаммы**. Признак токсигенности для данного вида не является обязательным. **Заболевание вызывают только токсигенные штаммы *C. diphtheriae***. При этом все биовары возбудителя образуют токсин, идентичный по своим антигенным свойствам и механизму действия. Способность к токсинообразованию проявляют лишь лизогенные штаммы *C. diphtheriae*, содержащие умеренный профаг в своем геноме (бета-фаг), несущий tox-ген, ответственный за синтез токсина. Нетоксигенные штаммы не вызывают дифтерии, хотя способны длительно персистировать в респираторном тракте человека.

Из лабораторных животных к дифтерийному гистотоксину чувствительны морские свинки, кролики, обезьяны, а также собаки, кошки, цыплята и голуби. Экспериментальных моделей, на которых можно воспроизвести не только токсикоз, но и дифтерийную инфекцию со всеми стадиями инфекционного процесса, не существует. Определение токсигенности *C. diphtheriae* проводят также на куриных эмбрионах и культурах клеток.

Устойчивость в окружающей среде. Благодаря наличию липидов, *C. diphtheriae* обладают **значительной устойчивостью** к воздействию факторов окружающей среды. В каплях слюны, при-

липших к стенкам стакана, на ручках дверей и детских игрушках они могут сохраняться до 15 дней. Выживаемость их на предметах окружающей среды может достигать 5,5 месяцев и *не сопровождается утратой или снижением вирулентности*. Данные микроорганизмы размножаются в молоке. Это имеет эпидемиологическое значение. К числу неблагоприятных факторов, действующих на *C. diphtheriae*, относятся прямые солнечные лучи, высокая температура и химические агенты. При кипячении *C. diphtheriae* погибают в течение 1 мин, в 10% растворе перекиси водорода — через 3 мин, в 5% карболовой кислоте и 50–60% спирте — через 1 мин.

В отличие от микроба, дифтерийный гистотоксин очень неустойчив в окружающей среде и легко разрушается при нагревании, действии света, окислении.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Дифтерия относится к антропонозным заболеваниям. В естественных условиях ею болеет только человек, не обладающий устойчивостью к возбудителю и антитоксическим иммунитетом (содержание в крови антитоксина по методу Иенсена $\leq 0,03$ АЕ/мл). Заболевание имеет повсеместное распространение. Для заболеваемости дифтерией характерна сезонность. Наибольшее количество больных наблюдается во второй половине сентября, в октябре и ноябре. Наиболее восприимчивы к данному заболеванию дети ясельного и школьного возраста. Среди взрослых к профессиональной группе повышенного риска относятся работники общественного питания и торговли, школ, детских дошкольных и медицинских учреждений.

Источником инфекции при дифтерии являются больные и носители **токсигенных штаммов *C. diphtheriae***. Больной эпидемиологически опасен в течение всего периода заболевания, так как даже в период выздоровления он может выделять токсигенные штаммы бактерий в окружающую среду. Среди больных наибольшее эпидемическое значение имеют лица с локализацией процесса в верхних дыхательных путях, поскольку они наиболее интенсивно выделяют микробов в окружающую среду. Большая часть заболеваний возникает в результате заражения от носителей токсигенных штаммов. У этих лиц нет клинических

проявлений заболевания, потому что они обладают антитоксическим иммунитетом.

Механизм заражения и пути передачи. В соответствии с основной локализацией возбудителя в верхних дыхательных путях, *аэрозольный механизм заражения* является основным. Ведущая роль принадлежит *воздушно-капельному пути передачи инфекции*, при котором микробы выделяются в окружающую среду больным или носителем токсигенных штаммов *C. diphtheriae* при разговоре, кашле или чихании. Вместе с вдыхаемым воздухом взвешенные в нем частицы попадают на слизистые оболочки ротоглотки, а также верхних дыхательных путей человека, вызывая заражение. Благодаря устойчивости возбудителя в окружающей среде, определенное значение в передаче инфекции имеют воздушно-пылевой и контактно-бытовой пути передачи. Последний путь передачи определяет спорадическое возникновение *редких форм дифтерии с экстрафарингеальной локализацией*, когда возбудитель передается инфицированными через предметы общего пользования (полотенца, игрушки, носовые платки) руками. Попадание возбудителя в молоко, где он активно размножается, обуславливает алиментарный путь передачи инфекции. При дифтерии кожи и ран имеют место контактный и трансмиссивный (чаще в тропиках) пути передачи.

Патогенез и клинические проявления заболевания. Входными воротами инфекции служат слизистые оболочки ротоглотки (нёбные миндалины и окружающие их ткани), носа, гортани, трахеи, а также слизистые оболочки глаз и половых органов, поврежденные кожные покровы, раневая или ожоговая поверхность, опрелости, незажившая пупочная ранка. Наиболее часто встречается дифтерия ротоглотки (90–95%), чему способствуют воздушно-капельный путь передачи, тропизм микробов к слизистой оболочке и барьерная функция лимфоидного глоточного кольца.

Инкубационный период при дифтерии — от 2 до 10 дней. Начало заболевания в легких случаях постепенное, в тяжелых — острое. Температура повышается до 38–40 °С. По патогенезу дифтерия относится к токсинемическим инфекциям, при которых микроб остается в месте входных ворот инфекции, а все основные клинические проявления заболевания связаны с действием белкового бактериального

токсина. Это имеет значение для диагностики, лечения и профилактики заболевания.

Начальным этапом инфекционного процесса является адгезия микроба в месте входных ворот инфекции за счет поверхностных структур бактериальной клетки (корд-фактор и коринеформные миколовые кислоты) и их колонизация. Размножаясь в месте входных ворот инфекции, *C. diphtheriae* образует дифтерийный гистотоксин, который оказывает местное воздействие на клетки тканей, а также поступает в кровь, что ведет к возникновению токсинемии. При наличии антитоксического иммунитета процесс может ограничиться легкой формой заболевания или формированием бактерионосительства.

В области входных ворот инфекции развивается *воспалительная реакция*, сопровождающаяся некрозом эпителиальных клеток, отеком и выходом фибриногена из сосудистого русла в окружающие ткани, превращением его в фибрин под действием тромбокиназы, освободившейся при некрозе эпителиальных клеток. Это ведет к образованию налетов белого цвета с сероватым или желтоватым оттенком, содержащих большое количество микробов, продуцирующих токсин. Фибринозная пленка — характерный признак дифтерии. *Фибринозное воспаление при дифтерии может быть дифтерическим или крупозным.*

Дифтерическое воспаление возникает на слизистых оболочках с многослойным плоским эпителием (ротоглотка, надгортанник, голосовые связки, некоторые отделы полости носа), все клетки которого прочно связаны как между собой, так и с подлежащей соединительнотканной основой. В таком случае фибринозная пленка плотно спаяна с подлежащей тканью и не снимается тампоном при осмотре. При попытке сделать это слизистая оболочка кровоточит.

При дифтерии ротоглотки, помимо изменения нёбных миндалин, отмечается отек окружающих мягких тканей и увеличение регионарных лимфатических узлов. Патологический процесс может распространяться как в вышележащие отделы, поражая слизистую оболочку носа и среднего уха, так и в нижележащие отделы.

Крупозное воспаление возникает при локализации патологического процесса в дыхательных путях (гортань, трахея и бронхи), где слизистые оболочки содержат железы, выделяющие слизь и покрытые однослойным цилиндрическим эпителием. Здесь фибринозная пленка располагается поверхностно и легко отделяется от подлежащих тканей.

В связи с легкостью отторжения поврежденных тканей, содержащих микробы, токсических форм дифтерии при таких поражениях не возникает. Такие больные часто откашливают целые слепки из различных отделов дыхательных путей. При распространении процесса из ротоглотки вниз по дыхательным путям в виде **нисходящего крупа** (от шотл. *croak* — карканье) крупозное воспаление последовательно захватывает трахею и бронхиальное дерево до его мельчайших разветвлений, что ведет к развитию **асфиксии**.

Симптомы специфической интоксикации при дифтерии и возникновение осложнений связаны с действием дифтерийного гистотоксина, поступлением его в кровь и с последующим проникновением в ткани. Для него характерно избирательное поражение надпочечников, почек, сердечно-сосудистой и, в большей степени, периферической нервной системы.

Локализация процесса при дифтерии определяется входными воротами инфекции. Помимо поражения ротоглотки, возможно возникновение дифтерии носа, гортани, трахеи, глаз, уха, половых органов у девочек, дифтерии кожи и ран. При одновременном поражении двух и более органов диагностируется **комбинированная форма дифтерии**. Клинические формы дифтерии также разнообразны — от локализованных до распространенных токсических форм, гипертоксических форм и дифтерийного крупа. **Наиболее тяжело протекает гипертоксическая форма дифтерии**, которая может привести к смерти в течение первых суток. В благоприятных случаях заболевание заканчивается полным выздоровлением.

Особенности иммунитета. После перенесенного заболевания формируется длительный и напряженный гуморальный анитоксический иммунитет. Особое значение имеет образова-

ние антител к фрагменту В. Они нейтрализуют дифтерийный гистотоксин, предупреждая прикрепление последнего к клетке. Благодаря пластичности поверхностных структур *C. diphtheriae* и их местному воздействию, антибактериальный иммунитет ненапряженный, серовароспецифичен, в большей степени носит клеточно-опосредованный характер. Наличие же анитоксического иммунитета не препятствует формированию носительства токсигенных штаммов *C. diphtheriae*.

Микробиологическая диагностика дифтерии. Основным является *бактериологический метод диагностики*. Цель данного метода заключается в выделении чистой культуры *C. diphtheriae* и идентификации их на основании морфологических, культуральных, биохимических и токсигенных свойств. При наличии клинических симптомов заболевания выделение токсигенных штаммов *C. diphtheriae* является абсолютным подтверждением диагноза дифтерии, а при их отсутствии свидетельствует о бактерионосительстве. Материалом для исследования служат слизь и пленки из очагов воспаления, а также секрет из очагов патологического процесса. Сбор материала необходимо проводить в течение 3–4 ч (не позже 12 ч) с момента обращения больного. Для взятия материала используют сухие ватные тампоны, если посев будет проведен не позднее 2–3 ч после сбора материала. При транспортировке материала на дальние расстояния можно использовать тампоны, предварительно смоченные 5% раствором глицерина. При исследовании на дифтерию *во всех случаях*, в том числе и при экстрафарингеальной локализации, материал для исследования берут отдельными тампонами *одновременно из зева и носа*, а при необходимости — из других мест локализации воспаления. Посев делают отдельно на поверхность одной из рекомендованных инструкцией сред. Бактериологическая лаборатория через 48 ч выдает ответ об отсутствии в анализах *C. diphtheriae* или, в случае наличия положительных результатов исследования на токсигенность (не более 6 колоний) и пробы на цистиназу, о выделении токсигенных штаммов *C. diphtheriae*. Экспресс-метод бактериологической диагностики — посев материала на жидкие

питательные среды с последующей постановкой ИФА — позволяет определить токсинные штаммы за 18 часов.

Различают 3 вида показаний к проведению бактериологических исследований на дифтерию:

- 1) диагностическое обследование детей и взрослых с острыми воспалительными явлениями в носоглотке, особенно при подозрении на дифтерию;
- 2) по эпидемическим показаниям обследуют детей и взрослых, бывших в контакте с источником инфекции;
- 3) с профилактической целью обследуют лиц, вновь поступающих в детские дома, школы-интернаты, специальные учреждения.

Ввиду полиморфизма возбудителя (от мелких до крупных, сегментированных и бочкообразных форм), бактериоскопический метод диагностики дифтерии как самостоятельный диагностический метод не применяется, но может быть проведен по просьбе врача.

Вспомогательное значение для ретроспективной диагностики, оценки антитоксического иммунитета у отдельных лиц или всего коллектива, дифференциации заболевания дифтерией от других заболеваний или носительства токсигенных штаммов *C. diphtheriae* имеют *серологические методы диагностики*. В большинстве случаев дифтерия развивается только у лиц, не имеющих антитоксина в сыворотке крови, или у лиц с низкими его концентрациями ($< 0,03$ АЕ/мл). Количественное определение антитоксина проводят по методу Йенсена, вводя смесь антитоксической сыворотки с различными разведениями токсина кроликам. Кровь исследуют до введения противодифтерийной сыворотки в первые 5–7 дней болезни. Отсутствие или низкий титр антитоксина ($< 0,03$ АЕ/мл) свидетельствуют о дифтерии у детей и взрослых. С этой же целью применяют РНГА (РПГА) с антигенным эритроцитарным диагностикумом и ИФА. Защитный титр антител в РНГА равен 1:40. РНГА применяют также для обнаружения антибактериальных антител в острый период заболевания, на содержание которых не влияет применение антитоксической сыворотки в лечебных целях.

Для ускоренного обнаружения дифтерийного токсина, как в бактериальных культурах, так и в биологических жидкостях (сыворотка крови), применяют: РНГА с антительным эритроцитарным диагностикумом; реакцию нейтра-

лизации антител (о наличии токсина судят по эффекту предотвращения гемагглютинации); РИА и ИФА. Из молекулярно-генетических методов исследования применяют ПЦР.

Препараты для специфического лечения и профилактики дифтерии. Дифтерия — это токсинемическая инфекция. Поэтому, исходя из патогенеза заболевания, в целях нейтрализации дифтерийного гистотоксина на первый план в лечении выходит применение специфической противодифтерийной лошадиной очищенной концентрированной жидкой сыворотки. Препарат получают путем гипериммунизации лошадей дифтерийным анатоксином. Действующим началом препарата является дифтерийный антитоксин. *Специфическое лечение противодифтерийной сывороткой начинают немедленно при клиническом подозрении на дифтерию.* Надо стремиться к оптимальному режиму ее введения, так как антитоксин может нейтрализовать только циркулирующий в крови и лимфе токсин, который еще не связан с тканями. Отсюда вытекает, что бактериологическая диагностика является важным, но все же запоздалым подтверждением дифтерии. В целях профилактики развития *анафилактического шока* препарат вводят дробно по А. М. Безредке. Введение сыворотки после 3-го дня болезни считается поздним. Разработан также *иммуноглобулин человека противодифтерийный* для внутривенного введения.

Поскольку введение антитоксина не оказывает влияния на размножение *C. diphtheriae* в месте входных ворот инфекции, одновременно с введением антитоксической противодифтерийной сыворотки, больным необходимо *обязательно назначать антибиотики*, оказывающие действие на эти бактерии. Препаратами выбора являются пенициллин или эритромицин, либо другие β -лактамы и макролиды. При лечении бактерионосителей необходимо проводить стимуляцию антибактериального иммунитета.

Возможны повторные случаи возникновения дифтерии, так как применение антитоксической сыворотки и антибиотиков уменьшает интенсивность антигенного воздействия на иммунную систему, что ведет к формированию непродолжительного и ненапряженного иммунитета. В связи с этим в целях коррекции

иммунного ответа больные дифтерией должны вакцинироваться до выписки из стационара.

Специфическая профилактика дифтерии для создания искусственного активного антитоксического иммунитета осуществляется дифтерийным анатоксином. **Очищенный и концентрированный пренат входит в состав ассоциированных вакцин:** адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакцины (АКДС-вакцина), адсорбированного дифтерийно-столбнячного анатоксина (АДС-анатоксин), адсорбированного дифтерийно-столбнячного анатоксина с уменьшенным содержанием антигенов (АДС-М-анатоксин), адсорбированного дифтерийного анатоксина с уменьшенным содержанием антигена (АД-М-анатоксин).

Базисный иммунитет создается у детей согласно календарю прививок полноценными в антигенном отношении препаратами. Препараты с уменьшенным содержанием антигена менее реактогенны и применяются только у детей старше 6 лет, подростков и взрослых.

Дифтерия относится к контролируемым инфекциям, но только 95%-й охват населения прививками гарантирует эффективность вакцинации. Если у привитых лиц и возникает заболевание, то, как правило, протекает легко. В любом очаге дифтерии необходимо проводить экстренный иммунологический контроль состояния иммунитета, и выявленные, восприимчивые к этой инфекции лица должны быть незамедлительно привиты (защитный титр в РНГА 1:40 и выше).

В России зарегистрированы также следующие вакцины:

- **тетракок**, предназначенная для профилактики коклюша, дифтерии, столбняка и полиомиелита (Пастер—Мерье, Франция). Она более реактогенная, чем АКДС;

- **Д. Т. Вакс**, содержащая дифтерийный и столбнячный анатоксины. Применяется у детей до 6 лет;

- **ДТ-адюльт**, содержащая дифтерийный и столбнячный анатоксины (Пастер-Мерье, Франция). Применяется у подростков и взрослых.

В настоящее время в России разработаны и предложены новые вакцины для одновременной иммунизации против дифтерии, столбняка, коклюша и гепатита В: АКДС-В-

гепатитная вакцина («Бубо-Кок») и АДС-М-В-гепатитная вакцина («Бубо-М»). «Бубо-М» состоит из поверхностного антигена вируса гепатита В (HbsAg), полученного с помощью рекомбинантной технологии из культур дрожжевых клеток, а также очищенных адсорбированных на гидроксиде алюминия дифтерийного и столбнячного анатоксинов уменьшенной концентрации, аналогичной концентрации в АДС-М.

16.7.1.2. Коринеформные бактерии

По морфологическим и культуральным свойствам с *C. diphtheriae* сходна большая группа микроорганизмов, относящихся к роду *Corynebacterium* и обозначаемых как **коринеформные бактерии**, или **дифтероиды**. Они представляют собой неподвижные, грамположительные, аспорогенные палочки, имеющие неправильную, часто булавовидную форму, содержащие в цитоплазме метакроматические гранулы. Помимо представителей рода *Corynebacterium*, к коринеформным бактериям относятся микроорганизмы, входящие в состав родов *Arthrobacter*, *Cellulomas*, *Kurtzia* и др. По ряду признаков к ним близки актиномицеты и пропионибактерии. Данные микроорганизмы широко распространены в окружающей среде — в воде, воздухе, почве, а также в некоторых пищевых продуктах, например молоке. Они плохо изучены, поэтому роль их в патологии человека неясна. У человека их наиболее часто выделяют со слизистой оболочки носоглотки, где они доминируют наряду со стафилококками, а также с эпителией влагалища, особенно у детей, и в различных ран. Большинство видов относится к микробам — комменсалам; некоторые виды патогенны для животных и растений.

Наиболее изучены *C. pseudodiphtheriticum* (*C. hoemannii*). Они представляют собой короткие и толстые прямые палочки. Полиморфизм для них не характерен. В мазках данные микроорганизмы располагаются параллельно в виде равномерного частогокола, практически не содержат зерен волютина. Факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых питательных средах при температуре 37 °С. На теллуритовых средах образуют сухие мелкие серовато-белые S-формы колоний, цвет которых может варьировать вплоть до черного, что обусловлено разной способностью

восстанавливать теллур. На среде Бучина образуют голубоватые колонии. *Углеводов не ферментируют*. Разлагают мочевины. Токсин не продуцируют. Непатогенны, однако могут вызывать поражения в виде эндокардита или развитие оппортунистических инфекций при попадании в ток крови.

S. xerosis является представителем нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек глаз, носа и носоглотки человека. Непатогенны. Характеризуются бочкообразной формой. Хорошо растут при 22° и 37°С, образуя через 24 ч на МПА мелкие гладкие колонии. На теллуритовых средах образуют выпуклые влажные серого или коричневого цвета колонии. На среде Бучина растут в виде бесцветных колоний. Ферментируют глюкозу, мальтозу, галактозу, *сахарозу* без выделения газа; *мочевину не разлагают*, сыворотку не разжижают, дают отрицательную пробу на цистиназу. Непатогенны для лабораторных животных, токсин не продуцируют. На коже человека обитают липофильные варианты, которые для своего роста нуждаются в липидах. В ряде случаев они могут быть причиной развития оппортунистических инфекций.

S. ulcerans вызывает дифтериеподобные поражения, фарингит у лиц с иммунодефицитами, кожные поражения. Данный микроорганизм выделяется от здоровых лиц, а также от больных дифтерией. Патогенен для крупного рогатого скота. Имеются сведения о контаминации им молочных продуктов и тары для их перевозки, а также о случаях заболевания при употреблении сырого молока (ангина у лиц с иммунодефицитами). По морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам *S. ulcerans* сходен с биваром *gravis S. diphtheriae*, но отличается по антигенной структуре. Некоторые штаммы данного микроорганизма продуцируют токсин, аналогичный по свойствам и антигенной структуре токсину *Corynebacterium pseudotuberculosis (S. bovis)*, вызывающему казеозные и гнойные лимфадениты у овец и язвенные поражения у различных домашних животных. Патогенен для лабораторных животных.

S. jeikeium входит в состав нормальной микрофлоры кожных покровов человека. Чаще обнаруживается у мужчин, что обусловлено наличием у них на коже большого количества свободных жирных кислот, необходимых для роста данного микроорганизма. У человека может вызывать развитие кожных поражений, пневмонии, эндокардиты, перитониты, инфекционные процессы в ранах. Большинство случаев заражения носит госпитальный характер. Практически каждый случай сопровождается бактериемией, пред-

ставляющей особую опасность для пациентов с патологией кроветворения и сосудистыми шунтами.

S. cystitidis наиболее часто колонизирует кожу и слизистые оболочки, особенно в области промежности. Данный микроорганизм разлагает мочевины, вызывает повышение рН мочи и образование камней в мочевыводящих путях. Инфицирование *S. cystitidis* чаще выявляют у женщин. Данный микроорганизм также часто обуславливает развитие циститов, пиелонефритов и бактериурию у пациентов старшего возраста, имеющих в анамнезе урологическую патологию или принимавших антибиотики широкого спектра действия. Отмечены случаи возникновения госпитальных бактериемий и пневмоний.

S. minutissimum является возбудителем *эритразмы*, характеризующейся поражением кожных покровов в виде красновато-коричневой сыпи, локализующейся преимущественно в подмышечной и паховой областях. Заболевание диагностируют по кораллово — красному свечению пораженных участков, облучаемых лампой Вуда, а также по наличию плеоморфных грамположительных палочек в мазках из очагов поражения. *S. minutissimum* способны вызывать также развитие абсцессов легких, эндокардиты и септикопиемии.

Arcanobacterium haemolyticum (ранее *S. haemolyticum*) является возбудителем хронических тонзиллитов и хронических кожных поражений, целлюлитов, септицемий, абсцессов головного мозга, остеомиелитов. Obligатные паразиты глотки человека и сельскохозяйственных животных, которые и являются резервуаром и источником данного микроорганизма. Основной путь передачи *A. haemolyticum* — воздушно-капельный. Факультативный анаэроб. На МПА растет медленно, лучший рост наблюдается на агаре с кровью, где микроб образует мелкие выпуклые прозрачные колонии, окруженные зоной полного гемолиза, через 2 суток инкубации при 37°С. В микропрепаратах из колоний обнаруживают палочки, сходные по морфологическим и тинкториальным свойствам с возбудителями дифтерии. Обладают метаболизмом бродильного типа с образованием кислоты, но не газа из глюкозы и немногих других углеводов. Основные продукты брожения — уксусная, молочная и янтарная кислоты. Обычно каталазаотрицательные. Индол не образуют; нитрат восстанавливают до нитрита.

16.7.2. Микобактерии (сем. *Mycobacteriaceae*)

Семейство *Mycobacteriaceae* включает род *Mycobacterium* (от греч. *myces* — гриб и *bacteria* — палочка), в

состав которого входит более 160 видов микобактерий. Это полиморфные микроорганизмы, образующие прямые или слегка изогнутые палочки размером $0,2 \div 0,7 \times 1,0 \div 10$ мкм, иногда ветвящиеся; возможно образование нитей напоподобие мицелия, легко распадающихся на палочки или кокки. Характерной особенностью микобактерий является их кислото-, спирто- и щелочеустойчивость на одной из стадий роста, обусловленная наличием большого количества липидов в клеточной стенке. Они плохо воспринимают анилиновые красители, по Граму окрашиваются с трудом, обычно слабо грамположительны. Неподвижные, спор и капсул не образуют; аэробы и хемоорганотрофы. Растут медленно или очень медленно. Каталаза- и арилсульфатазоположительны; устойчивы к лизоциму. Содержание ГЦ равно 62–70 мол. %.

По заключению Международной рабочей группы по таксономии микобактерий род *Mycobacterium* в практических целях подразделяют на 3 большие группы:

1. медленнорастущие, которые при оптимальных условиях питания и температуры дают на плотных средах рост макроскопически видимых колоний через 7 дней и более (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. simiae*, *M. gastri* и др.);

2. быстрорастущие, дающие на плотных средах рост видимых невооруженным глазом колоний в течение менее 7 дней (*M. phlei*, *M. vaccae*, *M. diernhoferi*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum* и др.);

3. организмы, предъявляющие особые требования к питательным средам или не культивируемые *in vitro* (*M. leprae*, *M. lepraemurium*, *M. haemophilium*).

Данные микроорганизмы являются возбудителями микобактериальных заболеваний: туберкулеза, лепры и микобактериозов.

16.7.2.1. Возбудители туберкулеза (*Mycobacterium tuberculosis* и др.)

Туберкулез (от лат. *tuberculum* — бугорок) — первично хроническое заболевание человека и животных, сопровождающееся поражением различных органов и систем (органов дыхания, лимфатических узлов, кишечника, костей и суставов, глаз, кожи, почек и мочевыводящих путей, половых органов, ЦНС).

Основу патологического процесса составляет образование специфических гранулем (от лат. *granulum* — зернышко и греч. *oma* — обознача-

ющего окончание в названии опухолей), представляющих собой воспалительную реакцию тканей, имеющую вид узелка или бугорка.

Бактериальная природа туберкулеза установлена в 1882 г. Р. Кохом, обнаружившим в туберкулезных очагах *M. tuberculosis* при окраске метиленовым синим и получившим чистую культуру бактерий из кровяной сыворотке. Им же в 1890 г. был получен туберкулин, сыгравший большую роль в диагностике туберкулеза. В 1911 г. Р. Кох за открытие возбудителя туберкулеза был удостоен Нобелевской премии.

Актуальность проблемы обусловлена широким распространением туберкулеза. В связи с бурным ростом заболеваемости ВОЗ в 1993 г. объявила туберкулез проблемой «всемирной опасности».

Таксономия. Возбудители туберкулеза относятся к семейству *Mycobacteriaceae*, роду — *Mycobacterium*. Родовой признак микобактерий — кислото-, спирто- и щелочеустойчивость.

Заболевание вызывается 3 видами микобактерий: *Mycobacterium tuberculosis* — человеческий вид (в 92 % случаев), *Mycobacterium bovis* — бычий вид (в 5 % случаев), *Mycobacterium africanum* — промежуточный вид (в 3 % случаев).

Морфология и тинкториальные свойства. Особенности культивирования. Возбудители туберкулеза характеризуются выраженным полиморфизмом. Они имеют форму длинных, тонких (*M. tuberculosis*, *M. africanum*) или более коротких и толстых (*M. bovis*) прямых или слегка изогнутых палочек с гомогенной или зернистой цитоплазмой, содержащей от 2 до 12 зерен различной величины, состоящих из липидов или метафосфатов, играющих важную роль в клеточном метаболизме бактерий. Зернистость *M. bovis* менее выражена. Грамположительны, неподвижны, спор не образуют. Имеют микрокапсулу. Из-за большого содержания липидов в клеточной стенке, содержащих миколовую кислоту, они плохо воспринимают анилиновые красители. Для их выявления применяют окраску кислото-, спирто- и щелочеустойчивых бактерий по Цилю—Нельсену, в основу которой положен принцип термокислотного протравливания. В препаратах микобактерии обнаруживаются в виде ярко-красных кис-

ГЛАВА 16. Частная бактериология

лостоустойчивых палочек, расположенных по одиночке или небольшими скоплениями из 2–3 клеток, образующих римскую цифру V.

Полиморфизм возбудителей туберкулеза проявляется в образовании различных морфов: фильтрующихся и ультрамелких, зернистых и кокковидных, нитевидных и ветвистых, колбовидных, «синих» неокислостойчивых, а также L-форм бактерий, которые быстро образуются в ходе лечения, но длительно персистируют в макроорганизме внутриклеточно в макрофагах, индуцируя противотуберкулезный иммунитет. Образование морфов надо учитывать при проведении микробиологической диагностики и лечении, так как реверсия их в вирулентную бациллярную форму способствует поддержанию хронического воспаления, возникновению обострений и рецидивов, а также объясняет многообразие «масок» заболевания. Установлена связь между наличием данных форм в макроорганизме, патоморфологическими и клинико-рентгенологическими проявлениями болезни. Фильтрующиеся и ультрамелкие формы чаще выявляются при деструктивных формах туберкулеза с наличием хронических каверн, у больных милиарным туберкулезом, «синие варианты» чаще выделяются из закрытых очагов костного туберкулеза, а L-формы — от больных с незаметным, медленным и вялым развитием заболевания. Фильтрующиеся, ультрамелкие и L-формы бактерий могут проникать как трансплацентарно, так и через гематоэнцефалический барьер.

M. tuberculosis относится к аэробам, характеризуется медленным ростом, так как входящие в состав клеточной стенки бактерий липиды замедляют обмен веществ с окружающей средой. Они требовательны к питательным средам, глицеринзависимые. Им нужны факторы роста: витамины группы B, аспаргиновая и глутаминовая аминокислоты, глицерин и глюкоза. Стимулятором их роста является лецитин. Для подавления токсического действия образуемых в процессе метаболизма жирных кислот к средам добавляют активированный уголь (поверхностно-активное вещество, нейтрализующее токсичные компоненты и усиливающее обмен веществ между клеткой и средой), сыворотки животных и альбумин, а для подавления роста сопутствующей микро-

флоры — красители (малахитовый зеленый) и антибиотики, не действующие на микобактерии. Особенно чувствительны к факторам роста первичные культуры микобактерий, выделенные из патологического материала, так как при вегетировании в тканях они утрачивают способность самостоятельно синтезировать эти вещества. Оптимальная температура культивирования 37–38 °С. Наилучший рост отмечается при pH 6,8–7,2. Рост и размножение происходят, в основном, путем простого деления или более сложно — путем почкования. Для них характерно вильчатое ветвление с образованием мицелиоподобных нитей, распадающихся на отдельные фрагменты, имеющие форму палочек, кокков или зерен. На жидких средах через 5–7 дней дает рост в виде толстой твердой и сухой морщинистой пленки кремового цвета. На плотных средах рост отмечается на 15–20-й день в виде светлокремового чешуйчатого налета с неровными краями (R-форма колоний), который по мере роста принимает бородавчатый вид, напоминающая цветную капусту. Из экспериментальных животных к *M. tuberculosis* наибольшей восприимчивостью обладают морские свинки, у которых при подкожном заражении возникает генерализованная инфекция, заканчивающаяся гибелью животных через 2–3 месяца.

M. bovis — микроаэрофилы, растут на средах еще медленнее, чем *M. tuberculosis*; пируватзависимые. При культивировании на жидких средах сначала растут в глубине среды, образуя в последующем тонкую, влажную пленку на поверхности среды. При росте на плотных средах на 21–60-й день образуют мелкие шаровидные влажные и почти прозрачные серовато-белого цвета колонии (S-форма колоний). В экспериментальных условиях высокопатогенны для кроликов, у которых при внутривенном заражении возникает генерализованная инфекция, заканчивающаяся гибелью животных через 1–2 месяца. Постановка биологической пробы считается одним из лучших тестов для дифференциации возбудителей туберкулеза.

M. africanum по своим биологическим свойствам входит в состав *M. bovis complex*, который включает *M. bovis*, *M. africanum* и BCG¹. Это тонкие длинные кислотоустойчивые, медлен-

норастущие бактерии, образующие видимые колонии в течение 31–42 дней при 37 °С на яичных и агаровых средах с бычьей сывороткой, патогенны для морских свинок, мышей и, в меньшей степени, для кроликов. Малопатогенны для человека, выделяются от больных туберкулезом людей в тропической Африке. Данные микроорганизмы обнаружены также у обезьян. В лабораториях их не идентифицируют, так как они сходны по биохимическим свойствам с *M. bovis*.

Чаще всего для культивирования возбудителя туберкулеза и определения чувствительности к антибиотикам применяют плотные элективные среды: яичные среды Левенштейна—Йенсена или Финна 2, агаровые среды Миддлбука 7Н10, 7Н11, а также жидкие среды: Миддлбука 7Н9, 7Н12, Дюбо, полусинтетическая среда Школьниковой, синтетическая среда Сотона и др. Так как удовлетворяющей всем требованиям универсальной среды для культивирования микобактерий нет, то для выделения чистой культуры ВОЗ рекомендует использовать среду Левенштейна—Йенсена и среду Финна 2 в качестве стандартных сред. Рост *M. bovis* на среде Левенштейна—Йенсена с тиокарбонилгидразидом подавляется. В отличие от условно-патогенных микобактерий, возбудители туберкулеза растут только при 37 °С и не дают роста при 22°, 45° и 52 °С. Они образуют бесцветные колонии и не растут на среде, содержащей салициловый натрий. Под действием интенсивной антибиотикотерапии отмечается появление «видимых, но не растущих» микобактерий, что необходимо учитывать при проведении микробиологической диагностики. Для культивирования микобактерий с поврежденной клеточной стенкой применяется среда Колестос.

При внутриклеточном размножении, а также при росте на жидких питательных средах и микрокультивировании на стеклах в жидкой среде (метод микрокультур Прайса) через 48–72 ч у вирулентных штаммов выявляется *корд-фактор* (от англ. *cord* — жгут, веревка), благодаря которому микобактерии склеиваются и растут в виде переплетенных девичьих «кос»

или «жгутов». Корд-фактор — это гликолипид, состоящий из трегалозы и ди-миколата, относится к факторам патогенности микобактерий. Авирулентные штаммы возбудителей туберкулеза и условно-патогенные микобактерии при микрокультивировании не образуют корд-фактора и растут беспорядочно. В отличие от возбудителей туберкулеза, растущих в культуре клеток HeLa в виде «кос», условно-патогенные микобактерии дают ветвистый рост, а сапрофитные — не размножаются.

Вегетирующая в макроорганизме популяция возбудителей туберкулеза неоднородна. Наиболее многочисленна активно размножающаяся внеклеточно расположенная часть микобактериальной популяции, характерная для острого, активного процесса. Вторая часть популяции размножается интермиттирующим способом. Третья часть популяции немногочисленная, но длительно персистирующая в организме и переживающая внутриклеточно. Если терапевтическое воздействие на два первых вида популяции не вызывает особых затруднений и лечебный стерилизующий эффект достигается быстро и легко, то для подавления медленно размножающейся персистирующей внутриклеточной популяции необходимо длительное воздействие препаратов, обладающих способностью хорошо проникать внутриклеточно и оказывать бактерицидное действие.

Биохимические свойства. Возбудители туберкулеза обладают разнообразной биохимической активностью, что позволяет дифференцировать их между собой, а также условно-патогенными микобактериями и кислотоустойчивыми сапрофитами. У них обнаружены ферменты аминотрансферазы, эстеразы, трегалазы и ферменты типа амидаз. Внутриклеточное дыхание микобактерий осуществляют оксидоредуктазы, из которых особый интерес представляют каталаза и пероксидаза, так как с ними связана вирулентность возбудителей туберкулеза. Установлены различия в физико-химических свойствах каталазы у разных видов микобактерий. Каталаза термостабильна у условно-патогенных микобактерий и кислотоустойчи-

¹ Фтизиопульмонологи по договоренности возбудителей туберкулеза относят к комплексу *M. tuberculosis*, куда входят также *M. microti* (вариант *M. bovis*, адаптированный к организму мышей-полёвок).

вых сапрофитов. У возбудителей туберкулеза каталаза термолабильна (инактивируется при 68 °С в течение 30 мин). При этом изониазидчувствительные штаммы возбудителей туберкулеза обладают высокой каталазной и пероксидазной активностью, а изониазидустойчивые утрачивают ее. В отличие от условно-патогенных микобактерий и *M. bovis*, *M. tuberculosis* в большом количестве образует никотиновую кислоту (*ниацин*), которая накапливается в жидкой питательной среде и дает с раствором цианида калия и хлораминном Б ярко-желтое окрашивание (*ниациновая проба Конно*). Изониазидустойчивые штаммы не продуцируют ниацин. В отличие от *M. bovis*, *M. tuberculosis* обладает способностью редуцировать нитраты в нитриты.

Химический состав, антигенная структура и Факторы патогенности. Химический состав сложен. Основными химическими компонентами микобактерий являются белки (туберкулопротеины), углеводы и липиды. К ним образуются антифосфатидные, антипротеиновые и антиполисахаридные антитела, определение которых свидетельствует об активности инфекционного процесса и имеет прогностическое значение. Протективной роли антитела не играют. *Туберкулопротеины* составляют 56 % сухой массы вещества микробной клетки. Они являются основными носителями антигенных свойств микобактерий, высокотоксичны, вызывают развитие реакции гиперчувствительности 4-го типа. В состав клеточной стенки входят белки комплекса Ag85. Он относится к семейству фибронектинсвязывающих белков, обладают микозилтрансферазной активностью, участвуют в синтезе клеточной стенки. Эти белки индуцируют как Т-клеточный, так и гуморальный иммунный ответ. На долю *полисахаридов* приходится 15 % сухой массы вещества микобактерий. Это родоспецифические гаптены. В отличие от других бактерий, на долю *липидов* (фтионовая кислота, масляная, пальмитиновая, туберкулостеариновая и другие жирные кислоты, а также корд-фактор и воск Д, в состав которого входит миколовая кислота) приходится от 10 до 40 % сухой массы вещества микобактерий. *Вирулентные микобактерии содержат липидов больше, чем кислотоустойчивые сапрофиты.*

Миколовая кислота, входящая в состав липидных комплексов и находящаяся в соединении с высокомолекулярным спиртом фтиоциролом, который является составной частью восковых субстанций микобактерий, обуславливает кислото-, спирто- и щелочустойчивость данных микроорганизмов. Липиды вызывают развитие гранулем и казеозного некроза, экранируют клетку, подавляют активность фагоцитарных клеток, разрушая митохондрии пораженных клеток и препятствуя слиянию фагосомы с лизосомой, блокируют активность клеточных липаз и протеаз, тормозят миграцию лимфоцитов, являются адьювантами. Наиболее активна фосфатидная фракция липидов (*фтионовая кислота*). Фосфатидная и восковая фракции липидов, входя в комплекс с туберкулопротеинами, вызывают сенсбилизацию макроорганизма. Изучение состава миколовых кислот имеет важное значение для хемотаксономии микобактерий.

Отдельные химические компоненты по своему патогенному действию на макроорганизм не равнозначны. Основные патогенные свойства возбудителей туберкулеза обусловлены прямым или иммунологически опосредованным действием липидов и их комплексов с туберкулопротеинами и полисахаридами.

Устойчивость в окружающей среде. Благодаря наличию липидов, микобактерии обладают гидрофобной клеточной стенкой, что делает их более устойчивыми в окружающей среде к действию неблагоприятных факторов. *Из всех неспорообразующих бактерий микобактерии являются самыми устойчивыми к действию неблагоприятных факторов в окружающей среде.* Как и другие микробы, они образуют некультивируемые формы, длительно сохраняющиеся во внешней среде, являясь естественными компонентами биоценозов. Высушивание мало влияет на их жизнеспособность в патологическом материале (мокроте и т. д.). В естественных условиях при отсутствии солнечного света их жизнеспособность может сохраняться в течение нескольких месяцев, при рассеянном свете возбудители погибают через 1–1,5 месяца. В уличной грязи они сохраняются до 4 месяцев, в речной воде — до 7 месяцев, в сточной воде — до 15 месяцев, в почве, особенно на скотном дворе, в наво-

зе — 2 года. В то же время облученная солнечным светом культура микроорганизмов погибает в течение 1,5 ч, а под воздействием ультрафиолетовых лучей — через 2–3 мин, поэтому распространение инфекции редко происходит вне помещения в дневное время, а наиболее действенной мерой, позволяющей снизить степень инфицированности того или иного помещения, является адекватная вентиляция и воздействие ультрафиолетовых лучей. При кипячении они погибают через 5 мин, а при пастеризации — в течение 30 мин. Возбудители туберкулеза устойчивы к действию дезинфицирующих веществ. Для дезинфекции используются хлорсодержащие препараты, вызывающие гибель возбудителей туберкулеза в течение 3–5 ч.

Эпидемиология, патогенез и клиника туберкулеза. Туберкулез распространен повсеместно и является социальной проблемой здравоохранения. Росту заболеваемости туберкулезом способствуют не только неблагоприятные социально-экономические факторы, но и широкое распространение штаммов с множественной лекарственной устойчивостью к антибиотикам.

Основным источником инфекции является больной туберкулезом органов дыхания, выделяющий микробы в окружающую среду с мокротой. Больные сельскохозяйственные животные, главным образом крупный рогатый скот, верблюды, свиньи, козы и овцы, а также люди, страдающие внелегочными формами заболевания и выделяющие возбудителей туберкулеза с мочой и калом, играют второстепенную роль.

Основной механизм заражения при туберкулезе — воздушный (аэрогенный) с соответствующими ему *воздушно-капельным* и *воздушно-пылевым* путями передачи инфекции. Входными воротами при этом могут быть слизистая оболочка полости рта, миндалины, бронхи и легкие. Реже заражение туберкулезом может происходить *пищевым путем* при употреблении термически не обработанных мясомолочных продуктов, что особенно характерно для заболеваний, вызванных *M. bovis*, чаще поражающих детей. При этом кислотоустойчивость микобактерий способствует преодолению такого барьера неспеци-

ческой резистентности макроорганизма, как повышенная кислотность желудка. Возможен *контактный путь* передачи инфекции от больных туберкулезом через поврежденные кожные покровы и слизистые оболочки при использовании инфицированной одежды больных, игрушек, книг, посуды и других предметов. Известны случаи заражения людей при уходе за больными животными. Описаны редкие случаи заражения у хирургов, патологоанатомов, мясников. *Трансплацентарный путь* передачи также возможен, но, как правило, не реализуется вследствие тромбоза кровеносных сосудов плаценты в местах поражения. Внутриутробное заражение плода может происходить не только через пупочную вену и плаценту, но и при заглатывании амниотической жидкости, содержащей микобактерии.

Организм человека обладает высокой устойчивостью к действию патогенных микобактерий, поэтому большое значение для возникновения заболевания имеют длительность контакта с источником инфекции, массивность инфицирования, вирулентность микобактерий и снижение резистентности макроорганизма. К 40 годам 70–90 % людей инфицированы, но лишь у 10 % из них развивается первичный туберкулез. У остальных лиц первичная туберкулезная инфекция протекает без клинических признаков, проявляясь лишь в виде туберкулиновых проб.

Инкубационный период длится от 3–8 недель до 1 года и более (до 40 лет). Возбудитель в течение длительного времени сохраняется в «дремлющем» состоянии в фагоцитирующих клетках регионарных лимфатических узлов, прежде чем развитие фазы логарифмического размножения возбудителя не приведет к возникновению болезни. В развитии заболевания выделяют **первичный туберкулез, диссеминированный и вторичный туберкулез**, который, как правило, является следствием активации старых эндогенных очагов. Развитие вторичного туберкулеза возможно также в результате нового экзогенного заражения возбудителями туберкулеза (суперинфекция) вследствие тесного контакта с бактериовыделителем, что также вероятно при неблагоприятных социально-экономических условиях.

Первичный туберкулез возникает у ранее неинфицированных людей и характеризуется выраженными токсико-аллергическими осложнениями и некротическими изменениями в тканях, возникающими на фоне высокой чувствительности макроорганизма к возбудителям туберкулеза. Для него характерна гематогенная диссеминация. Вторичный туберкулез возникает в иммунном организме у ранее инфицированных людей, поэтому процесс локализуется, как правило, в каком-либо одном органе. Для него не характерна гематогенная диссеминация.

Первоначальное попадание возбудителей туберкулеза в легкие или другие органы ранее неинфицированного макроорганизма вызывает развитие малого или неспецифического воспаления, которое редко проявляется клинически и диагностируется по виражу туберкулиновых проб. В основе **неспецифического воспаления** лежит образование лимфоидных и лимфогистиоцитарных узелков и инфильтратов, а также макрофагальной инфильтрации без специфической клеточной реакции и казеоза.

Туберкулез — это классическая макрофагальная инфекция. «Бронированные», медленно делящиеся микробы поражают долгоживущие клетки.

Макрофаги поглощают микобактерии и переносят в регионарные лимфатические узлы, где они долго сохраняются, так как фагоцитоз носит незавершенный характер. В результате бактериемии возбудители туберкулеза разносятся по макроорганизму, что ведет к сенсибилизации тканей и органов. В ряде случаев данный процесс может сопровождаться развитием *первичной туберкулезной интоксикации у детей и подростков*.

При попадании больших доз высоковирулентного микроба в месте входных ворот инфекции (органы дыхания и другие органы) или в местах, наиболее благоприятных для размножения микобактерий, куда они проникают лимфогематогенно, происходит развитие **специфического туберкулезного воспаления**, сопровождающегося образованием *первичного туберкулезного комп-*

лекса, состоящего из **первичного аффекта** или воспалительного очага (*в легких это пневмонический очаг под плеврой*), воспаленных лимфатических сосудов (**лимфангоит**), идущих от первичного аффекта, и пораженных регионарных лимфатических узлов (**лимфаденит**). Первоначально может формироваться не только первичный туберкулезный комплекс, как считали ранее, но и туберкулез внутригрудных лимфатических узлов, плеврит, туберкулома, очаговый процесс. Из первичного туберкулезного комплекса может происходить бронхогенная, лимфогенная, а также гематогенная диссеминация микобактерий с образованием очагов в других органах и тканях (*диссеминированный легочный и внелегочный туберкулез*). Распространение микобактерий на соседние ткани может происходить также по контакту. В последующем происходит заживление очага, воспаление рассасывается, а некротические массы уплотняются и обызвествляются вследствие отложения солей кальция (*происходит образование петрификата*). Вокруг очага формируется соединительнотканная капсула. Такой очаг называется *очагом Гона* (A. Chon). Данный исход не является полным заживлением. С микробиологических позиций выздоровления при туберкулезе не наступает. При формировании очага происходит морфологическая трансформация микобактерий в L-формы, персистирующие в макроорганизме. При снижении резистентности макроорганизма происходит активация данных очагов, сопровождающаяся трансформацией L-форм в высоковирулентные палочковидные формы, что ведет к активации процесса и развитию *вторичного туберкулеза*.

В основе специфической воспалительной реакции при туберкулезе лежит развитие реакции гиперчувствительности 4 типа, сопровождающейся образованием *эпителиоидно-клеточных гранул*, состоящих из очага казеозного некроза в центре, содержащего микобактерии и окруженного эпителиоидными и гигантскими клетками, образовавшимися из гистиоцитов и макрофагов при их пролиферации.

В отличие от *M. leprae*, возбудители туберкулеза относятся к факультативным внутриклеточным паразитам и имеют склонность к

внеклеточной локализации, так как способны размножаться как внутри макрофагов, так и во внеклеточной жидкости и тканевых пространствах. Таким образом, **гранулема** — это специфическая реакция макроорганизма, направленная на ограничение распространения микроба по организму.

Клинические проявления туберкулеза разнообразны. Различают *3 клинические формы заболевания*: первичная туберкулезная интоксикация у детей и подростков; туберкулез органов дыхания; туберкулез других органов и систем. Чаще всего возникает туберкулез органов дыхания (легких и внутригрудных лимфатических узлов), так как возбудители туберкулеза обладают сродством к хорошо аэрируемой легочной ткани, а лимфатическая система бедна липазами и фосфорилазами, обуславливающими устойчивость к микобактериям. Он проявляется субфебрильной температурой тела, кашлем с мокротой, кровохарканьем, одышкой и другими симптомами. Симптомы, характерных только для туберкулеза, нет. В отличие от *M. tuberculosis*, *M. bovis* чаще поражает детей и вызывает такие внелегочные формы заболевания, как туберкулез периферических лимфатических узлов и мочеполовых органов, туберкулез костей и суставов, сопровождающиеся лекарственной устойчивостью к изониазиду.

Противотуберкулезный иммунитет формируется в ответ на проникновение в организм микобактерий в процессе инфекции или вакцинации и носит *нестерильный, инфекционный характер*, что обусловлено длительной персистенцией L-форм бактерий в макроорганизме. Он проявляется через 4–8 недель после попадания микробов в макроорганизм. Решающую роль играют клеточные факторы иммунитета. Фагоцитоз в начале заболевания носит незавершенный характер. Исход заболевания определяется активностью Т-хелперов, которые активируют фагоцитарную активность макрофагов и активность Т-киллеров. При массивном хроническом инфицировании, способствующем интенсивному размножению микобактерий и гибели фагоцитирующих клеток, происходит активация клеток с супрессорной активностью, что ведет к развитию вторичного иммунодефицита и иммунологической толерантности.

Микробиологическая диагностика. Микробиологическая диагностика является логическим завершением всех мероприятий по выявлению больных туберкулезом. Материалом для исследования служат мокрота, промывные воды бронхов и промывные воды желудка, плевральная и цереброспинальная жидкости, моча, менструальная кровь, асцитическая жидкость, а также кусочки тканей и органов, взятые на исследование во время операции или биопсии. Чаще всего исследуют мокроту.

Основными или обязательными методами микробиологической диагностики туберкулеза являются бактериоскопическое и бактериологическое исследование, биологическая проба, а также туберкулинодиагностика в виде внутрикожного теста с 2ТЕ очищенного туберкулина в стандартном разведении или в виде градуированной кожной пробы с различными разведениями туберкулина. Обнаружение в патологическом материале возбудителей туберкулеза является прямым доказательством активности инфекционного процесса.

Бактериоскопическое исследование заключается в многократном проведении **прямой микроскопии мазков** из исследуемого материала, окрашенных по Цилю—Нельсену. В препаратах можно обнаружить единичные микроорганизмы, если в 1 мл мокроты их содержится не менее 10000–100000 бактериальных клеток (предел метода). Метод прямой микроскопии прост, экономичен. Он должен применяться во всех клинико-диагностических лабораториях общей лечебной сети при обследовании лиц с симптомами, подозрительными на туберкулез (кашель с выделением мокроты более 3 недель, боли в грудной клетке, кровохарканье, потеря массы тела), лиц, контактировавших с бациллярными больными туберкулезом, и лиц, имеющих рентгенологические изменения в легких, подозрительные на туберкулез. При получении отрицательных результатов прибегают к *методам обогащения материала: флотации и гомогенизации* (седиментации). Чаще применяют метод флотации. Для этого мокроту гомогенизируют, затем добавляют углевод (ксилол, толуол или бензин) и встряхивают в течение 10–15 мин. Добавляют

дистиллированную воду и оставляют стоять на 1–2 ч при комнатной температуре. Капельки углевода адсорбируют микобактерии и всплывают, образуя кольцо на поверхности. Кольцо снимают и готовят микропрепараты, окрашенные по Цилю—Нельсену. Широкое распространение получил высокочувствительный метод люминесцентной микроскопии, основанный на способности липидов микобактерий воспринимать люминесцентные красители и светиться при облучении ультрафиолетовыми лучами. Так как бактериоскопическое исследование не позволяет определить видовую принадлежность микобактерий, оно относится к ориентировочным методам диагностики и должно сочетаться с другими, основными методами исследования.

Бактериологическое исследование является более чувствительным, чем бактериоскопическое, и позволяет выявить возбудителей туберкулеза при наличии в исследуемом материале всего нескольких десятков жизнеспособных микроорганизмов. Для повышения вероятности получения роста микобактерий рекомендуется засеять исследуемый материал на 2–3 различные по составу питательные среды одновременно, а также многократность проведения исследования. Параллельно делают высевы на среды для выявления L-форм микобактерий, а также сопутствующей микрофлоры. Помимо определения видовой принадлежности выделенной чистой культуры микобактерий, обязательно определяют чувствительность микобактерий к антибиотикам. Для быстрого определения антибиотикорезистентности клинических изолятов применяют ПЦР. Недостатками бактериологического метода исследования являются его трудоемкость и длительность; результаты исследования можно получить лишь через 5–6 недель.

В качестве ускоренных методов бактериологической диагностики, позволяющих сократить время выделения и идентификации возбудителей туберкулеза до 7–14 дней, применяют метод микрокультур (метод Прайса), а также полностью автоматизированные коммерческие системы бульонного культивирования ВАСТЕС MGIT 960 и MB/VacT.

Основным компонентом коммерческой системы ВАСТЕС являются пробирки MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube), которые кроме модифицированного бульона Миддлбрука 7H9 содержат в придонной части под силиконом флюоресцентный индикатор, «погашенный» высокими концентрациями O_2 . В процессе потребления растворенного в среде O_2 растущими клетками индикатор начинает светиться при ультрафиолетовом облучении. Интенсивность свечения оценивается автоматически.

Другая автоматизированная система — MB/VacT использует для определения наличия микобактерий технологию колориметрического детектирования CO_2 , образующегося в ходе метаболизма, в уникальных флаконах, содержащих сенсор, изменение цвета которого регистрируется компьютером, осуществляющим анализ и интерпретацию данных.

Данные способы детекции предназначены как для ускоренной бактериологической диагностики, так и для определения антибиотикочувствительности.

Наиболее чувствительным методом выявления возбудителей туберкулеза является постановка биологической пробы, позволяющая обнаружить от 1 до 5 микробных клеток в исследуемом материале. Метод имеет большое значение при исследовании одноразового материала (кусочки тканей и органов, взятые во время операции, биопсийный материал), а также при получении отрицательных результатов при использовании первых двух методов исследования. Он играет важную роль при выявлении морфовых возбудителей туберкулеза и является основным дифференциально-диагностическим тестом при определении видовой принадлежности и вирулентности патогенных и условно-патогенных микобактерий.

Туберкулинодиагностика основана на определении повышенной чувствительности макроорганизма к туберкулину, наступившей вследствие заражения возбудителями туберкулеза или вакцинации BCG, с помощью кожных аллергических проб. В основе данных проб лежит развитие реакции гиперчувствительности 4 типа, что свидетельствует об инфицировании.

Туберкулин — это общее название препаратов, полученных из микобактерий человеческого или бычьего типов, вакцинного штамма BCG,

а также *M. avium*. К ним относятся: старый туберкулин Коха — АТК (Alt Tuberculin Koch); сухой очищенный туберкулин — РРД (Purified Protein Derivative); очищенный туберкулин в стандартном разведении, разработанный М. А. Линниковой, — РРД-Л, содержащий в 0,1 мл одну дозу, равную 2, 5, 10 и 100ТЕ.

При проведении массового обследования населения с целью своевременного выявления первичного инфицирования детей и подростков, проявляющегося в выраже туберкулиновых проб, а также для выявления гиперергических реакций у детей, подростков и взрослых, отбора для ревакцинации ВСГ неинфицированных лиц применяется внутрикожная проба Манту с 2ТЕ РРД-Л. Это ведущий метод диагностики туберкулеза у детей и подростков. Результаты пробы оцениваются через 48–72 ч. Реакция считается положительной при наличии выраженного инфильтрата (папулы) диаметром 5 мм и более (3 мм и более при безыгольном методе). Проба свидетельствует не о заболевании, а об инфицировании.

Интенсивность туберкулиновой реакции определяется степенью специфической сенсибилизации организма, его реактивностью и многими другими факторами. У практически здоровых лиц, инфицированных возбудителями туберкулеза, туберкулиновые реакции обычно менее выражены, чем у больных с активными формами туберкулеза. Проба отрицательная у здоровых неинфицированных лиц, а также у больных ареактивной и промежуточными формами туберкулеза. Если у взрослых положительная реакция свидетельствует об инфицировании вследствие предшествующего контакта с возбудителями туберкулеза, то у детей, ранее не реагировавших на туберкулин, появление положительной реакции (**выраж туберкулиновых проб**) указывает на недавнее заражение и служит показанием для проведения лечебных мероприятий. Для определения активности инфекционного процесса в стационарах, в том числе перед проведением туберкулинотерапии, проводят более детальную индивидуальную туберкулинодиагностику (проба Манту с различными дозами ту-

беркулина, градуированная накожная проба, подкожная проба Коха). РРД применяют при изучении иммунного статуса *in vitro* в реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) и реакции торможения миграции лейкоцитов, а также при определении антител в РНГА с туберкулин-диагностиком эритроцитарным туберкулезным антигенным сухим. Усиление реакции торможения миграции лейкоцитов совпадает с прогрессированием течения туберкулезного процесса, а усиление реакции РБТЛ, наоборот, с повышением защитных сил организма.

Для экспресс-диагностики туберкулеза применяют РИФ с использованием видоспецифических моноклональных антител, метод лазерной флюоресценции, микробиочипы, а также ПЦР, позволяющую сократить исследования до 2 суток.

Разработан ИФА, направленный на обнаружение антител к возбудителям туберкулеза в сыворотках крови, что свидетельствует об инфицировании, а не о заболевании. Метод может быть использован для массового исследования населения вместо реакции Манту. Наличие антител у больных говорит об активности процесса, поэтому в регионах с низкой заболеваемостью и инфицированностью ИФА применяют в целях раннего выявления туберкулеза, особенно его внелегочных форм.

В целом же *серологические реакции*, направленные на обнаружение, как антигенов возбудителей туберкулеза, так и антител к антигенам (ИФА, РИА, РНИФ, РНГА, латекс-агглютинация, ТВ-Spot (тест-гребенка) и т. д.), а также определение иммунных комплексов в связи с низкой чувствительностью и специфичностью имеют второстепенное значение. Разработка методов иммунологической диагностики туберкулеза, в том числе и серологических методов, является одной из важнейших практических задач, так как туберкулиновые пробы в последние годы становятся малопригодными в связи с широким инфицированием условно-патогенными микобактериями, а также повсеместной вакцинацией ВСГ и низкой специфичностью.

ГЛАВА 16. Частная бактериология

Препараты для лечения. Антибиотикотерапия — это основной метод лечения больных туберкулезом.

В настоящее время по степени эффективности противотуберкулезные препараты делятся на 3 группы: *группа А* — изониазид и рифампицин, а также их производные; *группа В* — стрептомицин, канамицин, этионамид (протионамид), этамбутол, пиразинамид, флоримидин, циклосерин, производные фторхинолонов; *группа С* — ПАСК и тиацетозон (тибон).

Последняя группа препаратов в экономически развитых странах и в России не применяется. Получены препараты, превосходящие рифампицин по лечебным свойствам (рифалептин и рифабутин), а также комбинированные препараты (рифатер, рифанг и т. д.).

Лечение должно быть комплексным и контролироваться медицинским персоналом. Период лечения состоит из 2 этапов. Цель первого этапа — подавить репликацию активно размножающейся бактериальной популяции, располагающейся в основном внеклеточно, добиться снижения ее численности. Цель второго этапа — долечивание в результате воздействия на оставшуюся бактериальную популяцию, в большинстве своем находящуюся внутриклеточно в виде персистирующих форм микобактерий, для чего применяют препараты, хорошо проникающие внутриклеточно и подавляющие медленно размножающиеся микобактерии. При наличии сопутствующей микрофлоры, а также множественной лекарственной устойчивости к антибиотикам у микобактерий применяют фторхинолоны (офлоксацин, максаквин и др.), а также канамицин, амикацин, протионамид, этамбутол. Помимо антибиотикотерапии, у больных проводят специфическую туберкулино- или вакцинотерапию, а также неспецифическую иммунотерапию.

При раннем и своевременном выявлении больных прогноз благоприятный. Положительные результаты отмечаются в 97–99 % случаев. Большинство больных перестают быть источником инфекции в течение 2 недель с момента соответствующей проти-

вотуберкулезной терапии благодаря снижению количества выделяемых этими больными возбудителей и прекращению у них кашля. Абациллирование мокроты у большинства больных наступает в течение первых 2–4 месяцев лечения.

Препараты для специфической профилактики. Специфическую профилактику осуществляют путем введения *живой вакцины BCG* (Bacille Calmette—Guerin), полученной А. Кальметтом и К. Гереном путем длительного культивирования *M. bovis* на картофельно-глицериновом агаре с добавлением бычьей желчи (штамм BCG-1). Вакцинацию проводят у новорожденных на 3–7-й день жизни внутрикожно с последующей ревакцинацией в соответствии с утвержденным календарем прививок. Ревакцинации подлежат только не инфицированные туберкулезом лица, у которых туберкулиновая проба отрицательная, поэтому перед ее проведением ставится проба Манту с 2ТЕ. У новорожденных со сниженной резистентностью и в регионах, благополучных по туберкулезу, применяется менее реактогенная *вакцина BCG-M*, содержащая в 2 раза меньшее количество микробов.

16.7.2.2. Возбудитель лепры (*Mycobacterium leprae*)

Лепра — генерализованное первично хроническое заболевание человека, сопровождающееся гранулематозными поражениями кожи и слизистой оболочки верхних дыхательных путей, а также периферической нервной системы и внутренних органов.

Название заболевания происходит от греч. *lepros* — чешуйчатый, шероховатый, шелушащийся. Основу лепрозных поражений, как и при туберкулезе, составляет специфическая гранулема.

Возбудитель заболевания — *Mycobacterium leprae*, был открыт норвежским врачом Г. А. Гансенем в 1874 г. при микроскопическом исследовании неокрашенных соскобов, полученных с поверхности разреза узла больного лепрой.

Лепра регистрируется практически во всех странах мира и является одной из наиболее важных проблем мирового здравоохранения. Наибольшая

заболеваемость (более 85 %) приходится на страны Юго-Восточной Азии и Центральной Африки, где она остается эндемичной.

Таксономия. Возбудитель лепры относится к семейству *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*, виду *M. leprae*.

Морфологические и культуральные свойства. *M. leprae* имеет вид прямой или изогнутой палочки размером $1 \div 7 \times 0,2 \div 0,5$ мкм с закругленными концами. По своим морфологическим свойствам близки к возбудителям туберкулеза, грамположительные, спор и капсул не образуют, имеют микрокапсулу, жгутиков не имеют. Характерной особенностью *M. leprae* является кислото- и спиртоустойчивость, что обуславливает их элективную окраску по Цилю—Нельсену. Воздействие антилепрозных препаратов приводит к изменению их морфологии, снижению и исчезновению кислото- и спиртоустойчивости.

M. leprae является облигатным внутриклеточным паразитом тканевых макрофагов и проявляет выраженный тропизм к клеткам кожи и периферических нервов (леммоцитам). Данный микроорганизм не культивируется на искусственных питательных средах.

Разработаны культуры клеток для культивирования *M. leprae*. *M. leprae* размножается только в цитоплазме клетки путем поперечного деления на 2–3 дочерние клетки, которые остаются на месте, отделены от цитоплазмы фаголизосомной мембраной и постепенно образуют типичные для возбудителя лепры шаровидные скопления («globi»), в которых отдельные микобактерии располагаются параллельно друг другу, напоминая «сигары в пачке». В лепрозных поражениях *M. leprae* могут встречаться в разных количествах (от единичных скоплений, до 200–300 клеток в виде шаровидных скоплений, представляющих собой как бы чистую культуру бактерий). Характерной особенностью лепрозных клеток, относящихся к макрофагам, является наличие бледного ядра и «пенистой» цитоплазмы за счет содержания липидов — продуктов метаболизма микобактерий, а также явление незавершенного фагоцитоза. В цитоплазме лепрозной клетки

выявляется высокий уровень окислительно-восстановительных ферментов и наруживается активность липаз. Наличие микрокапсулы и «плотной» клеточной оболочки, богатой липидами, делает *M. leprae* устойчивой к действию фаголизосомных ферментов. На долю липидов, представляющих собой фосфатиды, жиры, воски, у *M. leprae* приходится от 25 до 40 %. Кроме микобактериальных кислот они содержат воск — лепрозолин, который является предшественником лепрозиновой кислоты, которая есть только у *M. leprae*. В составе *M. leprae* имеется безуглеводный липид — фтиоцералдин, представляющий собой гликоциклический эфир церозата, отличающийся от липидов других микобактерий. Возбудитель лепры, как и возбудители туберкулеза, размножается медленно, что и объясняет наличие длительного инкубационного периода при данной патологии. Время генерации (скорость деления) — от 12 до 20–30 дней. Микобактерии обладают тропизмом к тканям с низкой температурой. Оптимальная для роста и размножения температура 34–35 °С. Токсины не образует, поэтому, несмотря на бактериоцидную, интоксикации у больных нет.

Как и возбудители туберкулеза, *M. leprae* характеризуется значительным полиморфизмом. В лепрозных поражениях, наряду с гомогенными окрашенными формами, встречаются также фрагментированные и зернистые формы. Необходимо учитывать при бактериоскопическом исследовании. Показано, что в ранних, прогрессирующих высыпаниях клинически выраженной лепры преобладают гомогенные с наличием делящихся микобактерии, а в старых, регрессирующих высыпаниях — зернистые и фрагментированные формы. Переход *M. leprae* в зернистые формы и последующее разрушение до фрагментов пыли связывают с эффективностью лечения. Однако вопрос о роли зернистых форм не решен однозначно, так как новые негетерогенно окрашивающиеся формы (зернистые, гантелевидные, булавоподобные, сплошные и т. д.), по аналогии с возбудителями туберкулеза, остаются жизнеспособными и могут играть решающую роль в распространении лепры, возникновении обострений и рецидивов. Предполагают, что они также могут образовывать L-формы бактерий.

Биохимические свойства. *M. leprae* утилизируют глицерин и глюкозу в качестве источников углеводов и имеют специфический фермент *О-дифенолоксидазу* (ДОФА-оксидаза), отсутствующий у других микобактерий. Обладают способностью продуцировать внеклеточные липиды, а значительная часть обычного для других видов микобактерий аланина у них заменена глицином. Выявление на мембранных структурах микроорганизма окислительно-восстановительных ферментов: пероксидазы, цитохромоксидазы, супероксиддисмутазы, сукцинатдегидрогеназы, НАД-Н-диафоразы — свидетельствует о наличии автономных систем дыхания и принадлежности к *азробам*.

Антигенная структура. Особенностью антигенных свойств *M. leprae* является более выраженная по сравнению с другими микобактериями способность суспензий микроорганизмов усиливать клеточные иммунные реакции без добавления адьювантов. *Ряд антигенов M. leprae являются общими* для всех микобактерий, в том числе с вакцинным штаммом BCG, что используется для профилактики лепры. Показано наличие *гетерофильных антигенов* у *M. leprae* и лиц с группой крови 0(I), M+, Rh-, P+. Эти лица более восприимчивы к данному заболеванию, так как антигенная мимикрия способствует персистенции *M. leprae* в макроорганизме.

Протективных антигенов у возбудителя лепры не обнаружено. Из экстрактов *M. leprae* выделен и идентифицирован *видоспецифический фенольный гликолипид* с наличием уникального трисахарида, состоящего из 3,6-ди-О-метилглюкозы, 3-О-метилрамнозы и 2,3-ди-О-метилрамнозы, который является ключевой антигенной детерминантой (концевая ди-О-метилглюкоза отсутствует во всех известных природных углеводах). Антитела к фенольному гликолипиду обнаруживаются только у больных лепрой, что используется для активного выявления больных лепрой при обследовании больших групп лиц с помощью ИФА. Фенольный гликолипид предложено также применять для постановки *кожных аллергических проб* и РБТЛ.

Восприимчивость лабораторных животных. В экспериментальных условиях к *M. leprae* восприимчивы *мыши* и *девятипоясные броненосцы*.

У мышей происходит *медленное локальное* размножение *M. leprae* при заражении в поду-

шечку лапки (*метод Шепарда*). Генерализации процесса удается достичь подавлением клеточного иммунитета путем тимэктомии, сублетальным облучением и применением антилимфоцитарной сыворотки. Медленное размножение в подушечке лапки мыши *M. leprae* и определение ДОФА-оксидазы применяется для их идентификации. Заражение мышей используют для определения жизнеспособности *M. leprae* при лечении лепры, при испытании новых противолепрозных средств, а также для установления устойчивости *M. leprae* к действию физических и химических факторов. С помощью этого метода было установлено, что *M. leprae* остаются жизнеспособными после 10—12 лет хранения лепром при комнатной температуре в 40% формалине.

По методу Шепарда стали успешно заражать *крыс* и *хомяков*.

Имеются сообщения о восприимчивости к *M. leprae* некоторых видов *низших приматов* (черные мангобеи и макаки-резус), но *наилучшей экспериментальной моделью лепры человека является заражение девятипоясных броненосцев*, которые в филогенетическом отношении близки к приматам. При заражении их большими дозами *M. leprae* внутривенно у 80 % броненосцев через 18—35 месяцев развивается *генерализованный специфический процесс* с наличием в пораженных тканях большого количества *M. leprae*. Клиническое течение заболевания и морфологическая картина у броненосцев соответствуют лепроматозному типу лепры у человека. Но, в отличие от человека, у броненосцев рано и интенсивно поражается легочная ткань. Разработка данной модели позволила значительно продвинуться в изучении биологических свойств *M. leprae* и вплотную подойти к изготовлению диагностических и вакцинных препаратов.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Лепра относится к малоконтагиозным *антропонозным заболеваниям*, при которых пораженность населения зависит прежде всего от социально-экономических факторов, влияющих на состояние резистентности макроорганизма. Естественным *резервуаром* и *источником возбудителя* в природе является *больной чело-*

век, который при кашле и чихании, а также при разговоре выделяет в окружающую среду со слизью или мокротой большое количество бактерий. Особенно опасны больные антибиотикоустойчивой лепроматозной формой лепры, у которых содержится много *M. leprae* в носовом секрете.

Резервуаром *M. leprae* в природе могут быть броненосцы и низшие приматы, но они не играют важной роли в эпидемиологии заболевания у человека.

Основной механизм заражения — *аэрогенный*, путь передачи — *воздушно-капельный*. Учитывая, что *M. leprae* обнаруживается в отделяемом из открытых язв, образовавшихся при распаде лепром и инфильтратов, и в других биологических выделениях (семенная жидкость, менструальная кровь и т. д.), возможен *контактный механизм заражения* в результате прямого и непрямого контакта. Оба механизма заражения реализуются лишь при тесном и длительном контакте с больными лепрой, что ведет к массивному инфицированию.

Входными воротами инфекции служат слизистая оболочка верхних дыхательных путей и поврежденные кожные покровы. Не вызывая видимых изменений в месте входных ворот инфекции, возбудитель распространяется по макроорганизму лимфогематогенным путем, поражая клетки кожи и периферической нервной системы (леммоциты). *M. leprae* продуцируют фибронектинсвязывающий белок, который способствует их проникновению в эпителиальные клетки и леммоциты. Все последующие тканевые поражения при лепре являются результатом иммунных реакций организма, а развитие заболевания целиком и полностью определяется состоянием резистентности макроорганизма. *Инкубационный период* длится в среднем от 3 до 5 лет, но может колебаться от 6 месяцев до 20–30 лет. Лишь у 10–20 % инфицированных развиваются малозаметные признаки инфекции, и только у половины из них, т. е. у 5–10 % инфицированных, в дальнейшем формируется развернутая картина болезни. При высокой резистентности (у лиц с преобладающей субпопуляцией **ТН1-лимфоцитов**, активирующих клеточный иммунитет) развивается

полярная *туберкулоидная форма заболевания (ТТ-тип лепры)*, а при низкой резистентности (у лиц с преобладающей субпопуляцией **ТН2-лимфоцитов**, активирующих В-лимфоциты и подавляющих **ТН1-субпопуляцию**) развивается полярная *лепроматозная форма заболевания (LL-тип лепры)*.

Для научных и практических целей применяется **классификация Ридли—Джоплинга**, в основе которой лежит деление больных лепрой в зависимости от их иммунологической реактивности, отражающейся в клинических проявлениях, а также данных гистологических, бактериоскопических и иммунобиологических исследований. Лепрозный процесс рассматривается как непрерывный иммунологический спектр между **ТТ-** и **LL-** типами лепры, называемыми полярными с выделением 3 основных промежуточных (пограничных) форм.

ТТ-тип лепры имеет доброкачественное течение и характеризуется появлением на коже гипопигментированных пятен или эритематозных бляшек с измененной тактильной, температурной и болевой чувствительностью. Гранулема характеризуется четкими фокусами эпителиоидных клеток, окруженных лимфоидным бордюром, и достигает непосредственно эпидермиса. *M. leprae* выявляются с трудом и только при гистологическом исследовании биоптатов, а в соскобах кожи и слизистой носа, как правило, отсутствуют. Резистентность макроорганизма высокая, о чем свидетельствует положительная лепроминовая проба. С эпидемиологической точки зрения данная форма заболевания не опасна.

LL-тип лепры характеризуется злокачественным течением, выраженной и длительной бактериемией, большим разнообразием кожных поражений — от эритематозных пятен до появления инфильтратов в виде «апельсиновой корки» на лице (львиная морда — *facies leonika*), в области которых появляются бугорки и узлы (**лепромы**) размером от 1–2 мм до 2–3 см. Во всех случаях в процесс рано вовлекаются слизистые оболочки верхних дыхательных путей (симптомы ринита) и внутренние органы (печень, селезенка и костный мозг).

У 30 % больных развиваются трофические язвы стоп. При бактериоскопическом исследовании во всех высыпаниях, представляющие собой множественные, сливающиеся друг с другом участки поражения кожи, обнаруживается большое количество *M. leprae*. Гранулема состоит из «пенистых» макрофагов с вакуолизированной цитоплазмой и содержащих *M. leprae* в виде «шаров» (*globi*). Эпителиоидные и гигантские клетки не обнаруживаются. Число лимфоцитов незначительное. Лепроминовая проба отрицательная. **Эта форма заболевания эпидемиологически опасна.**

В клинике пограничных форм лепры (ПТ, ПП, ПЛ) в той или иной мере выражены признаки обоих полярных типов. Эти формы заболевания характеризуются нестабильным состоянием и могут переходить в **LL-форму** у нелеченых больных или в **ТТ-форму** заболевания в процессе лечения. Переходы от одного полярного типа заболевания к другому (от **ТТ** к **LL** или наоборот) чрезвычайно редки.

Иммунитет. Иммунитет при лепре является относительным. В эндемичных зонах при часто повторяющемся массивном суперинфицировании заболевание лепрой может быть вызвано на фоне существующего естественного и приобретенного иммунитета. Ведущую роль играют клеточные факторы иммунитета. У больных LL-формой заболевания выявляется анергия к *M. leprae*, которая обусловлена развитием расщепленной толерантности в результате предшествующего контакта с *M. leprae* или другими микобактериями, что ведет к усилению супрессорной активности клеток и уменьшению Т-хелперов. В результате наличия генетических дефектов макрофаги не ограничивают размножение *M. leprae* и их распространение по организму. Угнетение клеточных реакций иммунитета при LL-форме заболевания сочетается с высокими титрами гуморальных антител к фенольному гликолипиду и другим антигенам *M. leprae*. При ТТ-форме заболевания, наоборот, антитела обнаруживаются в низких титрах, а клеточные реакции иммунитета выражены.

Развитие анергии к *M. leprae* при LL-форме заболевания не сопровождается снижением общей реактивности макроорганизма по отношению к другим микробам.

Микробиологическая диагностика лепры. Лепра способна имитировать большинство дерматозов и заболеваний периферической нервной системы, поэтому вполне оправдано проведение дополнительных обследований на лепру во всех неясных случаях при наличии у больных кожных высыпаний, не поддающихся общепринятой терапии. Обследованию на лепру также подлежат лица с жалобами на снижение и исчезновение чувствительности в отдельных участках тела, парестезии, частые ожоги, ревматоидные боли в конечностях, нерезко выраженные контрактуры пятого, четвертого и третьего пальцев верхних конечностей, начинающуюся атрофию мышц, пастозность кистей и стоп, стойкие поражения носа, трофические язвы и т. д.

Применяют *бактериоскопическое и серологическое исследование*. Материалом для *бактериоскопического исследования* служат: соскобы — иссечения с кожи и слизистых оболочек носа, мокрота, пунктаты лимфатических узлов и т. д. Мазки готовят не только из очагов поражения кожи, но и из соскобов надбровных дуг, мочек ушей, подбородка. Мазки окрашивают по Циллю—Нельсену. Раньше всего *M. leprae* обнаруживаются в соскобах кожи (ранняя диагностика лепры). В соскобах из слизистой носа обнаруживаются лишь в далеко зашедших случаях заболевания. Наибольшее значение бактериоскопия соскобов имеет при **LL-форме** и пограничных с ней формах заболевания, при которых *M. leprae* выявляются во всех высыпаниях в больших количествах. При **ТТ-форме** заболевания *M. leprae* в соскобах выявляются очень редко, поэтому *окончательную роль в диагностике заболевания имеет гистологическое исследование биоптатов кожи и слизистых оболочек*, которое позволяет не только выявить *M. leprae*, но и определить структуру гранулем. Для гистологического исследования биопсийный материал из подозрительного на лепру высыпания направляется в НИИ по изучению лепры МЗ РФ (г. Астрахань).

В отличие от возбудителей туберкулеза, *M. leprae* не культивируются на искусственных питательных средах и непатогенны для морских свинок и кроликов.

Серологическая диагностика основана на обнаружении антител к фенольному гликолипиду

в ИФА, что особенно важно при активном выявлении больных, в том числе с субклиническими формами заболевания. При **ЛЛ-форме** заболевания антитела определяются в 95 % случаев, а при **ТТ-форме** — в 50 % случаев. В настоящее время получены моноклональные антитела, которые позволяют определять лепрозные антигены в тканях, разработана ПЦР.

Вспомогательное значение имеет изучение иммунного статуса больного, в том числе постановка РБТЛ с фенольным гликолипидом и лепроминовой пробы. Для постановки лепроминовой пробы используют *лепромин А*, полученный из тканей зараженных лепрой броненосцев, который заменил классический лепромин, приготовленный из тканей человеческих лепром. Так как у больных **ЛЛ-формой** заболевания лепроминовая проба отрицательная, а у больных **ТТ-формой** заболевания и у большинства *здоровых лиц* она положительная, диагностического значения проба не имеет. *Данная проба свидетельствует не об инфицировании, а о состоянии иммунологической реактивности макроорганизма, его способности отвечать на лепромин А.* Внутривенное введение 0,1 мл лепромина А вызывает развитие как *ранних* (через 48 ч, **реакция Фернандеса** на водорасстворимые фракции лепромина), так и *поздних* (через 3–4 недели, **реакция Мицуды**) реакций. Последняя реакция представляет собой гранулематозный ответ на лепрозный корпускулярный антиген и имеет большое значение в дифференциации типов лепры, а также прогнозе течения заболевания.

Препараты для лечения. Основными противолепрозными средствами являются *препараты сульфонового ряда*: дапсон, солюсульфон, диуцифон и другие, наряду с которыми применяются *рифампицин, клофазимин* (лампрен) и *фторхинолоны* (офлоксацин). Все вновь выявленные больные на территории России подлежат госпитализации в клинику НИИ по изучению лепры МЗ РФ сроком на 3–6 месяцев для углубленного обследования, в том числе определения иммунного статуса и подбора индивидуального лечения.

Эффективность лечения оценивают по скорости регресса клинических проявлений заболевания, а также по результатам бактериоскопического наблюдения за изменением количества возбудителя в очагах поражения и

его морфологии, а также по результатам гистологического исследования.

В настоящее время прогноз при данном заболевании благоприятный. В зависимости от формы и стадии заболевания комбинированное лечение больных лепрой продолжается от 3 до 10 лет. При **ЛЛ-форме** заболевания амбулаторное противорецидивное лечение проводится в большинстве случаев в течение всей жизни больного, так как эта форма заболевания хуже поддается терапии. Даже после многолетней терапии сульфонами и полного регресса кожных проявлений лепры жизнеспособные *M. leprae* продолжают выявляться в периферических нервах и поперечно-полосатых мышцах, хотя дапсон легко проникает в эти ткани (в 30 % случаев отмечается дапсонрезистентность).

Препараты для специфической профилактики. Препараты для специфической профилактики лепры не разработаны. У населения эндемичных районов для относительного усиления иммунитета для профилактики лепры используется **вакцина BCG**, составной частью которой является *лепромин А* (**лепромин А+BCG**). Предварительно проводится проверка с помощью лепроминовой пробы. Лица с отрицательной реакцией Мицуды (за исключением детей до одного года) должны рассматриваться как инфицированные, которые находятся в стадии инкубации, и подлежащие внеочередной вакцинации BCG.

16.7.2.3. Возбудители микобактериозов

Микобактериозы — это сходные с туберкулезом по своим клиническим проявлениям заболевания, вызванные условно-патогенными микобактериями. Данные заболевания приобретают все большее и большее значение в патологии человека.

Наиболее высокий уровень выявления микобактериозов отмечен в экономически развитых странах, где успешно осуществляется программа борьбы с туберкулезом и поэтому лучше налажена диагностика микобактериальных заболеваний.

Классификация и биологические свойства условно-патогенных микобактерий. Характеристика отдельных представителей. Возбуди-

тели микобактериозов относятся к семейству *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*. Они сходны по своим биологическим свойствам с возбудителями туберкулеза, но устойчивы к основным противотуберкулезным препаратам. Исходя из вышеизложенного, большое значение имеет идентификация условно-патогенных микобактерий.

Для практической работы используют вариант классификации, разработанной Раньоном (E. Runyon, 1959, 1965), согласно которой условно-патогенные и сапрофитные микобактерии, названные им **атипичными**, делятся на 4 группы по ограниченному числу признаков: скорости роста, пигментообразованию, морфологии колоний, некоторым культурально-биохимическим показателям.

Данная классификация условно-патогенных микобактерий и сапрофитов не является истинно научной, так как не учитывает генетического родства микобактерий, но она имеет важное практическое значение. Наиболее частыми этиологическими факторами легочных и внелегочных микобактериозов являются представители 3-й группы, реже — 1-й группы и еще реже — 2-й и 4-й групп.

Группа 1 — медленнорастущие фотохромогенные (*M. kansasii*, *M. marinum* и др.). Главный признак представителей этой группы — появление пигмента на свету. Они образуют колонии от S- до RS-форм, содержат кристаллы каротина, окрашивающие их в желтый цвет. Скорость роста — от 7 до 20 дней при температуре 25°, 37° и 40 °С; каталазапозитивны.

M. kansasii обитает в воде, почве, чаще всего поражает легкие. Важным проявлением инфекций, вызванных *M. kansasii*, считается развитие диссеминированного заболевания. Возможны также поражения кожи и мягких тканей, развитие теносиновитов, остеомиелита, лимфаденитов, перикардитов и инфекций органов мочеполового тракта.

M. marinum — это психрофильный микроорганизм, обитающий в соленой, а также пресной воде и вызывающий болезни у рыб. У человека инфекция обычно связана с какой-то деятельностью в воде (плавание, работа с аквариумами и т. д.). Микроорганизмы внедряются через поврежденные кожные покровы, например, при травме рук рыболовными крючками и вызывают обра-

зование узелка («бассейновая гранулема», «гранулема купальщиков», «аквариумная гранулема»); инфекция может распространяться вдоль лимфатических сосудов. У больных с иммунодефицитами описаны изъязвления и диссеминированные кожные поражения.

Группа 2 — медленнорастущие скотохромогенные (*M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. szulgai* и др.). Данные микроорганизмы образуют в темноте желтые, а на свету оранжевые или красноватые колонии, обычно образуют S-формы колоний, растут при 37 °С. Это самая многочисленная группа условно-патогенных микобактерий. Они выделяются из загрязненных водоемов и почвы. Обладают незначительной патогенностью для человека и животных.

M. scrofulaceum являются одной из основных причин развития лимфаденитов у детей. При наличии тяжелых сопутствующих заболеваний они могут вызывать поражения легких, костей и мягких тканей.

Группа 3 — медленнорастущие нехромогенные микобактерии (*M. avium complex*, *M. xenopi*, *M. gastri*, *M. terrae complex* и др.). Они образуют бесцветные S- или SR- и R-формы колоний. Выделяются от больных животных, из воды и почвы.

M. avium — *M. intracellulare* объединены в один *M. avium complex*, так как их межвидовая дифференциация возможна, но представляет определенные трудности. Данные микроорганизмы растут при 25°–45 °С, каталазапозитивны; патогенны для птиц, менее патогенны для рогатого скота, свиней, овец, собак и непатогенны для морских свинок. В последнее время они привлекают к себе особое внимание в связи с созданием крупных птицеводческих хозяйств. Наиболее часто данные микроорганизмы вызывают у человека поражения легких. Описаны поражения кожных покровов, мышечной ткани и костного скелета, а также диссеминированные формы заболеваний. Эти микроорганизмы входят в число возбудителей оппортунистических инфекций, осложняющих синдром приобретенного иммунодефицита.

M. xenopi вызывает поражения легких у человека и диссеминированные формы заболеваний, связанные с синдромом приобретенного иммунодефицита. В отличие от других условно-патогенных микобактерий, в том числе и представителей данной группы (*M. avium complex*, *M. gastri*, *M. terrae complex* и др.), они чувствительны к действию большинства противотуберкулезных препаратов.

M. ulcerans — этиологический агент микобактериальной кожной язвы (син. язва Бурули), растет только

при 30–33 °С. Рост колоний отмечается лишь через 7 недель. Выделение возбудителя производят также при заражении мышей в мякоть подошвы лапки. Данное заболевание распространено в Австралии и Африке. Источником инфекции служит тропическое окружение. Данный микроб продуцирует токсин, вызывающий некроз.

Группа 4 — быстрорастущие как ското-, так и фотохромогенные микобактерии (*M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. phlei*, *M. borstelense*, *M. smegmatis* и др.). Рост их отмечается в виде R- или S-форм колоний в течение от 1–2 до 7 дней. Обнаруживаются в воде, почве, нечистотах и являются представителями нормальной микрофлоры тела человека. Представители этой группы редко выделяются из патологического материала от больных, однако некоторые из них имеют клиническое значение.

M. fortuitum часто ассоциируются с посттравматическими и послеоперационными инфекциями кожи и мягких тканей. *M. chelonae* — более частая причина легочных инфекций и диссеминированных заболеваний; они выделяются из пересаженных людям от свиней створок сердечных клапанов. Широкое распространение в окружающей среде, в том числе в больничном окружении, высокая устойчивость к лекарственным препаратам, антисептикам и дезинфицирующим средствам делают их одними из важных агентов внутрибольничных инфекций, которые часто развиваются после кардиоторакальных операций, маммо- и артропластических вмешательств, инъекций, операций на глазном яблоке, проведении диализа и т. д., и проявляются в виде различных гнойно-септических осложнений.

M. smegmatis — представитель нормальной микрофлоры, выделяется из смегмы у мужчин. Непатогенен. Возбудителей туберкулеза необходимо дифференцировать от *M. smegmatis* при исследовании мочи.

Эпидемиология, патогенез и клиника микобактериозов. Возбудители микобактериозов широко распространены в природе, их можно обнаружить в почве, пыли, торфе, грязи, воде рек, водоемов и плавательных бассейнов. Они обнаруживаются у клещей и рыб, вызывают заболевания у птиц, диких и домашних животных, являются представителями нормальной микрофлоры слизистых оболочек верхних дыхательных путей и мочеполового тракта у человека. Источником инфекции для человека служат объекты окружающей среды, а также пораженные микобактериями птицы, холод-

нокровные и теплокровные животные, которые выделяют микобактерии в окружающую среду. Это типичные сапронозы. Механизм заражения — аэрогенный или контактный, через инфицированные объекты внешней среды. Передача микроорганизмов от человека человеку не характерна. Так как это условно-патогенные микроорганизмы, то обязательным условием возникновения заболевания является резкое снижение резистентности макроорганизма, чему способствует наличие сопутствующих хронических заболеваний, в том числе туберкулеза, прием иммунодепрессантов, профессиональные вредности и т. д. Попадая в организм со сниженной резистентностью, особенно на фоне проведения антибиотикотерапии, так как они устойчивы к действию антибиотиков, микобактерии находят благоприятные условия для своей жизнедеятельности, начинают размножаться и вызывать патологический процесс. *В пораженных участках образуются гранулемы без участков казеозного некроза, состоящие, в основном, из эпителиоидных клеток с небольшой примесью гигантских клеток.* В тяжело протекающих случаях фагоцитоз носит незавершенный характер, бактериемия выражена, а в органах определяются макрофаги, заполненные условно-патогенными микобактериями и напоминающие лепрозные клетки.

Клинические проявления разнообразны и напоминают туберкулез. Чаще всего поражается дыхательная система. Вместе с тем нередки случаи внелегочной локализации процесса с вовлечением лимфатических узлов, кожи, мочеполовых органов, костей и суставов, а также мозговых оболочек. Органные поражения могут начинаться как остро, так и скрытно, но почти всегда протекают тяжело. Наиболее тяжело протекают генерализованные формы микобактериозов, вызываемые, как правило, *M. avium complex*, *M. kansasii*, иногда *M. scrofulaceum* и сопровождающиеся миллиарными поражениями всех внутренних органов.

Возможно также развитие **смешанной инфекции** (микст-инфекции); в ряде случаев они могут быть причиной развития **вторичной эндогенной инфекции**.

Микробиологическая диагностика. Основным методом диагностики микобактериозов является **бактериологический метод**, который позво-

ляет дифференцировать условно-патогенные микобактерии между собой и от патогенных микобактерий. Материал на исследование берут, исходя из патогенеза и клинических проявлений заболевания. Для идентификации используют комплекс классических и современных методов. Первоначально решается вопрос о принадлежности выделенной чистой культуры к возбудителям туберкулеза или условно-патогенным микобактериям. Затем проводят комплекс исследований, позволяющих установить вид микобактерий, степень вирулентности, а также группу по Раньону. В большинстве случаев предпочтение отдают их идентификации по биохимическим свойствам. В отличие от возбудителей туберкулеза, условно-патогенные микобактерии, независимо от устойчивости к препаратам группы ГИНК (гидразида изоникотиновой кислоты), *обладают высокой каталазной активностью. Каталаза у них термостабильна*. Пероксидазная активность у данных микроорганизмов не выявляется. При проведении *биопробы* необходимо учитывать, что большинство условно-патогенных микобактерий не вызывает генерализованного процесса у морских свинок и кроликов, но они патогенны для цыплят, мышей или крыс. Большое значение для лечения имеет определение антибиотикограммы выделенной чистой культуры. Для доказательства этиологической значимости выделенных чистых культур необходимо придерживаться правил, изложенных в гл. 20 «Клиническая микробиология». Для обнаружения ДНК микобактерий используется ПЦР. Вспомогательное значение в диагностике имеют: *бактериоскопическое исследование, определение антители* с помощью РА, РНГА, РП, иммуноэлектрофореза, РСК, РНИФ и ИФА, а также постановка кожных аллергических проб с сенситинами (PPD-У к *M. kansasii*, PPD-В к *M. intracellulare*) или туберкулином из *M. avium*.

Препараты для лечения и специфической профилактики. Все виды условно-патогенных микобактерий, за исключением *M. xenopi*, устойчивы к изониазиду, стрептомицину и тиосемикарбазонам. Наибольшей чувствительностью они обладают к циклосерину, этambutолу, рифампицину. В ряде случаев эффективны: канамицин, этионамид, амикоцин,

цефокситин, доксициклин, макролиды. Часто лечение малоэффективно. Препараты для специфической профилактики не разработаны.

16.7.3. Актиномицеты (род *Actinomyces*)

Морфология. Ветвящиеся бактерии. В отличие от грибов не содержат в клеточной стенке хитина или целлюлозы, а сама стенка имеет строение грамположительных бактерий. Мицелий примитивен. Имеют вид тонких прямых или слегка изогнутых палочек размером $0,2 \div 1,0 \times 2,5$ мкм, часто образуют нити длиной до 10–50 мкм. Характерная особенность актиномицетов — способность образовывать хорошо развитый мицелий, который у одних видов он длинный, редко ветвящийся, у других — короткий и сильно ветвящийся; гифы мицелия не септированы. Палочковидные формы, часто с утолщенными концами, в мазке располагаются по одиночке, парами, V- и Y-образно, либо в виде палисада. Все морфологические формы способны к истинному ветвлению, особенно на тиогликолевой полужидкой среде. По Граму окрашиваются плохо, часто образуют зернистые либо четкообразные формы; конидий не образуют; не кислотоустойчивы. Типовой вид — *Actinomyces bovis*.

Культуральные свойства. Облигатные и факультативные анаэробы, капнофилы. Растут медленно, посеvy следует культивировать 7–14 суток. Температурный оптимум роста — 37 °С. Некоторые штаммы дают α - β -гемолиз на средах с кровью. Некоторые виды формируют нитчатые микроколонии, напоминающие мицелий, а на 7–14-е сутки образуют крошковатые S-формы колоний, иногда окрашенные в желтый или красный цвет. *Actinomyces israelii* склонен образовывать длинный ветвящийся мицелий, со временем распадающийся на полиморфные кокковидные, колбовидные и другие элементы. На простых питательных средах растет плохо, лучше растет на белковых средах, содержащих сыворотку; образует прозрачные бесцветные пастообразные, обычно гладкие колонии, плотно срастающиеся со средой. Воздушный мицелий скудный, пигментов не образует, на некоторых средах, например на кровяном агаре, может формировать белые бугристые колонии. *A. odontolyticus* на кровяном агаре образует красные колонии с зоной β -гемолиза.

Таблица 16.32. Основные дифференциальные признаки актиномицетов

| ПРИЗНАК | | ВИД | | | | |
|--------------------------|---------------|--------------------|----------------------|--------------------|-------------------------|-----------------|
| | | <i>A. viscosus</i> | <i>A. naeslundii</i> | <i>A. israelii</i> | <i>A. odontolyticus</i> | <i>A. bovis</i> |
| Рост в аэробных условиях | | + | + | — | + | + |
| Серогруппа (ИФА) | | B | E | D | A | F |
| Колонии: | гладкие | — | — | — | + | + |
| | паукообразные | + | + | + | — | — |
| Каталаза | | + | — | — | — | — |
| Уреаза | | + | + | — | — | — |
| Крахмал | | — | — | — | — | + |
| Арабиноза | | — | — | +/- | — | ? |
| Инозит | | + | + | + | — | ? |
| Ксилоза | | — | — | + | — | +/- |
| Маннит | | — | — | + | — | — |
| Манноза | | + | +/- | + | — | ? |

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы. Ферментируют углеводы с образованием кислоты без газа, продукты ферментации — уксусная, муравьиная, молочная и янтарная кислоты (но не пропионовая). Наличие каталазы и способность восстанавливать нитраты в нитриты переменны у разных видов, индол не образуют. Видовая дифференциация основана на различиях в способности ферментировать углеводы и на некоторых других биохимических тестах (табл. 16.32).

Антигенная структура. В ИФА выделяют 6 серогрупп: А, В, С, D, Е и F.

Экологическая ниша. Основная среда обитания — почва. Постоянно обнаруживаются в воде, воздухе, на различных предметах, покровах растений, животных и человека. Колонизируют слизистую оболочку полости рта человека и млекопитающих.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к пенициллинам, тетрациклину, эритромицину и клиндамицину, но резистентны к антимикотикам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Источник инфекции — почва. Характерна множественность механизмов, путей и факторов передачи; хотя чаще всего механизм передачи — контактный, а путь

передачи — раневой. Восприимчивость к актиномицетам, как ко всем УПМ, низкая у лиц с нормальным иммунным статусом и повышенная у иммунокомпромированных хозяев.

Патогенез. Вызывают оппортунистическую инфекцию.

Клиника

Актомикоз — хроническая оппортунистическая инфекция человека и животных, вызываемая анаэробными и факультативно-анаэробными актиномицетами, которая характеризуется гранулематозным воспалением с полиморфными клиническими проявлениями.

Заболевание проявляется в формировании гранулемы, которая подвергается некротическому распаду с образованием гноя, выходящего через свищи на поверхность кожи и слизистых оболочек. Гной — различной консистенции, желтовато-белого цвета, иногда с примесью крови, часто содержит друзы. Одновременно отмечается фиброз гранулемы. В зависимости от локализации различают шейно-лицевую, торакальную, абдоминальную, мочеполовую, костно-суставную, кожно-мышечную, септическую и другие формы болезни.

Иммунитет изучен недостаточно.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат мокрота, ликвор, гной из свищей, пунктаты не вскрытых

очагов размягчения, соскобы с грануляций, биопсия тканей.

Для диагностики используют *бактериоскопический, бактериологический, серологический и аллергологический методы*.

Обычно диагноз ставят бактериоскопически по обнаружению в нативном исследуемом материале друз актиномицетов, имеющих вид мелких желтоватых или серовато-белых зернышек с зеленоватым отливом. Под малым увеличением видны образования округлой формы с бесструктурным центром и периферией радиального строения; под большим увеличением в центре видны сплетения тонких гиф с пигментированными зернами, по периферии от этого клубка мицелия отходят радиально в виде лучей гифы с колбовидными утолщениями на концах. По Граму споры окрашиваются в темно-фиолетовый, мицелий — в фиолетовый, а друзы — в розовый цвет. По Цилю—Нельсону мицелий окрашивается в синий, а споры — в красный цвет.

Окончательный диагноз устанавливают на основании выделения возбудителя. Для подавления роста сопутствующей микрофлоры и мокроту перед посевом центрифугируют в растворе пенициллина и стрептомицина, затем отмывают изотоническим раствором NaCl для удаления антибиотиков. Засевают на питательные среды (сахарный агар, среда Сабуро и др.) и культивируют в аэробных и анаэробных условиях. Выделяют и идентифицируют чистую культуру по общепринятой схеме. У выделенных культур определяют способность сворачивать и пептонизировать молоко — признак, характерный для актиномицетов. Выделение анаэробных видов подтверждает диагноз актиномикоза.

Для серодиагностики ставят РСК с актинолизатом. Реакция недостаточно специфична, поскольку положительные результаты могут отмечаться при раке легкого и тяжелых нагноительных процессах. Применение в качестве АГ вместо актинолизата внеклеточных белков актиномицетов повышает чувствительность РСК. Этот же АГ можно использовать и для постановки РНГА.

Аллергическую пробу проводят с актинолизатом. Диагностическое значение имеют лишь положительные и резкоположительные

пробы. При висцеральном актиномикозе аллергическая проба часто отрицательная.

Лечение. Удовлетворительных результатов можно достичь применением пенициллина, тетрациклина, эритромицина, клиндамицина.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика направлена на повышение иммунного статуса

16.7.4. Нокардии (род *Nocardia*)

Нокардии впервые были выделены Нокаром в 1888 г.; Эппингер описал поражения легких и абсцессы мозга у человека, вызванные нокардиями.

Морфология. На ранних стадиях роста образуют относительно развитый мицелий, растущий по поверхности и проникающий в глубь среды. Клетки — прямые или изогнутые с частым ветвлением. В первые часы роста мицелий не септированный и все сплетение одноклеточное. Диаметр нитей 0,3–1,3 мкм. С возрастом в нитях образуются септы, и мицелий фрагментируется на отдельные палочковидные или кокковидные элементы, которые размножаются бинарным делением или почкованием. В старых культурах можно обнаружить многоклеточные нити, образующиеся в результате неполного разделения фрагментирующегося мицелия. Образуют конидии. Отношение к окраске по Граму переменное; в патологическом материале представлены грамположительными короткими ветвящимися нитями и дифтероидными элементами; в старых культурах можно обнаружить грамотрицательные диссоциированные элементы. Относительно кислотоустойчивы, окрашиваются по Цилю—Нельсону. По форме мицелия и времени его диссоциации делятся на 3 группы:

1-я группа — мицелий ограниченный, не образует конидий, диссоциирует через 12–14 ч инкубации; в старых культурах обычны короткие палочки и кокковидные формы.

2-я группа — мицелий ограниченный, не образует конидий, диссоциирует через 20 ч инкубации; в старых культурах преобладают длинные фрагменты мицелия.

3-я группа — мицелий обильный, с редкими конидиями; в старых культурах преобладают длинные ветвящиеся нити.

Таблица 16.33. Основные дифференциальные признаки нокардий

| Вид | Разложение | | | | Способность к образованию | | |
|-----------------------------------|------------|----------|--------------|----------|---------------------------|------------|--------|
| | казеина | эскулина | тестостерона | ксантина | кислой фосфатазы | β-эстеразы | уреазы |
| <i>Nocardia amarae</i> | — | + | — | — | — | — | + |
| <i>Nocardia asteroides</i> | — | + | + | — | + | — | + |
| <i>Nocardia brasiliensis</i> | + | + | + | — | + | — | + |
| <i>Nocardia brevicatena</i> | — | + | + | — | ? | ? | — |
| <i>Nocardia carneae</i> | — | + | + | — | + | + | — |
| <i>Nocardia farcinica</i> | — | + | + | — | — | + | + |
| <i>Nocardia nova</i> | ? | ? | ? | ? | — | + | + |
| <i>Nocardia otitidis caviarum</i> | — | + | + | — | + | +/- | + |
| <i>Nocardia pinensis</i> | — | — | ? | — | ? | ? | + |
| <i>Nocardia seriole</i> | — | + | ? | — | — | — | + |
| <i>Nocardia transvalensis</i> | — | + | — | +/- | ? | ? | + |
| <i>Nocardia vaccinii</i> | — | + | — | — | + | + | + |

Культуральные свойства. Хорошо растут на простых питательных средах (МПА, МПБ, среда Сабуро и др.). Температурный оптимум роста — 28–37 °С. На жидких средах образуют тонкую прозрачную пленку, напоминающую растекшуюся каплю жира; постепенно приобретает кремово-желтый цвет. Возможен придонный рост в виде комочков ваты или плотных зерен. На плотных средах через 48–72 ч образуют мелкие гладкие влажные колонии тестоватой консистенции. Через 72 ч поверхность колоний становится исчерченной, на 10–14 сутки принимают вид с приподнятым и извитым центром и фестончатыми краями. Продуцируют пигменты от кремового до красного цвета, которые диффундируют в питательную среду. Бактерии 1-й группы образуют мягкие, пастообразные и слизистые колонии; 2-й группы — пастообразные или маслянистые; 3-й группы — сухие кожистые колонии.

Биохимическая активность. Достаточно высокая. Основные дифференциальные признаки нокардий представлены в табл. 16.33.

Экологическая ниша. Повсеместно распространены в почве и на разлагающихся органических субстратах. Не являются представителями нормальной микрофлоры организма человека, хотя их иногда выделяют от клини-

чески здоровых людей. Устойчивость в окружающей среде высокая.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к гентамицину и левомицетину, к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Источник инфекции — почва. Механизм передачи — контактный, путь передачи — раневой. Возможна также аэрогенная передача возбудителя воздушно-капельным или воздушно-пылевым путями, а также передача алиментарным путем с контаминированной пищей через поврежденные слизистые оболочки ЖКТ. Восприимчивость к нокардиям, как ко всем УПМ, низкая у лиц с нормальным иммунным статусом и повышенная у иммунокомпромированных хозяев.

Патогенез. Вызывают оппортунистическую инфекцию.

Возбудитель захватывается альвеолярными макрофагами, в цитоплазме которых он сохраняет жизнеспособность, блокируя слияние фагосомы с лизосомами и ингибируя синтез лизосомальных ферментов. Персистенция возбудителя ведет к развитию воспаления с формированием множественных сливных абсцессов и гранулем. Инфекции подкожной клетчатки развиваются при попадании в рану возбудителя и характеризуются развитием гнойного воспаления. У иммунодефицитных лиц возможно развитие диссеминированных инфекций.

Клиника

Нокардиозы — оппортунистические инфекции человека, вызываемые нокардиями, которые характеризуются преимущественным поражением легких и подкожной клетчатки с развитием гнойно-гранулематозного воспаления.

Относится к редким заболеваниям. Ежегодно в мире регистрируют 1,5–2,0 тыс. случаев заболевания, более половины из которых — у лиц с иммунодефицитами. Основные формы поражений — легочные и подкожные нокардиозы. Наиболее распространены легочные поражения, вызванные *Nocardia asteroides*, и подкожные поражения вызванные *Nocardia brasiliensis*.

При легочных поражениях в паренхиме легких формируются множественные сливные абсцессы и гранулемы. В воспалительный процесс часто вовлекаются органы средостения, мягкие ткани грудной клетки и др. Особую опасность заболевание представляет для лиц с иммунодефицитами, у которых часто развиваются диссеминированные инфекции, сопровождающиеся поражением ЦНС, менингеальными явлениями, парезами и параличами. При диссеминированных формах возможны поражения кожных покровов, лимфатических узлов, печени и почек.

Инфекции подкожной клетчатки характеризуются развитием неглубоких пустул в месте проникновения возбудителя. При прогрессировании болезни образуются абсцессы и гранулемы, которые напоминают кожный актиномикоз.

Иммунитет изучен недостаточно.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат мокрота, гной, биоптаты тканей. Для диагностики используют *бактериоскопический* и *бактериологический* методы. Обычно диагноз ставят бактериоскопически по обнаружению в исследуемом материале несептированных гиф. Окончательный диагноз устанавливают на основании выделения возбудителя.

Лечение. Удовлетворительных результатов можно достичь, применяя сульфаниламиды или их комбинации с гентамицином или левомицетином.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика направлена на повышение иммунного статуса.

16.7.5. Бифидобактерии, эубактерии, пропионибактерии, гарднереллы, мобилункусы

16.7.5.1. Бифидобактерии (род *Bifidobacterium*)

Морфология. Род *Bifidobacterium* образован полиморфными палочками размером $0,5 \div 1,3 \times 1,5 \div 8$ мкм; также встречаются утолщенные на концах или ветвящиеся клетки, располагающиеся в мазках по одиночке, парами, в виде палисады или V-образно, что делает их похожими на дифтероиды. По Граму окрашиваются неравномерно; неподвижны.

Культуральные свойства. облигатные анаэробы, некоторые виды могут расти в капнофильных условиях. Не растут при pH ниже 4,5 и выше 8,5, оптимум pH — 6,0; температурный оптимум роста — 37–40 °С. Хорошо растут на обычных мясопептонных, сахарных средах, но нуждаются во внесении в среду витаминов; лучше растут на печеночном отваре с добавлением лактозы. При выращивании по методу Перетца образуют плотные чечевицеобразные S-формы колоний и «мохнатые» R-формы колоний.

Биохимическая активность. Большинство видов ферментирует с образованием кислот, преимущественно уксусной и молочной, глюкозу, лактозу, сахарозу и маннит. Основные дифференциальные признаки бифидобактерий представлены в табл. 16.34.

Факторы патогенности. Не проявляют патогенных свойств.

Экологическая ниша. Доминируют в толстой кишке, будучи ее основной пристеночной и просветной микрофлорой. Присутствуют в кишечнике на протяжении всей жизни человека, у детей составляют от 90 до 98 % всех микробов кишечника в зависимости от возраста. В норме количество бифидобактерий у грудных детей составляет 10^9 – 10^{10} КОЕ/г фекалий, у детей старшего возраста и у взрослых — 10^8 – 10^9 КОЕ/г. Бифидобактерии являются также представителями вагинальной микрофлоры, где обнаруживаются в количестве 10^6 КОЕ/мл вагинального содержимого.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Таблица 16.34. Основные дифференциальные признаки бифидобактерий

| Вид | Арабиноза | Ксилоза | Рибоза | Гликолат | Целлобиоза | Лактоза | Маннит | Меллеитоза | Салицил | Крахмал | Тригалаза |
|---|-----------|---------|--------|----------|------------|---------|--------|------------|---------|---------|-----------|
| <i>Bifidobacterium bifidum</i> | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i> | + | + | + | + | + | + | +/- | +/- | + | +/- | +/- |
| <i>Bifidobacterium infantis</i> | - | - | + | - | +/- | + | - | - | +/- | +/- | +/- |
| <i>Bifidobacterium liberorum</i> | - | + | + | - | +/- | + | - | +/- | +/- | +/- | +/- |
| <i>Bifidobacterium lactentis</i> | - | + | + | - | +/- | + | + | - | - | +/- | +/- |
| <i>Bifidobacterium breve</i> | - | - | + | - | + | + | + | +/- | +/- | +/- | +/- |
| <i>Bifidobacterium parvulum</i> | - | - | + | - | +/- | + | + | - | - | + | - |
| <i>Bifidobacterium longum</i> | + | + | + | - | - | + | - | + | - | +/- | +/- |
| <i>Bifidobacterium longum subsp. animalis</i> | + | + | + | - | - | + | - | - | +/- | +/- | +/- |
| <i>Bifidobacterium pseudolongum</i> | + | + | + | - | +/- | +/- | - | +/- | +/- | + | - |
| <i>Bifidobacterium thermophilum</i> | - | - | - | - | +/- | +/- | - | +/- | +/- | + | +/- |
| <i>Bifidobacterium suis</i> | + | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - |
| <i>Bifidobacterium asteroides</i> | + | + | + | + | + | - | - | - | + | - | - |
| <i>Bifidobacterium indicum</i> | - | - | + | + | + | - | - | - | + | - | - |
| <i>Bifidobacterium coryneforme</i> | + | + | + | + | + | - | - | - | + | - | - |

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.7.5.2. Эубактерии (род *Eubacterium*)

Морфология. Грамположительные неспорообразующие палочки, подвижные или неподвижные. Типовой вид — *Eubacterium foedans*.

Культуральные свойства. облигатные анаэробы. Штаммы варьируют по чувствительности к кислороду, некоторые могут расти только в восстановленных средах. Температурный оптимум роста — 37 °С; оптимум pH — 7,0.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы; сахарокластические и несакхарокластические. Из углеводов или пептона образуют смеси органических кислот, часто с большим количеством масляной, уксусной или муравьиной кислот; не образуют пропионовую, молочную, янтарную, уксусную кислоты. Каталазу не образуют, гиппурат не гидролизуют.

Экологическая ниша. Встречаются в полостях человека и животных, в почве.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.7.5.3. Пропионибактерии (род *Propionibacterium*)

Морфология. Грамположительные неспорообразующие неподвижные палочки. Плеоморфные, дифтероидные или булавовидные с одним концом округленным и другим — конусообразным или заостренным, окрашивающимся менее интенсивно. Клетки могут быть кокковидными, удлинёнными, раздвоенными и даже разветвленными; располагаются по одиночке, парами, в виде латинских букв V и Y, короткими цепочками или группами в виде «китайских иероглифов». Типовой вид — *Propionibacterium freudenreichii*.

Культуральные свойства. От анаэробных до аэротолерантных. Большинство штаммов наиболее быстро растет в анаэробных условиях, многие штаммы хорошо растут в бульоне с пептоном, дрожжевым экстрактом и глюкозой в глубоких пробирках при свободном доступе воздуха, когда использованы большие количества инокулята. Твин-80 стимулирует рост. Большинство штаммов растет в глюкозном

бульоне с 20 % желчи или 6,5 % NaCl. Колонии могут быть белого, серого, розового, красного, желтого или оранжевого цвета. Температурный оптимум роста — 30–37 °С, но могут расти в диапазоне температур 25–45 °С; оптимум pH — 7,0. Содержание ГЦ в ДНК рода — 59–66 мол. %.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы; метаболизируют углеводы, пептон, пируват или лактат. Продукты брожения включают комбинации пропионовой и уксусной кислот и часто меньшие количества изовалериановой, муравьиной, янтарной или молочной кислот и CO₂. Ферментируют глюкозу до кислоты. Большинство штаммов образует аммиак из белка. Гиппурат не гидролизуют; нейтральный красный не восстанавливают.

Экологическая ниша. Кожа человека, пищеварительный тракт человека и животных; встречаются в молочных продуктах.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.7.5.4. Гарднереллы (род *Gardnerella*)

Гарднереллы являются возбудителями вагиноза, антропонозной оппортунистической инфекции, вызываемой *Gardnerella vaginalis* в ассоциации с облигатными анаэробами, передаваемой половым путем, которая характеризуется поражением влагалища, повышением количества резко водянистых гомогенных выделений из влагалища с резким неприятным «рыбным» запахом.

Gardnerella vaginalis относится к роду *Gardnerella*; ранее эти микробы относились к роду *Haemophilus*, но независимость от X- и V-факторов роста побудили выделить их в самостоятельный вид.

Морфология. Мелкие палочки или коккобациллы размером 1÷2×0,3÷0,6 мкм, часто образуют скопления, имеют метакроматические гранулы, выявляемые окраской по Нейссеру. Иногда образуют суданофильные включения. В мазках клетки располагаются по одиночке или парами, иногда наблюдается расположение в виде палисада или латинской буквы V, что более характерно для коринебактерий. Грамвариабельны: молодые 8–12-часовые культуры окрашиваются грамотрицательно, а

культуры, выращенные на оптимальной среде, грамположительны. Структура клеточной стенки с признаками грамположительных бактерий: в ее составе присутствуют треонин, триптофан, лизин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, однако арабиноза (что характерно для коринебактерий), тейхоевые и диаминопимелиновая кислоты отсутствуют. По составу жирных кислот преобладают гексадекановая, октадеценная и октадекановая, однако гидроксильированные жирные кислоты, характерные для грамотрицательных бактерий, отсутствуют. Капсул и жгутиков не имеют, спор не образуют.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы, капнофилы. Требовательны к питательным средам, на простых питательных средах не растут или дают слабый рост на кровяном агаре. Растут на сложных питательных средах с добавлением гемина и НАД. Требуют наличия в среде биотина, фолиевой кислоты, ниацина, тиамина и рибофлавина, а также пуринов и пиримидинов, рост стимулируют ферментируемые углеводы и некоторые пептоны. Гемолитические свойства переменны: не гемолизуют эритроциты барана, слабо гемолизуют эритроциты лошади. На средах с кровью донора образуют очень мелкие (0,25–0,44 мм в диаметре) колонии с зоной α- или β-гемолиза, при дальнейшем культивировании среда приобретает шоколадный цвет. Для культивирования применяют среду КДС-1 (казеин, дрожжи, сыворотка) или V-агар (*vaginalis*). На плотных питательных средах через 24–48 ч образуют мелкие круглые выпуклые гомогенные гладкие бесцветные колонии. При дальнейшем культивировании колонии достигают 1 мм в диаметре, становятся тусклыми и матовыми. В жидких средах дают равномерное помутнение и осадок. Температурный оптимум роста — 35–37 °С, но могут расти в диапазоне температур 25–42 °С; оптимум pH — 4,0. Содержание ГЦ в ДНК рода — 42–43 мол. %.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы. Метаболизм бродильного типа, главный продукт брожения — уксусная кислота; некоторые штаммы способны образовывать молочную, янтарную и муравьиные кислоты. Ферментативная активность низкая: каталазу

и оксидазу не образует, разлагает гиппурат, гидролизует крахмал, расщепляет мальтозу до кислоты. Некоторые штаммы расщепляют глюкозу.

Антигенная структура. В РП выделяют 7 серогрупп гарднерелл. Общий антиген, представляющий гликопептид, определяют в развернутой РА и ИФА. В РИФ выявлены общие антигены с *Candida albicans*.

Факторы патогенности. Некоторые штаммы гарднерелл продуцируют нейроминидазу, разрушающую гликопротеиды слизистой оболочки влагалища.

Устойчивость в окружающей среде. Невысокая. Гарднереллы чувствительны к метронидазолу и триметоприму, к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Источник инфекции — больной человек. Механизм передачи — контактный, путь передачи — половой. Восприимчивость к гарднереллам, как ко всем УПМ, низкая у лиц с нормальным иммунным статусом и повышенная у иммунокомпромированных хозяев. Распространен гарднереллез повсеместно, чаще болеют женщины репродуктивного возраста.

Патогенез. Экологической нишей является влагалище. Гарднереллы вызывают у женщин бактериальные вагиниты, особенно при нарушениях микробиоценоза влагалища (при дисбиозах) в результате антибиотикотерапии или других причин. Предрасполагающими факторами служат сахарный диабет, беременность, применение гормональных противозачаточных средств, менопауза, эндокринные нарушения, приводящие к дисбалансу эстрогена и прогестерона в организме. Все это приводит к изменению рН и концентрации сахара на слизистой влагалища, в результате чего гарднереллы в ассоциации с анаэробами, такими как бактероиды, пептострептококки и мобилункусы, вызывают вагинит. Ни один из этих микробов в отдельности вагинита не вызывает. Поскольку в ассоциации с гарднереллами выделяются самые разные виды неспорообразующих анаэробов, то эти вагиниты получили название неспецифических.

Клиника. Характеризуется образованием пенистых влагалищных выделений белого или серого цвета с резким неприятным «рыбным» запахом, обусловлен-

ным образованием аномальных аминов. Признаки воспаления отсутствуют. У мужчин, как правило, развивается баланит, неспецифический уретрит или воспалительные процессы полового члена, протекающие сочетанно с вагинитом у женщины — полового партнера. Бактериальный вагинит может приводить к тяжелым последствиям, таким как преждевременные роды, снижение массы тела новорожденных, преждевременный разрыв оболочек, воспалительные заболевания органов малого таза, патологические маточные кровотечения. До 1/3 женщин, предъявляющих различные жалобы на неприятные ощущения в области влагалища, страдают бактериальным вагинитом.

Иммунитет. После перенесенного заболевания не формируется. Рецидивы обусловлены нарушениями иммунного статуса, в частности дисбиозом влагалища с нарушением колонизационной резистентности.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат мазки из влагалища и шейки матки. Для диагностики используют *бактериоскопический* и *бактериологический* методы. Обычно диагноз ставят бактериоскопически по обнаружению ключевых клеток, т. е. клеток эпителия влагалища, покрытых большим количеством грамвариабельных бактерий.

Во влажном препарате влагалищных выделений (выделения из влагалища, смешанные в соотношении 1:1 с физиологическим раствором, которые исследовали при сухой микроскопии). На типичной ключевой клетке бактерии прикрепляются к ее краю. Микроскопию проводят без иммерсии при большом увеличении, в препарате не типично наличие большого количества лейкоцитов. Ключевые клетки покрыты огромным количеством тонких палочек или коккобактерий, что придает поверхности клетки зернистый вид и неясность очертаний. Лактобациллы в окрашенных по Граму мазках почти или полностью замещаются профузно растущей бактериальной флорой, состоящей из трихомонад и анаэробных бактерий.

Кроме того, используют следующие признаки:

- 1) выделения из влагалища с рН ниже 4,5;
- 2) повышение количества резко водянистых гомогенных выделений из влагалища, отсутствие лейкоцитоза влагалищных выделений;

3) появление резкого запаха при добавлении к выделениям 10% раствора КОН.

Бактериологическое исследование проводят редко.

Лечение. Используют метронидазол, который обрывает патологический процесс за счет элиминации неспорообразующих анаэробов, входящих в состав микробной ассоциации, необходимой для развития вагинита, однако при этом гибнут и вагинальные лактобациллы, что усугубляет дисбиоз влагалища. Поэтому наряду с метронидазолом назначают вагинальные эубиотики для восстановления нормофлоры влагалища, погибшей при химиотерапии. Иногда используют ампициллин. Не рекомендуется лечить мужчин — партнеров больных женщин, поскольку лечение не влияет на частоту рецидивов.

Профилактика. Специфическая профилактика отсутствует.

16.7.5.5. Мобилункусы (род *Mobiluncus*)

Морфология. Тонкие изогнутые палочки размером $0,4 \div 0,6 \times 1,2 \div 4,0$ мкм, с заостренными концами; располагаются по одиночке либо парами в виде «крыла чайки». Грамвариабельны, могут окрашиваться грамотрицательно. Подвижны, имеют латеральные или субполярно расположенные жгутики. Типовой вид *Mobiluncus curtisii*.

Биохимическая активность. Хемоорганотрофы. Метаболизм ферментативного типа, каталазаотрицательны, индолотрицательны.

Устойчивость в окружающей среде. При попадании на воздух мгновенно погибают.

Чувствительность к антимикробным препаратам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

16.8. Спирохеты и другие спиральные, изогнутые бактерии

Таксономия. Относятся к порядку *Spirochaetales*.

Морфология. Представляют собой подвижные спиралевидные бактерии размерами $0,1-0,3 \times 5 \div 250$ мкм. Тело спирохет состоит из многослойной *наружной клеточной оболочки*, которая покрывает *протоплазматический цилиндр*. Протоплазматический цилиндр пред-

ставляет собой цитоплазму, окруженную цитоплазматической мембраной. Вокруг протоплазматического цилиндра, в толще клеточной оболочки, находится двигательный аппарат, представленный периплазматическими *жгутиками (фибриллами)*. Фибриллы расположены под наружной оболочкой, т. е. между оболочкой и протоплазматическим цилиндром. Один конец каждой фибриллы закреплен вблизи полюса цитоплазматического цилиндра, другой — остается свободным. Из обоих концов клетки выходит одинаковое количество фибрилл. Общее число периплазматических фибрилл на клетку варьирует от 2 до более 100 в зависимости от вида. Периплазматические фибриллы являются двигательным аппаратом спирохет, обеспечивая 3 типа движения в жидкой среде: перемещение, вращение вокруг продольной оси и изгибание.

По Граму спирохеты окрашиваются отрицательно. Дифференциальным методом окраски является метод Романовского—Гимзы. Интенсивность окраски по этому методу родоспецифична.

Биохимические и культуральные свойства. Хемоорганотрофы. Встречаются аэробы, микроаэрофилы, факультативные и строгие анаэробы. В качестве источников углерода и энергии используют углеводы, аминокислоты, липиды в зависимости от рода. Способность размножаться на искусственных питательных средах зависит от таксономического положения и условий обитания. Культивируемые формы требуют присутствия в питательной среде сыворотки, тканевых экстрактов. Растут медленно. Некоторые представители порядка могут в неблагоприятных условиях существования образовывать цисты и L-формы. Делятся поперечным делением; также возможно размножение через цистообразование и распад на зерна.

Распространение в природе. Среди спирохет встречаются как свободноживущие в воде, почве формы, так и ассоциированные с различными животными. В патологии человека имеют значение 3 рода: *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*.

16.8.1. Трепонемы (род *Treponema*)

Морфология. Род *Treponema* включает более 10 видов и подвидов. Клетки трепонем име-

ют форму спиралевидных палочек размером $0,1 \div 0,4 \times 5 \div 20$ мкм. Плохо окрашиваются по Граму и Романовскому—Гимзе. Выявляются при импрегнации серебром, а также с помощью фазово-контрастной и темнопольной микроскопии. Имеют более одной двигательной фибриллы на каждом полюсе клетки. В жидких средах осуществляют одновременно вращательное и поступательное движения.

Биохимические свойства. В качестве источника углерода и энергии используют различные углеводы и аминокислоты. Патогенные для человека виды являются микроаэрофилами. Они не культивируются на искусственных питательных средах. Непатогенные трепонемы — строгие анаэробы. Растут на сложных питательных средах, содержащих сыворотку, кусочки почечной или мозговой ткани кролика, в анаэробных условиях при 35°C . Среди культивируемых трепонем встречаются как ферментирующие, так и не ферментирующие углеводы виды. Многие виды продуцируют индол.

При неблагоприятных условиях существования способны образовывать сферические формы (цисты).

Распространение в природе. Среди трепонем свободноживущие в природе формы не встречаются. Трепонемы обитают в ротовой полости, пищеварительном тракте и половых органах различных животных.

У человека в составе микрофлоры ротовой полости встречаются следующие виды трепонем: *T. denticola*, *T. macrodenticum*, *T. orale*, *T. vincentii*. Последний вид в ассоциации с фузобактериями участвует в развитии фузоспирохетоза — некротической ангины Венсана—Плаута.

В патологии человека имеют значение 2 вида — *T. pallidum*, разделенный на 3 подвида: *pallidum* (возбудитель сифилиса), *endemicum* (возбудитель эндемического сифилиса), *pertenue* (возбудитель фрамбезии) и *T. carateum* (возбудитель пинты).

16.8.1.1. Возбудитель сифилиса (*T. pallidum*)

Возбудитель сифилиса *T. pallidum* подвида *pallidum* был открыт в 1905 г. Ф. Шаудином и Э. Гоффманом.

Морфология. Представляет собой типичные по морфологии трепонемы размером $0,09 \div 0,5 \times 5 \div 20$ мкм, имеющие 8—12 завитков. Двигательный аппарат представлен идущими от каждого полюса клетки тремя периплазматическими фибриллами. Слабо воспринимает анилиновые красители. По Граму не окрашивается. По Романовскому—Гимзе окрашивается в бледно-розовый цвет. Выявляется при импрегнации серебром, а также с помощью фазово-контрастной и темнопольной микроскопии.

Культуральные свойства. Вирулентные штаммы на питательных средах не растут. Для накопления культуры заражают кролика в яйцо. Невирулентные штаммы можно культивировать на средах, содержащих мозговую и почечную ткань, в анаэробных условиях при 35°C .

Культивирование приводит к потере вирулентных и изменению антигенных свойств.

Биохимические свойства. Возбудитель сифилиса является микроаэрофилом. Биохимические свойства вследствие некультивируемости изучены плохо.

Антигенная структура. Обладает сложной антигенной структурой. Имеет специфический термолабильный белковый антиген и неспецифический липоидный антиген. Последний по своему составу идентичен кардиолипину, экстрагированному из бычьего сердца, представляющего по химической структуре дифосфатил глицерин.

Факторы патогенности. Изучены плохо. Считают, что в процессе прикрепления к клеткам принимают участие адгезины, синтез которых происходит, возможно, только при попадании возбудителя в организм человека. Липопroteины участвуют в развитии иммунопатологических процессов.

Резистентность. Чувствителен к высыханию, солнечным лучам, дезинфицирующим веществам, нагреванию. При нагревании до 55°C гибнет в течение 15 мин, при 100°C — мгновенно. На предметах домашнего обихода сохраняет заразительность до высыхания. При неблагоприятных условиях образует цисты и L-формы.

Эпидемиология. Сифилис является чисто антропонозной инфекцией. В естественных условиях болеет только человек. Заболевание

распространено повсеместно. Заражение происходит, как правило, контактно-половым, реже — контактно-бытовым и трансплацентарным путями. Возможно заражение кровью, собранной у инфицированных лиц на раннем этапе инфекции. Поэтому для разрушения возбудителя кровь консервируют при -3°C в течение 5 дней.

Патогенез и клиника

Сифилис — венерическая антропонозная инфекционная болезнь, характеризующаяся первичным аффектом, высыпанием на коже и слизистых оболочках с последующим поражением различных органов и систем.

Проникшие в организм трепонемы из места входных ворот попадают в регионарные лимфатические узлы, где размножаются. Из лимфатических узлов возбудитель попадает в кровяное русло, где прикрепляется к эндотелиальным клеткам, вызывая развитие эндартериитов, ведущих к развитию васкулитов и последующему тканевому некрозу. С кровью трепонемы разносятся по всему организму, обсеменяя различные органы и ткани: печень, почки, костную, нервную и сердечно-сосудистую системы.

Болезнь протекает в несколько циклов. Инкубационный период составляет 3–4 недели. *Первичный период* характеризуется появлением *твердого шанкра* (язвочки с твердыми краями на месте внедрения возбудителя — слизистых оболочках половых органов, рта, ануса), увеличением и воспалением лимфатических узлов. Первичный период длится 6–7 недель. Затем наступает *вторичный период*, который характеризуется появлением на коже и слизистых оболочках папулезных, везикулярных или пустулезных высыпаний, а также поражением печени, почек, костной, нервной и сердечно-сосудистой систем. В элементах сыпи содержится большое количество живых трепонем, в этот период больной наиболее заразен. Вторичный сифилис длится годами. Высыпания могут самопроизвольно исчезать, а при ослаблении защитных сил организма появляются вновь. Такие рецидивы могут повторяться несколько раз. После вторичного сифилиса, который длится 2–4

года, наступает *третичный период*, который длится десятилетиями и характеризуется образованием сифилитических бугорков (*гумм*). Гуммы являются результатом развития в организме иммунопатологического процесса, в ответ на сохранившиеся в организме трепонемы. Бугорки и гуммы склонны к распаду с последующими обширными деструктивными изменениями в пораженных органах и тканях. Без лечения может наступить *четвертичный период* — *спинная сухотка*, которая характеризуется развитием прогрессирующего паралича вследствие поражения ЦНС.

Иммунитет. Защитный иммунитет после перенесенной инфекции не формируется. В ответ на антигены возбудителя в организме образуются антитела, которые являются свидетелями инфекционного процесса; развивается ГЗТ и аутоиммунные процессы. Гуморальный иммунный ответ характеризуется первичным образованием неспецифических антител, называемых исторически «реагинами», на липоидный антиген возбудителя. Титр этих антител в процессе уменьшения в организме количества трепонем падает. Специфические антитела на белковый антиген появляются позже. Они длительно сохраняются независимо от присутствия трепонем в организме.

Микробиологическая диагностика. Используют бактериоскопический и серологический методы в зависимости от стадии заболевания. Бактериоскопическое исследование проводят при первичном сифилисе и в период высыпаний при вторичном сифилисе. Материалом для исследования служат отделяемое твердого шанкра, пунктаты лимфатических узлов, материал из кожных высыпаний.

Серологическое исследование проводится комплексом серологических реакций, среди которых различают отборочные неспецифические тесты, использующие кардиолипидный антиген и применяемые для обследования населения на сифилис, и диагностические тесты, использующие трепонемальный антиген и применяемые для подтверждения диагноза.

К отборочным тестам относится реакция микропреципитации или ее аналоги: VDRL (*veneral disease research laboratory* — англ.) и RPR (*rapid plasma reagin* — англ.) — флокку-

ляционные тесты и РПГА с кардиолипидным антигеном. Эти реакции бывают положительными на ранних этапах заболевания. Ранее ставилась РСК (реакция Вассермана) с кардиолипидным и трепонемным антигеном. Отборочные тесты с кардиолипидным антигеном в количественном варианте используют также для контроля эффективности лечения.

При постановке ИФА, РПГА, РИФ, РИТ (реакция иммобилизации трепонем) в качестве антигена используют ультразвуковой экстракт трепонем, выращенных в яичке кролика. Это высокочувствительные и высокоспецифичные реакции на сифилис. Они относятся к диагностически подтверждающим тестам. В связи с длительным сохранением специфических антител в организме эти реакции не могут быть использованы для оценки эффективности лечения. Кроме того, они будут положительны у больных фрамбезией и беджель.

Лечение. Для лечения используют антибиотики пенициллинового ряда и висмутосодержащие препараты.

Профилактика. Специфическая профилактика не проводится. Не специфическая профилактика сводится к борьбе за здоровый образ жизни, своевременному выявлению и лечению больных, серологическому исследованию, проводимому у доноров, беременных, больных в стационарах, у лиц групп риска (наркоманы, проститутки, гомосексуалисты).

16.8.1.2. Другие патогенные трепонемы и вызываемые ими заболевания

T. pallidum подвид *endemicum* является возбудителем эндемического сифилиса, именуемого как беджель. Заболевание распространено на Среднем Востоке, в Африке и Юго-Восточной Азии. Болезнь характеризуется появлением сыпи на коже и слизистых оболочках с последующими поражениями, напоминающими гуммы при сифилисе. Путь передачи — контактно-бытовой.

T. pallidum подвид *pertenue* — возбудитель фрамбезии. Болезнь встречается в тропических районах обоих полушарий земного шара. Передается контактно-половым путем и через предметы обихода. Носит характер семейных вспышек. Характеризуется появлением в месте входных ворот болезненной яз-

вочки с последующими кожными высыпаниями, переходящими в дистрофические процессы на коже и в костях.

T. carateum — возбудитель пинты. Заболевание встречается у лиц с темным цветом кожи в тропических районах западного полушария. Передается контактным путем и через насекомых (мошек). На месте входных ворот образуется папула, затем происходит генерализация процесса, сопровождающаяся появлением различного цвета пятен на коже, гиперкератоза подошв и ладоней, выпадением волос.

Диагностика. Проводится теми же методами, что и при сифилисе.

Лечение. Антибиотиками пенициллинового ряда.

16.8.2. Боррелии (род *Borrelia*)

Спирохеты рода *Borrelia* вызывают как антропонозные (возвратный тиф), так и зоонозные (болезни Лайма) инфекционные болезни с трансмиссивным механизмом передачи возбудителей (клещи, вши). Род *Borrelia* включает более 20 видов, большинство из которых непатогенно для человека.

Боррелии представляют собой тонкие спирохеты размером $0,3 \div 0,6 \times 2 \div 20$ мкм, с 3–10 крупными завитками. Двигательный аппарат представлен 15–20 фибриллами. Они хорошо воспринимают анилиновые красители, по Романовскому—Гимзе окрашиваются в синефиолетовый цвет. Боррелии обладают уникальным, не имеющим аналогов среди других бактерий генетическим аппаратом, который состоит из небольших размеров линейной хромосомы и набора циркулярных плазмид. Боррелии могут культивироваться на сложных питательных средах, содержащих сыворотку, асцит, тканевые экстракты, при температуре 28–35 °С в атмосфере с 5–10 % CO₂, а также в куриных эмбрионах при заражении в желточный мешок.

Чувствительны к высушиванию и нагреванию. При действии температуры 45–48 °С гибнут в течение 30 мин. Устойчивы к низким температурам и замораживанию.

16.8.2.1. Возбудители болезни Лайма (*B. burgdorferi*, *B. garini*, *B. afzelii*)

Возбудителем болезни Лайма в Северной Америке является вид *B. burgdorferi*, который впервые был открыт в 1975 г. при обследо-

вании детей, больных артритами, в городке Лайма (Lyme) в США, а в 1982 г. выделен из иксодового клеща У. Бургдорфером.

На Евро-Азиатском континенте возбудителями этого заболевания являются *B. garini* и *B. afzelii*. Эти виды различаются между собой по антигенной структуре.

Морфология и культуральные свойства. Возбудители болезни Лайма представляют типичные по морфологическим и тинкториальным свойствам боррелии, которые хорошо культивируются на питательных средах при выделении из клещей. Выделить возбудитель из материала от больного (крови, ликвора) удается редко.

Антигенная структура. Возбудители болезни Лайма обладают сложной антигенной структурой. Они имеют *белковые антигены фибриллярного аппарата (p41) и цитоплазматического цилиндра (p93)*, антитела к которым появляются на ранних этапах инфекции, но не обладают защитными свойствами. Протективную активность имеют антигены, представленные липидмодифицированными *интегральными белками наружной мембраны*, обозначаемые как *osp (outer surface protein — англ.) A, B, C, D, E, F*, детерминация синтеза которых осуществляется группой плазмид. *OspA-антиген* обладает антигенной вариабельностью, подразделяясь на 7 сероваров, и является видоспецифическим.

Антигенный состав подвержен вариациям в процессе жизненного цикла боррелий. При их культивировании на питательных средах и нахождении в организме человека на поздних стадиях заболевания у боррелий преобладает антиген *ospA*, тогда как при пребывании в клеще и в организме человека на ранних этапах заболевания у них преобладает антиген *ospC*.

Факторы патогенности. Липидмодифицированные белки наружной мембраны обеспечивают способность боррелий прикрепляться и проникать в клетки хозяина. В результате взаимодействия боррелий с макрофагами происходит выделение ИЛ-1, который индуцирует воспалительный процесс. *Osp A-протеин* принимает участие в развитии иммунопатологических реакций, приводящих к развитию артритов. В этом процессе участвует также бе-

лок теплового шока, который начинает синтезироваться бактериями при температуре 37 °С и который по своей структуре и молекулярной массе идентичен таковому человека.

Распространение в природе и эпидемиология. Резервуаром возбудителей в природе являются мелкие млекопитающие, главным образом лесные белоплечатые мыши. Заболевание передается человеку через укусы клещей рода *Ixodes* и распространено в ареале обитания этих клещей на территориях Северной Америки, Австралии, Евразии, в том числе в России, преимущественно в летний период. Естественная восприимчивость людей высокая. От человека человеку заболевание не передается.

Патогенез и клиника заболевания

Болезнь Лайма (син. хроническая мигрирующая эритема, клещевой иксодовый боррелиоз) является хронической инфекцией, с поражением кожи, сердечной и нервной систем, суставов. Впервые заболевание было описано в 1909 г. Афзелиусом (Afzelius).

Инкубационный период длится от 3 до 32 дней с момента укуса клещами. На месте укуса образуется красная папула, появление которой совпадает с началом заболевания.

Патогенез связан с распространением возбудителя из места укуса через окружающую кожу с последующей диссеминацией с током крови к различным органам, особенно сердцу, ЦНС, суставам. Заболевание сопровождается развитием аутоиммунных и иммунопатологических процессов. Клиника подразделяется на 3 стадии:

1. Мигрирующая эритема, которая сопровождается развитием гриппоподобного симптомокомплекса, лимфаденита и появлением в месте укуса клеща кольцевидной эритемы, которая быстро увеличивается в размерах.

2. Развитие доброкачественных поражений сердца и ЦНС в виде миокардита и асептического менингита, которые наступают на 4–5-й неделе заболевания и протекают в течение одного или нескольких месяцев.

3. Развитие артритов крупных суставов через 6 недель и более от начала заболевания.

Заболевание протекает доброкачественно. Прогноз благоприятный.

Иммунитет. Гуморальный, видоспецифический к антигенам клеточной стенки боррелий.

Микробиологическая диагностика. Используются бактериоскопический, серологический методы и ПЦР в зависимости от стадии заболевания. Материалом для исследования служат биоптаты кожи, синовиальная жидкость суставов, ликвор, сыворотка крови. На 1-й стадии заболевания проводится бактериоскопическое исследование биоптатов кожи из эритемы.

Начиная со 2-й стадии заболевания осуществляется серологическое исследование определением IgM или нарастания титра IgG ИФА или РИФ.

ПЦР используется для определения наличия боррелий в ликворе, суставной жидкости.

Лечение. Этиотропная антибиотикотерапия — фторхинолонами, антибиотиками тетрациклинового ряда.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Не специфическая профилактика сводится к использованию защитной одежды и борьбе с клещами.

16.8.2.2. Возбудители возвратных тифов (*B. recurrentis*, *B. duttoni*, *B. persica*)

Возвратные тифы — группа острых инфекционных заболеваний, вызываемых боррелиями, характеризующихся острым началом, приступообразной лихорадкой, общей интоксикацией. Различают эпидемический и эндемический возвратные тифы.

Возбудителем эпидемического возвратного тифа является *B. recurrentis*, впервые описанная в 1868 г. О. Обермейером.

Эпидемический возвратный тиф является антропонозной инфекцией. Единственным источником возбудителя служит лихорадящий больной, в периферической крови которого находятся боррелии. Специфическими переносчиками боррелий являются платяная, головная и, в меньшей степени, лобковые вши, которые становятся наиболее заразными с 6-го по 28-й день после инфицирующего кровососания. Человек заражается возвратным тифом при втирании гемолимфы раздавленных вшей в кожу при расчесывания места

укуса. Заболевание встречается во время социальных бедствий, войн. На территории РФ в настоящее время не регистрируется.

Эндемический возвратный тиф (син. клещевой возвратный тиф, аргасовый клещевой боррелиоз) — зоонозное природно-очаговое заболевание, спорадически встречающееся в отдельных субтропических, тропических географических зонах. Возбудителями эндемического возвратного тифа являются более 20 видов боррелий, среди которых наиболее часто вызывают заболевание африканская *B. duttoni* и азиатская *B. persica*. Резервуаром в природе являются грызуны, а также аргасовые клещи, у которых микроб передается трансовариально. Человек заражается через укусы клещей рода *Ornithodoros*.

Возбудителей эпидемического и эндемического возвратных тифов дифференцируют в биологической пробе.

Патогенез и клиника. Инкубационный период в среднем 7–8 суток. Патогенез и клинические проявления обоих типов возвратных тифов схожи. Попав во внутреннюю среду организма, боррелии внедряются в клетки лимфоидно-макрофагальной системы, где размножаются и поступают в большом количестве в кровь, вызывая лихорадку (повышение температуры тела до 39–40 °С), головную боль, озноб. Каждая такая атака заканчивается подъемом титра антител. Взаимодействуя с ними, боррелии образуют агрегаты, которые нагружаются тромбоцитами, вызывая закупорку капилляров, следствием чего является нарушение кровообращения в органах. Большая часть боррелий погибает под влиянием антител. Однако в течение инфекции антигены этих боррелий подвергаются вариации. Это связано с наличием большого набора (несколько десятков) белковых антигенов, синтез которых кодируется разными генами, часть которых периодически находится в неактивной, «молчащей» форме. В результате перегруппировок в хромосоме происходит активация «молчащего» гена и появление нового антигенного варианта. А так как антитела вырабатываются против одного антигена, то новые антигенные варианты боррелий неожиданно появляются и вызывают рецидив заболевания. Это может повторяться от 3 до

20 раз. Прогноз эндемического возвратного тифа благоприятный. Летальность при эпидемическом возвратном тифе — не более 1 %.

Иммунитет. Иммунитет к эпидемическому возвратному тифу гуморальный, непродолжительный. В эндемических очагах коренное население к возбудителю эндемического возвратного тифа, циркулирующему в очаге, располагает иммунитетом.

Микробиологическая диагностика. Используют бактериоскопический метод — обнаружение возбудителя в толстой капле крови, взятой на высоте лихорадочной реакции, окрашенной по Романовскому—Гимзе. Также используют дополнительные бактериоскопические исследования: микроскопия в темном поле «висячей капли» крови и негативный метод Бурри, состоящий в просмотре исследуемой капли крови, смешанной с тушью, серебрение боррелий в мазках крови или мазках-отпечатках из органов. Биопробу ставят для дифференциации *B. recurrentis* от возбудителей эндемического возвратного тифа: морские свинки легко заражаются возбудителями клещевого возвратного тифа, а белые мыши и крысы — *B. recurrentis*. В качестве вспомогательного используют серологический метод с постановкой РСК.

Лечение. Применяют антибиотики тетрациклинового ряда, левомицетин, ампициллин.

Профилактика. Специфическая профилактика не проводится. Не специфическая профилактика сводится к борьбе с завшивленностью населения, в эндемических очагах — с клещами и грызунами.

16.8.3. Лептоспиры (род *Leptospira*)

Лептоспиры являются возбудителями зоонозной бактериальной инфекции, характеризующейся волнообразной лихорадкой, интоксикацией, поражением капилляров печени, почек, ЦНС.

Возбудитель *L. interrogans* относится к семейству *Leptospiraceae*, род *Leptospira* и включает более 200 сероваров.

Морфология. Лептоспиры представляют собой тонкие спирохеты размером $0,07-0,15 \times 6-24$ мкм, с изогнутыми концами.

Двигательный аппарат представлен идущими от каждого полюса клетки по одной фибрилле. Число завитков 20—40. Слабо окрашиваются анилиновыми красителями, поэтому трудно различимы на препаратах, окрашенных по Граму и Романовскому—Гимзе. Легко различимы при микроскопии в темном поле и фазово-контрасте. Цист не образуют.

Культуральные и биохимические свойства. Аэробы. Источником углерода и энергии служат липиды (жирные кислоты и жирные спирты с 15 или более атомами углерода). Каталаза и оксидаза положительные. Культивируются на питательных средах, содержащих сыворотку или сывороточный альбумин, при температуре 28—30 °С. Особенность роста на жидкой питательной среде — отсутствие помутнения. Делятся поперечным делением. Растут медленно. Цист не образуют.

Антигенная структура. Имеют сложную антигенную структуру. Содержат общеродовой антиген белковой природы, выявляемый в РСК, а также вариантоспецифический поверхностный антиген липополисахаридной природы, выявляемый в реакции агглютинации. Таксономическим критерием для лептоспир служит антигенный состав. *Основным таксоном является серовар.* Серовары объединены в серогруппы (насчитывается более 25 серогрупп).

Распространение в природе. Лептоспиры широко распространены в природе. Среди них встречаются свободноживущие в почве и водоемах виды. Патогенным для человека и животных является вид *L. interrogans*, вызывающий *лептоспироз*.

Резистентность. *L. interrogans* чувствительна к высушиванию, нагреванию, низким значениям pH, дезинфицирующим веществам. При нагревании до 56 °С погибает в течение 25—30 мин. Кипячение убивает микроб мгновенно. В водоемах сохраняется до 30 дней, во влажных и щелочных почвах — до 280 дней, на пищевых продуктах — 1—2 суток.

Эпидемиология. Лептоспироз относится к природно-очаговому зоонозу, с преимущественно фекально-оральным механизмом передачи возбудителя. Основным резервуаром и источником инфекции служат домовые и полевые грызуны, дополнительными — до-

машинные животные (крупный рогатый скот, свиньи, собаки). У диких животных инфекция имеет хроническое течение без клинических проявлений, при этом возбудитель выделяется с мочой, загрязняя водоемы и почву. Каждый из сероваров циркулирует в популяции определенного вида животного и является самостоятельным возбудителем заболевания. Восприимчивость людей к лептоспирозу высокая, но больной человек, хотя и выделяет лептоспиры в окружающую среду, не имеет практического значения в распространении заболевания. Основные пути передачи: водный, алиментарный, контактный. Заболевание чаще регистрируется в летне-осенний период.

Факторы патогенности. Некоторые серовары *L. interrogans* характеризуются гемолитической и липазной активностью, продуцируют плазмокоагулазу, фибринолизин, цитотоксины.

Патогенез и клиника заболевания. Лептоспироз — острая инфекционная болезнь, которая вызывается различными сероварами *L. interrogans*.

Инкубационный период составляет 7–10 дней. Входные ворота — слизистые оболочки пищеварительного тракта, поврежденная кожа. Проникнув в организм, микроб с кровью разносится к органам ретикулоэндотелиальной системы (печень, почки), где размножается и вторично поступает в кровь, что совпадает с началом болезни.

Возбудитель поражает капилляры печени, почек, ЦНС, что приводит к развитию геморрагий в этих органах. Болезнь протекает остро, с явлениями волнообразной лихорадки, интоксикации, с желтухой, развитием почечной недостаточности, асептического менингита. Летальность колеблется от 3 до 25–40 %.

Иммунитет. Перенесенная болезнь оставляет стойкий, преимущественно гуморальный, серовароспецифический иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат кровь, спинномозговая жидкость, моча, сыворотка крови в зависимости от стадии заболевания. Для диагностики используют бактериоскопический (обнаружение лептоспир в темнопольном микроскопе), бактериологический и серологические методы (РА, РСК), а также применяют ПЦР. Биопробу на кроликах-сосунках.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика проводится вакцинацией по эпидемическим показаниям убитой нагреванием, корпускулярной вакциной, содержащей 4 основных серогруппы возбудителя. Для лечения используют антибиотики (пенициллин, тетрациклин) в сочетании с лептоспирозным гетерологичным иммуноглобулином, получаемым из крови иммунизированных волов. Неспецифическая профилактика сводится к борьбе с грызунами, вакцинации сельскохозяйственных животных, проведению зооветеринарных мероприятий, соблюдению личной гигиены.

16.8.4. Кампилобактерии (род *Campylobacter*)

Относится к возбудителям зоонозных бактериальных инфекций с фекально-оральным механизмом передачи и преимущественным поражением пищеварительного тракта.

Таксономия. Род *Campylobacter* (от греч. *campylos* — кривой, изогнутый). Известно более 10 видов возбудителя, из них наибольшее значение в патологии человека имеют *C. jejuni*, *C. fetus*, *C. coli*.

Морфология, антигенные и культуральные свойства. Кампилобактеры — грамтрицательные извитые бактерии длиной 0,5–5 мкм и толщиной 0,2–0,5 мкм, имеющие характерную форму запятой или S-образную. В мазках из патологического материала часто располагаются попарно в виде «летающей чайки». При старении культуры переходят в кокковидную форму. Подвижные, имеют один концевой жгутик. Капсулы и споры не образуют.

Микроаэро- и капнофилы. Растут на сложных питательных средах с добавлением крови, гема, гидролизата белков, аминокислот, ростовых факторов и солей. Для подавления роста посторонней флоры в питательную среду добавляют антибиотики. Метаболизм дыхательного типа. Источником питания служат органические кислоты, в том числе аминокислоты. Сахара не сбраживают. Биохимические и ферментативные свойства выражены слабо. Проявляют оксидазную и каталазную активность, восстанавливают нитраты, образуют H_2S . Кампилобактерии различаются по температуре культивирования: 37, 42 и, реже, 25 °С. Оптимальный для роста pH — 7,0

Имеют О- и Н-антигены, по которым подразделяются на 60 сероваров. Обладают плазмидами, с которыми связана антибиотикоустойчивость.

Факторы патогенности. Эндотоксин, связанный с ЛПС, а также продукция некоторыми штаммами холероподобного энтеротоксина и цитотоксина.

Резистентность. Невысокая. Чувствительны к факторам внешней среды, физическим и химическим факторам, в том числе к нагреванию и дезинфектантам. Устойчивы к целому ряду антибиотиков, но чувствительны к эритромицину и ципрофлоксацину.

Эпидемиология. Зооантропоноз. Важнейший источник инфекции — сельскохозяйственные животные и домашние птицы, редко человек. Кампилобактериоз распространен повсеместно и составляет 5–14 % всех диарейных заболеваний. Естественная восприимчивость людей высокая. Механизм передачи — фекально-оральный, пути передачи — пищевой, водный, контактно-бытовой или половой. Случаи заболевания регистрируются в течение всего года, чаще в летне-осенние месяцы.

Патогенез, клиника, диагностика. У человека кампилобактерии вызывают 4 группы заболеваний: диареи (энтероколиты), генерализованные (сепсис); локальные внекишечные (менингиты, энцефалиты, эндокардиты) инфекции; ГВЗ новорожденных; заболевания ротовой полости. Гастроэнтерит возникает в результате действия энтеро- и цитотоксина, выделяемых некоторыми штаммами бактерий, размножающихся в ЖКТ. Инкубационный период составляет, как правило, 2–3 дня. Болезнь начинается остро, с диспептических расстройств (диарея, рвота), интоксикации, повышения температуры; длится до 10 суток.

Микробиологическая диагностика. Основана на выделении чистой культуры возбудителя из испражнений, рвотных масс, промывных вод из желудка посевом на кровяной или эритроцитный агар с железно-сульфитно-пируватными добавками. Для видовой дифференцировки культивируют при различных температурных режимах.

В мазках из фекалий определяют типичные по форме микробы в виде «летающей ласточки».

Для серологической диагностики используют РИФ, РА, РПГА, РСК. Экспресс-диагнос-

тика — постановка РИФ со специфическими люминесцентными сыворотками.

Лечение. Антибиотиками (эритромицин или ципрофлоксацин).

Специфическая профилактика. Не разработана. Проводятся противо-эпидемические мероприятия как при сальмонеллезах.

16.8.5. Хеликобактерии (род *Helicobacter*)

Относится к УПМ, способным вызвать хроническое поражение слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки: стойкое воспаление с образованием язв и опухолей (редко). Возбудитель впервые был обнаружен Г. Бизозеро (1893) в слизистой желудка человека и животных. Внешне сходен с бактериями рода *Campilobacter*, поэтому первоначально был назван *CLO* (от англ. *Campilobacter-like organisms* — кампилобактероподобные микроорганизмы).

Таксономия. Род *Helicobacter* (от греч. *helios* — солнце). В настоящее время описано 8 видов хеликобактерий. Наибольшее значение в патологии человека имеет и лучше других видов изучен *H. pylori*.

Морфологические, культуральные и биохимические свойства. Хеликобактерии — мелкие неспорообразующие грамтрицательные бактерии изогнутой, S-образной или слегка спиральной формы. В мазках из патологического материала располагаются попарно, образуя форму «летающей ласточки». При неблагоприятных условиях *H. pylori* способен изменять свою морфологию и превращаться в кокковидную форму. Микроб подвижный — на одном из полюсов имеет от 1 до 6 жгутиков.

Микроаэрофил. Оптимальная температура роста 37 °С. Требователен к питательным средам, не способен утилизировать высокомолекулярные соединения. Растет на сложных питательных средах с добавлением лошадиной или эмбриональной телячьей сыворотки, растворимого крахмала, активированного угля, низкомолекулярного гидролизата белков и антибиотиков для подавления роста посторонней флоры.

Бактерии продуцируют высокоактивный фермент уреазу (важнейший родовой признак), алкогольдегидрогеназу, липазы (в том числе фосфолипазу А), оксидазу, каталазу и другие ферменты. Сахара не сбраживают.

Содержит множество неконъюгативных плазмид, профагов и различных мигрирующих генетических элементов. Отличается высокой рекомбинативной и мутационной изменчивостью.

Факторы патогенности и антигены. Хеликобактерии обладают широким набором факторов патогенности, которые обеспечивают выживание возбудителя в кислой среде и колонизацию слизистой желудка. Это — ферменты агрессии (уреаза, фосфолипаза А, протеазы), многочисленные адгезины, которые осуществляют прикрепление микроорганизма к тканям, а также эндотоксин. Важнейшим фактором патогенности считают секретлируемый цитотоксин белковой природы, ответственный за вакуолизацию и повреждение клеток эпителия желудка.

Хеликобактерии обладают широким набором видовых антигенов. Штаммоспецифичных и протективных антигенов не имеют.

Резистентность. Невысокая. Чувствительны к факторам внешней среды, физическим и химическим факторам (нагреванию и дезинфектантам). Устойчивы к целому ряду антибиотиков.

Эпидемиология. Антропоноз или зооантропоноз. Источником инфекции может быть инфицированный человек или домашние животные, например кошки, или обезьяны. Механизм передачи — фекально-оральный, наиболее вероятные факторы передачи — вода и пища. Возможно заражение контактно-бытовым путем, а также через контаминированные медицинские инструменты (при эзофагогастродуоденоскопии и других видах инструментального исследования желудка и двенадцатиперстной кишки).

В настоящее время установлено, что *H. pylori* является этиологическим фактором более чем половины всех гастритов; микроб обнаруживают более чем у 95 % больных, страдающих язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, у 70–80 % лиц с язвенной болезнью желудка и в 60–70 % случаев при раке желудка.

Патогенез и клиника. Хеликобактерии вызывают интенсивную воспалительную реакцию в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки с нарушением целостности эпителиального слоя и образованием микро-

абсцессов. Интенсивность патоморфологических проявлений и тяжесть клинического течения хронического гастрита коррелируют с массивностью обсеменения тканей возбудителем.

Клинические проявления хеликобактериоза разнообразны. Можно выделить несколько типичных форм заболевания: хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, аденокарцинома и лимфома желудка. Однажды приобретенная хеликобактерная инфекция персистирует в течение жизни, но лишь только в ряде случаев заболевание приобретает манифестную форму.

Иммунитет. У инфицированных хеликобактериями пациентов в сыворотке крови появляются специфические антитела классов М, G и А. После лечения, через несколько недель, титры специфических антител снижаются.

Микробиологическая диагностика. Проводят микроскопию и бактериологические исследования (выделение чистой культуры и ее идентификация) биопсий, взятых при эндоскопии желудка и двенадцатиперстной кишки, а также определяют специфические антитела в сыворотке крови. Быструю индикацию проводят по наличию в слизистой желудка или двенадцатиперстной кишки высокоактивной уреазы (необходимо дифференцировать с протеом!).

Лечение. Антибиотиками (метронидазол, кларитромицин и др.) и солями висмута по определенной схеме.

Специфическая профилактика. Не разработана.

16.8.6. Спириллы (род *Spirillum*)

Широкая группа извитых бактерий, составляющих анаэробную сапрофитную или условно-патогенную нормофлору тела человека.

Таксономия. Род *Spirillum*. Типичный представитель — *Spirillum minor*. Вызывает крысиную лихорадку «содоку».

Морфологические, культуральные и биохимические свойства. Очень мелкие, грамнегативные, извитые бактерии. На питательных средах не культивируются. Биологические свойства изучены плохо.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Природный резервуар — организм крыс. Передается человеку при

кусе грызуна. Болезнь характеризуется локальным воспалением, сыпью, лимфаденитом, волнообразной лихорадкой (по типу возвратного тифа).

Диагностика. Проводят микроскопическим изучением пораженных лимфоузлов или биологическим методом — путем заражения морских свинок или мышей.

Лечение. Антибиотиками.

Специфическая профилактика. Не разработана.

16.9. Риккетсии (семейство *Rickettsiaceae*)

Семейство *Rickettsiaceae* объединяет группу грамотрицательных бактерий, облигатных внутриклеточных паразитов, поражающих человека, теплокровных животных, птиц и членистоногих. Семейство *Rickettsiaceae* и семейство *Anaplasmataceae* входят в порядок *Rickettsiales* класса *Alphaproteobacteria*.

Экология и эпидемиология заболеваний человека и животных обусловлены широким кругом переносчиков (клещи, вши человека и белок, блохи крыс и кошек и др.). Болезни, вызываемые риккетсиями, называют риккетсиозами. Основоположниками учения о риккетсиях и риккетсиозах являются американский врач Г.Т. Риккетс, чешский врач-микробиолог С. Провачек и бразильский исследователь Роха Лима. С. Провачек и Г.Т. Риккетс погибли от сыпного тифа. В честь этих ученых Роха Лима предложил назвать возбудителей всего семейства риккетсиями, возбудителя пятнистой лихорадки Скалистых гор — *Rickettsia rickettsii*, а возбудителя сыпного тифа — *Rickettsia prowazekii*.

Таксономия риккетсий. Основывается на сравнении фенотипических, в том числе антигенных характеристик, клинико-эпидемиологических особенностях болезней, а также молекулярно-генетических данных, присущих отдельным представителям риккетсий. До недавнего времени семейство риккетсий включало роды *Rickettsia*, *Orientia*, *Ehrlichia* и *Coxiella*. По современной классификации (Е. П. Лукин, А. А. Воробьев, А. С. Быков, 2001—2006), семейство *Rickettsiaceae* относится к классу *Alphaproteobacteria* (альфа-1 протеобактерии) и включает два рода: *Rickettsia* и *Orientia*. Другое семейство — *Anaplasmataceae* включает роды *Ehrlichia*, *Anaplasma* и *Neorickettsia*. Род *Coxiella* исключен из семейства *Rickettsiaceae* и отнесен к гамма-протеобактериям (близкое родство к легионеллам).

К альфа-2 протеобактериям отнесено семейство *Bartonellaceae* — возбудители барто-

неллеза, являющиеся также внутриклеточными паразитами.

Риккетсии и близкородственные к ним бактерии, патогенные для человека

К настоящему времени известно 10 патогенных для человека риккетсий, 3 вида эрлихий, 5 видов бартонелл и 1 вид кокциелл. Заболевания, вызываемые группой родственных бактерий, соответственно называют «риккетсиозами», «эрлихиозами», «бартонеллезами», «кокциеллезами».

Сохранилось клинико-эпидемиологическое деление риккетсий по связи с переносчиком (табл. 16.35). Выделена группа болезней, передающихся вшами и блохами (сыпной и крысиный тиф), клещами (группа клещевых лихорадок, эрлихиозы, ориенции).

Морфологические и тинкториальные свойства. Риккетсии представляют собой мелкие короткие палочки размером $0,2 \div 0,5 \times 0,8 \div 2$ мкм, могут иметь кокковидную или нитевидную (до 40 мкм) форму. Размножаются бинарным делением. Грамотрицательные. Для риккетсий характерны мощный слизистый и микрокапсулярный слой. У всех морфологических форм риккетсий выражены трехслойная клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, внутриплазматические включения и вакуоли. Поверхностный слой клеточной стенки имеет дискретную глобулярную структуру, представленную протеинами с молекулярной массой от 17 до 190 кДа. У ориенций цитоплазма отсутствуют некоторые составные компоненты пептидогликана и ЛПС (мурамовая кислота, глюкозамин и окисленные жирные кислоты).

Риккетсии неподвижны, имеют фимбрии и пили. Последним приписывают функции конъюгационного канала, участвующего в передаче генетической информации.

Риккетсии не окрашиваются обычными бактериальными красителями, но окрашиваются по Романовскому—Гимзе и по Здродовскому. При окраске по Романовскому—Гимзе корпускулы риккетсий имеют голубовато-пурпурный цвет и расположены в протоплазме клеток. При окраске по Здродовскому ярко-красные корпускулы расположены на голубом фоне, а при окраске по Гименесу — на зеленом фоне. Все риккетсии могут быть выявлены методом серебрения.

Таблица 16.35. Распространение риккетсий

| Представители | Болезни людей | Резервуар | Переносчик |
|---|--|------------------------------|----------------------|
| Группа сыпного тифа | | | |
| <i>Rickettsia prowazekii</i> | Эпидемический сыпной тиф (вшивый) | Человек | Платяные вши |
| <i>Rickettsia typhi</i> | Эндемический (блошинный) сыпной тиф | Крысы, мыши | Блохи |
| <i>Rickettsia felis</i> | Калифорнийский крысиный тиф (син. тиф кошачьих блох) | Опоссумы | Блохи |
| Группа пятнистых лихорадок (клещевых риккетсиозов) | | | |
| <i>Rickettsia rickettsii</i> | Пятнистая лихорадка Скалистых гор | Грызуны | Клещи |
| <i>Rickettsia conorii</i> | Марсельская (средиземноморская, в том числе астраханская, лихорадка) | Клещи, грызуны, собаки | Клещи |
| <i>Rickettsia australis</i> | Квинслендская клещевая лихорадка | Клещи, грызуны | Клещи |
| <i>Rickettsia akari</i> | Осповидный риккетсиоз | Грызуны | Клещи |
| <i>Rickettsia sibirica</i> | Североазиатский клещевой риккетсиоз | Суслики, хомяки, мыши, клещи | Клещи |
| <i>Rickettsia japonica</i> | Японская (восточная) лихорадка | Клещи | Клещи |
| <i>Rickettsia honei</i> | Лихорадка острова Флиндерс | Грызуны, клещи | Клещи |
| Группа Orientia | | | |
| <i>Orientia tsutsugamushi</i> | Лихорадка цуцугамуши | Мышевидные грызуны | Краснотелковые клещи |
| Группа Anaplasma, Neorickettsia и Ehrlichia | | | |
| <i>Ehrlichia chaffeensis</i> , <i>Ehrlichia muris</i> | Моноцитарный эрлихиоз | Олени, собаки, грызуны | Клещи |
| <i>Neorickettsia sennetsu</i> | Неориккетсиоз (инфекционный мононуклеоз) | Возможно, моллюски, рыба | Неизвестно |
| <i>Anaplasma phagocytophilum</i> | Гранулоцитарный анаплазмоз (эрлихиоз) | Клещи, грызуны, лошади | Клещи |

Культуральные и биохимические свойства. Риккетсии не растут на искусственных бактериальных средах. Для их культивирования используют развивающиеся куриные эмбрионы, культуры клеток, членистоногих переносчиков или чувствительных животных.

Риккетсии группы сыпного тифа так же, как и коксииеллы, хорошо растут в 7-суточных РКЭ при 36,5 °С, а возбудители клещевых риккетсиозов и ориенции — в 4–5-суточных РКЭ и 32–34 °С при заражении РКЭ в желточный мешок.

Для культивирования риккетсий в культурах клеток используют культуры фибробластов белых мышей, почек сирийских хомячков, макрофагов крови собак (ДН 82), почек зеленых маргтышек, а также клеток эндотелия пупочной вены человека и животных.

Культивирование возбудителей риккетсиозов в организме членистоногих (платяные вши человека, блохи крыс, иксодовые клещи) сохранило значение для исследовательских целей.

К риккетсиям чувствительны многие виды лабораторных животных: белые мыши,

крысы, морские свинки, кролики, собаки, некоторые виды обезьян. Поэтому их широко используют в риккетсиологии для исследовательских и практических целей (например, накопление риккетсий Провачека в легких белых мышей при интраназальном инфицировании; культивирование риккетсий во вшах при заражении последних в процессе питания на инфицированных кроликах или на искусственных мембранах, под которыми находится суспензия риккетсий).

В процессе культивирования риккетсии свои энергетические потребности удовлетворяют в основном за счет глутамата, что обеспечивает синтез АТФ, играющего ключевую роль в цикле Кребса. Дополнительно в энергетическом балансе используются глутамин, смесь альфа-кетоглutarовой и аспарагиновой и других органических кислот.

Риккетсии Провачека и Риккетса обладают собственной фосфолипидом А₂, играющей ключевую роль в процессе инфицирования клеток. Предполагается, что риккетсии получают из инфицированной клетки достаточный баланс метаболических посредников и определенное количество энергии. В отличие от хламидий, т.е. также облигатных внутриклеточных паразитов, они независимы от энергетического обмена клетки-мишени или от ее макромолекулярного синтеза, подобно вирусам.

Риккетсии после проникновения в клетку размножаются в ее протоплазме или ядре, накапливаясь в течение нескольких суток до 10^8 – 10^9 инфицирующих доз, в результате чего клетка гибнет, а высвободившиеся микробы поражают здоровые клетки.

Устойчивость риккетсий. Риккетсии относительно малоустойчивы к воздействию внешних факторов (температура, влажность, ультрафиолетовое и другие виды излучений), а также к дезинфектантам. Однако могут длительно сохраняться в высушенном состоянии, а также переживать в организме переносчиков (клещи, вши). *R. prowazekii* могут сохраняться в фекалиях вшей до 10 лет.

Антигенность риккетсий. Антигенность риккетсий обусловлена гликопротеинами и ЛПС, входящими в состав клеточной стенки. При этом спектр антигенных детерминант между отдельными представителями риккетсий

настолько близок, что их нельзя идентифицировать с помощью поликлональных антител. Например, группа риккетсий пятнистых лихорадок объединяет 22 серотипа, обладающих общими антигенными свойствами. ЛПС некоторых риккетсий (например, Провачека) имеют общие антигены с протеем. Поэтому для дифференциации риккетсий используют моноклональные антитела.

Факторы патогенности. Патогенез и клиника. Факторами патогенности у риккетсий служат фимбрии и пили, ЛПС клеточной стенки, некоторые поверхностные белки, фосфолипаза А₂; экзотоксин риккетсии не образуют.

С помощью пилей или крупных протеинов внешней оболочки риккетсии прикрепляются к клетке-мишени (эндотелию, эритроциту, макрофагу и др.), затем с помощью собственной фосфолипазы действуют на липиды внешней мембраны клетки и разрушают ее. Освобождающаяся при этом арахидоновая кислота конвертирует в физиологически активные соединения (простагландины и лейкотриены), которые изменяют проницаемость и тонус сосудов. Риккетсии же через дефекты в клеточной стенке уже через несколько минут проникают внутрь клетки, где формируется пузырь-фагосома, с находящимися в нем риккетсиями. В результате нескольких циклов деления (один цикл — 8–14 ч) в течение 72–96 ч, после заражения возникает популяция возбудителя численностью до 1000 бактерий в одной пораженной клетке. Переполненная риккетсиями вакуоль «лопается» подобно грибу-дождевику, риккетсии выходят за пределы клетки, попадают в лимфу, кровь и распространяются по всему организму, поражая новые клетки-мишени.

Возможен также выход риккетсий из клетки путем «почкования», при котором риккетсии «одеваются» в клеточную оболочку «хозяина».

Процесс поражения клеток риккетсиями и степень генерализации процесса определяются видовой принадлежностью риккетсий и рядом других условий, в том числе величиной инфицирующей дозы. Так, установлено, что инфицирование наиболее вероятно, если на одну клетку-мишень приходится не менее 10 риккетсионных клеток.

Процесс и механизм поражения отдельных видов клеток-мишеней разнообразен. Описан-

ный выше процесс характерен для поражения риккетсиями эндотелия сосудов. В эритроцитах же, напротив, риккетсии не размножаются, так как они, попав в эритроцит, не успевают закончить цикл размножения из-за лизиса эритроцита.

Коксиеллы 1-й фазы, вследствие наличия у них липополисахаридной капсулы, устойчивы к действию ферментов в фаголизосомах клетки-мишени и могут годами персистировать в организме больных Ку-лихорадкой. Для риккетсий, так же как и для коксиелл, характерна персистенция, т. е. длительное переживание в организме, не вызывая патологического процесса, что обусловлено переходом бактерий в L-форму, или антигенной мимикрией, или же экранизацией, вследствие покрытия поверхности риккетсий иммуноглобулином. Все это может приводить к рецидивам болезни, например рецидиву сыпного тифа (болезни Брилля—Цинссера).

Поскольку при риккетсиозах поражаются высокоспециализированные клетки (эритроциты, макрофаги, эндотелий), выполняющие физиологические, биохимические, опорные функции, связанные с обменом, регулированием тонуса и проницаемости сосудов, системой циркуляции и антикоагуляции крови, репарацией сосудов, особенно микрокапилляров, происходит дезорганизация и нарушение морфологической целостности выполняемых ими функций, особенно в системе свертывания крови. Морфологически это выражается в образовании периваскулитов, кровоизлияний, тромбоза капилляров, т. е. возникает панваскулит. Одновременно нарастает количество физиологически активных веществ (эйкозаноидов) типа простагландинов, лейкотриена, фактора Хагемана и др., что ведет к нарушению регуляции системы коагуляции — антикоагуляции крови, изменению проницаемости и тонуса сосудов, появлению застойных явлений и нарушению кровообращения в различных органах.

Эпидемиология. Резервуаром и переносчиком риккетсиозов являются клещи, вши и блохи. Многие виды риккетсий постоянно обитают в клещах различных видов, сохраняя их многие годы путем трансвариальной передачи из поколения в поколение. В значительных количествах риккетсии выделяются с фекалиями переносчиков в окружающую

среду. Таким образом, формируются очаги риккетсий и риккетсиозов.

Платяные вши, передающие возбудителей сыпного тифа, выступают лишь как трансмиссанты риккетсий, но не их хранители. В этом случае резервуаром, хранителем риккетсий является человек.

Заражение человека, а также теплокровных прокормителей клещей происходит при присасывании инфицированных клещей, в результате чего происходит «впрыскивание» возбудителя в кровь и лимфу вместе со слюной или содержимым коксальных желез, препятствующим свертыванию крови. Заражение риккетсиями сыпного тифа при нахождении на человеке инфицированных платяных вшей происходит исключительно путем втирания фекалий вшей, содержащих огромное количество возбудителя, через расчески на коже.

Крысиный сыпной тиф передается тропиковыми блохами — тем же механизмом, что и передача возбудителя сыпного тифа вшами.

Заражение человека риккетсиозами возможно также путем вдыхания аэрозолей, содержащих возбудителей (например, высохшие фекалии клещей, вшей).

Заболеемость риккетсиозами, как правило, привязана к природным очагам и носит разрозненный спорадический характер. Доля риккетсиозов в общей инфекционной патологии в различных странах, в том числе и России, не превышает нескольких десятых процента от общего числа регистрируемых инфекционных заболеваний. Некогда распространенный во многих странах и вызывавший обширные эпидемии, сыпной тиф во второй половине XX столетия утратил свое значение, в том числе как инфекция военного времени; он сохранился лишь в Эфиопии и Руанде, а также в Перу.

Заболеемость наиболее значимыми риккетсиозами в отдельных странах (США, Испания, Италия, Япония) находится на уровне 1000–2000 человек в год.

Среди населения России встречаются: клещевой тиф Азии, марсельская (астраханская) лихорадка, болезнь Брилля—Цинссера.

Несмотря на относительно невысокую заболеваемость риккетсиозами, органы здравоохранения осуществляют постоянный эпидемиологический надзор за этой группой

болезней, совершенствуют их диагностику, профилактику и лечение. К этому побуждают также высокая летальность при риккетсиозах, особенно при запоздалом диагнозе и лечении, а также наличии атипичных «хронических» форм при некоторых риккетсиозах.

Клиника риккетсиозов. Развивается в соответствии с описанным выше патогенезом. При этом клинические проявления инфекционно-токсического синдрома у больных риккетсиозами не отражают видовой принадлежности риккетсий, т. е. не имеют патогномоничных симптомов и признаков. Субъективно болезнь сопровождается развитием лихорадки с появлением озноба, недомогания, болей в мышцах и суставах. Объективно развивается гипертермия, гипотония, сыпь (как следствие нарушения проницаемости стенок кровеносных сосудов и нарушения гомеостаза); развиваются десквамативно-пролиферативные воспалительные процессы, геморрагические проявления не только в коже, но и во внутренних органах, прежде всего головном мозге, сердце, почках, печени, легких, что ведет к недостаточному кровоснабжению и нарушению функции этих органов.

При тяжелых формах риккетсиозов развиваются осложнения с явлениями диссеминированного внутрисосудистого свертывания (сыпной тиф, марсельская лихорадка и др.). Вследствие нарастающей функциональной недостаточности жизненно важных органов (сердце, почки, головной мозг) и активации микрофлоры наступает гибель больных. При хронических формах кокциеллеза патология усугубляется образованием иммунных комплексов, вызывая аллергические процессы и усугубляя воспалительные процессы.

При клещевых риккетсиозах на участках кожи, соответствующих месту присасывания инфицированного клеща, в первые 3–5 дней формируется «первичный аффект» в виде папулы с последующим некрозом в центре, фокусный васкулит и инфильтративно-воспалительная реакция с клеточной инфильтрацией.

Микробиологическая диагностика. Основана на клинико-эпидемиологических данных и лабораторных исследованиях. Лабораторное подтверждение диагноза играет иногда решающую роль (атипичные, стертые и другие формы болезни). Оно включает способы выявления (выделения) возбудителя, а также обнаружение спе-

цифических антител и антигенов. Обнаружение возбудителя микробиологическими методами проводится до лечения антибиотиками путем введения исследуемого материала (кровь, биопсия из высыпаний на коже и др.) чувствительным к риккетсиям лабораторным животным (белые мыши, крысы, морские свинки, хомяки) или куриным эмбрионам и культурам клеток.

Возможно также иммуногистологическое исследование биоптатов. Разработана также ПЦР. Однако основным методом специфической диагностики риккетсиозов является серологический: определение специфических антител в крови. С этой целью применяют РСК, РА, РИГА, РИФ, ИФА.

Лабораторное подтверждение риккетсиозов возможно лишь на второй неделе болезни. К этому времени у 20–40 % больных выявляются специфические антитела в низких титрах: в РСК — 1:10÷1:40; в РИФ — 1:20÷1:80; в ИФА — 1:500÷1:1000. Максимальных величин титры антител достигают на 15–30-е сутки (при отсутствии лечения антибиотиками).

При этом обязательно должны исследоваться «парные» сыворотки, взятые в начале болезни и через 7–14 дней и позже от начала болезни.

Лечение. При всех риккетсиозах эффективны антибиотики тетрациклинового ряда. Препараты пролонгированного действия (доксциклин, миноциклин) оказывают терапевтический эффект уже после однократного или двукратного введения. При отсутствии тетрациклинов возможно применение хлорамфеникола.

Профилактическое назначение антибиотиков при риккетсиозах весьма эффективно.

Профилактика. Неспецифические меры профилактики риккетсиозов сводятся к уничтожению переносчиков (вшей, блох, клещей) наиболее эффективным способом (дезинсекция) или к устранению условий для контакта с ними (периодические осмотры на педикулез, на носительство клещей, ношение клещезащитной одежды и др.).

Специфические меры профилактики возможны путем проведения вакцинаций. Разработаны живые и инактивированные вакцины против сыпного тифа, инактивированная вакцина против пятнистой лихорадки Скалистых гор. Однако вакцинопрофилактика не является основным способом профилактики риккетсиозов, так как заболеваемость ими

в отсутствие переносчика обычно не носит массового характера; заболевания неконтагиозны, имеются эффективные средства борьбы с переносчиком, риккетсиозы хорошо лечатся антибиотиками, возможна также химиопрофилактика риккетсиозов.

Это не исключает необходимости иметь в арсенале медицинской службы эффективные вакцины и способы вакцинации против таких риккетсиозов, как сыпной тиф и др. Тем более такие вакцины нужны для профилактической вакцинации отдельных групп населения («групп риска»), к которым, прежде всего, относятся сотрудники бактериологических и эпидемиологических лабораторий, работники, обслуживающие пассажирские поезда, вокзалы и другие объекты массового скопления людей.

16.9.1. Риккетсии группы сыпного тифа

Возбудителем эпидемического сыпного тифа и болезни Брилля—Цинссера является *R. prowazekii*.

Эпидемический сыпной тиф (син. вшивый, голодный, тюремный, военный и т. д.) — острый антропоноз с трансмиссивным механизмом распространения платяными вшами. В отсутствие переносчика неконтагиозен. Клинически характеризуется лихорадкой, тяжелым течением в связи с поражением кровеносных капилляров с нарушением кровоснабжения жизненно важных органов (мозг, сердце, почки), появлением розеолезной и петехиальной сыпи.

Природный резервуар отсутствует. В России резервуар практически ликвидирован (регистрируются единичные случаи).

Таксономия и общая характеристика возбудителя. Возбудитель — *R. prowazekii*, открытый С. Провачеком в 1915 г., является типичным представителем возбудителей группы сыпного тифа, относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae* подгруппы альфа-1 протеобактерий; паразитирует только в цитоплазме чувствительных клеток. Хорошо культивируется в организме платяных вшей, желточных мешках РКЭ, легких белых мышей и в культурах перевиваемых линий клеток; обладает гемолитическими свойствами, способен формировать

негативные колонии («бляшки») в культуре клеток; вызывает токсикоз в организме чувствительных биомоделей (белые мыши, морские свинки и др.) и человека; при окраске по Здровскому окрашивается в красный цвет. Устойчив к действию факторов внешней среды; длительно сохраняется в высохших фекалиях инфицированных вшей, в других препаратах — нестабилен, легко инактивируется под влиянием положительных температур и дезинфектантов (растворы щелочи, хлорамин, пермура и др.); имеет общие антигены с риккетсиями Музера и протеом ОХ19.

Эпидемиология и механизм заражения. Заражение реализуется либо втиранием фекалий инфицированных вшей через расчески кожи, либо путем вдыхания пылевидного аэрозоля из высохших инфицированных риккетсиями фекалий. Заражающая человека доза очень мала и составляет $1/50-1/100 ID_{50}$ для морских свинок.

Сыпной тиф известен с древних времен. Обширные эпидемии сыпного тифа сопровождали голод, войны, экономические и другие потрясения. В России в период 1918–1920 гг. сыпным тифом переболело около 20 млн человек. В настоящее время в нашей стране регистрируются единичные случаи сыпного тифа.

Эндемические районы сохранились на высокогорных плато Эфиопии, Бурунди и, возможно, Перу.

Клиника, диагноз, лечение. Инкубационный период варьирует, составляя в среднем 10–14 дней. Начало заболевания острое, клинические проявления обусловлены генерализованным поражением системы эндотелиальных клеток кровеносных сосудов в микроциркуляторной их части, что приводит к нарушению каскада тромбо-антитромбообразования, содержания кининов и других эйкозаноидов, повышению продукции некоторых цитокинов и нарушениям в системе комплемента. Морфологическую основу болезни составляет генерализованный десквамативно-пролиферативный панваскулит с формированием розеолезной и петехиальной сыпи на кожных покровах. Болезнь протекает тяжело, с высокой температурой, симптомами поражения сердечно-сосудистой и нервной систем (падение артериального давления, бред, психоз и т. д.). Диагноз

осуществляется по клинико-эпидемиологическим данным, подкрепляется лабораторным исследованием на специфические антитела (РСК, РНГА, ИФА и др.). Летальность без лечения — до 20 %, при госпитальном уходе и лечении тетрациклинами — не выше 3,8 %. Быстрое и эффективное этиотропное лечение осуществляется однократным (200 мг) или двукратным (100 мг в 2 приема с интервалом в 12 ч) приемом доксицилина, при его отсутствии — препаратами тетрациклинового ряда.

Профилактика. Осуществляется комплексом мер, включающих изоляцию завшивленных больных, их госпитализацию, дезинсекцию и дезинфекцию в очаге. Наиболее эффективны препараты, содержащие перметрин, а также назначение больному бутадiona. Для специфической профилактики разработана живая вакцина из штамма Е, которая применяется в комбинации с растворимым антигеном риккетсии Провачека (живая комбинированная сыпнотифозная вакцина из штамма «Е»—ЖКСВ-Е), а также инактивированная вакцина из растворимого антигена. Прививки осуществляются подкожно одно- и дву-трехкратно. Иммунитет — непродолжительный, клеточно-гуморальный.

Болезнь Брилля (син. рецидивный, повторный, спорадический сыпной тиф). Получила название по фамилии нью-йоркского врача Н. Брилля, впервые описавшего данную разновидность риккетсиоза Провачека в 1910 г. Впоследствии этот же риккетсиоз изучил Цинссер. Представляет собой не что иное, как рецидив (спустя 3 года — 60 лет) после ранее перенесенного эпидемического сыпного тифа. Возбудитель тот же — *R. prowazekii*. Больные данной формой неоднократно служили источником внутрисемейных и нозокомиальных вспышек эпидемической формы сыпного тифа. Встречаются среди людей на территориях, некогда затронутых эпидемиями вшивого тифа. В России в последние десять лет регистрируется ежегодно на уровне 30–60 случаев среди лиц старших возрастных категорий (40–60 лет и старше), перенесших эпидемическую форму сыпного тифа в годы Великой Отечественной войны и первые послевоенные годы.

Клинически протекает как эпидемический тиф легкой и средней тяжести.

Патоморфология и патофизиология инфекционного процесса те же, что и при эпидемической форме. Различие заключается в эпидемиологии (нет переносчика, отсутствует сезонность проявления, источник и реализация способа заражения) и патогенезе начальной стадии болезни. Она возникает вследствие активации латентно «дремлющих» риккетсий.

Микробиологическая диагностика. Затруднена неопределенностью симптоматики на первой неделе заболевания (до появления сыпи) и ее сходством с симптомами при инфекциях, чаще брюшнотифозной. Диагноз устанавливается на основании клинико-эпидемиологических данных с учетом анамнеза больного и подкрепляется серологическим исследованием со специфическим антигеном. При отсутствии переносчика в очаге лечение может осуществляться без изоляции больного, в зависимости от его состояния. Прогноз благоприятен даже в отсутствии лечения антибиотиками — летальность не выше 1 %.

Профилактика. Меры профилактики те же, что и при эпидемической форме. Специфическая профилактика невозможна.

Возбудитель эндемического (крысиного) сыпного тифа (*R. typhi*)

Крысиный (син. эндемический, блошинный, маньчжурский, корабельный, малайский, городской и др.) **сыпной тиф** — острое инфекционное заболевание риккетсиозной природы, связанное с эктопаразитами крыс, мышей и кошек, приуроченное преимущественно к территориям с тропическим и субтропическим климатом, благоприятствующим существованию в природе тропиковых блох и блох кошек.

Болезнь выделена в самостоятельную форму, отличающуюся от вшивого сыпного тифа, русскими врачами (С. С. Боткиным, С. С. Зимницким и В. А. Барыкиным) в 1906–1910 гг. под названием маньчжурский сыпной тиф; окончательная номинация болезни принадлежит Макси (1926).

Таксономия и общая характеристика возбудителя. *R. typhi* — типичный представитель риккетсий группы сыпного тифа с несколько сниженной по сравнению с *R. prowazekii* в отношении человека вирулентностью. Возбудитель обнаружен, выделен и идентифицирован Г. Музером и соавт. в 1926–1928 гг. Относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae*; паразитирует внутриклеточно. Морфологические, ростовые, тинкториальные характеристики идентичны таковым для

возбудителя вшивого сыпного тифа, отличаясь более низкими показателями. Имеет общие антигены с *R. prowazekii* и протеем OX19.

Эпидемиология. Инфекция в отсутствие блох неконтагиозна, заболеваемость носит преимущественно спорадический характер с незначительным подъемом в осенне-зимнее время. Болезнь широко распространена в странах тропического и субтропического пояса (Китай, Индия, Индонезия, Эфиопия, страны Средиземного моря, юго-запад США, Мексика и др.). В бывшем СССР очаг крысиного риккетсиоза существовал в Аджарии (г. Батуми) и в Азербайджане; в России риккетсиоз отсутствует. Стойкие очаги инфекции частично совпадают с очагами чумы, что объяснимо общностью переносчика. Инфицированность блох *R. typhi* достигает 7–18 %. Механизм заражения подобен таковому при эпидемическом сыпном тифе — путем втирания инфицированных фекалий блох через расчесы кожи или вдыхания пылевидных частиц из высохших фекалий.

Патогенез, клиника, диагноз, лечение. Патогенез болезни сходен с таковым при риккетсиозе Провачека, отличается более умеренными морфологическими изменениями в пораженных органах и микроциркуляторном русле сосудистой системы. Первичный эффект на месте входных ворот инфекции отсутствует.

Болезнь возникает остро после инкубационного периода в 5–15 дней, сопровождается общими явлениями инфекционного токсикоза (озноб, лихорадка, головная боль, миалгия, недомогание, бессонница и др.), что затрудняет ее диагностику. Характерна сыпь розеолезно-папулезного или макуло-папулезного характера, часто (45–62 %) распространяющаяся на ладони и подошвы. Лихорадочный период при среднетяжелом течении примерно 14 дней. Рецидивы и повторные заболевания не отмечены. Летальность в отсутствие лечения — не более чем у 5–10 % госпитализированных.

Диагноз устанавливается на основании клинико-эпидемиологических данных, подкрепляется исследованием сыворотки крови больного в серологических реакциях (РСК, РНГА, РИФ, ИФА и др.). Дифференциация от вшивого сыпного тифа основана на различии (в 2–4 раза) титров антител при постановке реакций с корпускулярными антигенами обеих риккетсий.

Быстрый лечебный эффект достигается при терапии антибиотиками тетрациклинового ряда, в том числе и однократным приемом доксицилина.

Профилактика. Вакцинопрофилактика нерациональна. Не специфическая профилактика достигается

дезинсекционно-дератизационными мероприятиями в очагах инфекции и повышением социально-гигиенических стандартов жизни населения.

Возбудитель тифа кошачьих блох (*R. felis*)

Тиф кошачьих блох (син. фелиноз, заболевание, подобное крысиному тифу) — острое инфекционное заболевание риккетсиозной этиологии. Возбудитель — *R. felis*, выделен и идентифицирован как самостоятельный микроорганизм Абду Ф. Азадом и соавт. в 1990–1996 гг. в США. По некоторым молекулярно-генетическим характеристикам близок к *R. akari* и *R. australis*, по другим характеристикам, а также фенотипическим свойствам сходен с *R. typhi* и *R. prowazekii*. По данным Хигинса и соавт. (1996), присутствует в цитоплазме инфицированных клеток, но никогда в ядре, поэтому рассматривается как член сыпнотифозной группы, т. е. в роде *Rickettsia*. Таксономическое положение уточняется. В природе циркулирует в циклах: кошачьи блохи *Ctenocephalides* — кошки (собаки, опосумы); эндемичен для штата Юкатан (Мексика) и, возможно, части территории США; обнаружен в Европе, Африке и Ю. Корею.

Клинически заболевание у людей протекает в легкой форме как денгеподобная или сходная с крысиным тифом лихорадка, сопровождаемая сыпью. Истинные размеры заболеваемости неизвестны; установлено, что 5,6 % обследованного населения штата Юкатан имеют специфические антитела к *R. felis*.

Экология возбудителя, эпидемиология и клиника заболевания интенсивно изучаются. Эпидемиологическое значение для России неясно. Принципы диагностики, лечения и профилактики, очевидно, такие же, что и для других риккетсиозов.

16.9.2. Риккетсии группы клещевых риккетсиозов

Возбудитель Североазиатского риккетсиоза

Североазиатский клещевой риккетсиоз (син. клещевой сыпной тиф Азии, клещевой риккетсиоз Сибири и др.) — природно-очаговый, облигатно трансмиссивный, наиболее распространенный в России риккетсиоз группы клещевых пятнистых лихорадок.

Впервые болезнь выявлена в России в 1934–1935 гг. на Дальнем Востоке военным врачом Е. И. Миллем и описана им в 1934 г.

под названием *клещевая пятнистая лихорадка Приморья*. Возбудитель выделен из крови больного в 1936 г. О. С. Коршуновой, позднее идентифицирован как самостоятельный вид риккетсий.

Таксономия и общая характеристика возбудителя. *R. sibirica* (лат. *sibezica*) — типичный представитель риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок, серологически имеет общие антигены с другими риккетсиями данной группы, отнесен к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae*; паразитирует в цитоплазме и ядре чувствительных клеток. Достаточно хорошо культивируется в клещах надсемейства *Ixodoidea*, несколько хуже в перевиваемых линиях клеток и желточных мешках РКЭ. В культурах клеток формирует негативные колонии. Гемолитическая способность и способность к токсикозу в организме чувствительных биомоделей выражены слабо. При окраске по Здродовскому окрашивается в красный цвет. К действию факторов внешней среды неустойчив, быстро инактивируется при положительных температурах и под влиянием общераспространенных дезинфектантов. Фенотипические, серологические и генотипические характеристики идентичны таковым у риккетсии Риккетса и риккетсии Конори, однако вирулентность для человека и экспериментальных животных более низка.

Эпидемиология и механизм заражения. Поддержание и распространение возбудителя в природных очагах связаны со многими видами иксодовых клещей родов *Dermacentor* и *Haemophysalis*. В отсутствие переносчика болезнь неконтагиозна. Природные очаги инфекции и, соответственно, заболеваемость устойчиво существуют на территориях Азиатской части России (Красноярский, Алтайский, Хабаровский, Приморский края; Амурская область, Тыва, Хакасия) и сопредельных государств (Казахстан, Китай, Монголия). Индивидуальная инфицированность клещей на эндемичных (Республика Алтай) и неэндемичных (Омская область) территориях колеблется в диапазоне 0–86,2% (Н. В. Рудаков и соавт., 1998). Заражение человека происходит в результате нападения и присасывания клеща

на всех стадиях его развития. Заболеванию подвержены люди всех возрастов независимо от пола и профессии; четко выражена сезонность (март–сентябрь) болезни с пиком в апреле–мае.

Регистрация болезни в РФ введена с 1976 г.; за 1979–1996 гг. выявлено 26 650 случаев при ежегодных 2300–2700 заболеваниях в 1990-е годы. Повышение заболеваемости объясняется увеличением контактов населения с природной средой.

Клиника, диагностика, лечение. Механизм заражения, патогенез и клиническая картина болезни идентичны таковым при других клещевых риккетсиозах, отличаясь меньшей выраженностью последней. Первичную основу процесса составляют патофизиологические и морфологические нарушения в микроциркуляторном русле сосудистой системы. Инкубационный период — 3–7, редко 10–14 дней. Заболевание протекает как острая лихорадка с недомоганием, ознобом, головной болью, развитием генерализованной сыпи; продолжается 7–12 дней. Летальность в отсутствие лечения антибиотиками — не выше 1,0%; осложнения редки, рецидивы болезни не описаны.

Для клинической картины характерна триада признаков: первичный аффект на месте укуса клеща, сыпь, лихорадка. Диагноз устанавливается либо по триаде признаков, либо по клинико-эпидемиологическим данным в случае отсутствия одного из ее компонентов (нет первичного аффекта, сыпь не характерна и непродолжительна, клиническая картина не выражена), подкрепляется лабораторным исследованием сывороток крови больного со специфическим групповым антигеном (РСК, РНГА, РИФ).

Лечение и профилактика. Лечение эффективно тетрациклинами. Вакцинопрофилактика не разработана. Экстренная профилактика может осуществляться по факту укуса клеща одно-двукратным приемом доксициклина или других эффективных антибиотиков; Неспецифическая — противоклещевыми мероприятиями (защитная одежда, репелленты группы синтетических пиретроидов) и информацией врачей и населения на эндемичных территориях об опасности заболевания клещевыми инфекциями.

Возбудитель марсельской лихорадки (*R. conorii*)

Марсельская лихорадка (син. прыщевидная лихорадка, болезнь Карлуччи—Олмера, средиземноморская лихорадка, астраханская лихорадка и др.) — острая инфекционная болезнь, вызываемая *R. conorii*, подерживаемой и распространяемой в природе клещами-иксодидами, основными из которых являются *Rhipicephalus sanguineus*, *Haemophysalis leachi* и др.

Болезнь описана как самостоятельное заболевание в 1910 г. Конором и Брушем в Тунисе; обнаружена в бывшем СССР (Крым) А. Я. Алымовым в 1936 г.

Таксономия и общая характеристика. Этиологический возбудитель — *R. conorii*, идентифицирован в 1932 г. Каминопетрос и Конто, является типичным представителем природно-очаговых риккетсиозов, антигенно неотличимым от других риккетсий клещевой группы. Морфологические и тинкториальные свойства аналогичны таковым у *R. sibirica*. Имеет общие антигены с другими риккетсиями клещевой группы. По серологическим характеристикам штаммы возбудителя, циркулирующие в природе, однородны. В отсутствие переносчика заболевание неконтагиозно.

Эпидемиология, механизм заражения. Природные очаги инфекции приурочены к ареалам обитания клещей в бассейне Средиземного моря, на западе, центре и юге Африки и прибрежных районов Индии. На Американском и Австралийском континентах болезнь не обнаружена. В России активно действующий очаг (ежегодно в 1994—1998 гг. до 180—250 случаев) находится в дельте Волги в пределах Астраханской области, связан с клещами *Rh. pumilio*. В связи с этим заболевание получило название астраханской лихорадки (И. В. Тарасевич, Н. М. Балаева).

Естественная инфицированность клещей в очаге — на уровне 7,6%. Четко выражена сезонность заболевания (апрель—октябрь) с наибольшим — 21,0—35,5% — числом заболеваний в июле—августе соответственно; связь с профессией отсутствует, заболеваемость носит спорадический характер. Механизм заражения аналогичен таковому

при других клещевых риккетсиозах — через укус клеща.

Клиника и патогенез. Патогенез инфекции, клиническое течение и патоморфология типичны для других клещевых риккетсиозов, в частности клещевого риккетсиоза Азии.

Микробиологическая диагностика. Диагноз устанавливается по клинико-эпидемиологическим данным, важнейшими из которых является триада признаков (первичный аффект, лихорадка, сыпь), подкрепляется серологическим исследованием крови больных (РНГА, РНИФ). Выявление первичного аффекта зависит от внимательности практических врачей в очаге; отсутствие его (до 50% случаев) связано с аэрогенным механизмом инфицирования за счет аэрозоля из гемолимфы инфицированных клещей при их механическом раздавливании во время ухода за собаками. Прогноз в целом благоприятен, хотя летальность у лиц пожилого возраста может достигать 6%.

Лечение, профилактика аналогичны таковым при других клещевых риккетсиозах (см. клещевой риккетсиоз Азии). Высокоэффективна однодневная терапия доксициклином (две оральные дозы по 200 мг с интервалом в 12 ч).

Специфические меры профилактики не применяются.

Возбудитель везикулезного риккетсиоза (*R. akari*)

Везикулезный риккетсиоз (син. риккетсиозная оспа, оспоподобный риккетсиоз, гамазовый риккетсиоз и др.) — остролихорадочное заболевание риккетсиозной этиологии с внутригородской локализацией и благоприятным исходом. Природные очаги инфекции вне жилищ человека или мест постоянного его пребывания не обнаружены. Инфекция неконтагиозна. Для России эпидемиологического значения не представляет.

Таксономия и общая характеристика возбудителя. Возбудитель болезни — *R. akari*, выделен и идентифицирован в США и в бывшем СССР независимыми группами исследователей (Р. Хюбнер и соавт., 1946; И. Р. Дробинский и др., 1948—1957; С. М. Кулагин, 1952—1953; В. М. Жданов, 1950—1954). Относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae*. Типичный представитель клещевых риккетсиозов с невысокой вирулентностью; паразитирует в цитоплазме и ядрах чувствительных клеток, гемолитические свойства и способность к токсокозу в организме чувствительных биомоделей не выражены, хорошо формирует бляшки

ГЛАВА 16. Частная бактериология

в культуре клеток; окрашивается по Здродовскому в красный цвет, имеет общие антигены с другими риккетсиями клещевой группы. К действию факторов внешней среды неустойчив; легко инактивируется под влиянием положительных температур и обычных дезинфектантов.

Эпидемиология, механизм заражения. Болезнь периодически регистрируется на уровне единичных заболеваний в некоторых городах Атлантического побережья США, тогда как Донбасский очаг болезни в СССР в результате интенсивных дезинсекционных-дератизационных мероприятий к 1960-м годам ликвидирован.

Клиническая характеристика. Механизм заражения, патогенез и клиника болезни типичны для клещевых риккетсиозов, отличаясь некоторыми деталями. В частности, менее выражено поражение клеток-мишеней (эндотелиальных клеток сосудистой системы), что обуславливает экссудативный характер кожных высыпаний (везикулезная сыпь) с быстрой ее инволюцией к 7–9-му дню после начала болезни. Первичный аффект исчезает значительно позже, спустя 2–3 недели после окончания лихорадки. Летальные исходы не описаны. Инкубационный период составляет 5–8 дней; в клинике преобладают общие симптомы лихорадочного состояния (повышение температуры, озноб, недомогание, головная боль, гиперемия лица и слизистых, гипотония и др.), которые у большинства больных сохраняются не более 6 дней.

Прогноз благоприятен, осложнения редки, рецидивы не описаны. Клинико-эпидемиологический диагноз (первичный аффект, лихорадка, сыпь) подкрепляется выявлением специфических антител с антигеном риккетсий клещевой группы в крови заболевших (РСК, РНГА, РНИФ).

Лечение. Быстро и эффективно осуществляется антибиотиками тетрациклинового ряда по обычным схемам их применения.

Профилактика. Вакцинопрофилактика нерациональна. Не специфическая профилактика осуществляется комплексом дератизационных и дезинсекционных мероприятий в очагах.

Возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых гор (*R. rickettsii*)

Пятнистая лихорадка Скалистых гор — зооантропоноз риккетсиозной этиологии с трансмиссивным механизмом распространения с участием иксодовых клещей. В отсутствие переносчика неконтагиозна.

Таксономия и общая характеристика возбудителя. Возбудитель болезни — *R. rickettsii*, открыт Г. Риккетсом в 1909 г., относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae*; паразитирует в цитоплазме и ядрах чувствительных клеток. Хорошо культивируется в организме клещей различных видов и в перевиваемых линиях клеток; накапливается в желточных мешках РКЭ или в организме морских свинок; гемолитические свойства выражены, в культурах клеток формирует негативные колонии («бляшки»); в организме чувствительных биомоделей вызывает токсикоз; воспринимает окраску по Романовскому—Гимзе или по Гименесу; к действию факторов внешней среды неустойчив, в инфицированных клещах сохраняется несколько месяцев, легко инактивируется обычными дезинфектантами. Вирулентность природных популяций возбудителя широко варьирует; имеет общие антигенные сайты к другим риккетсиям данной группы.

Эпидемиология и механизм заражения. Заражение реализуется через укус (присасывание) лесных клещей *D. andersoni* (запад США), собачьих — *D. variabilis* (восток и юго-восток США) и бразильских клещей *A. cajensis* (Бразилия, страны Панамского перешейка). Возможно внутрилабораторное заражение инфицированным риккетсиями аэрозолем.

Заболевание вне территории Америки не встречается; в природе возбудитель поддерживается за счет циркуляции в цепи диких животных, грызунов и клещей, в окружении человека — за счет собак и клещей.

Клиника, диагноз, лечение. Инкубационный период составляет в среднем 6–8 дней. Начало заболевания острое, клинические проявления обусловлены генерализованным панваскулитом с первичным нарушением функций эндотелиальных клеток кровеносной системы и последующим развитием патологических явлений за счет дисбаланса эйкозаноидов, каскада коагуляции—антикоагуляции крови и нарушениями в системе комплемента. Для диагностики типичного заболевания характерна триада признаков: указание на укус или контакт с клещами, макуло-папулезная сыпь, захватывающая ладони и подошвы, лихорадочное состояние с высокой температурой. Первичный

аффект на месте укуса клеща, как правило, не развивается. Заболевание отличается весенне-летней сезонностью, обусловленной активностью клещей в этот период времени года. Окончательный диагноз подкрепляется серологическим обнаружением специфических антител в РСК, РНИФ и др. Этиотропное лечение осуществляется антибиотиками широкого спектра действия (тетрациклины, доксициклин).

16.9.3. Ориенции (возбудители лихорадки цуцугамуши)

Лихорадка цуцугамуши (син. краснотелковый риккетсиоз, кустарниковый тиф, речная лихорадка, тропический клещевой сыпной тиф) — острая инфекционная болезнь, вызываемая *Orientia tsutsugamushi*. Возникает у человека вследствие присасывания личинок краснотелковых клещей.

Таксономия и общая характеристика возбудителя. Возбудитель — *R. tsutsugamushi* (с 1997 г. — *O. tsutsugamushi*), открыт Хаяши в 1905–1923 гг. Относится к роду *Orientia* семейства *Rickettsiaceae* подгруппы альфа-1 протеобактерий. Имеет шесть серологических групп.

По биологическим характеристикам, обеспечивающим циркуляцию возбудителя в природе и распределение в чувствительных клетках, идентичен риккетсиям клещевой группы. Имеет общий антиген с протеом OX_k .

Эпидемиология. Цуцугамуши — типичный природно-очаговый зооантропоноз клещевой группы, связанный с обитанием краснотелковых клещей в прибрежных районах стран западной части Тихого океана (Япония и Океания). В России болезнь встречается на крайнем юге Приморского края. Возбудитель поддерживается преимущественно в циклах циркуляции между мелкими грызунами и членистоногими, а также в результате трансвариальной и трансстадийной передачи у последних. Инфицирующая доза исключительно мала (единицы клеток).

В Японии в 1980-е годы ежегодно регистрировали до 1000 заболеваний. Для России эпидемиологического значения болезнь не

представляет. Выражена сезонность заболеваемости с двумя подъемами — весенне-летним (апрель-июнь) и осенним (сентябрь-ноябрь), — связанная с нападением личинок клещей различных видов. Присасывание личинок безболезненно, на месте укуса формируется первичный аффект.

Клиника, лечение. Инкубационный период — в пределах 5–21 дня, в среднем 7–10 дней. Вследствие вариабельности вирулентности природных популяций возбудителя, до $\frac{2}{3}$ инфицированных переносят иннапаратную инфекцию.

Для клиники характерны общие симптомы клещевых риккетсиозов, т. е. острое начало с появлением озноба, лихорадки, головной боли, миалгии, гипотонии, регионального лимфаденита, а затем и генерализованной лимфаденопатии. У большинства больных рано, с 4–7-го дня болезни, развивается макуло-папулезная, реже геморрагическая сыпь на коже туловища, реже — на ладонях и стопах.

Микробиологическая диагностика основана на клинико-эпидемиологических данных и подкрепляется серологическими исследованиями на антитела либо к протею OX_k , к специфическим антигенам клещевой группы в РСК, РНИФ, ИФА. В отсутствие лечения антибиотиками широкого спектра действия прогноз затруднителен. Летальность в прошлом достигала 30 %.

В связи с существованием антигенных вариантов ориенций возможно повторное заболевание, так как предшествующее, обусловленное одним типом, не создает прочного иммунитета против другого. Специфические антитела в крови переболевших сохраняются более 10–20 лет.

Лечение антибиотиками тетрациклинового ряда эффективно купирует инкубационный процесс и приводит к быстрому (4–5 дней) излечению больных.

Специфическая вакцинопрофилактика не разработана; предупреждение болезни может осуществляться периодическим (раз в неделю) оральным приемом доксициклина при пребывании, например, туристов в эндемических местностях и комплексом противоклещевых мероприятий, аналогичных таковым при других клещевых риккетсиозах.

ГЛАВА 16. Частная бактериология

16.9.4. Анаплазмы, неориккетсии, эрлихии (семейство *Anaplasmataceae*)

Представители семейства *Anaplasmataceae* являются грамотрицательными бактериями, паразитирующими в вакуолях клеток организма теплокровных, преимущественно лейкоцитарного ряда (паразиты лейкоцитов — возбудители лейкоцитарных риккетсиозов)

Семейство *Anaplasmataceae* входит в порядок *Rickettsiales* подгруппы $\alpha 1$ протеобактерий. По последовательности нуклеотидов рРНК представители этого семейства разделены на 4 рода: *Anaplasma*, *Neorickettsia*, *Ehrlichia* и *Wolbachia*. Бактерии рода *Wolbachia* медицинского значения не имеют. Бактерии поражают жвачных животных (коров, овец, оленей, косуль, лошадей и др.), человека, рыб и насекомых.

Патогенные для человека возбудители (табл. 16.36) входят в род *Anaplasma* (*A. phagocytophilum*), *Neorickettsia* (*N. sennetsu*) и *Ehrlichia* (*E. chaffeensis*, *E. muris*). Ветеринарное значение имеют возбудители лихорадки реки Потомак — *N. risticii* (поражает лошадей с высокой летальностью), тропической панцитопении собак — *E. canis* и сердечной водянки крупного рогатого скота — *E. ruminantium*.

Наиболее изучены возбудители моноцитарного эрлихиоза людей и собак.

Родовое название «*Ehrlichia*» было предложено Ш. Д. Мошковским в 1945 г. в честь Пауля Эрлиха для группы внутриклеточных микроорганизмов, имеющих отчетливый тропизм к гемопоэтическим клеткам.

Возбудитель болезни, обладающий вышеуказанными свойствами, был впервые обнаружен в Алжире французскими исследователями Dontaïen и Lestoquard в 1935 г. при изучении тропической панцитопении собак и назван *Rickettsia canis*, а позднее номинирован Ш. Д. Мошковским как *E. canis*. С 1984 г., после более точной идентификации возбудителя лихорадки сеннетсу, родовое название близкородственных по генотипическим, антигенным, а впоследствии и по молекулярно-генетическим характеристикам микроорганизмов было распространено на возбудителей моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиоза у людей и животных. Затем возбудителей отнесла к родам *Anaplasma*, *Neorickettsia* и *Ehrlichia*.

Случаи моноцитарного эрлихиоза выявлены серологически и подтверждены в Европе (Португалия, Испания, Бельгия и Россия), а также на территории Республики Мали (Африка).

История изучения гранулоцитарного эрлихиоза человека еще более коротка. Она начинается с момента обнаружения в 1994 г. доктором Д. Бэккеном и соавт. эрлихияльного патогена внутри нейтрофилов человека, больного тяжелой лихорадкой, схожей по

Таблица 16.36. Клинико-эпидемиологические связи анаплазм, неориккетсий и эрлихий, патогенных для человека

| Видовое название, распространение | Этиологическая причастность к заболеванию человека | Вектор трансмиссии, резервуар |
|---|---|---|
| <i>N. sennetsu</i> Юго-запад Японии; Малайзия, Мьянма (Бирма), Австралия | Неориккетсиоз сеннетсу (син. инфекционный ангинозный мононуклеоз) | Моляюски рыб (вектор нуждается в уточнении) |
| <i>E. chaffeensis</i> , <i>E. muris</i> США; по серологическим данным — Испания, Бельгия. По клинике и ДНК-анализу клещей — Россия | Моноцитарный эрлихиоз | Клещи <i>A. americanum</i> ; возможно — <i>I. persulcatus</i> Олени, собаки, мышевидные грызуны |
| <i>A. phagocytophilum</i> США, Европа (страны Скандинавии, Англия, Италия и др.) | Гранулоцитарный анаплазмоз (син. клещевая лихорадка) | Клещи <i>I. scupularis</i> и <i>I. pacificus</i> — в США, <i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i> — в Европе; Домашний скот, олени, косули, собаки, кошки, лесные крысы и мышевидные грызуны |

Примечание. В настоящее время известно примерно 10 безусловно самостоятельных видов анаплазм и эрлихий.

манифестации с клинической картиной моноцитарного эрлихиоза.

Морфология, культивирование, идентификация возбудителей. Все эрлихии, патогенные для человека, размножаются в моноцитах, макрофагах. Их жизненный цикл осуществляется внутри цитоплазматических вакуолей, т. е. в фагосомах (эндосомах), клетки, содержащих скопление эрлихиозных частиц. Единственным субстратом накопления эрлихий являются макрофагоподобные (линия собачьих макрофагов ДН 82) или эпителиоподобные (линия эндотелиальных клеток человека, клетки VERO, HeLa, ЛЭЧ и некоторые другие) перевиваемые клетки эукариотов. Накопление эрлихий в них незначительно, процесс весьма трудоемок и занимает длительное время (не менее 5 суток). Вероятно, это является одной из причин довольно редкого выделения эрлихий от больных людей. Для размножения *N. sennetsu*, кроме того, могут быть использованы белые мыши, у которых возбудитель вызывает генерализованную инфекцию с накоплением микроорганизма в макрофагах перитонеальной жидкости и в селезенке.

Морфологически все виды семейства *Anaplasmataceae* представляют небольшие плеоморфные кокковидные или овоидные микроорганизмы, приобретающие темно-голубой или пурпурный оттенок при окраске по Романовскому. Обычно их обнаруживают в вакуолях — фагосомах цитоплазмы инфицированных эукариотических клеток, в виде компактных скоплений отдельных частиц паразита, внешне имеющих конфигурацию ягоды тутового дерева; последнее послужило основанием называть такие скопления морулами. Небольшие цитоплазматические вакуоли клетки-мишени содержат обычно 1–5 эрлихий, но количество инфицированных вакуолей может достигать 400 и более на одну клетку.

При электронно-микроскопическом исследовании установлена сходная с риккетсиями ультраструктура представителей семейства *Anaplasmataceae* и идентичность способа размножения (простым бинарным делением).

Эрлихии не имеют общих специфических антигенов с риккетсиями сыпнотифозной и клещевой группы, а также *C. burnetii* и боррелиями — возбудителями болезни Лайма. Внутри групп представители имеют антиген-

ные перекресты с эрлихиями, патогенными для животных.

Эпидемиология. Механизм заражения, существование и распространение возбудителей моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиозов человека тесно связаны с иксодовыми клещами и их естественными прокормителями. Эрлихии распространены в США, России и других странах; возбудитель гранулоцитарного эрлихиоза обнаружен у лошадей, коз и собак во многих странах Европы.

Заболевание у людей имеет сезонный характер, связанный с активностью переносчиков клещей; эрлихиозами болеют люди любого возраста — от младенцев до лиц преклонного возраста, но истинная заболеваемость неизвестна из-за трудностей диагностики и отсутствии обязательной регистрации заболеваний.

Механизм заражения бактериями, связанный с клещами, по-видимому, реализуется через слюну переносчиков. Время, необходимое для переноса инфекции животным, составляет примерно 6 ч.

Факторы патогенности у представителей семейства *Anaplasmataceae* изучены недостаточно. Очевидно, что избыточная, нерегулируемая продукция цитокинов, таких как ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-10 и некоторых других, под влиянием возбудителя является ключевой в развитии патологического процесса на уровне инфицированного макроорганизма. Цитокины в избыточном количестве индуцируют серьезные повреждения клеток-мишеней, что и сопровождается развитием патологического процесса, как это подтверждено в наблюдениях за больными марсельской лихорадкой. Каким образом на внутриклеточном уровне происходит индукция генов, связанных с цитокинами, неясно.

В качестве факторов патогенности рассматривается формирование «спороподобных» корпускул, выход их из клетки-мишени путем «почкования» с последующим заражением прилегающих соседних клеток эндотелия.

Кроме того, во внешней оболочке возбудителя гранулоцитарного эрлихиоза выявлены два протеина — с молекулярной массой 44 и 153 кДа, играющие роль адгезинов, которые способствуют связыванию с лецитинсодержащими доменами клеток последнего, а также в регуляции экспрессии генов клеткой хозяина.

Патогенез и патологическая анатомия анаплазмоза, неориккетсиоза и эрлихиозов.

Патогенез и гистоморфологические изменения в органах и тканях больных эрлихиозами изучены недостаточно. Основные данные получены на чувствительных к эрлихиям приматах (макака-резус), а также на лошадях, собаках, мышах.

При лихорадке сэннетсу входные ворота инфекции локализуются в области рта и глотки. Отсюда возбудитель лимфогенно-гематогенным путем разносится по организму, вызывая генерализованную лимфаденопатию, поражение костного мозга и, соответственно, лейкопению с возрастанием удельного веса нейтрофилов на начальной стадии болезни. В инфекционный процесс вовлекается также эндотелий капилляров, так как у некоторых больных, хотя и редко, наблюдалась сыпь эритематозного или петехиального характера.

Патогенез моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза на начальной стадии обусловлен процессом внедрения возбудителя в организм через кожу и, следовательно, идентичен таковому для клещевых риккетсиозов.

Однако при анаплазмозе, неориккетсиозе и эрлихиозах первичный аффект отсутствует. После укуса инфицированного клеща возбудитель попадает в подлежащие ткани и распространяется гематогенным путем по всему организму, вызывая преимущественное поражение макрофагов селезенки, печени, лимфатических узлов, костного мозга и других внутренних органов. При этом нередко развиваются очаговые некрозы, периваскулярные лимфогистиоцитарные инфильтраты. В селезенке, печени, лимфатических узлах и костном мозге развиваются мегакариоцитоз и гемофагоцитоз, что формирует гемопоэтический ответ в форме миелоидной гипоплазии. Клинически морфологические изменения в сосудистой системе, внутренних органах и костном мозгу проявляются нарастающей гипотензией, развитием желудочно-кишечного и легочного кровотечения, лейкопенией и тромбоцитопенией и изменением уровня печеночных трансаминаз.

Клиника, диагностика и лечение. Симптомы заболеваний не имеют манифестно выражен-

ных диагностических особенностей. Даже эрудированные врачи, осведомленные о существовании этих заболеваний, считают невозможным постановку диагноза «эрлихиоз» на основании лишь клинических симптомов и признаков. Поэтому диагностика заболевания обязательно должна подкрепляться результатами лабораторных исследований, из которых наиболее значимыми являются серологические данные, а также данные гемограммы и функционального состояния печени.

Общим в характеристике неориккетсиоза, сэннетсу и эрлихиозов является то, что клинически выраженные формы возникают внезапно, сопровождаются развитием лихорадочной реакции, появлением озноба, усталости, головной боли, анорексии, миалгии, тошноты, рвоты и признаков, обычных при других риккетсиозных заболеваниях и некоторых инфекциях вирусной природы.

Первичный аффект отсутствует для всех форм эрлихиозов, тогда как высыпания на коже эритематозного или петехиального характера редки при лихорадке сэннетсу и встречаются в 10–30 % случаев при гранулоцитарном и моноцитарном эрлихиозе соответственно.

Инкубационный период составляет в среднем 8–14 дней, продолжительность лихорадочного периода не превышает 2 недель для лихорадки сэннетсу, 3 недель — для моноцитарного эрлихиоза (включая и тех, кто получил специфическое кечение) и 3–11 недель — для заболевания гранулоцитарным эрлихиозом. Для эрлихиоза сэннетсу фатальные исходы неизвестны, но при моноцитарном и гранулоцитарном эрлихиозах летальность достигает 2–3 и 5 % соответственно.

Окончательный диагноз ставится на основании исследований сывороток крови больных и реконвалесцентов в РИФ со специфическим антигеном; на 10–79-й день от начала заболевания титры антител находились в диапозоне 1:64÷1:1024.

Диагноз гранулоцитарного эрлихиоза так же, как и моноцитарного, основан на комплексе данных клинико-эпидемиологического обследования больного и клинического анализа крови и должен быть подтвержден выявлением специфических антител в титре 1:80 или выше. Для этого используют реакцию

непрямой иммунофлюоресценции или ИФА. Применяют ПЦР.

Клинический исход заболеваний зависит от сроков назначения антибиотиков. Специфическое лечение (преимущественно тетрациклином, реже — хлорамфениколом), назначенное на 2–9-й дни болезни во всех случаях, обеспечило выздоровление, тогда как назначение препарата в более поздние сроки иногда приводило к фатальному исходу.

При лихорадке сеннетсу в качестве доброкачественно заканчивающихся осложнений упоминается асептический менингит, ригидность затылочных мышц и тяжелая головная боль.

Для моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиозов при отсутствии лечения тетрациклином или доксициклином или при запоздалом их применении (позже 10-го дня болезни) наиболее частыми были развитие дисфункции почек или почечной недостаточности, диссеминированной внутрисосудистой коагуляции с последующим внутрилегочным, желудочно-кишечным или множественным, через видимые слизистые, кровотечением.

Профилактика. Вакцинопрофилактика заболеваний в отношении человека не разработана, поскольку в ней нет необходимости. Экстренная специфическая профилактика может осуществляться по факту обнаружения укуса клеща однократным приемом доксициклина. Не специфическая профилактика заключается в проведении противоклещевых мероприятий перед выходом на местность, эндемичную по клещам, причастным к переносу возбудителей, а также информированием населения и врачей об особенностях зооантропонозов, в том числе риккетсиозной и анаплазмозной природы.

16.10. Коксииеллы. Возбудитель лихорадки Ку (*Coxiella burnetii*)

Лихорадка Ку (син. коксииеллез, устаревшее — пневмориккетсиоз и др.) — зооантропоноз с преимущественно аэрогенным механизмом заражения, характеризующийся лихорадкой, поражением дыхательной системы (пневмонии) и гепатолиенальным синдромом.

Заболевание обособлено в качестве самостоятельного Э. Дерриком в Австралии в 1935 г. Получило название Ку — лихорадки от английского — неясный, неопределенный.

Таксономия и общая характеристика. Возбудитель — *Coxiella burnetii*, выделен в Австралии от больного человека Ф. Бернетом и М. Фрименом в 1937 г. и независимо от них — в США из лесных клещей *D. andersoni* Дэвисом и Коксом (1938). Имеет более мелкие, чем риккетсии, размеры — порядка 0,25–1 мкм, полиморфен; чаще встречается в форме коккобацилл. Окрашивается в красный цвет при окраске по Здродовскому, в пурпурно-красный — по Романовскому. Внутриклеточный паразит. Хорошо размножается в клещах, РКЭ, культурах клеток с накоплением до 10^{10} – 10^{12} ID₅₀. По структуре клеточной стенки отличается от риккетсий наличием (I фаза) или отсутствием (II фаза) в оболочке структурного липополисахарида. Гемолитические свойства не установлены, бляшкообразование выражено; вирулентность связана с фазовым состоянием коксииелл — у II фазы она резко снижена. Размножается в фаголизосомах протоплазмы чувствительных клеток. Устойчив к факторам внешней среды, длительно сохраняется (месяцами) на контаминированных предметах, требует тщательной дезинфекции.

Общих антигенов с риккетсиями не имеет, изоляты, выделенные в отдаленных регионах земного шара по генотипическим и серологическим свойствам различий не имеют.

По генотипическим характеристикам номинирован в группе гамма-протеобактерий вместе с легионеллами, возбудителями болезни легионеров, что объясняет полиморфизм клинической картины болезни, устойчивость возбудителя во внешней среде и другие особенности инфекции.

Эпидемиология. Источником возбудителя является крупный и мелкий рогатый скот, лошади, верблюды. Инфекция неконтагиозна, поддерживается в природе, благодаря циркуляции возбудителя между многочисленными видами диких мелких млекопитающих, в основном, грызунов, а также птиц, с участием более 70 видов клещей. Инфекция у клещей бессимптомна, возбудитель передается потомству трансвариально и трансстадийно. Длительное (до 2 лет) сохранение жизнеспособности коксииелл в высохших фекалиях

клещей обеспечивает дополнительный источник инфицирования теплокровных. Наибольшую опасность представляют сельскохозяйственные животные в сезон массового отела и окота (февраль-май), когда в окружающую среду поступает с околоплодными водами большое количество кокцилл. Заражение — аэрогенное — в результате вдыхания аэрозолей, содержащих возбудителя, или пероральное — при употреблении в пищу мясных и молочных продуктов больных животных. Инфицирующая доза при аэрозольном заражении 1–10 кокцилл. Источником семейных вспышек могут быть рожающие кошки. В России стойкие высоко-активные очаги козье-овечьего типа сформировались в конце 80-х годов в индивидуальных хозяйствах ряда территорий (Поволжский, Центрально-Черноземный и Западно-Сибирский регионы). С начала официальной регистрации (1957) в России зафиксировано 11 510 заболеваний с ежегодным уровнем 110–225 случаев в 1992–1998 гг. Возбудитель же обнаружен на всех территориях земного шара, включая покрытые вечными льдами (Антарктида, Арктика, Гренландия), а также Новую Зеландию.

Клиника. Микробиологическая диагностика. Болезнь протекает в острой, подострой или хронической форме. Патогномичных симптомов не имеет; из-за отсутствия характерной клиники болезнь диагностируется, в основном, ретроспективно со значительным опозданием, особенно при подострой и хронической формах.

Инкубационный период при острой форме варьирует в пределах 3–39 (чаще 12–19) дней. Заболевание носит характер лихорадки с поражением дыхательной системы (пневмонии) и гепатолиенальным синдромом. Сыпь не характерна, в виде розеопапул у 5–25 % больных. Длительность болезни при наиболее частом гриппоподобном течении — до 10–20 суток. Летальность невысока, не более 1 %. Постинфекционная астения у части больных сохраняется до 6 месяцев. Эндокардиты кокциллезной этиологии развиваются спустя 3–20 лет после острой стадии болезни.

Первичными клетками-мишенями для кокцилл служат гистиоциты и макрофаги (мононуклеарные), дополнительно — клетки эндотелиальной системы кровеносных сосудов. Поражение эндотелия рассматривается как вторичное, что обуславливает развитие пери-

васкулитов, но не панваскулита в отличие от риккетсиозов.

Особенности кокцилл, связанные с их фазовым состоянием, затрудняют лабораторную диагностику. Последняя осуществляется с применением в серологических реакциях (РСК, РНИФ, ИФА) антигенов I и II фаз кокцилл. Обнаружение у больного IgG антител к антигену I фазы в титре 1:800 подтверждает хроническую (чаще всего эндокардит) форму болезни.

Лечение. Препаратами тетрациклинового (тетрациклин, доксициклин, моноциклин) и хинолонового (ципрофлоксацин, офлоксацин и др.) ряда. Лечение хронических форм и осложнений требует длительного, настойчивого комбинированного применения антибиотиков.

Профилактика. Существует живая вакцина на основе штамма М-44 (П. Ф. Здродовский, В. А. Гениг) кокцилл Бернета, однако ее применение целесообразно для вакцинации прежде всего сельскохозяйственных животных с целью уменьшения опасности выделения кокцилл в окружающую среду. Вакцинируются сотрудники лабораторий, работающие с кокциллами. Неспецифическая профилактика сводится к постоянному эпидемиологическому и санитарно-ветеринарному надзору за кокциллезом в эндемичных районах с последующей выбраковкой больных сельскохозяйственных животных.

16.11. Хламидии (семейство *Chlamydiaceae*)

Хламидии — бактерии, являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами, которые вызывают различные заболевания человека, животных и птиц. Своё название хламидии получили от греч. *chlamyda* — мантия, так как в пораженных клетках они образуют включения, окруженные оболочкой, напоминающей мантию.

Таксономическое положение. Хламидии относятся к порядку *Chlamydiales*, семейству *Chlamydiaceae*, роду *Chlamydia*. Различают три вида хламидий — *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, — вызывающих заболевания у человека, животных, а также несколько видов, патогенных только для животных (на-

Таблица 16.37. Классификация хламидий, патогенных для человека

| Вид | Биовар | Серовары хламидий | Заболевания |
|------------------------------|---|--|---|
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | Трахома (<i>Trachoma</i>) | A, B, B ₁ , C От D до K | Трахома и паратрахома Урогенитальный хламидиоз и пневмония новорожденных |
| | Лимфограну- лема венерум (<i>LGV</i>) | L ₁ , L ₂ , L _{2a} , L ₃ | Венерическая лимфогранулема |
| <i>Chlamydia psittaci</i> | — | 8 (13) сероваров | Орнитоз (пситтакоз) |
| <i>Chlamydia pneumoniae</i> | TWAR | TWAR, AR, RF, CWL | Пневмония, ОРЗ, атеросклероз, саркон- доз, бронхиальная астма |

пример, *C. pecorum*, *C. abortus*, *C. felis* и др.). Классификация патогенных для человека хламидий представлена в табл. 16.37.

Согласно последней классификации, семейство *Chlamydiaceae* предложено разделять на два рода: род *Chlamydia*, представленный видом *C. trachomatis*, и род *Chlamydophila*, в который включены виды *C. psittaci* и *C. pneumoniae*.

Морфологические и тинкториальные свойства. Хламидии — это мелкие грамотрицательные бактерии шаровидной или овоидной формы. Не образуют спор, не имеют жгутиков и капсулы.

Строение клеточной стенки хламидий отличается от других бактерий: она представляет собой двухслойную мембрану, ограничивающую периплазматическое пространство, не содержит (или содержит в небольшом количестве) N-ацетил-мурамовую кислоту — основной компонент пептидогликана. Ригидность клеточной стенке придают пептиды, перекрестно сшитые пептидными мостиками. В остальном хламидии сходны с другими грамотрицательными бактериями. Они имеют гликолипиды, аналогичные ЛПС наружной мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий, и при окраске по Граму приобретают красный цвет. Основным методом выявления хламидий является метод окраски по Романовскому—Гимзе.

Хламидии полиморфны, что связано с особенностями их репродукции. Уникальный цикл развития хламидий характеризуется чередованием двух различных форм существования — *элементарных* и *ретикулярных* (или *инициальных*) *тельца*.

Элементарные тельца представляют собой мелкие (размер 0,2–0,3 мкм) метаболически

неактивные инфекционные частицы, которые располагаются вне клетки. Они имеют толстую оболочку, состоящую из внутренней и наружной мембран, что определяет их относительно высокую устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды. Элементарные тельца окрашиваются по Романовскому—Гимзе в красный цвет. Внутри клеток элементарные тельца трансформируются в ретикулярные тельца.

Ретикулярные тельца являются вегетативной формой хламидий, обычно имеют овоидную форму и крупнее элементарных телец в несколько раз (их размер 0,4÷0,6×0,8÷1,2 мкм). Они располагаются внутриклеточно около ядра и окрашиваются по Романовскому—Гимзе в голубой или фиолетовый цвет. Инфекционность ретикулярных телец по сравнению с элементарными крайне мала.

Репродукция хламидий. Размножение хламидий, которые являются облигатными внутриклеточными паразитами, происходит в клетках, преимущественно эпителиальных. Элементарные тельца индуцируют фагоцитоз и захватываются клеткой-мишенью, попадая в нее путем эндоцитоза (рис. 16.1). После поглощения элементарные тельца оказываются внутри фагосомы и блокируют ее слияние с лизосомами. Благодаря этой своей особенности элементарные тельца «избегают» контакта с лизосомальными ферментами и беспрепятственно размножаются внутри фагосомы.

Внутри клеток элементарные тельца трансформируются в ретикулярные, которые, в свою очередь, многократно делятся бинарным делением, затем уплотняются и снова превращаются в элементарные тельца. В конце цикла

Репликативный цикл *Chlamydia trachomatis*

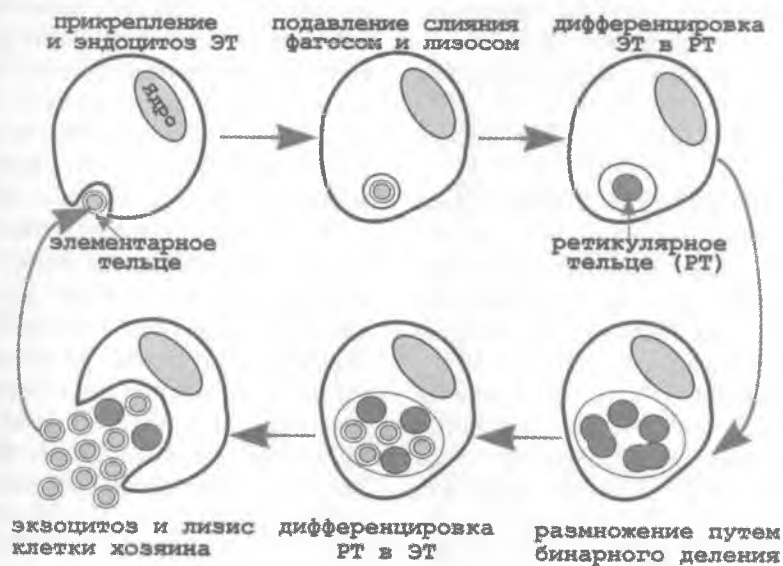


Рис. 16.1. Схема жизненного цикла хламидий с образованием ретикулярных телец (РТ) и элементарных телец (ЭТ) (рис. А. С. Быкова)

последние занимают большую часть клетки хозяина. Растягивая стенку вакуоли, они разрываю ее, а затем и плазматическую мембрану клетки. Цикл развития хламидий продолжается 24–48 ч и завершается гибелью клетки хозяина и выходом элементарных телец. Последние, освободившись, инфицируют соседние интактные клетки, и цикл повторяется.

Культивирование хламидий. Поскольку хламидии являются облигатными внутриклеточными паразитами, их можно размножить только в живых клетках. Природа паразитизма хламидий радикально отличается от таковой у вирусов: они не способны самостоятельно аккумулировать и использовать энергию. В этой связи хламидии, подобно риккетсиям, принято называть *энергетическими паразитами*.

Культивируют хламидии в желточном мешке развивающихся куриных эмбрионов, организме чувствительных животных и в культуре клеток типа HeLa, McCoу, Нер-2. Оптимальная температура культивирования +35 °С. Перед заражением культуры клеток облучают или обрабатывают циклогексамидом, что позволяет

хламидиям легче усваивать АТФ. *S. trachomatis*, возбудитель венерической лимфогранулемы, отличается более высокой вирулентностью и поэтому легче культивируется на всех предложенных живых моделях, не требуя даже предварительной подготовки культур клеток.

Ферментативная активность. Хламидии обладают небольшим набором ферментов. Они могут ферментировать пировиноградную кислоту, синтезировать некоторые липиды и т. д. Но хламидии не способны синтезировать высокоэнергетические соединения, и вне клеток хозяина их метаболические функции сведены до минимума. Обеспечение хламидий метаболитами осуществляется в основном за счет жизнедеятельности клеток хозяина. Причем некоторые метаболиты (например, изолейцин) могут являться ингибиторами роста хламидий и, вероятно, поэтому обеспечивают латентное течение хламидиоза.

Антигенная структура. Хламидии имеют антигены трех типов:

- ♦ родоспецифический термостабильный липополисахарид (гликолипид), находящийся в

клеточной стенке хламидий. Его выявляют с помощью РСК;

- ♦ видоспецифический антиген белковой природы, расположенный более поверхностно — в наружной мембране. Обнаруживают с помощью РИФ;

- ♦ вариантоспецифический антиген белковой природы.

Кроме того, *C. trachomatis* и *C. psittaci* располагают типоспецифическими антигенами, которые, вероятно, являются мембранными пептидами. Классификация хламидий на серологические варианты, основанная на их антигенной структуре, представлена в табл. 16.37.

Факторы патогенности. С белками наружной мембраны хламидий связаны их адгезивные свойства. Эти адгезины обнаруживают только у элементарных телец. Кроме того, хламидии образуют эндотоксин (ЛПС). Возможно, некоторые из них выделяют экзотоксин, обладающий летальным действием: при внутривенном введении он вызывает гибель мышей. По-видимому, белки наружной мембраны являются антифагоцитарным фактором, так как способны подавлять слияние фагосомы с лизосомой.

Кроме того, у некоторых хламидий обнаружен так называемый белок теплового шока (от англ. *heat-shock protein* — *HSP*), способный вызывать аутоиммунные реакции.

Резистентность. Резистентность хламидий к различным факторам внешней среды достаточно высока. Они устойчивы к низким температурам (не теряют активность даже при замораживании при $-50...-70^{\circ}\text{C}$), высушиванию. Так, например, возбудитель орнитоза может сохраняться во внешней среде (например, в подстилке гнезда птиц) до нескольких месяцев. Однако, как и все неспорообразующие бактерии, хламидии довольно чувствительны к нагреванию и быстро инактивируются различными дезинфектантами.

Эпидемиология, патогенез, клиника. Болезни, вызываемые хламидиями, называют *хламидиозами*. Различают антропонозные и зооантропонозные хламидиозы. Заболевания, вызываемые *C. trachomatis* и *C. pneumoniae*, — антропонозы. Орнитоз, возбудителем которого является *C. psittaci*, — зооантропонозная инфекция. Орнитоз от человека человеку не передается. *C. pecorum*, *C. abortus*, *C. felis* и другие виды хламидий поражают только животных.

Хламидии обладают эпителиотропностью и поэтому способны поражать эпителий различных органов. Массовое размножение хламидий в эпителиальных клетках приводит к разрушению слоя эпителия и образованию язв, которые заживают с образованием рубцов и спаек. Рубцовые изменения роговицы при трахоме приводят к слепоте, воспаление органов малого таза при урогенитальном хламидиозе ведет к бесплодию.

После гибели большого количества эпителиальных клеток возбудитель может попадать в кровь, паренхиматозные органы и фиксироваться в лимфоидной ткани. Это, в частности, характерно для венерического лимфогранулематоза и орнитоза. Кроме того, многие виды хламидий способны к латентному существованию или персистенции в организме хозяина, вызывая иммунную и аллергическую перестройку организма, как, например, при синдроме Рейтера (см. ниже).

16.11.1. Возбудители трахомы, конъюнктивита урогенитального хламидиоза и др. (серовары *Chlamydia trachomatis*)

C. trachomatis является возбудителем заболеваний мочеполовой системы, глаз и респираторного тракта человека. Отличительной особенностью этого вида хламидий является их способность накапливать гликоген в виде различного рода включений.

В настоящее время известно 18 сероваров *C. trachomatis*. Их принято разделять на «глазные», «генитальные» и «хламидии венерической лимфогранулемы».

- ✓ Серовары А, В, В₁ и С называют «глазными», так как они вызывают трахому.

- ✓ Серовары от D до K («генитальные») являются причиной урогенитального хламидиоза (негонokokковый уретрит) и его экстрагенитальных осложнений (таких как болезнь Рейтера, например).

- ✓ Серовары L₁, L₂, L_{2a}, L₃ вызывают венерическую лимфогранулему или паховый лимфогранулематоз.

Возбудитель трахомы — *C. trachomatis*

Трахома — хроническое инфекционное заболевание, характеризующееся поражением конъюнктивы и роговицы глаз, приводящее, как правило, к слепоте.

Название этой болезни пришло из глубокой древности. В переводе с греч. «*trachys*» означает «шероховатый, неровный». Это связано с тем, что при трахоме поверхность конъюнктивы выглядит бугристой в результате гранулематозного воспаления.

Возбудитель трахомы *Chlamydia trachomatis* был открыт раньше других хламидий в 1907 г. С. Провачеком и Л. Хальбершtedтером, которые впервые обнаружили в клетках роговицы больного включения, позднее названные тельцами Хальбершtedтера—Провачека (тельца Н-Р). Эти же ученые экспериментально доказали контагиозность трахомы, заразив orangutanгов материалом из соскоба конъюнктивы больного человека.

Эпидемиология. Трахома — антропонозная инфекция, которая передается от человека человеку контактно-бытовым путем: при непосредственном контакте или через предметы. Восприимчивость к трахоме высокая, особенно в детском возрасте. Существуют семейные очаги болезни.

Трахома отличается эндемичностью. Заболевание встречается в странах Азии, Африки, Центральной и Южной Америки, особенно широко распространено в странах с низким уровнем санитарной культуры и гигиены. В настоящее время более 400 млн человек заражены трахомой, из них 10–20 млн страдают частичной или полной потерей зрения.

В России наблюдаются спорадические, преимущественно завозные случаи трахомы.

Патогенез и клиника. Возбудитель трахомы, обладая эпителиотропностью, поражает слизистую оболочку глаз. Он проникает в эпителий конъюнктивы и роговицы, где размножается, разрушая клетки. Развивается фолликулярный кератоконъюнктивит (чаще двусторонний), который характеризуется появлением лимфоидных фолликулов (трахоматозных гранулем) в субэпителиальной ткани глаз. В запущенных случаях вся конъюнктура больного глаза усеяна зернышками, тесно прилегающими друг к другу, что напоминает «вареное саго». Начавшись в раннем детстве, заболевание прогрессирует на протяжении многих лет и прекращается лишь после образования рубцовой соединительной ткани на месте поражения, что часто приводит к слепоте.

Нередко наблюдается реинфекция, причем повторное заболевание характеризуется более тяжелым течением. Очень часто присоединяется вторичная инфекция, что, по-видимому, связано с формированием вторичного иммунодефицита при трахоме.

Иммунитет. После перенесенного заболевания не вырабатывается.

Микробиологическая диагностика. Заключается в исследовании соскоба с конъюнктивы. В пораженных клетках при окраске по Романовскому—Гимзе обнаруживают цитоплазматические включения фиолетового цвета с красным центром, расположенные около ядра — тельца Хальбершtedтера—Провачека (тельца Н-Р). Для выявления специфического хламидийного антигена в пораженных клетках применяют также РИФ и ИФА. Иногда прибегают к культивированию хламидий трахомы на куриных эмбрионах или в культуре клеток. Серологический метод малоинформативен из-за малой антигенной нагрузки при локальной инфекции, каковой является трахома.

Лечение. С помощью антибиотиков (тетрациклин) и иммуностимуляторов (интерферон).

Специфическая профилактика. Не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к соблюдению правил личной гигиены, повышению санитарно-гигиенической культуры населения.

Возбудитель урогенитального хламидиоза — *C. trachomatis*

Урогенитальный хламидиоз — заболевание, передающееся половым путем. Это — острое или хроническое инфекционное заболевание, которое характеризуется преимущественным поражением мочеполового тракта, обычно малосимптомным течением, но тяжелыми последствиями — развитием бесплодия.

Эпидемиология. Урогенитальный хламидиоз — антропонозная инфекция: ее источником служат больные люди (хламидии не являются представителями нормальной микрофлоры, поэтому их обнаружение у здоровых людей является доказательством хронического бессимптомного течения хламидиоза). Как источник

инфекции наиболее опасны женщины, у которых бессимптомное течение заболевания отмечается в 70–80% случаев. Заражение человека происходит через слизистые оболочки половых путей. Основной механизм заражения — контактный, путь передачи — половой. Однако возможно инфицирование и через различные предметы (белье, мочалка и др.). Описаны случаи семейного хламидиоза, возникшего в результате контактно-бытового инфицирования. Новорожденные могут заразиться от больной матери при прохождении через родовые пути (хламидиоз глаз, отиты, атипичные пневмонии хламидийной этиологии). Возможна также трансплацентарная передача возбудителя от матери плоду в процессе его внутриутробного развития (неонатальная патология — врожденный хламидиоз).

Генитальные серовары *Chlamydia trachomatis* могут попасть на слизистую оболочку глаз также при купании, в результате чего развивается кератоконъюнктивит («хламидиоз бассейнов»). Хламидийный конъюнктивит обычно является односторонним процессом.

Восприимчивость к болезни высокая. Полагают, что около 6–9% мужчин и 12–15% женщин в мире заражены хламидиями.

Патогенез и клиника. Входные ворота инфекции — как правило, слизистые оболочки половых органов. Инкубационный период около 5–30 дней. У женщин первоначально поражается шейка матки. У мужчин *Chlamydia trachomatis* первично инфицирует эпителий уретры. Урогенитальный хламидиоз часто называют «негонokokковый уретрит», так как у больных отмечают симптомы, напоминающие гонорею: зуд, выделения, боль при мочеиспускании. Однако эти признаки менее выражены, чем при гонорее. Далее развивается восходящая инфекция, которая у женщин клинически проявляется развитием цервицита, уретрита, эндометрита, сальпингита. У мужчин в результате хламидийной инфекции возникает эпидидимит или простатит. Воспалительный процесс в органах малого таза приводит к образованию спаек и рубцов, следствием чего является развитие непроходимости маточных труб у женщин, и семенных протоков у мужчин. Финалом воспалительных заболеваний органов малого таза хламидийной этиологии является развитие внематочной бе-

ременности у женщин, а также формирование женского и мужского бесплодия.

В некоторых случаях хламидийный уретрит может осложниться развитием экстрагенитальных осложнений и привести к болезни Рейтера. Полагают, что в основе патогенеза этого заболевания лежит аутоиммунный механизм. Показано, что выделяемый хламидиями при хроническом течении заболевания белок теплового шока сходен по своему аминокислотному составу с человеческим. Накапливаясь в организме человека, этот белок может «запускать» аутоиммунные процессы, приводящие к развитию реактивных артритов, синовитов нижних конечностей, асептическому уретриту и конъюнктивиту с полиморфным поражением кожи и слизистых оболочек. Кроме того, *C. trachomatis*, вероятно, стимулирует выработку антиспермальных антител. Синдром Рейтера, нередко наблюдаемый у мужчин, сочетает в себе триаду признаков: уретрит — конъюнктивит — реактивный артрит (это так называемый *уретроокулоусиновидный синдром*).

Хламидии могут также вызывать воспалительные реакции в прямой кишке. Нередко наблюдается сочетание урогенитального хламидиоза с гонореей, трихомониазом или другими заболеваниями, передающимися половым путем (ЗППП).

Иммунитет. При урогенитальном хламидиозе имеет преимущественно клеточный характер. В сыворотке крови инфицированных людей могут быть обнаружены специфические антихламидийные антитела, однако они не защищают от повторного заражения, так как не являются протективными. После перенесенного заболевания иммунитет не формируется.

Микробиологическая диагностика. При заболеваниях глаз применяют бактериоскопический метод — в соскобах с эпителия конъюнктивы или роговицы выявляют внутриклеточные включения (тельца Н-Р). При этом следует исследовать именно соскобы, а не мазки, так как для обнаружения типичных включений необходимо использовать большое количество клеток. При урогенитальном хламидиозе обнаружить хламидии в клетках эпителия мочевого тракта удается крайне редко.

Для выявления антигена хламидий в пораженных клетках применяют РИФ.

При поражении мочеполового тракта может быть применен биологический (культуральный) метод, основанный на заражении исследуемым материалом (соскобы эпителия из уретры, влагалища, шейки матки, биоптат из половых органов) культуры клеток. Культуру клеток (например, типа McCoу) предварительно обрабатывают циклогексамидом.

Постановка РИФ, ИФА, иммунохроматографический метод позволяют обнаружить антигены хламидий в исследуемом материале. С этой же целью применяют ПЦР, ДНК-гибридизацию.

Серологический метод, направленный на обнаружение специфических антихламидийных антител в парных сыворотках крови больного с помощью РПГА, РСК, ИФА, применяют редко, так как титры этих антител весьма малы. Серологический метод исследования может быть использован для обнаружения IgM против *C. trachomatis* при диагностике пневмонии новорожденных.

Лечение. Комплексное. Назначают антибиотики с направленной фармакокинетикой, которые способны длительно сохраняться внутри клеток. Наиболее эффективен с этой точки зрения азитромицин из группы макролидов. В связи с тем, что хламидии лишены полноценного пептидогликана, недопустимо использование β-лактамов. Одновременно с антибиотиками назначают иммуномодуляторы, эубиотики (лактобактерин в свечах или в виде аппликаций, местно), а также местные антисептические средства.

Профилактика только неспецифическая. Должна быть направлена на своевременное выявление и лечение больных урогенитальным хламидиозом. Для профилактики хламидиоза новорожденных беременным женщинам с хламидийной инфекцией назначают эритромицин (под контролем врача). К сожалению, закапывание в глаза новорожденным сульфацил-натрия, практикуемое для профилактики бленнореи, а также применение глазных мазей с эритромицином и тетрациклином не защищают от хламидийного конъюнктивита. Немаловажное значение имеет соблюдение правил личной гигиены, использование презервативов при половом контакте и выполнение других мероприятий, рекомендованных для профилактики ЗППП.

Специфическая профилактика. Не разработана.

Возбудитель венерической лимфогранулемы — *C. trachomatis*

Венерическая лимфогранулема — заболевание, передающееся половым путем, которое характеризуется поражением половых органов и регионарных лимфоузлов и, иногда, симптомами генерализации инфекции.

Эпидемиология. Источник инфекции — больной человек. Механизм заражения — контактный, путь передачи — половой или, реже, контактно-бытовой (через различные предметы).

Заболевание встречается преимущественно в странах с тропическим и субтропическим климатом — в Юго-Восточной Азии, Центральной и Южной Америке. Венерическая лимфогранулема характеризуется высокой восприимчивостью людей.

Патогенез и клиника. Входные ворота инфекции — слизистые оболочки половых органов. Возбудитель поражает не только эпителиальные клетки, но и обладает лимфотропностью. Хламидии венерической лимфогранулемы характеризуются повышенной инвазивностью.

После инкубационного периода, который продолжается от 3 до 30 дней, у больных появляются признаки поражения наружных половых органов — папулы, эрозии, язвочки. Затем микробы проникают в регионарные лимфатические узлы (обычно паховые), где интенсивно размножаются. В воспалительную реакцию вовлекаются не только группы лимфатических узлов, но и соединительная ткань, что приводит к формированию плотных опухолеподобных образований — бубонов. Бубоны затем вскрываются с образованием долго не заживающих fistул. Вскрытие бубонов сопровождается деструктивными изменениями в окружающих тканях. Важными признаками венерической лимфогранулемы являются местные лимфадениты, проктиты, абсцессы и рубцовые поражения прямой кишки.

Заболевание также сопровождается общими симптомами интоксикации: лихорадкой, головной болью, артралгией, иногда сыпью. Редко возможна генерализация процесса с развитием пневмонии, менингита, перикардита. Нарушение оттока лимфы вследствие образования спаек может приводить к развитию у

мужчин «слоновости» мошонки, пениса, у женщин — вульвы. Папилломатозные разрастания и спаечные процессы в области прямой кишки могут привести к ее непроходимости.

Течение заболевания длительное. Мужчины болеют чаще и тяжелее, чем женщины.

Иммунитет. После перенесенного заболевания вырабатывается стойкий, клеточный и гуморальный иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат гной из бубонов, биоптат из пораженных лимфоузлов, а также сыворотка крови. Диагностику венерической лимфогранулемы проводят с помощью бактериоскопического метода, биологического (культивирование в желточном мешке куриного эмбриона или в культуре клеток, а также при интрацеребральном заражении мышей), серологического (РСК с парными сыворотками положительна со 2–4-й недели заболевания, диагностический титр 1:64) и аллергологического (внутрикожная проба с аллергеном хламидий венерической лимфогранулемы — реакция Фрея) методов.

Лечение. Для лечения венерической лимфогранулемы применяют антибиотики — макролиды и тетрациклины, которые наиболее эффективны на ранних этапах болезни.

Профилактика. Неспецифическая, как при других венерических болезнях.

16.11.2. Возбудители пневмонии, бронхита (*C. pneumoniae*)

Возбудитель респираторного хламидиоза — *Chlamydia pneumoniae*

C. pneumoniae является возбудителем респираторного хламидиоза, вызывая преимущественно острые и хронические бронхиты и пневмонии.

В последнее время накапливаются данные о возможном участии этого вида хламидий в развитии атеросклероза и бронхиальной астмы.

Впервые атипичный штамм хламидий был изолирован от ребенка с трахомой на Тайване в 1965 г. Значительно позднее, в 1983 г., такой же штамм выделили в США от больного фарингитом. И только в 1989 г. Дж. Грейстон предложил называть хламидии, выделяемые от больных с заболеваниями респираторного тракта, *Chlamydia pneumoniae*.

C. pneumoniae обладает некоторыми отличиями от других хламидий: низкой степенью гомологии ДНК (имеют слабое генетическое родство с другими хламидиями); формой элементарных тельц (элементарные тельца *C. pneumoniae* копьевидной или копьевидной формы за счет расширения периплазматического пространства), а также видовым антигеном. *C. pneumoniae* плохо культивируются. При заражении культур клеток мокротой больных, откуда пытаются выделить возбудителя, клетки нередко погибают. *C. pneumoniae* может размножаться только клетках линий HeLa и Нер-2.

Вид *C. pneumoniae* имеет три биовара: *TW* (*TW-Taiwan, AR-Acute Respiratory*), вызывающая заболевания у человека, а также *Koala*, патогенный для коал, и *Equine* — конский. Биовар *TWAR* разделен на 4 серовара: *TWAR, AR, RF, CWL*. Серовар *TWAR* выделяется от человека чаще других.

Эпидемиология. Респираторный хламидиоз — антропонозная инфекция: источниками ее являются больные люди. Заражение происходит воздушно-капельным путем. Восприимчивость к инфекции высокая, особенно молодых людей старше 20 лет. Распространение инфекции в популяции идет медленно по-видимому, потому, что больные люди выделяют слишком мало хламидий, чтобы заразить окружающих. Однако у бессимптомных носителей хламидии способны накапливаться в верхних отделах респираторного тракта.

Заболевание широко распространено, особенно в Северной Европе, где до 10 % пневмоний вызываются *C. pneumoniae*.

Патогенез и клиника. Хламидии попадают в легкие человека через верхние дыхательные пути. Обладая выраженным тропизмом к эпителию дыхательных путей, эти бактерии вызывают воспаление верхних отделов респираторного тракта и легких (фарингит, бронхит, синусит, пневмония).

Благодаря тому, что их элементарные тельца имеют копьевидную форму, они заостренным концом прикрепляются к эпителиальным клеткам респираторного тракта. Внедряясь в легочную ткань и размножаясь, хламидии вызывают гибель клеток и тяжелое воспаление легких. Токсины хламидий и продукты распада клеток организма вызывают патологические изменения в различных органах.

Хламидии вызывают так называемые «атипичные пневмонии», которые клинически неотличимы от других подобных инфекций легких, вызванных микоплазмами, легионеллами или «респираторными» вирусами. Начало заболевания вялое, с незначительным подъемом температуры тела. Нередко одной из первых жалоб является синусит. Однако возможны бессимптомные и субклинические формы респираторного хламидиоза.

S. pneumoniae удалось обнаружить в атероматозных бляшках коронарных артерий и аорты, поэтому ученые обсуждают возможность участия *S. pneumoniae* в развитии атеросклероза. Возможно, этот вид хламидий также играет роль в возникновении саркоидоза, бронхиальной астмы, менингоэнцефалита, артритов и других заболеваний.

Иммунитет. Перенесенное заболевание не оставляет прочного иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Заключается в постановке РСК для обнаружения специфических антител (серологический метод). При первичном заражении учитывают обнаружение IgM, при реинфекции надежным признаком остается выявление нарастания титра иммуноглобулинов класса G. Применяют также РИФ для обнаружения хламидийного антигена и ПЦР.

Учитывая трудности выделения возбудителя, культуральный (биологический) метод диагностики применяют крайне редко.

Лечение. Проводят с помощью антибиотиков (обычно тетрациклины и макролиды).

Профилактика. Только неспецифическая, как при других антропонозных хламидиозах. Специфическая профилактика пока не разработана.

16.11.3. Возбудители орнитоза

(*S. psittaci*)

Возбудитель орнитоза — *Chlamydia psittaci*

S. psittaci является возбудителем орнитоза (пситтакоза) — остро (реже хроническое) инфекционного заболевания, которое характеризуется преимущественным поражением легких, иногда — нервной системы и паренхиматозных органов (печени, селезенки) и явлениями интоксикации.

Заболевание было описано в 1876 г. Ф. Юргенсенем и получило название «пситтакоз», так как источником вспышки тяжелой пневмонии были попугаи (греч. *psittakos* — попугай). В 1930 г. возбудитель был выделен С. Бедсоном от больных людей. Позднее болезнь получила название «орнитоз», так как резервуаром возбудителя могут быть многие виды птиц (греч. *ornis* — птица).

Эпидемиология. Орнитоз — зооантропонозное заболевание. Источником инфекции являются более 170 видов диких и домашних птиц — голуби, попугаи, канарейки, утки, воробьи и др. Наиболее вирулентные штаммы хламидий выделены от попугаев и из организма погибших от орнитоза людей. *S. psittaci* поражает также животных, особенно часто — крупный и мелкий рогатый скот. Поэтому животные также могут быть источником заболевания человека. Дополнительным источником инфекции для человека могут быть эктопаразиты птиц, а также крысы. От человека человеку заболевание передается крайне редко.

Таким образом, большое количество резервуаров возбудителя орнитоза объясняет широкую распространенность этого заболевания.

Механизм заражения — аэрогенный, пути передачи инфекции человеку — воздушно-капельный и воздушно-пылевой. Редко возможен фекально-оральный механизм заражения (путь — алиментарный): при употреблении в пищу мяса птицы, недостаточно хорошо обработанного термически. Иногда микробы заносятся грязными руками на слизистую оболочку глаз, носа, т. е. имеет место контактный путь передачи инфекции.

Восприимчивость людей к орнитозу высокая. Однако чаще наблюдаются спорадические случаи. Заболевание носит профессиональный характер: вспышки орнитоза отмечаются на птицефабриках, животноводческих фермах, мясокомбинатах.

Патогенез. Возбудители обычно попадают в организм через слизистые оболочки верхних дыхательных путей. Обладая эпителиотропностью, они проникают в эпителий бронхов, бронхиол и альвеол, где размножаются, разрушая клетки. Развивается воспаление. Токсины микробов и продукты распада

клеток вызывают интоксикацию. Хламидии попадают в кровь (бактериемия), разносятся по организму, поражая паренхиматозные органы (печень, селезенку), центральную нервную и сердечно-сосудистую системы, суставы. При орнитозе имеет место аллергия организма.

Клиника. Инкубационный период составляет от 6 до 10 дней. Заболевание всегда начинается остро — повышение температуры тела до 38–40 °С, признаки интоксикации. Орнитоз чаще протекает как тяжелая пневмония с геморрагическими проявлениями, напоминая вирусную или микоплазменную. В патологический процесс вовлекаются печень, почки, надпочечники, суставы. При осложненном течении орнитоза возможно развитие менингита и менингоэнцефалита, миокардита, эндокардита и перикардита.

Описана также новая форма хламидийной инфекции (при заражении от животных) — генерализованный хламидиоз зоонозной природы.

Орнитоз продолжается около месяца, хотя нередки и хронические формы.

Прогноз при своевременной диагностике и адекватном лечении, как правило, благоприятный. Однако возможны летальные исходы (в 2–3 % случаев).

Иммунитет. При орнитозе клеточно-гуморальный, нестерильный. Постинфекционный иммунитет непродолжительный и непрочный: реинфекция возможна уже через 0,5–2 года. Нередко также наблюдается длительное персистирование хламидий в организме и, следовательно, частые рецидивы болезни.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служит кровь (в первые дни заболевания), мокрота больного (на протяжении всего острого периода), сыворотка крови для серологического исследования.

Применяют биологический метод — культивирование хламидий в желточном мешке куриного эмбриона, на белых мышцах или в культуре клеток. Однако этот метод используется редко из-за высокой опасности заражения персонала.

Серологический метод диагностики орнитоза пока остается самым информативным. Применяют РСК, РПГА, ИФА, используя парные сыворотки больного. Диагностически

значимым является обнаружение IgM в высоких титрах, а также не менее, чем четырехкратное нарастание титра антител во второй сыворотке, взятой с интервалом 7–10 дней после первой.

Поскольку при орнитозе возможно формирование ГЗТ, для диагностики применяют также внутрикожную аллергическую пробу с орнитозным аллергеном (орнитином).

Лечение. С помощью антибиотиков (тетрациклинов и макролидов).

Профилактика. Только неспецифическая: регулирование численности голубей, санитарно-ветеринарные мероприятия в птицеводстве, просветительская работа, соблюдение мер личной гигиены.

Специфическая профилактика. Не разработана.

16.12. Микоплазмы

Заболевания человека, вызываемые микоплазмами, объединяют в группу микоплазмозов. Это антропонозные бактериальные инфекции, вызываемые микоплазмами, поражающими, в зависимости от вида возбудителя, органы дыхания или мочеполовой тракт и редко другие органы.

Возбудители этой группы инфекций — микоплазмы являются самыми мелкими свободноживущими бактериями. Средний размер их клеток 0,27–0,74 мкм. Они привлекают большое внимание исследователей по двум причинам:

- из-за своей уникальной организации;
- в силу того, что очень часто контаминировать культуры клеток, вызывают заболевания растений, животных и человека, оказывают влияние на размножение ряда вирусов, в том числе онкогенных и ВИЧ, и сами способны вызывать иммунодефициты.

Микоплазмы относятся к классу *Mollicutes*, который включает 3 порядка (рис. 16.2): *Acholeplasmatales*, *Mycoplasmatales*, *Anaeroplasmatales*. Порядок *Acholeplasmatales* включает семейство *Acholeplasmataceae* с единственным родом *Acholeplasma*. Порядок *Mycoplasmatales* состоит из 2 семейств:

Spiroplasmataceae с единственным родом *Spiroplasma* и *Mycoplasmataceae*, включающего 2 рода: *Mycoplasma* и *Ureaplasma*. Недавно выделенный порядок *Anaeroplasmatales* состоит из семейства *Anaeroplasmataceae*, включающего 3 рода: *Anaeroplasma*, *Asteroplasma*, *Termoplasma*. Термином «микоплазмы», как правило, обозначают все микробы семейств *Mycoplasmataceae* и *Acholeplasmataceae*.

Морфология. Отличительной особенностью является отсутствие ригидной клеточной стенки и ее предшественников, что обуславливает ряд биологических свойств: полиморфизм клеток, пластичность, осмотическую чувствительность, способность проходить через поры с диаметром 0,22 мкм, Резистентность к различным агентам, подавляющим синтез клеточной стенки, в том числе к пенициллину и его производным, множественность путей репродукции (бинарное деление, почкование, фрагментация нитей, цепочечных форм и шаровидных образований). Клетки размером 0,1–1,2 мкм, грамтрицательны, но лучше окрашиваются по Романовскому—Гимзе; различают подвижные и неподвижные виды. Минимальной репродуцирующейся единицей является элементарное тельце (0,7–0,2 мкм) сферическое или овальное, позднее удлиняющееся вплоть до разветвленных нитей. Клеточная мембрана находится в жидкокристаллическом состоянии; включает белки, мозаично погруженные в два липидных слоя, основной компонент которых — холестерин. Размер генома наименьший среди прокариот (составляет $\frac{1}{16}$ генома риккетсий); обладают минимальным набором органелл (нуклеоид, цитоплазматическая мембрана, рибосомы). Соотношение ГЦ-пар в ДНК у большинства видов низкое (25–30 мол.%), за исключением *M. pneumoniae* (39–40 мол.%). Теоретический

минимум содержания ГЦ, необходимый для кодирования белков с нормальным набором аминокислот, равен 26 %, следовательно, микоплазмы находятся у этой грани. Простота организации, ограниченность генома определяют ограниченность их биосинтетических возможностей.

Культуральные свойства. Хемоорганотрофы, у большинства видов метаболизм бродильный; основной источник энергии — глюкоза или аргинин. Растут при температуре 22–41 °С (оптимум — 36–37 °С); оптимум рН — 6,8–7,4. Большинство видов — факультативные анаэробы; чрезвычайно требовательны к питательным средам и условиям культивирования. Питательные среды должны содержать все предшественники, необходимые для синтеза макромолекул, обеспечивать микоплазмы источниками энергии, холестерином, его производными и жирными кислотами. Для этого используют экстракт говяжьего сердца и мозга, дрожжевой экстракт, пептон, ДНК, НАД в качестве источника пуринов и пиримидинов, которые микоплазмы синтезировать не могут. Дополнительно в среду вносятся: глюкоза — для видов, ферментирующих ее, мочевины — для уреаплазм и аргинин — для видов, не ферментирующих глюкозу. Источником фосфолипидов и стиролов служит сыворотка крови животных, для большинства микоплазм — сыворотка крови лошади.

Осмотическое давление среды должно быть в пределах 10–14 кгс/см² (оптимальное значение — 7,6 кгс/см²), что обеспечивается введением ионов K⁺ и Na⁺. Виды, ферментирующие глюкозу, лучше растут при более низких значениях рН (6,0–6,5). Требования к аэрации различны у различных видов, большинство видов лучше растет в атмосфере, состоящей из 95 % азота и 5 % углекислого газа.

| Класс Mollicutes | | | | | | |
|--|--|-------------------------|------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|
| Порядок <i>Acholeplasmatales</i> | Порядок <i>Anaeroplasmatales</i> | | | Порядок <i>Mycoplasmatales</i> | | |
| Семейство <i>Acholeplasmataceae</i> | Семейство <i>Anaeroplasmataceae</i> | | | Семейство <i>Spiroplasmataceae</i> | Семейство <i>Mycoplasmataceae</i> | |
| Род <i>Acholeplasma</i> | Род <i>Anaeroplasma</i> | Род <i>Asteroplasma</i> | Род <i>Termoplasma</i> | Род <i>Spiroplasma</i> | Род <i>Ureaplasma</i> | Род <i>Mycoplasma</i> |

Рис. 16.2. Микоплазмы

Микоплазмы культивируют на жидких, полужидких и плотных питательных средах. Некоторые виды, например *M. pneumoniae*, можно культивировать на стекле или пластике в виде монослоя, как культуры клеток. Большинство видов размножается медленно, культивирование продолжается несколько дней или даже недель (*M. pneumoniae*, *M. genitalium*). *M. hominis* достигает начала стационарной фазы роста только через 48–72 ч, титр культуры составляет 10^7 – 10^8 КОЕ/мл, такой титр сохраняется в стационарной фазе роста в течение 5–7 суток культивирования. Уреаплазмы имеют очень короткую стационарную фазу, их жизнеспособность резко падает уже через 24 ч, когда погибает приблизительно 90 % клеток, особенно в плохо забуференной среде. Бульонные культуры микоплазм слегка опалесцируют; уреаплазмы не вызывают помутнения среды даже при титре 10^7 КОЕ/мл. В толще полужидкого агара микоплазмы и уреаплазмы образуют светлое облачко по ходу укола пипетки, заметное в проходящем свете. На плотных средах микоплазмы образуют характерные мелкие колонии (0,1–0,3 мм) с приподнятым центром («яичница глазунья»), имеющие тенденцию вращаться в среду и нежной, часто ажурной периферией; уреаплазмы образуют очень мелкие колонии (0,01–0,03 мм в диаметре). Рост подавляется специфическими иммунными сыворотками.

Для культивирования пригодны куриные эмбрионы, которые погибают после 3–5 пассажей.

Биологические свойства микоплазм, выделенных от человека представлены в табл. 16.38.

Биохимическая активность. Низкая. Выделяют 2 группы микоплазм:

- разлагающие с образованием кислоты глюкозу, мальтозу, маннозу, фруктозу, крахмал и гликоген («истинные» микоплазмы);
- восстанавливающие соединения тетразолия, окисляющие глутамат и лактат, но не ферментирующие углеводы.

Все виды не гидролизуют мочевины и эскулин. Основные биохимические свойства патогенных микоплазм представлены в табл. 16.39.

* а. у. — аэробные условия.

** ан. у. — анаэробные условия.

Уреаплазмы инертны к сахарам, не восстанавливают диазокрасители, каталазаотрицательны; проявляют β -гемолитическую активность к эритроцитам кролика и морской свинки; продуцируют гипоксантин. Уреаплазмы секретируют фосфолипазы A_1 , A_2 и C; протеазы, селективно действующие на молекулы IgA и уреазу. Отличительная особенность метаболизма — способность продуцировать насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты.

Антигенная структура. Сложная, имеет видовые различия; основные АГ представлены фосфо- и гликолипидами, полисахаридами и белками; наиболее иммуногенны поверхностные АГ, включающие углеводы в составе сложных гликолипидных, липогликановых и гликопротеиновых комплексов. Антигенная структура может изменяться после многократных пассажей на бесклеточных питательных средах. Характерен выраженный антигенный полиморфизм с высокой частотой мутаций.

M. hominis в мембране содержит 9 интегральных гидрофобных белков, из которых лишь 2 более или менее постоянно присутствуют у всех штаммов.

У уреаплазм выделяют 16 сероваров, разделенных на 2 группы (А и В); основные антигенные детерминанты — поверхностные полипептиды.

Факторы патогенности. Разнообразны и могут значительно варьировать; основные факторы — адгезины, токсины, ферменты агрессии и продукты метаболизма. Адгезины входят в состав поверхностных АГ и обуславливают адгезию на клетках хозяина, что имеет ведущее значение в развитии начальной фазы инфекционного процесса. Экзотоксины в настоящее время идентифицированы лишь у нескольких непатогенных для человека микоплазм, в частности у *M. neurolyticum* и *M. gallisepticum*; мишени для их действия — мембраны астроцитов. Предполагают наличие нейротоксина у некоторых штаммов *M. pneumoniae*, так как часто инфекции дыхательных путей сопровождаются поражениями нервной системы. Эндотоксины выделены у многих патогенных микоплазм; введение лабораторным животным вызывает пирогенный эффект, лейкопению, геморраги-

ГЛАВА 16. Частная бактериология

Таблица 16.38. Биологические свойства микоплазм основных видов

| Вид | Источник энергии | Взаимодействие с эритроцитами | | Редукция тетразолия | Формирование пленки и пятен на поверхности среды | Фосфатазная активность |
|-----------------------|-------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|--|------------------------|
| | | Гемадсорбция | гемолиз и гемагглютинация | | | |
| <i>M. pneumoniae</i> | Глюкоза | + | + | + | - | - |
| <i>M. hominis</i> | Аргинин | - | - | - | - | - |
| <i>M. genitalium</i> | Глюкоза | + | - | В аэробных условиях | - | - |
| <i>M. fermentans</i> | Аргинин и глюкоза | - | - | - | + | + |
| <i>M. salivarium</i> | Аргинин | + (барана, человека) | + | - | + | + |
| <i>M. orale</i> | Аргинин | - | - | - | - | - |
| <i>M. buccale</i> | Аргинин | - | - | - | - | - |
| <i>M. lipofitum</i> | Аргинин | - | - | - | - | - |
| <i>M. artritidis</i> | Аргинин | - | - | - | - | + |
| <i>M. penetrans</i> | Аргинин и глюкоза | + | слабый гемолиз | + в аэробных и анаэробных условиях | - | + |
| <i>M. pirum</i> | Аргинин и глюкоза | - | - | - | - | - |
| <i>M. primatum</i> | Аргинин | - | - | - | - | - |
| <i>U. urealyticum</i> | Мочевина | + | + (кролика, морской свинки) | - | - | - |
| <i>A. laidlawii</i> | Глюкоза | + | + | - | - | - |

Таблица 16.39. Основные биохимические свойства микоплазм, патогенных для человека

| Вид | Гидролиз аргинина | Образование кислоты при ферментации глюкозы | Образование кислоты при ферментации маннозы | Восстановление солей тетразолия (а. у.*/ан. у.**) |
|----------------------|-------------------|---|---|---|
| <i>M. pneumoniae</i> | - | + | + | +/+ |
| <i>M. hominis</i> | + | - | - | -/- |
| <i>M. fermentans</i> | + | + | - | -/+ |
| <i>M. genitalium</i> | - | + | ± | +/- |

ческие поражения, коллапс и отек легких. По своей структуре и некоторым свойствам они несколько отличаются от ЛПС грамотрицательных бактерий. У некоторых видов встречаются гемолизины (наибольшей гемолитической активностью обладает *M. pneumoniae*); большая часть видов вызывает выраженный β-гемолиз, обусловленный синтезом свободных кислородных радикалов. Предположительно микоплазмы не только сами синтезируют свободные

кислородные радикалы, но и индуцируют их образование в клетках, что ведет к окислению мембранных липидов. Среди ферментов агрессии основными факторами патогенности являются фосфолипаза А и аминоксептидазы, гидролизующие фосфолипиды мембраны клетки. Многие микоплазмы синтезируют нейраминидазу, которая осуществляет взаимодействие с поверхностными структурами клетки, содержащими сиаловые кислоты; кроме того,

активность фермента нарушает архитектуру клеточных мембран и межклеточные взаимодействия. Среди прочих ферментов следует упомянуть протеазы, вызывающие дегрануляцию клеток, в том числе и тучных, расщепление молекул АТ и незаменимых аминокислот, РНКазы, ДНКазы и тимидинкиназы, нарушающие метаболизм нуклеиновых кислот в клетках организма. До 20 % общей ДНКазной активности сосредоточено в мембранах микоплазм, что облегчает вмешательство фермента в метаболизм клетки. Некоторые микоплазмы (например, *M. hominis*) синтезируют эндопептидазы, расщепляющие молекулы IgA на интактные мономерные комплексы.

Устойчивость в окружающей среде. Низкая, особенно у «урогенитальных микоплазм». Микоплазмы и уреоплазмы чувствительны к фторхинолонам, макролидам, цефалоспорином, азалидам и тетрациклинам; 10 % уреоплазм резистентны к тетрациклинам и макролидам. Чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Микоплазмы широко распространены в природе. В настоящее время известно около 100 видов, они имеются у растений, моллюсков, насекомых, рыб, птиц, млекопитающих, некоторые входят в состав микробных ассоциаций организма человека. От человека выделяют 15 видов микоплазм; их перечень и биологические свойства приведены в табл. 16.38. *A. ladlawii* и *M. primatum* редко выделяются от человека; 6 видов: *M. pneumoniae*, *M. hominis*, *M. genitalium*, *M. fermentans (incognitis)*, *M. penetrans* и *U. urealyticum* обладают потенциальной патогенностью. *M. pneumoniae* колонизирует слизистую оболочку респираторного тракта; *M. hominis*, *M. genitalium* и *U. urealyticum* — «урогенитальные микоплазмы» — обитают в уrogenитальном тракте.

Источник инфекции — больной человек. Механизм передачи — аэрогенный, основной путь передачи — воздушно-капельный; восприимчивость высокая. Наиболее восприимчивы дети и подростки в возрасте 5–15 лет. Заболеваемость в популяции не превышает 4 %, но в закрытых коллективах, например в войсковых соединениях, может достигать 45 %. Пик заболеваемости — конец лета и первые осенние месяцы.

Источник инфекции — больной человек; уреоплазмы инфицируют 25–80 % лиц, ведущих активную половую жизнь и имеющих трех и более партнеров. Механизм передачи — контактный; основной путь передачи — половой, на основании чего заболевание включают в группу ЗППП; восприимчивость высокая. Основные группы риска — проститутки и гомосексуалисты; уреоплазмы значительно чаще выявляют у больных гонореей, трихомониазом, кандидозом.

Патогенез. Микоплазмы — мембранные паразиты. Они могут быть обнаружены лишь внутри тех клеток, которые способны к фагоцитозу, за исключением *M. penetrans* и некоторых штаммов *M. fermentans*, активно проникающих в клетки. Способность микоплазм паразитировать на мембране эукариотической клетки во многом определяет патогенез вызываемых ими инфекций, который включает формирование местных воспалительных и генерализованных аутоиммунных реакций. Микоплазмы проникают в организм, мигрируют через слизистые оболочки и прикрепляются к эпителию сначала посредством неспецифического, а затем лигандрецепторного взаимодействия через сиалогликопротеиновые рецепторы, а также посредством связывания поверхностных белков с различными рецепторами. Микробы не проявляют выраженного цитопатогенного действия, но вызывают значительные нарушения функциональных свойств клеток с последующим развитием местных воспалительных реакций. Взаимодействие с рецепторным аппаратом клеток может приводить к нарушению их антигенной структуры и запуску аутоиммунных процессов. Дефекты системы комплемента создают условия для персистенции возбудителя, что ведет к расстройствам гемостаза, повреждению эндотелия, гиперагрегации тромбоцитов, активации плазменных факторов свертывания и развитию синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

Клиника. Респираторный микоплазмоз может протекать в форме ограниченной инфекции верхних дыхательных путей (назофарингит) либо по типу бронхита или пневмонии, а также различных внереспираторных проявлений, связанных с генерализацией инфекционного процесса, развитием аутоиммунных реакций и нарушением гемоциркуляции. *M. pneumoniae* — один из основных возбудителей легочных поражений, вызывает до 20 % всех пневмоний. Пневмонии протекают по типу интерстициальных и очаговых поражений; реже наблюдают сегментарные, долевые или смешан-

ные пневмонии. В тяжелых случаях развивается плеврит. Вне респираторные проявления: гемолитическая анемия, неврологические расстройства (менингит, поражения периферического отдела ЦНС и черепно-мозговых нервов), осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы (миокардиты) и опорно-двигательного аппарата (реактивный артрит, спондилоартрит, ревматоидный артрит).

«Урогенитальные микоплазмы» вызывают острые, но чаще хронические ГВЗ мочеполового тракта. Доказана их роль в развитии негонококковых уретритов, спонтанных абортх, преждевременных родах, привычном невынашивании беременности, рождении детей с низкой массой тела и пороками развития, бесплодия мужчин и женщин. Вместе с тем микоплазмозительство не всегда является показателем патологического процесса. Состояние иммунной системы, физиологическое состояние и гормональный фон человека, наличие других сопутствующих инфекций могут способствовать активации репродукции «урогенитальных микоплазм» и развитию клинически выраженного патологического процесса.

Иммунитет. Развитие иммунного ответа не сопровождается формированием специфической резистентности; для респираторного и урогенитального микоплазмоза характерны случаи повторного заражения. Фагоцитоз незавершенный, при отсутствии АГ макрофаги не способны фагоцитировать микоплазмы, что обусловлено наличием микрокапсул, поверхностных АГ, перекрестно реагирующих с АГ некоторых тканей организма человека (легкие, печень, головной мозг, поджелудочная железа, гладкая мускулатура и эритроциты).

В цитоплазме нейтрофилов возбудитель сохраняет свою жизнеспособность. Микоплазмы чувствительны к компонентам комплемента, их дефицит или дефекты создают условия для персистенции возбудителя. Короткоживущие IgA определяют элиминацию возбудителя со слизистых оболочек; поликлональная стимуляция лимфоцитов ведет к формированию инфильтратов в легочной ткани, появлению перекрестно реагирующих АГ и развитию ГЗТ. Для микоплазмоза характерно развитие аутоиммунных реакций. Инфекция *M. fermentans* сопровождается образованием АТ к IgG (за счет связывания Fc-фрагментов), т. е. ревматоидного фактора, участвующего в повреждении клеток. Повреждение суставных тканей индуцируют АТ, перекрестно реагирующие с АГ тка-

ней организма при повреждении целостности хрящевой ткани и обнажении «скрытых» клеточных АГ.

Микробиологическая диагностика. При позрении на респираторный микоплазмоз исследуют мазки из носоглотки, лаважную жидкость, мокроту, бронхиальные смывы, а также мазки-отпечатки тканей органов мертворожденных и абортированных плодов. При урогенитальных инфекциях исследуют срединную порцию утренней мочи, соскобы со слизистой уретры, сводов влагалища, цервикального канала, материал, полученный при лапароскопии, амниоцентезе, мазки-отпечатки тканей органов мертворожденных и абортированных плодов. При простатите исследуют секрет простаты, при мужском бесплодии — сперму. При заборе материала соблюдают те же правила, как и при исследовании на хламидиоз.

Для лабораторной диагностики микоплазменных инфекций используют *культуральный, серологический и молекулярно-генетический методы* (табл. 16.40):

При серодиагностике материалом для исследования служат мазки-отпечатки тканей, соскобы из уретры, цервикального канала и влагалища, секрет простаты и сперма, в которых можно обнаружить АГ микоплазм в прямой и непрямой РИФ. Микоплазмы и уреоплазмы окрашиваются в ярко-зеленый цвет и выявляются на поверхности анализируемых клеток в виде зеленых гранул, расположенных группами или по одиночке, окрашенные зеленые гранулы могут располагаться в неклеточном пространстве. Цитоплазма клеток окрашивается в красно-бурый цвет. Результат считается положительным, если в препарате обнаруживают не менее 10 светящихся зеленых гранул, расположенных на мембране клеток.

АГ микоплазм могут быть обнаружены также в сыворотке крови больных. Для этого используют реакцию агрегат-гемагглютинации (РАГА) и ИФА.

Особенность РАГА заключается в том, что для сенсibilизации эритроцитов используют агрегированные глутаровым альдегидом белки иммунной сыворотки, при этом АТ вводятся в состав трехмерных белковых комплексов, вследствие чего часть активных центров АТ отдалается от поверхности эритроцита и становится более доступной для детерминант АГ.

Для серодиагностики респираторного микоплазмоза определяют специфические АТ в парных сыворотках больного, диагностическое значение имеет сероконверсия в 4 раза и более. Определение АТ при урогенитальных инфекциях имеет меньшее диагностическое значение, так как инфекция, как правило, имеет хроническое течение, а «урогенитальные микоплазмы» являются слабыми антигенными раздражителями. Тем не менее и при урогенитальных микоплазмозах в ряде случаев проводят серодиагностику, АТ определяют чаще всего в РПГА и ИФА.

Молекулярно-биологические методы диагностики включают гибридизацию на основе ДНК-зондов и ПЦР. Первый метод позволяет идентифицировать виды микоплазм при наличии 10 000–100 000 клеток на пробу. ПЦР позволяет выявить единичные клетки микоплазм.

Лечение. Антибиотиками. Направленная этиотропная химиотерапия обычно дает хороший эффект, однако исчезновение клинической симптоматики часто не означает полную элиминацию возбудителя.

Профилактика. Специфическая профилактика отсутствует. Не специфическая профилактика направлена на ликвидацию источника инфекции; на разрыв механизма и путей передачи; а также на повышение невосприимчивости коллектива к инфекции.

16.13. Общая характеристика бактериальных зоонозных инфекций

Зоонозы (антропозоонозы) — группа инфекционных паразитарных болезней человека, при которых источником и резервуаром инфекции являются инфицированные животные (больные или носители).

Выделяют 2 группы зоонозов:

- передаваемые от домашних и синантропных животных (сибирская язва, бруцеллез, туберкулез, сальмонеллез, лептоспирозы, сап, мелиоидоз, орнитоз, ящур, аспергиллез, трихофития, микроспория, балантидиаз, токсоплазмоз, трипаносомоз, лейшманиоз и др.);
- передаваемые от диких животных — природно-очаговые зоонозы (чума, туляремия, листериоз, клещевые спирохетозы, риккет-

сиозы, геморрагические лихорадки, вирусные энцефалиты и др.).

Возбудителями зоонозных инфекций могут быть все представители мира микробов: бактерии, грибы, простейшие и вирусы. Группа зоонозных инфекций объединена на основе общности эпидемиологии. В данном разделе рассматриваются только важнейшие бактериальные зоонозы, другие зоонозы будут рассмотрены в других главах учебника.

Так как зоонозы объединены вместе на основе сходства эпидемиологии, то для всех зоонозных инфекций характерны общие черты эпидемиологии, патогенеза, иммунитета, клиники, подходов к микробиологической диагностике, лечению и профилактике.

Общие черты зоонозных инфекций

Источником инфекции являются животные — больные или носители. Человек как источник инфекции, за редким исключением (например, при чуме), особой роли не играет, случаи заражения человека человеком крайне редки или вообще не наблюдаются, так как при ряде инфекций, например при бруцеллезе, человек является биологическим тупиком.

Большинство зоонозов является *природно-очаговыми* заболеваниями. Природные очаги сформировались в глубокой древности в ходе эволюции паразитизма. Они представляют собой обширные географические ландшафты, к границам которых приурочен ареал распространения в природе вида или видов животных, являющихся резервуаром данной инфекции в природе. Если в эпидемическом процессе имеется переносчик, то и его ареал также приурочен к границам данного природного очага. Эпидемический процесс (эпизоотия) в популяции животных протекает автономно, без участия человека по законам саморегуляции. Увеличение численности популяции животных за счет естественного прироста ведет к активизации механизмов передачи и подъему эпизоотии, что ведет к гибели части популяции, а другая часть, переболев, приобретает иммунитет. В связи с этим иммунная прослойка в популяции увеличивается, и эпизоотия идет на убыль, переходит в фазу резервации. С появлением новых поколений неиммунных животных в популяции вновь увеличивается численность неиммун-

Таблица 16.40. Лабораторная диагностика микоплазменных инфекций

| Метод | Цель исследования | Применяемый тест |
|--------------------------|----------------------------|--|
| Бактериологический | Выделение возбудителя | Посев исследуемого материала на элективные питательные среды, выделение и идентификация чистой культуры возбудителя. |
| Серологический | Обнаружение АГ возбудителя | РАГА, РИФ, ИФА |
| | Выявление АТ к возбудителю | РПГА, ИФА, РИА и др. |
| Молекулярно-генетический | Выявление ДНК возбудителя | ПЦР, ДНК-зонды |

ной прослойки, и эпизоотия, переходя в фазу распространения, вспыхивает с новой силой. После чего все повторяется сначала. Таким образом, эпизоотия протекает бесконечно с циклическими колебаниями. Человек вовлекается в эпидпроцесс при зоонозах вторично, в результате освоения территории природного очага, поэтому с филогенетических позиций человек является очень молодым, по сравнению с животными, участником эпидпроцесса. Если природные очаги сформировались десятки и сотни тысяч лет тому назад, то человек участвует в эпидпроцессе при зоонозных инфекциях сотни, максимум тысячи лет.

Поскольку с эволюционных позиций человек недавно стал участником эпидпроцесса при зоонозах, то, в отличие от животных, за столь короткий интервал времени его организм не успел выработать адаптационных механизмов к возбудителям зоонозов; микробы также не успели как следует адаптироваться к организму человека. У возбудителей зоонозов в связи с этим *отсутствует органный тропизм*, т. е. избирательность поражения органов и тканей организма человека, они *особны поражать практически любой орган и любую ткань*, а следовательно, и передаваться с помощью различных механизмов и путей. Таким образом, *Эпидемиология зоонозов характеризуется множеством механизмов, путей и факторов передачи.*

Возбудители зоонозов являются полипатогенными микробами, они способны поражать большое количество различных видов животных. Так, например, возбудитель чумы

— около 250, туляремии — около 50 видов. Это придает высокую стабильность природным очагам, делая их практически неуничтожаемыми.

Зоонозами обычно заражаются и болеют лица, связанные по роду своей работы с животными: скотники, чабаны, пастухи, доярки, конюхи, ветеринарные врачи, охотники, скорняки, забойщики на мясокомбинатах и т. д., поэтому этим инфекциям присущ *профессиональный характер.*

Так как организм человека плохо адаптирован к возбудителям зоонозных инфекций, то клинически зоонозы *протекают очень тяжело, с высокой летальностью.* Клиническая картина зависит не столько от вида возбудителя, сколько определяется пораженным органом.

Микробиологическая диагностика проводится в лабораториях особо опасных инфекций, так как возбудители зоонозов по степени опасности относятся к 1-й и 2-й группам микробов. При лабораторной диагностике используются все пять методов микробиологической диагностики. Однако, учитывая биологическую опасность, все работы, связанные с их чистыми культурами, могут проводиться только в режимных лабораториях. В базовых лабораториях допускается проведение микробиологической диагностики зоонозных инфекций, но с использованием методов, не связанных с выделением чистой культуры. Поскольку от правильности и быстроты установления этиологического диагноза зависит своевременность, адекватность и, следовательно, эффективность лечебных и противоэпидемических

мероприятий, в диагностике зоонозов широко используются *методы экспресс-диагностики* (РИФ, ИФА, ПЦР, фагодиагностика и др.). Возбудители зоонозов вызывают сенсibilизацию организма, поэтому для их диагностики применяются кожно-аллергические пробы с соответствующими диагностическими аллергенами (пестин при чуме, тулярин при туляремии, бруцеллин при бруцеллезе и антраксин при сибирской язве).

Лечение большинства бактериальных зоонозов в настоящее время при своевременном поставленном диагнозе весьма эффективно, так как возбудители бактериальных зоонозов чувствительны к антибиотикам.

Специфическая профилактика проводится по эпидемическим показаниям иммунизацией живыми и другими вакцинами. Специфическая профилактика направлена на санитарную охрану территории, чтобы не допустить завоз этих возбудителей в страну или распространение их за пределы природных очагов, а также проведение санитарно-ветеринарных мероприятий.

Учитывая высокую биологическую опасность возбудителей зоонозов, особенно чумы, сибирской язвы, туляремии и др., они рассматриваются как *потенциальные агенты для использования в качестве бактериологического оружия или средств биотерроризма.*

ГЛАВА 17. ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

17.1. РНК-содержащие вирусы

17.1.1. Пикорнавирусы (семейство *Picornaviridae*)

Picornaviridae (исп. *pico* — малый, *gna* — рибонуклеиновая кислота) — семейство безоболочечных вирусов, содержащих однонитевую плюс РНК. Семейство насчитывает более 230 представителей и состоит из родов: Enterovirus (111 серотипов), Rhinovirus (105 серотипов), Aphovirus (7 серотипов), Hepatovirus (2 серотипа — 1 человека, 1 — обезьяны), Cardiovirus (2 серотипа); Parechovirus, Erbovirus, Kobuvirus — названия новых родов. Роды состоят из видов, виды — из серотипов.

Структура. Пикорнавирусы относятся к мелким просто организованным вирусам. Диаметр вируса — около 30 нм. Вирион состоит из икосаэдрического капсида, окружающего инфекционную однонитевую плюс РНК с протеином VPg (рис. 17.1).

Капсид состоит из 12 пятиугольников (пентамеров), каждый из которых, в свою очередь, состоит из 5 белковых субъединиц — протомеров. Протомеры образованы 4 вирусными полипептидами: VP1, VP2, VP3, VP4.

Репродукция. Вирус взаимодействует с рецепторами на поверхности клетки (рис. 17.2). Геном вируса может поступить в клетку путем эндоцитоза (1) с последующим выходом нуклеиновой кислоты (2) из вакуоли или путем инъекции РНК через цитоплазматическую мембрану (1) клетки. На конце РНК имеется вирусный протеин (3) — VPg. Геном используется, как иРНК, для синтеза белка (4, 5). Один большой полипротеин (4) транслируется с вирусного генома. Затем полипротеин расщепляется на индивидуальные вирусные протеины, включая РНК-зависимую полимеразу. Полимераза синтезирует минус-нить матрицу с поверхности плюс-нити и реплицирует геном. VPg ковалентно присоединяется к 5'-концу вирусного генома. Структурные

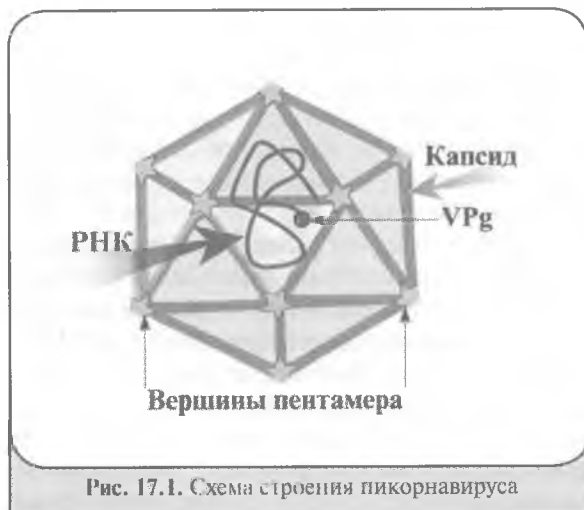


Рис. 17.1. Схема строения пикорнавируса

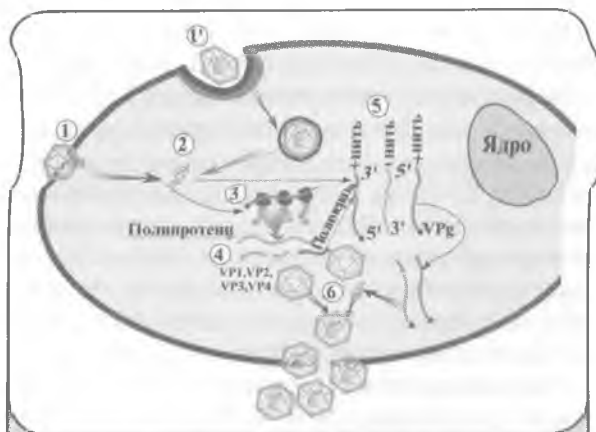


Рис. 17.2. Схема репродукции пикорнавирусов. Геном вируса может поступать в клетку эндоцитозом (1) или инъекцией (1) в цитоплазму геномной плюс-РНК (2). На конце геномной плюс-РНК имеется вирусный VPg-протеин (3). Геном используется как иРНК для синтеза полипротеина (4). Полипротеин расщепляется на индивидуальные вирусные протеины, включая РНК-зависимую полимеразу. Полимераза синтезирует (5) с геномной плюс-нити РНК минус-нить РНК (матрицу). В дальнейшем на основе репликативного звена из плюс/минус-нитей реплицируется геном вируса с присоединением VPg-протеина. Вирусы после сборки нуклеокапсида (6) выходят при лизисе клетки

белки собираются в капсид (б), в него включается геном, образуя вирион. Вирионы освобождаются из клетки посредством ее лизиса. Репродукция происходит в цитоплазме клеток и сопровождается цитопатическим действием. В культуре клеток под агаровым покрытием вирусы образуют бляшки.

17.1.1.1. Энтеровирусы

Энтеровирусы (от греч. *enteron* — кишка) — группа вирусов, обитающая преимущественно в кишечнике человека и вызывающая разнообразные по клиническим проявлениям болезни человека.

Энтеровирусы — РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*. Род включает вирусы полиомиелита, Коксаки А и В (по названию населенного пункта в США, где они были впервые выделены), ЕСНО (аббревиатура от англ. *Enteric cytopathogenic human orphan viruses* — кишечные цитопатогенные человеческие вирусы сироты), энтеровирусы типов 68, 69, 70, 71 и др. В настоящее время имеются другие варианты классификации рода *Enterovirus*: например, энтеровирусы человека представлены видом энтеровируса А, а также видами В, С и D, состоящими из серотипов.

Морфология и химический состав. Энтеровирусы — мелкие и наиболее просто организованные вирусы, имеют сферическую форму, диаметр 20–30 нм, состоят из одноцепочечной плюс-нитевой РНК и капсида с кубическим типом симметрии. Вирусы не имеют суперкапсидной оболочки. В их составе нет углеводов и липидов, поэтому они нечувствительны к эфиру и другим растворителям жира.

Культивирование. Большинство энтеровирусов (за исключением вирусов Коксаки А) хорошо репродуцируется в первичных и перевиваемых культурах клеток из тканей человека и сопровождается цитопатическим эффектом. В культурах клеток под агаровым покрытием энтеровирусы образуют бляшки.

Антигенная структура. Энтеровирусы имеют общие для всего рода группоспецифический и типоспецифические антигены.

Резистентность. Энтеровирусы устойчивы к факторам окружающей среды в широком диапазоне рН — от 2,5 до 11, поэтому они длительно (месяцами) сохраняются в воде,

почве, некоторых пищевых продуктах и на предметах обихода.

Многие дезинфектанты (спирт, фенол, поверхностно-активные вещества) малоэффективны в отношении энтеровирусов, однако последние погибают при действии УФ-лучей, высушивания, окислителей, формалина, температуры $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин, а при кипячении — в течение нескольких секунд.

Восприимчивость животных. Энтеровирусы различаются по патогенности для лабораторных животных. Вирусы Коксаки по патогенности для новорожденных мышей разделены на группы А и В. Вирусы ЕСНО непатогенны для всех видов лабораторных животных.

Эпидемиология и патогенез. Заболевания, вызываемые энтеровирусами, распространены повсеместно, отличаются массовым характером с преимущественным поражением детей.

Источником инфекции являются больные и носители. Из организма больного возбудители выделяются с носоглоточной слизью и фекалиями, из организма вирусоносителя — с фекалиями.

Энтеровирусы передаются через воду, почву, пищевые продукты, предметы обихода, загрязненные руки, через мух.

Водные и пищевые эпидемические вспышки энтеровирусных инфекций регистрируются в течение всего года, но наиболее часто в летние месяцы. В первые 1–2 недели болезни энтеровирусы выделяются из носоглотки, обуславливая воздушно-капельный путь передачи.

Возбудители инфекции проникают в организм человека через слизистые оболочки носоглотки и тонкой кишки, размножаются в их эпителиальных клетках и регионарных лимфатических узлах, затем попадают в кровь. Последующее распространение вирусов определяется их свойствами и состоянием больного.

Клиника. Энтеровирусы вызывают заболевания, характеризующиеся многообразием клинических проявлений, так как могут поражать различные органы и ткани: ЦНС (полиомиелит, полиомиелитоподобные заболевания (миалгия, миокардит), органы дыхания (острые респираторные заболевания), пищеварительный тракт (гастроэнтерит, диарея), кожные и слизистые покровы (конъюнктивит, лихорадочные заболевания с сыпью и без нее) и др.

Иммунитет. После перенесенной энтеровирусной инфекции формируется стойкий, но типоспецифический иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Методы диагностики — вирусологический и серологический с парными сыворотками больного. Вирусы выделяют из носоглоточной слизи в первые дни болезни, из кала, цереброспинальной жидкости. У погибших больных вирусы выделяют из пораженных органов. При серодиагностике характерно нарастание титров антител к энтеровирусам в 4 раза и более с 4–5-го до 14-го дня болезни.

Лечение. Патогенетическое. Применяют препараты интерферона в первые дни заболевания и другие противовирусные препараты.

Профилактика. Для профилактики энтеровирусных инфекций (за исключением полиомиелита) специфические средства не применяют. Большое значение имеет неспецифическая профилактика: своевременное выявление и изоляция больных, санитарный надзор за работой пищевых предприятий, водоснабжением, удалением нечистот и отходов. Детям, общавшимся с больными, рекомендуют интерфероновые препараты.

17.1.1.1.1. Вирусы полиомиелита

Полиомиелит — острое лихорадочное заболевание, которое иногда сопровождается поражением серого вещества (от греч. *polios* — серый) спинного мозга и ствола головного мозга, в результате чего развиваются вялые параличи и парезы мышц ног, туловища, рук.

Таксономия. Полиомиелит известен с глубокой древности. Вирусную этиологию болезни доказали К. Ландштайнер и Э. Поппер в 1909 г. Возбудитель полиомиелита относится к семейству *Picornaviridae*, роду *Enterovirus*, виду *Poliovirus*.

Структура. По структуре полиовирусы — типичные представители рода *Enterovirus*.

Антигенные свойства. Различают 3 серотипа внутри вида: 1, 2, 3, не вызывающие перекрестного иммунитета. Все серотипы патогенны для обезьян, у которых возникает заболевание, сходное по клиническим проявлениям с полиомиелитом человека.

Патогенез и клиника. Естественная восприимчивость человека к вирусам полиомиелита высокая. Входными воротами служат слизистые оболочки верхних дыхательных путей и пищеварительного тракта. Первичная репродукция вирусов происходит в лимфатических узлах глоточного кольца и тонкой кишки. Это обуславливает обильное выделение вирусов из носоглотки и с фекалиями еще до появления клинических симптомов болезни. Из лимфатической системы вирусы проникают в кровь (виремия), а затем в ЦНС, где избирательно поражают клетки передних рогов спинного мозга (двигательные нейроны). В результате этого возникают параличи мышц. В случае накопления в крови вируснейтрализующих антител, блокирующих проникновение вируса в ЦНС, ее поражения не наблюдается.

Инкубационный период продолжается в среднем 7–14 дней. Различают 3 клинические формы полиомиелита: паралитическую (1% случаев), менингеальную (без параличей), abortивную (легкая форма). Заболевание начинается с повышения температуры тела, общего недомогания, головных болей, рвоты, болей в горле. Полиомиелит нередко имеет двухволновое течение, когда после легкой формы и наступившего значительного улучшения развивается тяжелая форма болезни. Паралитическую форму чаще вызывает вирус полиомиелита серотипа 1.

Иммунитет. После перенесенной болезни остается пожизненный типоспецифический иммунитет. Иммунитет определяется, в основном, наличием вируснейтрализующих антител, среди которых важная роль принадлежит местным секреторным антителам слизистой оболочки глотки и кишечника (местный иммунитет). Эффективный местный иммунитет играет важнейшую роль в прерывании передачи «диких» вирусов и способствует вытеснению их из циркуляции. Пассивный естественный иммунитет сохраняется в течение 3–5 недель после рождения ребенка.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат кал, отделяемое носоглотки, при летальных исходах — кусочки головного и спинного мозга, лимфатические узлы.

Вирусы полиомиелита выделяют путем заражения исследуемым материалом первич-

ных и перевиваемых культур клеток. О репродукции вирусов судят по цитопатическому действию. Идентифицируют (типировать) выделенный вирус с помощью типоспецифических сывороток в реакции нейтрализации в культуре клеток. Важное значение имеет внутривидовая дифференциация вирусов, которая позволяет отличить «дикие» патогенные штаммы от вакцинных штаммов, выделяющихся от людей, иммунизированных живой полиомиелитной вакциной. Различия между «дикими» и вакцинными штаммами выявляют с помощью ИФА, реакции нейтрализации цитопатического действия вируса в культуре клеток со штаммоспецифической иммунной сывороткой, а также в ПЦР.

Серодиагностика основана на использовании парных сывороток больных с применением эталонных штаммов вируса в качестве диагностикума. Содержание сывороточных иммуноглобулинов классов IgG, IgA, IgM определяют методом радиальной иммунодиффузии по Манчини.

Лечение. Патогенетическое. Применение гомологичного иммуноглобулина для предупреждения развития паралитических форм весьма ограничено.

Эпидемиология и специфическая профилактика. Эпидемии полиомиелита охватывали в 1940–1950-х гг. тысячи и десятки тысяч человек, из которых 10 % умирали и примерно 40 % становились инвалидами. Основной мерой профилактики полиомиелита является иммунизация. Массовое применение вакцины против полиомиелита привело к резкому снижению заболеваемости.

Первая инактивированная вакцина для профилактики полиомиелита была разработана американским ученым Дж. Солком в 1953 г. Однако парентеральная вакцинация этим препаратом создавала лишь общий гуморальный иммунитет, не формировала местной резистентности слизистых оболочек ЖКТ и не обеспечивала надежной специфической защиты.

Естественно аттенуированные штаммы вирусов полиомиелита всех трех типов получил в 1956 г. А. Сэбин, а в 1958 г. М. П. Чумаков и А. А. Смородинцев разработали первую пероральную живую культуральную вакцину из трех серотипов штаммов Сэбина. Вакцину исполь-

зуют для массовой иммунизации детей, она создает **стойкий** общий и местный иммунитет.

Всемирная организация здравоохранения в 1988 г. приняла решение о глобальной ликвидации полиомиелита путем охвата прививками всего детского населения планеты. Под ликвидацией подразумевали прекращение заболеваний и искоренение вируса полиомиелита.

Использование оральной полиовакцины привело к практически полному исчезновению случаев полиомиелита в развитых странах Европы и в Америке и резкому снижению заболеваемости в развивающихся странах. В России случаи полиомиелита не регистрируются с 1 июля 2002 г.

У живой полиомиелитной вакцины имеются некоторые недостатки, наиболее серьезным из которых является возникновение случаев вакциноассоциированного полиомиелита у привитых и у контактных лиц, инфицированных вирусами, выделяемыми привитыми детьми. Контактное инфицирование происходит обычно вирусом одного серотипа.

Показано, что у иммунокомпетентных лиц отсутствует длительное носительство полиовируса после вакцинации, в то время как у лиц с иммунодефицитами вакцинный штамм может выделяться в течение 7–10 лет. Риск развития вакциноассоциированного паралитического полиомиелита у лиц с иммунодефицитами, особенно с нарушениями В-клеточного иммунитета выше, чем риск у иммунокомпетентных лиц.

Неспецифическая профилактика сводится к санитарно-гигиеническим мероприятиям, обеспечению населения доброкачественными водой, пищевыми продуктами, соблюдение личной гигиены; выявление больных и подозрительных на заболевание.

17.1.1.1.2. Вирусы Коксаки А и В

Вирусы Коксаки — РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*. Вирусы названы по населенному пункту в США, где они были впервые выделены. По патогенности для новорожденных мышей вирусы разделены на группы А и В (29 серотипов). Вирусы Коксаки А вызывают диффузный миозит и очаговый некроз поперечно-полосатых мышц; вирусы Коксаки В — поражение ЦНС, развитие параличей, некроз скелетной мускулатуры и — иногда — миокарда и др.

Вирусы Коксаки А вызывают у человека герпангину (герпетиформные высыпания на задней стенке глотки, дисфагия, лихорадка), пузырчатку в полости рта и конечностей, полиомиелитоподобные заболевания, диарею у детей; возможна сыпь.

Вирусы Коксаки В вызывают полиомиелитоподобные заболевания, энцефалит, миокардит, плевродинию (болезненные приступы в области груди, лихорадка, иногда плеврит).

Микробиологическая диагностика. Вирусологический метод: вирус выделяют из фекалий, отделяемого носоглотки, заражают культуры клеток HeLa или почек обезьян (Коксаки В, отдельные серотипы Коксаки А) или мышечных сосунков. Учитывают характер патологических изменений у зараженных мышечных сосунков. Вирусы идентифицируют в РТГА, РСК, РН, ИФА.

17.1.1.1.3. Вирусы группы ЕСНО

Вирусы группы ЕСНО — РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*; насчитывают более 30 видов. Вирусы ЕСНО (от англ. *Enteric cytopathogenic human orphan viruses* — кишечные цитопатогенные человеческие вирусы-сироты) непатогенны для всех видов лабораторных животных. Вызывают ОРВИ, асептический менингит, полиомиелитоподобные заболевания; возможна сыпь.

Микробиологическая диагностика. 1) Вирусологический метод: вирус выделяют из цереброспинальной жидкости, фекалий, отделяемого носоглотки; заражают культуры клеток почек обезьян. Вирусы идентифицируют в РТГА, РСК, РН, ИФА. 2) Серодиагностика: в сыворотке крови выявляют нарастание титра антител, используя РТГА, РСК, РН, ИФА.

17.1.1.2. Риновирусы

Риновирусы — РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Rhinovirus*. Последний представлен 2 видами, состоящими из 100 серотипов, наиболее часто вызывающих острые инфекции верхних дыхательных путей (ОРВИ). Рецептором риновирусов является межклеточная адгезивная молекула I (ICAM-1), которая экспрессируется на эпителиальных клетках, фибробластах и эндотелиальных клетках. Риновирусы могут пере-

даваться двумя механизмами: аэрозольным и контактно-бытовым. Проникают в организм через нос, полость рта, конъюнктиву. Процесс начинается в верхних дыхательных путях.

Микробиологическая диагностика.

1) Вирусологический метод: вирусы выделяют на культуре клеток, обнаруживают в РИФ. 2) Серологический метод: антитела выявляют в парных сыворотках крови пациента с помощью реакции нейтрализации.

17.1.1.3. Вирусы ящура

Вирусы ящура — РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Aphthovirus*, состоящего из одного вида, представленного 7 серотипами. Вызывают ящур — зоонозную инфекционную болезнь, характеризующуюся лихорадочным состоянием, язвенными (афтозными) поражениями слизистой оболочки рта, кожи кистей и стоп у человека. Вирусы ящура по морфологии и химическому составу сходны с другими пикорнавирусами. Обладают высокой вирулентностью и дерматотропностью.

Вирус может длительно (несколько недель) выживать в объектах окружающей среды, в пищевых продуктах; чувствителен к дезинфектантам. Естественным резервуаром вируса служат больные животные, особенно крупный рогатый скот. От больных животных вирус выделяется с молоком, со слюной и мочой. Человек заражается при уходе за больными животными, а также при употреблении сырого молока и молочных продуктов.

Восприимчивость человека к ящуру невысокая.

Микробиологическая диагностика. 1) Вирус выявляют в содержимом афт, слюне и крови путем заражения морских свинок, мышечных сосунков или культур клеток. 2) Для серодиагностики исследуют парные сыворотки крови в РСК, РН, РПГА, ИФА.

Профилактика. Профилактика ящура у человека — неспецифическая.

17.1.1.4. Вирус гепатита А

Вирусные гепатиты наносят огромный ущерб здоровью населения и экономике всех стран мира. Они подразделяются на энтеральные — гепатиты А и Е и парентеральные — гепатиты В, С, D, F, G и др. Вирусы парентеральных гепатитов описаны в гл. 17.6.

Вирус гепатита А вызывает острую инфекционную болезнь, характеризующуюся лихорадкой, преимущественным поражением печени, интоксикацией, иногда желтухой и отличающуюся склонностью к эпидемическому распространению. Антропоноз.

Заболевание (под другими названиями) известно с глубокой древности и описано еще Гиппократом в IV–V вв. до н. э. Вирус гепатита А открыт в 1973 г С. Фейнстоном.

Таксономия, морфология и антигенная структура. Вирус гепатита А относится к семейству *Picornaviridae* роду *Hepatovirus*. Типовой вид — вирус гепатита А — имеет один серотип. Это РНК-содержащий вирус, просто организованный, имеет диаметр 27–28 нм и один вирусоспецифический антиген.

Культивирование. Вирус выращивают в культурах клеток. Цикл репродукции более длительный, чем у энтеровирусов, цитопатический эффект не выражен.

Резистентность. Вирус гепатита А отличается большей, чем у энтеровирусов, устойчивостью к нагреванию; он сохраняется при 60 °С в течение 12 ч, инактивируется при кипячении в течение 5 мин. Относительно устойчив в во внешней среде (воде, выделениях больных).

Восприимчивость животных. Экспериментальную инфекцию возможно воспроизвести на обезьянах мармозетах и шимпанзе.

Эпидемиология. Источником инфекции являются больные как с выраженными, так и с бессимптомными формами инфекции. Механизм заражения — фекально-оральный. Вирусы выделяются с фекалиями начиная со второй половины инкубационного периода и в начале клинических проявлений: в это время больные наиболее опасны для окружающих. С появлением желтухи интенсивность выделения вирусов снижается. Вирусы гепатита А передаются через воду, пищевые продукты, предметы обихода, грязные руки; в детских коллективах — через игрушки, горшки. Вирусы способны вызывать водные и пищевые эпидемические вспышки.

Гепатит А распространен повсеместно, но особенно в местах с дефицитом воды, плохими системами канализации и водоснабжения и низким уровнем гигиены населения.

Болеют преимущественно дети в возрасте от 4 до 15 лет. Подъем заболеваемости наблюдается в летние и осенние месяцы.

Патогенез. Вирус гепатита А обладает гепатотропизмом. После заражения репликация вирусов происходит в кишечнике, а оттуда через портальную вену они проникают в печень и реплицируются в цитоплазме гепатоцитов. Повреждение гепатоцитов возникает не за счет прямого цитотоксического действия, а в результате иммунопатологических механизмов.

Клиника. Инкубационный период составляет от 15 до 50 дней, чаще около месяца. Начало острое, с повышением температуры и явлениями со стороны ЖКТ (тошнота, рвота и др.). Возможно появление желтухи на 5–7-й день. Клиническое течение заболевания, как правило, легкое, без особых осложнений; у детей до 5 лет — обычно бессимптомное. Продолжительность заболевания 2–3 недели. Хронические формы не развиваются.

Иммунитет. После инфекции формируется стойкий пожизненный иммунитет, связанный с IgG. В начале заболевания в крови появляются IgM, которые сохраняются в организме в течение 4–6 месяцев и имеют диагностическое значение. У детей первого года жизни обнаруживаются антитела, полученные от матери через плаценту. Помимо гуморального, развивается и местный иммунитет в кишечнике.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат сыворотка и испражнения. Диагностика основана главным образом на определении в крови IgM с помощью ИФА, РИА и иммунной электронной микроскопии. Этими же методами можно обнаружить вирусный антиген в фекалиях. Вирусологическое исследование не проводят из-за отсутствия методов, доступных для практических лабораторий.

Лечение. Симптоматическое.

Профилактика. Неспецифическая профилактика должна быть направлена на повышение санитарной культуры населения, улучшение водоснабжения и условий приготовления пищи.

Для специфической пассивной профилактики используют иммуноглобулин по эпидпоказаниям. Иммунитет сохраняется около 3

ГЛАВА 17. Частная вирусология

месяцев. Для специфической активной профилактики разработана и применяется инактивированная культуральная концентрированная вакцина. Разработана также рекомбинантная генно-инженерная вакцина.

17.1.2. Реовирусы (семейство *Reoviridae*)

Реовирусы (семейство *Reoviridae*) — семейство безоболочечных вирусов, содержащих двунитевую фрагментированную РНК; включает *респираторные и кишечные вирусы*, а также некоторые арбовирусы. Название семейства произошло от первых букв англ. слов: *respiratory, enteric, orphan viruses*. Семейство содержит роды: *Orthoreovirus, Orbivirus, Coltivirus, Rotavirus* и другие.

Род *Orthoreovirus* представлен вирусами трех серотипов. Они широко распространены, выделяясь от людей, млекопитающих в норме или при желудочно-кишечных и респираторных инфекциях. Род *Orbivirus* получил свое название из-за кольцевидной формы капсомеров вирионов (лат. *orbis* — кольцо). Род *Orbivirus* включает возбудителей арбовирусной инфекции: вирус Кемерово (переносится клещами, вызывает кемеровскую лихорадку) и вирус синего языка овец (переносится мокрецами). Род *Coltivirus* включает вирус колорадской клещевой лихорадки, вызывающий арбовирусную инфекцию (переносится клещами). Род *Rotavirus* содержит вирусы, вызывающие распространенные диареи (табл. 17.1).

Структура реовирусов. Вирионы реовирусов имеют сферическую форму (диаметр 70–85 нм), двухслойный капсид икосаэдрического типа; оболочки нет (рис. 17.3). Геном представлен двунитевой фрагментированной (10–12 сегментов) линейной РНК. Вирион содержит фермент транскриптазу (РНК-зависимую РНК-полимеразу). Внутренний капсид и геномная РНК составляют сердцевину вириона. **Внутренний капсид** реовирусов содержит систему транс-



Рис. 17.3. Схема строения реовируса/ротавируса

крипции; белки лямбда-1, лямбда-3, мю-2. От сердцевины отходят шипы, представленные белком лямбда-2. У ротавирусов внутренний капсид включает белки VP-1, VP-2, VP-3, VP-6.

Наружный капсид реовирусов состоит из белков сигма-1, сигма-3, мю-1с, а также белков лямбда-2, отходящих от сердцевины и выступающих в виде шипов. Белок сигма-1 является гемагглютинином и прикрепительным белком. Белок мю-1с определяет способность реовирусов заражать клетки кишечника и впоследствии поражать ЦНС.

У ротавирусов наружный капсид включает белки VP-4 (шипы, выступающие на поверхности вириона, являющиеся гемагглютинином и прикрепительным белком) и VP-7 — основной компонент наружного капсида, являющийся типоспецифическим антигеном. Ротавирусы и ортореовирусы активизируются протеолизом (инфекционные субвирусные частицы) с увеличением их инвазионной способности.

Репродукция. Вирионы реовирусов могут адсорбироваться (с помощью белка сигма-1) на клетке и проникать рецептор-опосредованным эндоцитозом в цитоплазму, где под влиянием ферментов лизосом происходит частичная депротеинизация — разрушение наружного капсида с образованием субвирусных частиц.

Таблица 17.1. Характеристика семейства *Reoviridae*

| Род | Представители | Свойства вирусов |
|----------------------|--------------------------------------|---|
| <i>Orthoreovirus</i> | Ортореовирусы людей, обезьян и др. | Вирусы сферические (70 нм), оболочки нет. Капсид икосаэдрический, двухслойный. РНК двунитевая линейная, из 10–12 сегментов. Репродукция и сборка — в цитоплазме |
| <i>Orbivirus</i> | Вирусы Кемерово, синего языка овец | |
| <i>Coltivirus</i> | Вирус колорадской клещевой лихорадки | |
| <i>Rotavirus</i> | Ротавирусы человека, обезьян | |

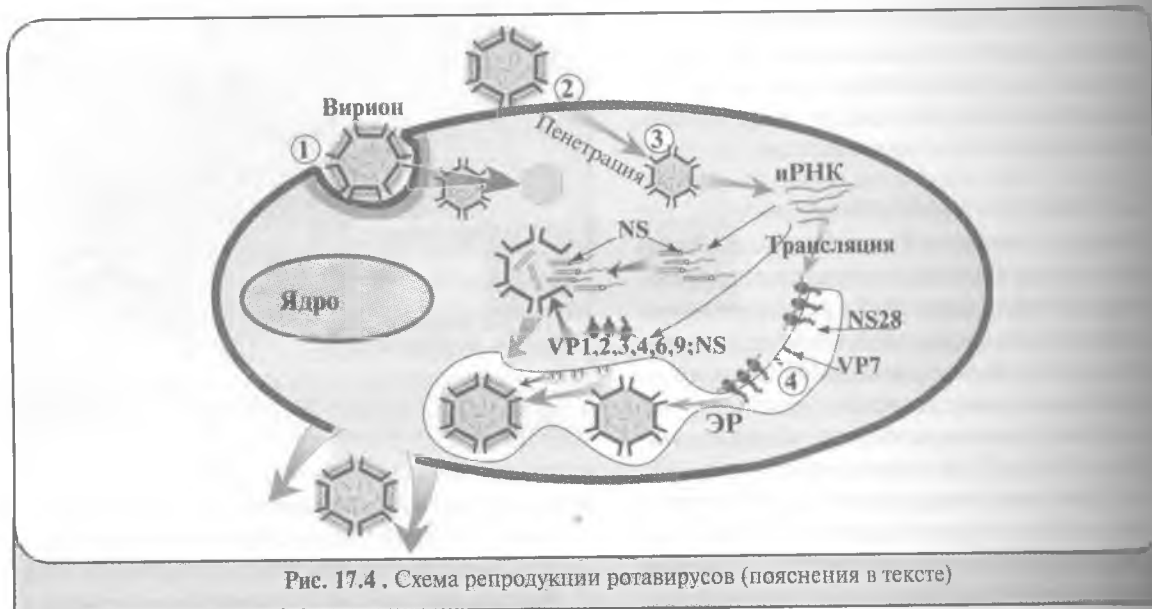


Рис. 17.4. Схема репродукции ротавирусов (пояснения в тексте)

Возможно проникновение вирусов в клетку другим механизмом, например инфекционных субвирусных частиц, не содержащих белка сигма-1. Инфекционные субвирусные частицы ротавирусов проникают через клеточную мембрану (механизм проникновения неизвестен) и освобождают сердцевину в цитоплазме, а ферменты сердцевины инициируют продукцию иРНК. С каждого фрагмента геномной РНК считывается индивидуальная иРНК. Транскрипция генома проходит в две фазы (ранняя и поздняя). Минус-нить РНК используется как матрица. Сборка вирионов происходит в цитоплазме. Вирусы выходят при лизисе клетки.

Микробиологическая диагностика. Диагностика арбовирусных инфекций, вызываемых отдельными представителями реовирусов, проводится с помощью вирусологического и серологического методов: заражают культуру клеток или мышей-сосунков (интрацеребрально); с помощью РСК, РПГА, РИ выявляют антитела в парных сыворотках крови больного.

Диагностику ротавирусной инфекции см. ниже.

17.1.2.1. Ротавирусы (род *Rotavirus*)

Ротавирусы человека вызывают острый энтерит новорожденных и детей раннего возраста. Они являются РНК-содержащими вирусами семейства *Reoviridae* рода *Rotavirus*. Свое название получили из-за строения вириона (лат. *rota* — колесо).

Структура ротавирусов. Вирион ротавирусов сферический (диаметр 70 нм), содержит двухнитевую фрагментированную (11 сегментов) РНК. Двухслойный капсид (наружный и внутренний) имеет форму колеса с отходящими внутрь «спицами». Внутренний капсид включает белки VP-1, VP-2, VP-3, VP-6. Наружный капсид включает: 1) белки VP-4 (шипы, выступающие на вирионе, являющиеся гемагглютинином и прикрепительным белком); 2) белок VP-7 — основной компонент наружного капсида (типоспецифический антиген). Имеются неструктурные белки: NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5, NSP5A. NSP4 — первый вирусный энтеротоксин, вызывающий секреторную диарею. По антигенной структуре различают 5 видов ротавирусов (*Rotavirus A, B, C, D, E*).

Репродукция (рис. 17.4). Вирионы могут проникать рецептор-опосредованным эндоцитозом в клетку (1), где под влиянием ферментов лизосом происходит частичная депротеинизация — разрушение наружного капсида с образованием субвирусных частиц. Однако это «тупик» для ротавирусов. Другой механизм проникновения заключается в том, что вирионы ротавирусов активируются протеазами (например, в ЖКТ), превращаясь в инфекционные субвирусные частицы, которые пенетрируют клеточную мембрану (2) и в цитоплазме утрачивают наружный капсид

(под действием лизосом), освобождая сердцевину (3). Ферменты сердцевины инициируют продукцию иРНК, используя в качестве матрицы минус-нить РНК. Белки VP-7 и NS28 синтезируются как гликопротеины и экспрессируются в эндоплазматическом ретикулуме (4). Плюс-РНК является иРНК. Она включается внутрь капсидов как матрица для репликации +/- сегментированного генома. Капсиды ротавирусов агрегируют (5), связываются с белком NS28 в эндоплазматическом ретикулуме и приобретают белок VP-7 наружного капсида. Вирусы выходят при лизисе клетки.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Источник инфекции — больные или вирусоносители, выделяющие ротавирусы с калом (фекально-оральный механизм передачи). Пути передачи — водный (основной), пищевой, контактно-бытовой. Инкубационный период 1–3 дня. Ротавирусы распространены повсеместно, вызывают гастроэнтериты, главным образом у детей (часто в возрасте от 6 месяцев до 2 лет); являются причиной смерти около миллиона людей из-за диареи. Размножаются в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки, вызывая их гибель. Заболевание протекает с рвотой, болями в животе и диареей в течение 1–2 суток. Частота стула 10–15 раз в сутки.

Микробиологическая диагностика. 1) Вирус обнаруживают в фильтрате фекалий с помощью иммунной электронной микроскопии, ИФА, иммунодиффузионной преципитации в агаре, РСК, РН, РИФ, реакции ко-агглютинации, клонированных РНК-зондов. 2) Серологический метод: в сыворотке крови определяют нарастание титра антител с помощью ИФА, РСК, РПГА, РН, РИФ.

Лечение. Симптоматическое.

Профилактика. Основой неспецифической профилактики является соблюдение санитарно-гигиенических правил, санитарных норм водоснабжения и канализации. Специфическая профилактика заключается в применении вакцин; разработана живая вакцина.

17.1.3. Буньявирусы (семейство *Bunyaviridae*)

Таксономия и классификация. Семейство *Bunyaviridae* насчитывает более 250 сероти-

пов вирусов, входящих в состав пяти родов: *Bunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus*, *Hantavirus*, *Tospovirus*. Типовыми вирусами данных родов являются: вирус Буньямвера, вирус москитной лихорадки Сицилия, вирус болезни овец Найроби и вирус Хантаан соответственно. Тосповирусы непатогенны для человека.

Прототипом вирусов данного семейства является впервые выделенный в Центральной Африке и переносимый комарами вирус Буньямвера. Название вируса дано по местности Буньямвера в Уганде.

Морфология. Вирионы имеют овальную или сферическую форму, диаметр 80–120 нм. При электронной микроскопии напоминают пончик. Это сложные РНК-геномные вирусы, содержащие три внутренних нуклеокапсида со спиральным типом симметрии. Каждый нуклеокапсид состоит из нуклеокапсидного белка N, уникальной одноцепочечной минус-РНК и фермента транскриптазы (РНК-зависимой РНК-полимеразы). Три сегмента РНК, связанные с нуклеокапсидом, обозначают по размерам: L (long) — большой, M (medium) — средний и S (short) — малый. РНК не обладает инфекционной активностью. В отличие от других вирусов с минус-РНК геномом (*Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae* и *Rhabdoviridae*), буньявирусы не содержат M-белка, поэтому они более пластичны. Серцевина вириона, содержащая рибонуклеопротеин (РНП), окружена липопротеидной оболочкой, на поверхности которой находятся шипы — гликопротеины G1 и G2, которые кодируются M-сегментом РНК.

Антигены. Белок N является носителем группоспецифических свойств и выявляется в РСК. Гликопротеины (G1 и G2) — типоспецифические антигены, выявляемые в РН и РТГА. Это протективные антигены, обуславливающие гемагглютинирующие свойства, которые у буньявирусов не столь выражены, как у ортомиксо- и парамиксовирусов. Они индуцируют образование вируснейтрализующих антител. Гликопротеины — основные детерминанты патогенности, обуславливающие клеточную органотропность вирусов и эффективность их передачи членистоногими.

На основании анализа перекрестного связывания в РСК буньявирусы объединяют в

роды, внутри которых, на основании перекрестной РН и РТГА, они распределяются по серогруппам.

Репродукция буньявирусов. Репродукция буньявирусов происходит в цитоплазме клетки, где сначала формируются РНП. При этом образуется три вида иРНК, каждая из которых кодирует соответствующий полипептид — L (полимеразу), N и предшественники белков G1 и G2. Вирусные белки в инфицированной клетке синтезируются быстро. Так, белок N можно выявить уже через 2 ч, а G1 и G2 — через 4 и 6–8 ч соответственно. Созревание вирусов (приобретение внешней липидсодержащей оболочки) в результате почкования РНП, в отличие от других вирусов, происходит не на плазматических мембранах клетки, а при прохождении через стенки везикул в области аппарата Гольджи. В последующем вирусные частицы транспортируются к плазмолемме (клеточной мембране). Выход вирусных частиц происходит путем экзоцитоза, а иногда — лизиса клетки. Буньявирусы, как и другие представители арбовирусов, обладают способностью размножаться в двух температурных режимах: 36°–40° и 22–25 °С, что позволяет им репродуцироваться не только в организме позвоночных, но и в организме переносчиков — кровососущих членистоногих насекомых.

Устойчивость вирусов к действию физических и химических факторов. Буньявирусы чувствительны к действию эфира и детергентов, инактивируются при прогревании при температуре 56 °С в течение 30 мин и почти мгновенно при кипячении, но длительно сохраняют инфекционную активность при замораживании. Буньявирусы стабильны в весьма ограниченном диапазоне значений рН — 6,0–9,0, инактивируются обычно применяемыми дезинфицирующими средствами.

Особенности культивирования буньявирусов и восприимчивость к ним лабораторных животных. К буньявирусам восприимчивы новорожденные белые мыши, белые крысы и хомячки при заражении в головной мозг. Для культивирования вирусов применяют культуры клеток из переносчиков, почки эмбрионов человека, ВНК-21, фибробласты куриного эмбриона, где они не оказывают выраженно-

го ЦПД. Вирусы можно культивировать в куриных эмбрионах. *Универсальной моделью* для выделения арбовирусов является заражение новорожденных белых мышей, у которых они вызывают развитие энцефалита, заканчивающегося летально.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Буньявирусы широко распространены на всех континентах, а вызываемые ими заболевания имеют природную очаговость. Большая часть вирусов данного семейства относится к экологической группе арбовирусов (от англ. *arthropod-borne viruses* — вирусы, рожденные или передаваемые членистоногими), так как они передаются кровососущими членистоногими насекомыми. Последние являются не только их переносчиками, но также основным резервуаром и постоянными хозяевами данных вирусов в природных очагах. Большинство буньявирусов передается комарами. Описана вертикальная (трансовариальная) и трансфазовая (от личинки к нимфе и имаго) передача буньявирусов в определенных членистоногих переносчиках. Выделение вирусов в течение зимы и весны из яиц, личинок и нимф комаров показывает, что вирусы зимуют в природе *in ovo*. Найровирусы большей частью передаются клещами, а флебовирусы — москитами и комарами. Некоторые флебовирусы и буньявирусы могут передаваться мокрецами *Culicoides*.

Для заболеваний, вызванных данными вирусами, характерна сезонность, обусловленная изменением активности переносчиков. На территории России основное значение имеют клещи. Позвоночными хозяевами данных вирусов являются грызуны, птицы, зайцеобразные, жвачные животные, приматы. Заражение человека может происходить не только *трансмиссивно* через укусы кровососущих членистоногих насекомых, но и при контакте с больными людьми в результате попадания на поврежденную кожу и слизистые оболочки крови, а также биологических выделений, содержащих вирус.

Вирусы рода Хантаан составляют исключение из правила в данном семействе, так как их основными хозяевами являются грызуны. Вместе с аренавирусами и филовирусами они выделены в экологическую группу нетранс-

миссивных геморрагических лихорадок или ротовирусов (от англ. *rodent-borne viruses* — вирусы, рожденные грызунами). Никаких свидетельств участия в их передаче членистоногих не обнаружено.

Чаще всего вирусы данного семейства вызывают развитие **бессимптомной инфекции**, которая выявляется при проведении серологических исследований. Большинство из них вызывает **лихорадочные заболевания**, некоторые **геморрагические лихорадки** (Крым-Конго и с почечным синдромом — ГЛПС) и **энцефалиты** (калифорнийский энцефалит).

Наибольшее медицинское значение имеют: вирус калифорнийского энцефалита и входящий в состав комплекса вирусов калифорнийского энцефалита вирус Тягиня (род *Bunyavirus*); вирусы москитной лихорадки Сицилия, Неаполь и Рифт-валли, которая имеет большое значение в ветеринарии (род *Phlebovirus*); вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго (род *Nairovirus*) и вирусы геморрагической лихорадки с почечным синдромом (род *Hantavirus*). **Наиболее патогенны для человека: вирус лихорадки Рифт-валли, Крым-Конго и вирусы ГЛПС.**

После перенесенных заболеваний остается стойкий иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Лабораторная диагностика буньявирусных инфекций основана на *выделении вирусов и обнаружении антител* к ним в парных сыворотках крови. Так как *вирусы данного семейства относятся к возбудителям особо опасных инфекций*, выделение их может проводиться лишь в режимных лабораториях. Материалом для исследования служат кровь, взятая в остром периоде заболевания (при москитных лихорадках не позже 24–48 ч от начала заболевания), или кусочки тканей и органов (мозга, печени, селезенки, легких и почек), полученные на аутопсии. Вирус может быть выявлен в организме кровососущих членистоногих переносчиков и во внутренних органах погибших инфицированных животных. Чаще всего буньявирусы выделяют на новорожденных белых мышках, а также на белых крысах и хомяках при интрацеребральном заражении. Индикация

вирусов проводится на основании развития заболевания и гибели животных. Проводят также заражение культур клеток с последующей индикацией в РИФ, так как для буньявирусов не характерно развитие выраженного цитопатогенного действия. Идентификация вирусов проводится в РН на мышках-сосунках, в РСК, РТГА, реакции иммунодиффузии, РНГА, а также с помощью РИФ, ИФА и РИА. Для постановки РИФ и ИФА используют моноклональные антитела, которые получены практически ко всем представителям арбо- и зоонозных вирусов. Из молекулярно-генетических методов диагностики и идентификации применяют: молекулярную гибридизацию нуклеиновых кислот и ПЦР.

Лечение и профилактика. Препараты для специфического лечения не разработаны. В ряде случаев применяют иммунные сыворотки переболевших лиц, рибавирин, интерферон (реаферон). Профилактика основана на защите от комаров, клещей и других кровососущих насекомых. Для создания искусственного активного приобретенного иммунитета применяют убитые вакцины.

17.1.3.1. Вирусы комплекса калифорнийского энцефалита

Вирусы комплекса калифорнийского энцефалита относятся к роду *Bunyavirus*. Из 12 представителей вирусов комплекса калифорнийского энцефалита 10 вирусов распространено в Америке, один (Тягиня) в Евразии и Африке и один (Инко) в Северной Европе. Из американских представителей комплекса значение в патологии человека установлено для вирусов калифорнийского энцефалита, Ла-Кросс, Джеймстаун-каньон и зайцев беляков.

Вирус калифорнийского энцефалита выделен в 1943 г. в Калифорнии от комаров *C. tarsalis*, а затем в других штатах, а также в Манитобе (Канада).

Вирусы данного рода вызывают **лихорадки** (Тягиня, Инко, Гуароа и т. д.) и **энцефалиты** (энцефалит Джеймстаун-каньон, калифорнийский энцефалит, энцефалит Ла-Кросс и зайцев-беляков). Переносчиком вирусов комплекса калифорнийского энцефалита являются комары (*C. tarsalis*, *A. melanimon*, *A. dorsalis*, *A. vexans*, *A. nigromaculis*, *Psorophora signipen-*

nis, *Culiseta inornata* и др.), для которых характерна не только трансвариальная, но и венерическая передача. Резервуаром и источником вирусов являются комары и грызуны.

Основная заболеваемость, вызванная вирусами комплекса калифорнийского энцефалита, связана с *вирусом Ла-Кросс*, эндемичным в 20 штатах США.

Вирус Ла-Кросс. Изолирован от многих видов комаров, а также от слепней *Nyctopomitra lasiophthalma*. Однако основным его переносчиком следует считать выплывающийся в дуплах деревьев *A. triseriatus*. У комаров установлена не только трансвариальная, но и алиментарная передача (у личинок). Вирус изолирован от кроликов, белок и бурундуков. Функционирование горизонтальной и вертикальной передачи вируса обеспечивает активную циркуляцию вируса, высокую зараженность комаров и стойкость природных очагов в относительно суровых Центральном и умеренном поясах. Механизм заражения трансмиссивный. Инкубационный период — от 5 до 8–15 дней. Клиническая картина варьирует от обшлехорадочного синдрома (в ряде случаев с фарингитом и другими поражениями верхних дыхательных путей) до энцефалита. Летальность 0,05–2%. После перенесенного заболевания остается напряженный гуморальный иммунитет.

Вирус лихорадки Тягина. Вызывает заболевание на территории Европейской части России, включая Заполярье, а также в Сибири и на Дальнем Востоке. Он изолирован из 13 видов комаров. Резервуаром и источником вируса в природе являются комары, а также многие виды млекопитающих, лесные грызуны, зайцы-русаки, ежи, кабаны, лисы, косули, возможно белки и ондатры. Из домашних и сельскохозяйственных животных играют роль кролики, свиньи, крупный рогатый скот, собаки, лошади. Механизм заражения трансмиссивный. Основным переносчиком — *A. vexans*. Инкубационный период 2–13 дней. У человека лихорадка Тягина может протекать как гриппоподобное заболевание, фарингит, бронхопневмония, лихорадка с желудочно-кишечными симптомами и асептическим менингитом. Случаев с летальным исходом и тяжелыми последствиями не отмечено. Перенесенное заболевание оставляет напряженный гуморальный иммунитет. Диагностика основана на изоляции вируса из крови и цереброспинальной жидкости путем интрацеребрального зараже-

ния новорожденных белых мышей, а также заражения культур клеток и обнаружении антител в парных сыворотках с помощью РСК, РТГА, РНГА и РНИФ. Большое значение имеет обнаружение IgM в сыворотке крови или цереброспинальной жидкости к вирусам с помощью ИФА. Препараты для специфического лечения и профилактики не разработаны.

Вирусы, возбудители москитной лихорадки (сицилийская лихорадка, лихорадка паппатачи, трехдневная лихорадка, летний грипп).

К возбудителям москитной лихорадки относятся близкие в антигенном отношении **вирусы москитной лихорадки Сицилия** (входят в комплекс вирусов москитной лихорадки Сицилия), **вирусы москитной лихорадки Неаполь и Тоскана** (входят в комплекс москитной лихорадки Неаполь) и другие вирусы данной серологических групп, а также **вирусы серогруппы Кандиру и негруппированные вирусы**, относящиеся к роду *Phlebovirus* (более 20 вирусов).

Вирусная этиология москитной лихорадки в опытах на волонтерах была установлена Р. Дерт (R. Doerr) совместно с К. Францем и С. Тауссигом (K. Franz, S. Taussig) в 1909 г. Возбудители сицилийской москитной лихорадки были выделены А. Сэйбином (A. Sabin) в 1944 г. из крови больных в период эпидемии среди американских солдат в Италии.

Резервуаром и переносчиком вирусов в природе являются самки комаров *Phlebotomus papatasi* (от итал. *pape* — обжираться и *tach* — молча, т. е. «молчаливый обжора»), у которых доказана трансвариальная передача вирусов потомству. Вирусы экологически связаны с песчанками, которые служат прокормителями комаров. Возможно длительное носительство вирусов у крыс и собак. Механизм заражения трансмиссивный, но возможно и парентеральное заражение через плохо обработанные медицинские инструменты. Распространение инфекции соответствует ареалу распространения переносчиков. Вирусы Неаполь и Сицилия выявлены в Европе (Средиземноморье), Азии (Иран и Пакистан) и в Северной Африке; вирус Тоскана обнаружен в Италии и Португалии, т. е. в странах, расположенных в пределах 20–40° с. ш. Периодические вспышки заболевания в первой половине XX в. имели место в Закавказье, Крыму, Молдавии и Средней Азии. Человек высоковосприимчив к данным вирусам (0,001 мл сыворотки крови больного может вызвать заболевание). Инкубационный период — 3–7 дней. На месте укуса появляется папула. Болезнь начин-

ется остро с озноба, головной боли, боли в глазных яблоках. Характерен **симптом Пика** — ограниченная инъекция сосудов наружного угла склер в виде треугольника, обращенного вершиной к зрачку, и **синдром Тауссига** — резкая болезненность при надавливании на глазные яблоки, а также при их движении или при попытке приподнять веки. **Лихорадка Тоскана характеризуется развитием асептического менингита.** Это самокупирующееся заболевание. Прогноз благоприятный, летальных исходов нет. Перенесенное заболевание оставляет после себя напряженный типоспецифический иммунитет к штамму, циркулирующему в данном эндемическом очаге, который формируется в результате многократного инфицирования. Но поскольку он развивается очень медленно, то возможны повторные случаи заболевания, по 2–3 раза в одном и том же сезоне. Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса и обнаружении антител в парных сыворотках с помощью РСК, РТГА, РНГА, РНИФ, ИФА. Обнаружение антигена в крови проводят с помощью РСК, дающей положительные результаты в первые часы заболевания. Специфическое лечение и профилактика не разработаны. В отдельных случаях показана специфическая иммунизация населения с помощью инактивированной формолвакцины, которая не нашла широкого применения в связи с самокупирующимся инфекционным заболеванием.

17.1.3.2. Вирус лихорадки Рифт-валли

Вирус лихорадки Рифт-валли назван по долине Рифт в Кении, где он был выделен в 1930 г. от больного ягненка во время вспышки заболевания у скота. Вирус Рифт-валли относится к роду *Phlebovirus* и входит в состав антигенной группы лихорадки долины Рифт. *Это один из наиболее патогенных для человека вирусов семейства Bunyaviridae.* Он может длительно (в течение нескольких месяцев) сохранять свою жизнеспособность при 4 °С в среде с добавленными сыворотки крови и в течение трех часов выдерживает нагревание до 56 °С. Он также хорошо сохраняется в высушенном виде и в состоянии аэрозоля. Вирус инактивируется в течение 3 суток под воздействием 0,1% бетапропиолактона при pH 9,0 или 0,25% раствора формалина при 4 °С. Быстрая его инактивация наступает под воздействием кислой среды при pH ниже 6,8. Штаммы вирусов Рифт-валли, выделенные в ЮАР и Родезии (1975 и 1978 год), Египте (1977–1978 гг.), Мавритании (1978 г.) отлича-

ются от других африканских штаммов по своим биологическим и антигенным свойствам, а также повышенной вирулентностью для людей и лабораторных животных. Вирусы хорошо размножаются в большинстве культур клеток, вызывая развитие ЦПД, а также вызывают гибель белых мышей при внутрибрюшинном введении. Вирус считается одним из немногих вирусных агентов, вызывающих гибель мышей при периферическом заражении.

Резервуаром и источником вируса в природе являются кровососущие насекомые, прежде всего комары рода *Culex* и *Aedes* и др., главным образом *C. pipiens* и *C. antennatus*, а также прокормители кровососущих членистоногих насекомых — крупный и мелкий рогатый скот, верблюды, лошади, антилопы, обезьяны, летучие мыши. Комары включаются в биологический цикл вируса благодаря достаточно длительной и высокой вирусемии у больных животных. В результате трансовариальной передачи вирус может длительное время (на протяжении нескольких засушливых лет) сохраняться в яйцах комаров. В период вирусемии человек также может быть источником заражения для комаров, что свидетельствует о потенциальной способности к эпидемическому распространению заболевания. Обычно эпидемии данной лихорадки развиваются вслед за эпизоотиями среди домашних копытных животных (овцы, козы, крупный рогатый скот, верблюды), которые являются источником возбудителя. **Основной механизм заражения трансмиссивный.** Возможен также **контактный механизм заражения** при убое и разделке туши больного животного, контакте с инфицированным мясом и внутренними органами животного, когда вирус проникает через поврежденные кожные покровы, а также **аэрогенный механизм заражения**, например, внутрилабораторное заражение воздушно-пылевым путем при проведении вирусологических исследований. Кровь и ткани внутренних органов больных животных содержат значительные количества вируса; иногда вирус может содержаться в их экскрементах. Во время эпизоотий отмечены многочисленные случаи заражения людей **алиментарным путем** в результате употребления мяса больных или погибших животных, а также молока больных животных. В период лактации вирус выделяется с моло-

ком, которое в эндемичных районах должно подвергаться пастеризации.

Чаще болеют сельскохозяйственные рабочие, фермеры, ветеринары и сотрудники ветеринарных и вирусологических лабораторий. До 1977 г. заболевание на Африканском континенте было распространено лишь южнее Сахары и протекало у человека относительно легко. С 1977 г. эпизоотии и эпидемии отмечены на Африканском континенте практически повсеместно. В северных регионах (Египет) заболевание протекает тяжело. Предполагают, что это обусловлено не только генетической предрасположенностью населения и изменением вирулентности вируса, но и особым иммунным фоном у жителей Средиземноморья, имеющих высокую иммунную «прослойку» к вирусам москитной лихорадки. Последние антигенно родственны вирусу лихорадки Рифт-валли, поэтому заболевание у них протекает по типу аутоиммунного процесса.

Помимо Африканского континента, заболевание выявлено в Афганистане и в странах Латинской Америки.

Патогенез заболевания. Характеризуется размножением вируса в месте входных ворот инфекции в регионарных лимфатических узлах и проникновением его в кровь, в результате чего вирус разносится по паренхиматозным органам, где размножается, и снова поступает в кровяное русло, обуславливая развитие **выраженной вторичной вирусемии** и вызывая повреждение внутренних органов. Вирус пантропен. Штаммы, вызывающие геморрагическую форму заболевания, размножаются в основном в эндотелии сосудов (васкулит) и паренхиматозных органах. **Инкубационный период** длится от 3 до 7 дней. Выделяют **четыре формы заболевания**: неосложненная, менингоэнцефалитическая, геморрагическая и заболевание с поражением органов зрения (ретинит).

Неосложненная форма заболевания начинается остро и характеризуется лихорадкой, головной болью, миалгией, болями в суставах, светобоязнью, рвотой, диареей, явлениями гепатита; длится 2–7 дней. Полное выздоровление наступает через 20–80 суток от начала заболевания.

Наиболее тяжело протекает **геморрагическая форма заболевания**, которая характеризуется наличием желтухи и геморрагического синдрома. Большинство больных погибают от острой печеночной недостаточности. Летальность при **менингоэнцефалитической форме заболевания**, которая также протекает тяжело, составляет от 5 до 30 %. Восстановление зрения при **ретинитах** отмечается через 50–70 суток.

Естественная восприимчивость людей высокая. Постинфекционный иммунитет типоспецифический, нестойкий. Около 20 % переболевших заболевают повторно (2–3 раза).

Микробиологическая диагностика основана на **выделении вируса** из крови, фекалий и глоточных смывов путем заражения новорожденных белых мышей и культур клеток в первые 2–3 дня заболевания, а также на **обнаружении антител** к вирусу в парных сыворотках с помощью РСК, РТГА, РНГА, РНИФ и ИФА. С целью **обнаружения вируса и его антигенов** в исследуемом материале применяют РИФ.

Специфическое лечение не разработано. Для лечения рекомендуется использовать индукторы интерферона, рибавирин, иммунную сыворотку. Выраженным защитным действием обладает гомологичный иммуноглобулин. В опытах на животных показана эффективность гетерогенных иммуноглобулинов. В целом лечение эффективно. Так как заболевание имеет не только медицинское, но и ветеринарное значение, мерами его предупреждения являются проведение карантинных мероприятий и поголовная вакцинация скота убитой и живой вакцинами. Для **профилактики заболевания у людей** (ветеринаров, животноводов, сотрудников лабораторий, работников скотобоен и солдат, направленных в эндемичные районы по лихорадке Рифт-валли), применяют только **убитую культуральную формолвакцину**.

При проведении лабораторных исследований с вирусом следует избегать манипуляций, которые могут привести к образованию аэрозоля и случайному попаданию вируса в окружающую среду.

Молоко в эндемичных регионах должно обязательно подвергаться пастеризации.

17.1.3.3. Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго

Таксономическое положение и биологические свойства вируса. Вирус относится к роду *Nairovirus*, антигенной группе геморрагической лихорадки Крым-Конго. Данный вирус обладает биологическими свойствами, характерными для вирусов семейства *Bunyaviridae*. Это вазотропный арбовирус. Большинство штаммов вируса не обладает гемагглютинирующей активностью.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Заболевание впервые было выявлено в Крыму в 1944 г. военными врачами среди солдат и переселенцев, занятых уборкой сена. В 1945 г. М. П. Чумаков и его ученики из крови больных в острой стадии болезни и от переносчиков инфекции — иксодовых клещей выделили вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго. В 1956 г. в Африке при сходном заболевании был выделен вирус Конго, который по биологическим свойствам оказался идентичен вирусу крымской геморрагической лихорадки, поэтому возбудителя болезни называют вирусом геморрагической лихорадки Крым-Конго. Болезнь, вызванная вирусом в Конго, протекает без геморрагического компонента, относительно редко выявляется у людей, но вирус часто обнаруживают у животных.

Вирус геморрагической лихорадки Крым-Конго относится к арбовирусным природно-очаговым заболеваниям. В России это заболевание встречается на территории Краснодарского и Ставропольского краев, Астраханской, Волгоградской и Ростовской областей, республик Дагестан, Калмыкия и Адыгея-Черкесии. Основным резервуаром вируса в природе и источником инфекции являются многие виды пастбищных клещей, передающих вирус своему потомству трансгенерационно и по ходу метаморфоза. Основное значение имеют гиаломовые клещи, способные сохранять вирус до 250 суток и после кормления практически в 100 % случаев инфицировать теплокровных животных. Животные, на которых паразитируют эти клещи (ежи, зайцы, коровы, овцы и козы), служат временным резервуаром вируса и в период вирусемии заражают свежие партии клещей. Отличительной особенностью вируса является

преобладание заболеваемости животных в виде бессимптомной инфекции, особенно у домашних животных. Человек чаще всего заражается в природных очагах трансмиссивно через укусы клещей и является «тупиком» в эпидемиологической цепи в природных очагах. Возможно заражение через микроразрывы кожи и слизистые оболочки, при контакте с кровью больного или инфицированными предметами. Чаще заболевают медицинские работники (внутрибольничное заражение в 3 % случаев), так как **кровь больных в острую фазу заболевания содержит вирус в высоких концентрациях, в связи с чем возможно заражение при проведении медицинских манипуляций** (внутривенных вливаний, остановке носового и других кровотечений, проведении искусственного дыхания и т. д.). Большинство заболеваний, переданных контактным путем, протекает тяжело. Это обусловлено наличием эффекта «пинг-понга», т. е. усилением вирулентности вируса после пассажа через живой организм человека. Возможен также аэрогенный механизм заражения при авариях в вирусологических лабораториях.

Проникая в организм человека, вирус в течение инкубационного периода (от 1 до 14 дней) размножается в макрофагах, а затем поступает в кровь. Он обладает вазотропностью, что ведет к развитию генерализованного капилляротоксикоза. Вирус поражает также область гипоталамуса и кору надпочечников, избирательно — слизистую оболочку желудка. Убедительных объяснений такой избирательности не существует. В течение заболевания выделяют несколько периодов: **начальный** или **предгеморрагический** период, период **разгара** или геморрагических проявлений и **период реконвалесценции**. В типичном случае заболевание характеризуется острым началом: лихорадкой, выраженной интоксикацией, тяжелыми геморрагическими проявлениями, которые более выражены, чем при омской геморрагической лихорадке. Летальность может достигать 40 %. Смерть наступает от инфекционно-токсического шока, массивных кровотечений, печеночно-почечной недостаточности. Так как у части больных (7–9 %) геморрагические проявления могут отсутствовать, выделяют две клинические формы болезни:

с геморрагическими проявлениями и без геморрагических проявлений. Последняя форма протекает, как правило, гораздо легче, чем первая. Период реконвалесценции длительный. Трудоспособность восстанавливается не ранее чем через 1–2 месяца. Различные нарушения в организме после выписки больного из стационара могут сохраняться в течение 1–2 лет и более. Иммуитет напряженный. Комплементсвязывающие и преципитирующие антитела у переболевших сохраняются свыше 5 лет. В то же время для геморрагической лихорадки Крым-Конго характерен низкий уровень коллективного иммунитета к данному вирусу. Это обусловлено низкой степенью вовлечения населения в эпидемиологический процесс, низким уровнем циркуляции вируса в природе и сравнительно редким нападением его переносчиков на человека.

Микробиологическая диагностика. Диагностика геморрагической лихорадки Крым-Конго основана на выделении вируса из крови больных и внутренних органов погибших путем заражения новорожденных белых мышей и культур клеток с идентификацией в РИФ, а также на обнаружении антител в парных сыворотках с помощью РНИФ, РСК, РДПА, РНГА, РИА и ИФА, постановки ПЦР. Экспресс-диагностика вируса в крови, аутопсийном материале и переносчиках осуществляется с помощью РНГА или РИФ с флюоресцирующей моноклональной мышиной сывороткой к вирусу.

Лечение и профилактика. Для лечения геморрагической лихорадки Крым-Конго применяют реаферон, рибавирин. В первые 3 дня вводят гетерогенный специфический лошадиный иммуноглобулин, а также иммунную сыворотку, плазму или специфический иммуноглобулин, полученные из сыворотки крови реконвалесцентов или привитых лиц. Специфический иммуноглобулин используется для экстренной профилактики у лиц, соприкасающихся с кровью больного. Для создания активного иммунитета у сотрудников лабораторий в целях профилактики используют формолвакцину из мозга зараженных сосунков белых мышей или белых крыс. Для тех, кто выезжает в Южные регионы России (командировка, отпуск и т. д.), рекомендуют вакцинацию против вируса геморрагической

лихорадки Крым-Конго вакциной, производимой в Болгарии. В стационарах должна быть обеспечена профилактика внутрибольничного распространения вируса, прежде всего парентерально, поскольку вирус находится в высоких концентрациях в крови человека. Поэтому госпитализация больных проводится обязательно в отдельные боксы. Обслуживание больных должно проводиться специально обученным персоналом.

17.1.3.4. Вирусы ГЛПС и синдрома хантавирусной пневмонии

Таксономическое положение и биологические свойства возбудителей. Возбудители ГЛПС и синдрома хантавирусной пневмонии относятся к вирусам семейства *Bunyaviridae* рода *Hantavirus* антигенного комплекса *Hantaan*. Типовой представитель данного рода — вирус Хантаан, выделенный из легочной ткани, а также экскрементов *Apodemus agrarius corea* корейскими учеными в 1978 г. (Н. W. Lee и соавт.). В отличие от типичных буньявирусов, его частицы характеризуются большей гетерогенностью размеров (90–125 нм), а также наличием во внутренней полости неупорядоченно расположенных гранулярно-филаментозных структур. Вирус хорошо размножается в культурах клеток Vero E-6, A-549, RLC, 2Bc без выраженного ЦПД. Его удается пассировать на полевых мышах, степных пеструшках, джунгарских и золотистых хомяках, крысах линии Вистар и Фишер. Животные могут быть заражены различными способами, но самый лучший из них — внутрилегочный способ заражения. Все эти животные являются бессимптомными носителями вируса. У них вирусы обнаружены в легких, буром жире, селезенке, прямой кишке и других органах с помощью ЭМ и РНИФ в виде гранул в цитоплазме клеток. Максимальная концентрация вирусов отмечается на 20–30-й день после заражения. Антитела у животных появляются с 10-го дня после заражения и сохраняются в течение года. Хантавирусы неоднородны в антигенном отношении. Возбудителями ГЛПС являются 4 из 23 известных в настоящее время серотипов вируса: **Хантаан, Пуумала, Сеул и Доброва/Белград**. У других хантавирусов связь с заболеванием человека не установлена, ан-

титела к ним не обнаружены. Название ГЛПС было предложено в 1954 г. М. П. Чумаковым и рекомендовано ВОЗ в 1982 г. для единого обозначения этой нозологической формы, которая была описана под разными названиями (корейская геморрагическая лихорадка, геморрагический нефрозо-нефрит, эпидемическая нефропатия, эпидемическая геморрагическая лихорадка или болезнь Сонго).

В 1993 г. произошла вспышка хантавирусной пневмонии (хантавирусного легочного синдрома) в четырех штатах США с высокой летальностью (более 50 %). Заболевание вызывается новыми серотипами вируса — Син Номбре, Нью-Йорк, а также другими серотипами, открытыми позже. Эти легочные заболевания известны также как болезнь «четырёх углов», поскольку регистрируются в Калифорнии, Неваде и в регионе границ «квадратных» штатов Аризона, Колорадо, Нью-Мексико и Юта. Отмечена территориальная приуроченность заболеваний к местам обитания оленьих хомячков (грызуны подсемейства *Sygmodontinae*). Помимо США случаи хантавирусного легочного синдрома зарегистрированы в Центральной и Южной Америке.

Эпидемиология, патогенез и клиника хантавирусных инфекций. Хантавирусы широко распространены в природе. По уровню заболеваемости ГЛПС в России занимает ведущее место среди природно-очаговых болезней человека и регистрируется на 61 из 89 административных территорий. При этом 97 % от общего числа случаев ГЛПС ежегодно регистрируется в европейских и только 3 % — в азиатских регионах России, главным образом на Дальнем Востоке. Наиболее высокие показатели ежегодной заболеваемости ГЛПС отмечаются на территориях Уральского, Поволжского и Волго-Вятского регионов.

Данные вирусы относятся к экологической группе нетрансмиссивных геморрагических лихорадок или робовирусам (от англ. *rodent-borne viruses* — вирусы, рожденные грызунами). В качестве резервуара и источника инфекции при ГЛПС следует рассматривать **мышевидных грызунов лесного комплекса** (рыжая полевка, полевая мышь, красно-серая полевка и азиатская мышь), а при легочных поражениях — **мышевидных грызунов степного комплекса** (белоногие или оленьи хомячки, хлопковые крысы). У

грызунов эта инфекция протекает в виде латентного вирусоносительства. Грызуны выделяют вирус в окружающую среду с калом, мочой и слюной. **Основной механизм заражения человека — аэрогенный с воздушно-пылевым путем передачи.** Заражение может происходить при вдыхании содержащей биологические выделения грызунов пыли во время уборки и ремонта помещений, при перевозке сена и соломы, работах на ферме, лесоповале, сборе хвороста, ночевке в лесных стогах. Возможен фекально-оральный механизм заражения алиментарным путем при употреблении продуктов, инфицированных выделениями зараженных грызунов, или контактно-бытовым путем через грязные руки во время еды. Возможен также контактный механизм заражения через укус грызуна и при попадании свежих экскрементов зверьков в садины на коже, при разделке тушек зверьков. На Дальнем Востоке России случаи ГЛПС, как правило, вызываются серотипом Хантаан, реже — Сеул и протекают тяжелее, чем в очагах в Европейской части России, где ГЛПС в большинстве случаев обусловлена серотипом Пуумала.

Восприимчивость людей к инфицированию высокая. При аспирационном механизме заражения инфицируется большинство лиц, находящихся в зараженном помещении. Инфицированный человек эпидемиологической опасности не представляет.

В основе патогенеза лежит системное деструктивное поражение стенки мелких сосудов, обусловленное вазотропным действием вирусов. Вазопатия, коагулопатия и выделение биологически активных веществ приводят к нарушениям микроциркуляции. Появление очагов ишемии вызывает массивную деструкцию ткани с образованием аутоантигенов. Наиболее выражены данные изменения при ГЛПС в почках, надпочечниках, гипоталамусе, миокарде и кишечнике. **При хантавирусном легочном синдроме наиболее выраженные изменения отмечаются в легких.** Вирусемия длится в пределах 4–7 дней.

Инкубационный период при ГЛПС составляет от 7 до 45 дней, чаще — 2–3 недели. Заболевание начинается остро, с подъема температуры и характеризуется циклической сменой лихорадочной фазы, гипотензивной, олигурической

кой, диуретической или полиурической фазы и периодом реконвалесценции. Выраженность геморрагического синдрома и уровень смертности в европейских странах ниже, чем в Азиатском регионе, хотя степень повреждения почек одинаковая. ГЛПС не свойственно подострое и хроническое течение. Однако у значительной части реконвалесцентов наблюдается резидуальный синдром (постинфекционная астения, неврологические и эндокринные нарушения, почечные проявления в виде хронической тубулоинтерстициальной нефропатии и хронического пиелонефрита). Летальность составляет до 1–2 % в Европейских и до 5–10 % в Дальневосточных районах России.

Инкубационный период при синдроме хантавирусной пневмонии равен 6 неделям. В развитии заболевания выделяют три фазы. После короткой продромальной фазы в виде лихорадки заболевание быстро переходит в фазу сердечно-легочной недостаточности с тяжелыми поражениями легких (пневмония). Летальность достигает 50–60 %. В случае благоприятного исхода наступает период реконвалесценции. Наиболее тяжелые формы хантавирусного легочного синдрома связаны с вирусами Син Номбре и Нью-Йорк, в то время как другие серотипы вирусов вызывают заболевания со смешанным поражением легких и почек.

Иммунитет у переболевших лиц стойкий, пожизненный. Повторные заражения гомологичным серотипом вируса отсутствуют. Протективные антитела у переболевших ГЛПС сохраняются до 25 лет.

Микробиологическая диагностика. Диагностика хантавирусных инфекций основана на выделении вирусов из крови и мочи в острый период заболевания, а также на обнаружении антител в парных сыворотках и в моче больных. У зараженных мышей вирусы, как правило, вызывают бессимптомную инфекцию, поэтому проводят выявление вирусных антигенов в легких и антител в сыворотке крови животных с помощью РИФ, ИФА, а также обнаружение генетического материала с помощью ПЦР. Выделение вирусов в культурах клеток представляет значительные трудности, так как, накапливаясь в значительном количестве, они не вызывают ЦПД. Индикация

вируса осуществляется с помощью РНИФ. Флюоресцирующий антиген вирусов имеет вид гранул, локализованных в цитоплазме клеток. Идентификация вирусов проводится с помощью РИФ, РИА, ИФА и РНГА.

Для серологической диагностики заболеваний применяют РНИФ, ИФА, РТНГА, РНГА, РИА.

Для обнаружения генетического материала вирусов в исследуемом материале применяют метод молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот и ПЦР. Раннюю диагностику заболевания проводят, обнаруживая антигены вирусов в моче с помощью РИФ и ИФА.

Специфическое лечение и профилактика. Для лечения применяют рибовирин и амиксин. Ранее для лечения ГЛПС применяли сыворотку или плазму реконвалесцентов. В настоящее время для лечения и экстренной профилактики против вируса Хантаан разработан специфический иммуноглобулин человека жидкий направленного действия. Наиболее перспективным методом профилактики ГЛПС является вакцинация населения эндемичных территорий. **В России разработана убитая вакцина против ГЛПС на основе штамма К-27 вируса Пуумала, выделенного из крови больного ГЛПС.**

Необходимо соблюдать осторожность при работе с исследуемым материалом и кровью больных.

17.1.4. Тогавирусы (семейство *Togaviridae*)

Название семейства *Togaviridae* происходит от лат. *toga* — плащ, накидка, что отражает сложное строение вириона, наличие у вирусов внешней липидсодержащей оболочки (суперкапсида), окружающей РНП наподобие плаща. Семейство состоит из 4 родов, 2 из которых — род *Alphavirus* и род *Rubivirus* — играют роль в патологии у человека. Альфавирусы относятся к экологической группе арбовирусов (от англ. *arthropod-borne viruses* — вирусы, рожденные или передаваемые членистоногими), вызывающих инфекции, передающиеся членистоногими. Типовым представителем рода является вирус Синдбис (SIN). Род *Rubivirus* включает вирус краснухи, который передается воздушно-капельным путем и не от-

носится к арбовирусам. Предлагают выделить данный род в отдельное семейство.

Вирусы рода *Alphavirus*

Морфология, химический состав и особенности репродукции. Альфавирусы — это сложноустроенные, гетерогенные по размерам, липидсодержащие вирусы. Геном их состоит из линейной однонитчатой плюс-РНК, обладающей инфекционной активностью, окруженной капсидом (С-белок) с кубическим типом симметрии и состоящим из 32 капсомеров. Нуклеокапсид окружен наружной двухслойной липопротеидной оболочкой, на поверхности которой располагаются гликопротеины E1, E2 и E3, пронизывающие липидный слой и контактирующие с нуклеокапсидом. Диаметр вирионов — от 65 до 70 нм.

Размножение вирусов происходит в результате проникновения их в клетку путем рецепторного эндоцитоза (см. рис. 3.8). Многие альфавирусы проникают в клетку, взаимодействуя с рецептором для Fc-фрагмента Ig. При слиянии вирусной оболочки со стенкой эндосомы вирусная РНК выходит в цитоплазму. Особенностью альфавирусов является образование двух видов инфекционной РНК — 49S-мРНК, идентичной вирионной, и 26S-мРНК. Синтез структурных белков (С, E1, E2, E3) кодирует 26S-мРНК, трансляция которой начинается на свободных полисомах. Все процессы синтеза вирусоспецифических компонентов происходят на рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматической сети. Здесь же происходит и сборка нуклеокапсидов. Сборка и почкование вирионов путем экзоцитоза происходят на плазматической мембране зараженных клеток в результате воссоединения нуклеокапсидов, липидного бислоя и пронизывающих его гликопротеинов. Лиганд-рецепторное взаимодействие белка С с E2 является сигналом для сборки вириона. Процесс почкования у альфавирусов происходит очень быстро и протекает быстрее, чем у вирусов семейств *Flaviviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae* и *Rhabdoviridae*. Инфекционный цикл занимает 6–8 ч.

В отличие от других вирусов, арбовирусы характеризуются способностью размножаться в двух температурных режимах: 36–40° и 22–25°С, что позволяет им репродуцироваться не только в организме позвоночных, но и

в организме переносчиков — кровососущих членистоногих насекомых.

Устойчивость к действию физических и химических факторов. Наличие липидсодержащей оболочки обуславливает чувствительность данных вирусов к эфиру и детергентам. Они легко разрушаются при 56°С, устойчивы к рН 6,0–9,0, сохраняют инфекционную активность при замораживании. Вирусы высокочувствительны к ультрафиолетовому облучению, действию формалина и хлорсодержащих дезинфектантов.

Антигенная структура. Альфавирусы не имеют М-белка. Они содержат один капсидный С-белок и два или три гликопротеина суперкапсидов: E1, E2 и E3. Последний есть не у всех альфавирусов, он входит в состав суперкапсидов вирусов леса Семлики. E1 и E2 обладают разной функциональной активностью. Гликопротеин E1 обладает гемагглютинирующей активностью, агглютинируя эритроциты гусей и цыплят. Он придает способность зараженным клеткам, также как и вирионам, связывать и лизировать эритроциты. Антитела против E1 блокируют гемагглютинацию, но не нейтрализуют вирусы. Тем не менее, благодаря такому связыванию с антителами, не нейтрализованные вирусы заражают клетки, взаимодействуя с их рецепторами к Fc-фрагментам иммуноглобулинов. Основной протективный антиген E2 индуцирует синтез антител, нейтрализующих инфекционные свойства вируса.

Поверхностные гликопротеины и белки нуклеокапсидов серологически не родственны. Белок С нуклеокапсидов обеспечивает родовую специфичность альфавирусов. Гликопротеин E2 является видоспецифическим антигеном и участвует в РН. E1 ответственен за подгрупповую специфичность и выявляется в РТГА. По данным РТГА альфавирусы образуют 4 антигенных комплекса: венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей, комплекс вирусов леса Семлики и негруппированные вирусы.

Особенности культивирования вирусов.
Восприимчивость лабораторных животных. Альфавирусы культивируют в культурах клеток фибробластов куриного эмбриона, ВНК-21, СПЭВ и др., где они вызывают развитие выраженного ЦПД. В культурах клеток под

агаровым покрытием альфавирусы образуют бляшки. В культурах клеток из переносчиков альфавирусы ЦПД не вызывают. К альфавирусам восприимчивы новорожденные белые мыши (1–3-дневного возраста) при интрацеребральном, подкожном и внутрибрюшинном заражении, у которых они через 2–5 или 8–12 дней вызывают развитие параличей конечностей с последующим летальным исходом. Вирусы венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей патогенны также для взрослых крыс, морских свинок, кроликов и обезьян. Возможно заражение куриных эмбрионов в желточный мешок. Гибель куриных эмбрионов наступает через 2–3 дня.

Универсальной моделью для выделения арбовирусов является заражение новорожденных белых мышей, у которых они вызывают развитие энцефалита, заканчивающегося летально.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболеваний. Альфавирусы широко распространены в природе, но чаще встречаются в южных широтах. Они вызывают природно-очаговые зоонозные инфекции. Почти все альфавирусы экологически связаны с комарами, являющимися не только переносчиками, но также их источником и резервуаром в природе. У переносчиков передача вирусов происходит трансфазово и трансвариально. Личинки комаров легко заражаются многими арбовирусами алиментарным путем. У комаров возможна венерическая передача вируса. В природных очагах резервуаром вирусов являются также позвоночные: птицы, грызуны, приматы и другие прокормители комаров. **Основной механизм заражения трансмиссивный.** Природные очаги поддерживаются за счет циркуляции вирусов между членистоногими и позвоночными. Человек, попадая в природный очаг заболевания, заражается при укусах инфицированными членистоногими. При высокой плотности населения и большой численности комаров человек становится источником-накопителем альфавирусов, и они могут передаваться трансмиссивно от человека человеку. Эпидемии заболевания обрываются тогда, когда создается большая «иммунная прослойка» населения в результате перенесенного заболевания и вакцинации.

В лабораторных условиях заражение людей может произойти в результате вдыхания аэрозолей при создании высоких концентраций вирусных частиц, поэтому работа с альфавирусами может проводиться лишь в специальных режимных лабораториях. Это возбудители особо опасных инфекций.

Патогенез альфавирусных инфекций состоит из стадий, характерных для всех арбовирусных заболеваний. Вирусы размножаются в тканях и органах членистоногих, в том числе в слюнных железах. При последующем укусе человека или животного при кровососании они проникают в кровь в результате резорбтивной вирусемии и заносятся во внутренние органы, где размножаются в эндотелии капилляров и фагоцитирующих клетках, откуда снова поступают в кровь. Эта вторичная вирусемия сопровождается появлением лихорадки. Вазотропные вирусы поражают эндотелий капилляров внутренних органов, а нейротропные вирусы проникают в ЦНС, где вызывают гибель клеток.

В большинстве случаев заболевания протекают скрытно, бессимптомно и выявляются с помощью серологических методов исследования. У человека альфавирусы могут вызвать заболевание, сопровождающиеся лихорадкой, высыпаниями на коже, развитием энцефалита и артрита.

Основными представителями альфавирусов, патогенными для человека, являются вирусы Синдбис, Чикунгунья, О Ньонг-Ньонг, леса Семлики, венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей. Вирусы Чикунгунья, О Ньонг-Ньонг и энцефаломиелитов лошадей вызывают эпидемии заболеваний, проявляющиеся энцефалитом или системной лихорадкой.

В результате перенесенных заболеваний появляется стойкий иммунитет. Комплемент-связывающие антитела сохраняются лишь на протяжении 1–2 лет, и их высокие титры свидетельствуют о недавно перенесенной инфекции. Вируснейтрализующие антитела и антигемагглютинины сохраняются в течение многих лет.

Микробиологическая диагностика заболеваний. Выделение вирусов из крови и цереброспинальной жидкости проводят путем заражения новорожденных белых мышей интрацеребрально, а также заражения культур клеток, где они вызывают развитие ЦПД, а также образование бляшек под агаровым покрытием. Универсальной моделью является заражение новорожденных белых мышей. Идентификацию вирусов проводят в РН на мышах или культурах клеток, в РТГА с эритроцитами гусей, РСК, РИФ и ИФА. Для постановки РИФ и ИФА широко используются моноклональные антитела, полученные почти ко всем арбовирусам.

Серодиагностика основана на обнаружении антител в парных сыворотках с помощью РН, РСК, РТГА, РРГ, РНГА, РНИФ, ИФА и РИА.

Экспресс-диагностика альфавирусных инфекций основана на обнаружении антигенов в исследуемом материале с помощью РНГА, РИФ, ИФА и РИА, а также на использовании молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот и/или ПЦР, позволяющих обнаружить участки генома, специфичного для каждого вируса.

Специфическое лечение и профилактика. Из противовирусных препаратов применяют рибавирин, интерферон и реферон. В ряде случаев для специфического лечения применяют сыворотки реконвалесцентов и гетерогенные иммуноглобулины. Для создания активного искусственного иммунитета в целях профилактики применяют в основном убитые формолвакцины. Вакцинация необходима для персонала, работающего с вирусами. Начиная с 1960-х годов работы по иммунопрофилактике вирусов венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелитов лошадей и других экзотических вирусов в России велись под руководством академика РАМН Анатолия Андреевича Воробьева, которому за создание вакцин и разработку методов массовой вакцинации в 1980 г. была присуждена Государственная премия.

17.1.4.1. Вирус лихорадки Синдбис

Вирус лихорадки Синдбис является типовым вирусом рода *Alphavirus* и входит в состав антигенного комплекса вирусов западного энцефаломиелита лошадей. Впервые он

выделен в 1952 г. из комаров *Culex pipiens*, *Culex inivittatus* в деревне Синдбис в окрестностях Каира (Египет). Вирус обладает всеми биологическими свойствами, характерными для альфавирусов. В клетках позвоночных и беспозвоночных воспроизведена бессимптомная инфекция. Ее механизмом является переход в состояние ДНК-провируса и интеграция в геном клетки хозяина. В геноме хронически инфицированных вирусом Синдбис клеток обнаружено 10–20 копий вирусных ДНК. Переносчиком вируса являются комары. Природными хозяевами его среди позвоночных животных являются птицы, у которых заболевание протекает бессимптомно. Вирус вызывает спорадические заболевания и небольшие вспышки, встречающиеся в Африке, Южной Америке, Индии, Австралии.

Близкий в антигенном отношении к вирусу лихорадки Синдбис является **вирус карельской лихорадки** (финское название — лихорадка Погоста, в Швеции — болезнь Окельбо), обнаруженный у больных на территории Карелии в 1981 г. Данный вирус также относится к вирусам комплекса западного энцефаломиелита лошадей. Переносчиком его являются комары рода *Aedes*.

Заболевания проявляются лихорадкой, головной болью, артралгиями, сыпью на коже и длятся 5–8 дней. Исход их благоприятный, но возможен переход в хроническое течение с развитием артрозов и потерей трудоспособности. Лабораторная диагностика основана на выделении вирусов из крови и серологических методах исследования. Специфическое лечение и профилактика не разработана.

17.1.4.2. Вирус лихорадки леса Семлики

Название вируса лихорадки леса Семлики происходит от местности округа Бвамба в Уганде, леса Семлики, где в 1942 г. был выделен вирус из комаров *A. abnormalis*. В последующем он был выделен от комаров в Кении и Камеруне (Африка), а также в Приморском крае России и в Казахстане. Следует отметить несколько повышенную термоустойчивость вируса. При 60 °С полная инактивация наступает не менее чем через 30–60 мин. В присутствии солей двух- и трехвалентных катионов термоустойчивость повышается. По строению и биологическим свойствам вирус близок к вирусу Синдбис. Внешняя обо-

лочка его содержит три антигена: E1, E2 и E3. Данный вирус является типичным представителем антигенного комплекса леса Семлики, в состав которого входят вирусы Чикунгунья, О Ньонг-Ньонг, Росс-Ривер (р. Росс) и вирус Майяро. Резервуаром и источником вируса в природе являются комары и птицы. Механизм заражения трансмиссивный. Заболевания у людей носят спорадический характер и проявляются лихорадкой, денгеподобным синдромом, в ряде случаев — развитием энцефалита и асептического менингита. Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса из крови и обнаружении антител в парных сыворотках. Препараты для специфического лечения и профилактики не разработаны.

17.1.4.3. Вирус лихорадок Чикунгунья и О Ньонг-Ньонг

Вирусы относятся к антигенному комплексу Семлики. Переносчиками их являются комары родов *Aedes* и *Anopheles* (*Aedes aegypti*, *Aedes africanus* и *Anopheles funestus*). Резервуаром и источником возбудителя для вируса Чикунгунья являются птицы, летучие мыши, обезьяны, которые поддерживают циркуляцию вирусов в природе (**джунглевый тип лихорадки**), и человек (**городской тип лихорадки**). Для вирусов О Ньонг-Ньонг резервуаром и источником возбудителя являются человек и приматы. Заболевания распространены в странах с тропическим и субтропическим климатом. Вирус лихорадки Чикунгунья распространен в Африке (Танзания, Зимбабве, ЮАР, Мозамбик, Уганда), Юго-Восточной Азии (Индия, Таиланд, Филиппины, Индонезия). Азиатские штаммы вируса мало чем отличаются от африканских штаммов вируса. Вирус лихорадки О Ньонг-Ньонг вызывает эпидемии в Юго-Западной, Центральной и Юго-Восточной Африке.

Городские эпидемии лихорадок происходят по цепочке человек-комар-человек. Лихорадка Чикунгунья («та, которая сгибает») часто накладывается на окончание эпидемии лихорадки денге. Уровень вирусемии у больных высок. Очевидно, комары могут переносить вирус и чисто механически при прерывистости кровососания, что обуславливает одновременное заражение лиц, проживающих в одном помещении.

Вирусы вызывают денгеподобные заболевания, характеризующиеся нередко двухволновой лихорадкой, интоксикацией, миалгиями, *сильными болями в суставах*, лимфаденопатией, зудящей макуло-папулезной сыпью, иногда — менингеальными и геморрагическими явлениями. В том случае, если не развивается ге-

моррагический или шоковый синдром, возникающий в результате повторного инфицирования вирусами, больные выздоравливают. Лабораторная диагностика основана на вирусологическом и серологическом методах исследования. Препараты для специфического лечения и профилактики не разработаны. Живая вакцина из вируса лихорадки Чикунгунья, прошедшего несколько интрацеребральных пассажей через мышей, вызывает непродолжительный иммунитет и практического значения не имеет. Потребность в вакцинах фактически отсутствует, так как эпидемии нерегулярны, а исход заболеваний благоприятный.

Арбовирусные инфекции, сопровождающиеся лихорадкой, поражением суставов и сыпью (денгеподобный синдром), вызываются также вирусом Росс-Ривер в Австралии, на о. Фиджи, Самоа, острове Кука и Новой Гвинеи и вирусом Майяро в Южной и Центральной Америке, входящими в состав вирусов антигенного комплекса Семлики.

17.1.4.4. Вирусы энцефаломиелитов лошадей

Вирус венесуэльского энцефаломиелита лошадей впервые выделен в 1938 г. из мозга лошади, павшей во время эпизоотии в Венесуэле. Имеет несколько вариантов (6 подтипов) от 1А до 1F. Для людей наиболее опасен подтип 1АВ. Вирус вызывает заболевания в северной части Южной Америки, Центральной Америке, Флориде и Мексике. Эпидемические штаммы появляются только во время крупных эпизоотий и эпидемий. Резервуаром и источником вируса в природе являются птицы, грызуны, сумчатые, обезьяны либо домашние животные, лошади, мулы, ослы, коровы и овцы, а также человек, у **которого**, как и у больных лошадей, *выражена вирусемия*. В ряде случаев вирус был выделен из смывов ротоглотки, что указывает на возможность передачи вируса от человека человеку. Механизм заражения трансмиссивный. Переносчики — комары родов *Aedes*, *Culex*, *Mansonia*, *Psorophora*, *Haemogogus*, *Anopheles*, *Sabethes*. У больных лошадей вирус выделяется с молоком, мочой, носовым секретом. может проникать в ротовую полость человека с загрязненных рук. Известны случаи внутрилабораторного аспирационного заражения воздушно-пылевым путем в результате вдыхания вирусных аэрозолей.

Инкубационный период — от 2 до 6 дней. У человека заболевание протекает чаще всего как ОРВИ с лихорадкой и головной болью, мышечными болями. Энцефалитическая форма возникает редко (3–5 %) и, главным образом, у детей. Летальность среди взрослых составляет 6–9 %, среди детей до 5 лет — 35 %.

Иммунитет после перенесенного заболевания стойкий, напряженный.

Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса из крови больных и цереброспинальной жидкости, а также на обнаружении антител в парных сыворотках.

Для **специфического лечения и экстренной профилактики** применяют иммуноглобулин против вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей жидкий, полученный из сыворотки крови лошадей. Из противовирусных препаратов используют интерферон, реаферон. Для создания активного иммунитета в целях профилактики применяют живые вакцины из аттенуированных штаммов 230,15 мм или ТС-83 и инактивированные вакцины. Так как убитая вакцина не всегда создает иммунитет к заражению через дыхательные пути, для вакцинопрофилактики у сотрудников вирусологических лабораторий предпочтительно применять живую таблетированную вакцину для перорального применения, разработанную А. А. Воробьевым и соавт. из штамма 230.

Вирус восточного энцефаломиелита лошадей впервые выделен в 1933 г. из мозга погибших во время эпизоотии в восточных штатах США (Нью-Джерси) лошадей. Вирус достаточно термоллабилен, при температуре 55 °С разрушается за 30 мин, неустойчив при 37 °С, но хорошо сохраняется в замороженном и лиофилизированном состоянии.

Основным резервуаром и источником вируса в природе являются дикие птицы, обитающие на болоте (воробьиные и водно-околоводного комплекса); показана чувствительность к нему летучих мышей. Переносчиком вируса среди птиц являются комары различных видов, чаще всего *Culiseta melanura*, которые редко нападают на лошадей и человека. Природные очаги возбудителя восточного энцефаломиелита лошадей обычно расположены в болотистой местности. Из

них вирус распространяется на фазанов, уток на птицефермах и лошадей, а в последующем и на людей. Эпидемически значимыми переносчиками считаются комары *Aedes sollicitans* и других видов, активно нападающие на человека. Лошади и человек представляют собой «конечные точки» в жизненном цикле вируса, так как инфекционный процесс у них является случайным. Эпизоотии среди лошадей и заболевания у людей встречаются в Северной и Южной Америке, на Кубе, на о. Тринидад. **У человека заболевание обычно протекает очень тяжело**; соотношение клинических и бессимптомных форм 1:25. Характерны симптомы энцефалита: спутанность сознания, головная боль, лихорадка, параличи. Острые явления длятся 7–10 дней. Заболевание сопровождается высокой летальностью (70–75 %). После перенесенного заболевания в 35 % случаев наблюдаются неблагоприятные последствия в виде психоэмоциональных расстройств и слабоумия. Иммунитет стойкий, напряженный.

Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса из крови и цереброспинальной жидкости, а также на обнаружении антител в парных сыворотках.

Специфическое лечение и профилактика не разработаны. Для создания активного иммунитета применяют дивакцины восточного и западного энцефаломиелита лошадей культуральные инактивированные жидкие и сухие. Вирусы получают на многослойных культурах куриных фибробластов и инактивируют формалином. Препарат предназначен для профилактики у взрослых лиц, работающих с данными вирусами или выезжающих в эндемичные районы. Иногда компоненты дивакцины используют отдельно или комбинируют с убитой вакциной против вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей.

Вирус западного энцефаломиелита лошадей впервые выделен в 1930 г. из мозга погибшей во время эпизоотии лошади и вскоре — из мозга погибшего от энцефалита ребенка. По биологическим свойствам это типичный альфа-вирус. В экологическом отношении сходен с возбудителем венесуэльского энцефаломиелита лошадей. Основным естественным резервуаром вируса являются дикие птицы (воробьи и водоплавающие птицы водно-око-

ловодного комплекса), у которых возникает вирусемия без клинических симптомов. У птиц часто возникает хроническая инфекция, сопровождающаяся периодической вирусемией. Возможно участие в качестве хозяев вируса мышевидных грызунов, а также длительное сохранение и репродукция вирусов в организме холоднокровных — змей и лягушек, у которых развивается хроническая или латентная инфекция. От птиц и, возможно, холоднокровных хозяев вирус переносится комарами (в основном орнитофильным видом *Culex tarsalis*) к человеку и чувствительным к вирусу животным, лошадям и мулам, которые являются случайными хозяевами вируса и представляют собой «тупик» в эпидемическом цикле вируса западного энцефаломиелита лошадей. Резервуары вируса установлены в США, Канаде, Мексике, Гайане, Бразилии и Аргентине. Соотношение клинически выраженных и бессимптомных форм заболевания 1:58. Заболевание возникает в виде крупных вспышек и проявляется лихорадкой, головными болями, болью в мышцах и поражением ЦНС (энцефалит). Летальность достигает 8–15%. После перенесенного заболевания могут отмечаться стойкие психоэмоциональные и неврологические расстройства. Иммуитет стойкий, напряженный.

Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса из крови и цереброспинальной жидкости, а также обнаружении антител в парных сыворотках и цереброспинальной жидкости.

Специфическое лечение и профилактика не разработаны. Для профилактики применяют дивакцины восточного и западного энцефаломиелита лошадей культуральные инактивированные жидкие и сухие.

17.1.4.5. Вирус краснухи

Вирус краснухи интересен тем, что помимо приобретенной краснухи, он вызывает врожденную краснуху, а также прогрессирующий краснушный панэнцефалит.

Предполагается, что краснуха была известна еще арабским врачам в средневековье. Однако лишь в 1938 г. японскими исследователями J. Hiro и S. Tasaka

была доказана вирусная природа заболевания путем заражения волонтеров фильтратами носоглоточных смывов больных людей. До начала 1940-х годов краснуху рассматривали как одно из самых безобидных инфекционных заболеваний, учитывая ее легкое течение, редкие осложнения и благоприятный исход. Однако это мнение резко изменилось, когда в 1941 г. австралийский офтальмолог N. M. Gregg показал особую опасность вируса краснухи для плода при заболевании ею беременных женщин. Он отметил развитие у новорожденных *катаракты, глухоты и пороков сердца* — классической триады врожденной краснухи. Интенсивное изучение вируса в 60-е годы способствовало его выделению в культуре клеток одновременно двумя группами исследователей — Т. Н. Weller и F. A. Neva (1962), P. D. Parkman и соавт. (1962).

Таксономическое положение вируса. Вирус краснухи относится к семейству *Togaviridae* роду *Rubivirus*. Название происходит от лат. *rubrum* — красный, что связано с покраснением кожи у больных, обусловленным появлением на ней пятнисто-папулезной сыпи.

Морфология и химический состав вируса. Вирион вируса краснухи имеет сферическую форму, диаметр 60–70 нм. Геном вируса представлен одонитчатой плюс-нитевой РНК, окруженной кансидом с кубическим типом симметрии и внешней липидсодержащей оболочкой, на поверхности которой находятся шипы. В структуре вириона три белка: С, Е1 и Е2, два последние из которых — гликопротеины, или шипы, расположенные во внешней оболочке вириона.

Устойчивость к действию физических и химических факторов. Вирус краснухи чувствителен к эфиру и детергентам. Он малоустойчив к действию физических и химических факторов, неустойчив в окружающей среде. Вирус инактивируется при 100 °С за 2 мин. Разрушение вируса происходит под действием органических растворителей, хлоративных соединений, формалина, УФ-лучей солнечного света. При низких температурах в замороженном состоянии сохраняет свою активность годами.

Антигенная структура вируса. Вирус краснухи представлен одним серотипом. Он имеет внутренний нуклеокапсидный антиген С, выявляемый в РСК, и внешние антигены: Е2, выявляемый в РН, и Е1, или геммагглютинин

выявляемый в РГА и РТГА. Лучше всего вирус агглютинирует эритроциты голубей, гусей и 1–3-дневных цыплят. Е2 — это протективный антиген вируса.

Особенности культивирования и восприимчивость лабораторных животных. Вирус краснухи способен культивироваться в различных культурах клеток, где он чаще всего не вызывает развития ЦПД, в связи с чем длительное время не удавалось обнаружить (вирус выделен лишь в 1962 г.). В первичных культурах клеток вирус можно обнаружить по феномену интерференции, при этом в качестве индуктора для суперинфекции используют вирус ЕСНО-11 и вирус везикулярного стоматита, размножение которых в культурах клеток всегда сопровождается развитием ЦПД. Вирус краснухи вызывает развитие ЦПД и образование бляшек под тонким покрытием лишь в некоторых переносимых культурах клеток: ВНК-21, Vero, RK-21, SIRC, а также в первичных культурах клеток из тканей человеческого плода. Наилучшей культурой для репродукции и выявления ЦПД являются клетки ВНК-21, в которых цикл репродукции вируса завершается за 12–15 ч. Вирус размножается в цитоплазме клеток, вызывая очаговую деструкцию клеточного монослоя и образование цитоплазматических эозинофильных включений.

В отличие от других тогавирусов, вирус краснухи не культивируется в культурах клеток членистоногих и обладает нейраминидазной активностью.

Помимо культур клеток, к вирусу чувствительны куриные и утиные эмбрионы.

Вирус краснухи способен размножаться в организме различных лабораторных животных (обезьян, хомячков, крыс, кроликов, морских свинок и мышей-сосунков), у которых инфекция обычно протекает бессимптомно. Хорошей моделью для вируса краснухи является экспериментальная инфекция у хорьков, у которых вирус размножается в течение длительного времени в паренхиматозных органах и передается трансплацентарно, что характерно и для человека. Трансплацентарно передача вируса происходит также у обезьян.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболеваний. Вирус краснухи относится к факультативным возбудителям

медленных вирусных инфекций. Краснуха — антропонозное заболевание.

Источником вируса является человек, больной клинически выраженной или бессимптомной формой краснухи, который представляет эпидемиологическую опасность со второй половины инкубационного периода и в течение 7 дней с момента появления сыпи, а также дети с врожденной краснухой, выделяющие вирус в окружающую среду в течение многих месяцев (до 2 лет). Выделение вируса из организма происходит с носоглоточным секретом, а также с мочой и испражнениями.

Отличительной чертой заражения вирусом является наличие двух самостоятельных путей передачи: воздушно-капельного у лиц, общавшихся с источником инфекции, и трансплацентарного — от матери плоду. При этом трансплацентарная передача вируса является связующим звеном в цепи аэрогенного механизма заражения, так как дети с врожденной краснухой передают вирус окружающим воздушно-капельным путем.

Вирус, персистирующий в организме больного с врожденной краснухой, обладает повышенной вирулентностью. В отличие от других детских воздушно-капельных инфекций, таких как корь, эпидемический паротит, ветряная оспа, больной краснухой менее контагиозен, так как вирус нестойк в окружающей среде, поэтому для реализации аэрогенного механизма заражения необходим тесный и продолжительный контакт с источником инфекции. В отличие от других детских воздушно-капельных инфекций, заболеваемость краснухой проявляется в основном в виде вспышек, так как циркуляция вируса среди населения более ограничена. Преимущественно болеют дети, посещающие организованные коллективы. Поэтому «иммунная прослойка» среди населения формируется медленно, и к 20 годам от 15 до 45 % населения не имеет иммунитета, что особенно опасно для женщин детородного возраста. Такая ситуация тревожна, так как известно, что вспышки заболеваемости краснухой проявляются тогда, когда 15 % населения являются восприимчивыми к вирусу.

Различают две формы болезни: **приобретенную и врожденную краснуху**, которые имеют существенные различия в клинических проявлениях и механизмах заражения. Входными воротами инфекции при приобретенной краснухе являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей, откуда вирус проникает в регионарные лимфатические узлы, где размножается, и поступает в кровь. С током крови вирус разносится по органам и оседает в лимфатических узлах и эпителиальных клетках кожи, где и развивается иммунная воспалительная реакция, сопровождающаяся появлением пятнисто-папулезной сыпи. Инкубационный период — от 11 до 24 дней, в среднем 16–21 день. Заболевание начинается с незначительного повышения температуры и легких катаральных симптомов, конъюнктивита, а также увеличения заднешейных и затылочных лимфатических узлов («краснушные рожки»). В последующем появляется пятнисто-папулезная сыпь, расположенная по всему телу. Вирус выделяется из организма больных с секретом слизистых оболочек верхних дыхательных путей, а также с мочой и фекалиями. Он исчезает из крови через двое суток после появления сыпи, но сохраняется в секрете слизистых оболочек верхних дыхательных путей в течение 2 недель. У детей краснуха, как правило, протекает легко. Независимо от формы заболевания у переболевших лиц остается стойкий, напряженный иммунитет. Антигеммагглютинины и вируснейтрализующие антитела сохраняются на протяжении всей жизни, а комплементсвязывающие антитела циркулируют в организме в течение нескольких лет, поэтому обнаружение их рассматривается как показатель относительно недавно перенесенного заболевания. Высокие титры вируснейтрализующих антител и антигеммагглютининов являются показателем невосприимчивости макроорганизма. В ходе заболевания развивается вторичный иммунодефицит клеточного типа.

Врожденная краснуха — это медленная вирусная инфекция, развивающаяся в результате внутриутробного трансплацентарного заражения плода, персистенции вируса в его тканях, где он оказывает тератогенное действие. Заболевание характеризуется развитием

катаракты, глухоты и пороков сердца, а также других аномалий развития. Слепота в сочетании с глухотой и поражением ЦНС приводит к умственной отсталости. Внутриутробные пороки развития могут вызываться вирусами простого герпеса 1-го и 2-го типов, вирусом цитомегалии, вирусом гриппа и вирусом кори, но первое место в этом ряду занимает вирус краснухи. Особую опасность представляет заражение краснухой в I триместре беременности, так как в этом периоде происходит формирование всех основных тканей и органов плода. Около 25 % детей, зараженных в этот период, рождаются с симптомами врожденной краснухи, а у 85 % детей регистрируются другие формы патологии развития. Тератогенное действие вируса обусловлено торможением митотической активности клеток, ишемией плода в результате поражения сосудов плаценты, иммуносупрессивного действия избыточной антигенной нагрузки на развивающуюся иммунную систему, а также прямым цитопатогенным действием вируса на клетки плода. Вирус поражает моноциты и лимфоциты, и длительно персистирует в них. У детей с врожденной краснухой определяется высокий уровень специфических антител, проникших трансплацентарно от матери. Иммунитет после врожденной краснухи менее стойкий, так как формирование его происходит в условиях незрелой иммунной системы плода. Выздоровление при врожденной краснухе отмечается после гибели зараженных клеток.

На фоне персистенции вируса краснухи в макроорганизме, что наиболее характерно для лиц с врожденной краснухой, а также после перенесенной в детском возрасте инфекции у человека в течение второго десятилетия жизни может развиваться **прогрессирующий краснушный панэнцефалит** — медленная вирусная инфекция, характеризующаяся комплексом прогрессирующих нарушений двигательной и умственной функции ЦНС, и завершающаяся летальным исходом. Больные с признаками прогрессирующего краснушного панэнцефалита не представляют эпидемиологической опасности для окружающих, поскольку у них отсутствует вирус в экскретах. Вирус краснухи интересен также тем, что он может быть причиной развития ювенильного диабета, пан-

креатита, дисфункции щитовидной железы, изменения психики и других заболеваний

Микробиологическая диагностика. Диагностика краснухи основана на выделении вируса из смывов со слизистой оболочки носа и зева, крови, мочи, реже — испражнений, а также внутренних органов погибших детей и на обнаружении антител (IgM и IgG) в парных сыворотках и цереброспинальной жидкости при врожденной краснухе и прогрессирующем краснушном панэнцефалите, определения индекса авидности IgG и постановке ПЦР. Выделение вируса осуществляют путем заражения чувствительных клеток. Индикацию вируса осуществляют на основании интерференции с цитопатогенными вирусами или по обнаружению ЦПД и в РГА. Идентификацию вируса осуществляют в РН, РТГА, РИФ и ИФА. Для обнаружения антител применяют РН, РСК, РТГА, ИФА. Диагностическое значение имеет четырехкратное и более увеличение титров антител в динамике заболевания, а также определение специфических IgM и низкоавидных IgG, свидетельствующих о недавно перенесенном заболевании или болезни в момент обследования. Особенно важное значение имеет обнаружение антител у беременных. Обнаружение у новорожденных высоких уровней антител к вирусу и специфических IgM в первом полугодии жизни или низкоавидных IgG во втором полугодии свидетельствует о перенесенной внутриутробной инфекции. Так как вирусологический метод сложный и трудоемкий, ведущую роль в диагностике краснухи имеет серологическое исследование, а именно ИФА. Перспективно применение ПЦР.

Специфическое лечение и профилактика.

Препараты для специфического лечения не разработаны. Учитывая актуальность врожденной краснухи для здравоохранения, первоочередной задачей профилактики является защита женщин детородного возраста от внутриутробного инфицирования плода. Вероятность заболевания во время беременности высока у групп риска — медицинских работников, педагогов, работников детских дошкольных учреждений. С этой целью в национальный календарь профилактических прививок в 1997 г. была включена вакцинация против краснухи в возрасте 12 месяцев,

ревакцинации детей в 6 лет и иммунизация девочек в 13 лет.

В настоящее время вакцинация против краснухи **живой вакциной**, изготовленной на основе аттенуированных штаммов вируса Wistar RA27/3 и Chendehill, применяется во многих странах мира. Для проведения вакцинации используют как ассоциированные вакцины (паротитно-коревая-краснушная вакцина «MMR», приорикс, паротитно-краснушная вакцина «MR-VAX-2»), так и моновакцины («Meruvax-2», «Rudivax», «Ervevax»). При этом ассоциированные препараты назначают детям, а моновакцины применяют для селективной вакцинации. Данные зарубежные препараты зарегистрированы в России и разрешены к применению. Иммунитет у привитых сохраняется в течение 20 лет. При проведении вакцинации у серонегативных женщин репродуктивного возраста врач обязан принять все меры предосторожности, чтобы не провести вакцинацию беременной женщине, а также должен предупредить женщину о необходимости предохраняться от беременности в течение 3 месяцев, так как вакцинный штамм может проникать трансплacentарно и вызывать поражения у плода. Вместе с тем наступление беременности в период вакцинации не является показанием к ее прерыванию. Беременные, особенно в ранний период беременности, должны избегать контакта с больным краснухой, несмотря на перенесенную в детстве инфекцию или проведенную вакцинацию, так как дикий штамм вируса может преодолевать приобретенный иммунитет. Беременным женщинам, общавшимся с источником инфекции, для профилактики вводят человеческий иммуноглобулин, но он не предупреждает развития вирусемии. Положительный эффект отмечают лишь при своевременном введении больших доз препарата.

Заболевание краснухой в I триместре беременности является прямым показанием к рассмотрению вопроса о прерывании беременности.

17.1.5. Флавивирусы (семейство *Flaviviridae*)

Название семейства *Flaviviridae* происходит от лат. *flavus* — желтый, по названию заболевания желтая лихорадка, которое вызывает вирус данного семейства. Патогенные для человека вирусы входят в состав двух родов: рода *Flavivirus*, в состав которого включены воз-

будители арбовирусных инфекций (от англ. *arthropod-borne viruses* — вирусы, рожденные или передаваемые членистоногими), и рода *Hepacivirus*, в состав которого входят вирус гепатита С (HCV), являющийся в 40–65 % случаев возбудителем всех посттрансфузионных гепатитов, и вирус гепатита G (HGV). Предлагается выделить данный род в отдельное семейство.

Типовым представителем семейства *Flaviviridae* является вирус желтой лихорадки, штамм *Asibi*, относящийся к роду *Flavivirus*.

Вирусы рода *Flavivirus*

Морфология вирусов, химический состав, особенности репродукции. Это сложные РНК-геномные вирусы, сферической формы. Они меньше, чем альфавирусы, их диаметр 40–60 нм. Геном вирусов состоит из линейной однонитчатой плюс-нитевой РНК, окруженной капсидом с кубическим типом симметрии. В состав нуклеокапсида входит один белок — С. Нуклеокапсид (РНП) окружен суперкапсидом, на поверхности которого содержится гликопротеин Е. На внутренней стороне суперкапсида расположен структурный белок М.

При репродукции вирусы проникают в клетку путем рецепторного эндоцитоза, взаимодействуя с поверхностными фосфо- и гликолипидами. В последующем происходит слияние вирусной оболочки со стенкой вакуоли. В зараженной клетке обнаружена только геномная РНК с коэффициентом седиментации 45S. Вирусный репликативный комплекс связан не с мембранами эндоплазматической сети, как у альфавирусов, а с кариолеммой (ядерной мембраной). Репродукция флавивирусов идет значительно медленнее (более 12 часов), чем у альфавирусов. Созревание происходит путем почкования не через плазматическую мембрану, а через мембраны эндоплазматической сети. В полости вакуолей вирусные частицы часто образуют кристаллоподобные образования, формируемые вирусными белками. Флавивирусы более патогенны, чем альфавирусы.

Устойчивость к физическим и химическим факторам. Вирусы чувствительны к действию эфира, детергентов и формалина. Устойчивость флавивирусов к действию фи-

зических и химических факторов такая же, как и у альфавирусов.

Антигенная структура. Гликопротеин Е участвует во всех серологических реакциях, содержит видо-, комплекс- и родоспецифические антигенные детерминанты. Характерной особенностью флавивирусов является их способность образовывать в инфицированных клетках растворимый антиген, обладающий активностью в РСК и в реакции иммунодиффузии. Антитела к нему обладают нейтрализующей активностью. Гемагглютинирующие свойства флавивирусов, так же как и альфавирусов, проявляются в узком диапазоне рН. Для проявления гемагглютинирующей активности требуется определенная пространственная конфигурация молекул гликопротеина Е, которая у флавивирусов легко нарушается. Представители флавивирусов внутри семейства и рода по антигенному родству в РТГА сгруппированы в антигенные комплексы: комплекс вирусов клещевого энцефалита, японского энцефалита, лихорадки денге и т. д. (8 групп), а также вирус желтой лихорадки.

Особенности культивирования вирусов. Восприимчивость лабораторных животных. Вирусы культивируют во многих первичных и перевиваемых культурах клеток человека и теплокровных животных, где они, в отличие от альфавирусов, вызывают слабо выраженное ЦПД, которое хорошо проявляется в культурах клеток СПЭВ, ВНК-21. В культурах клеток членистоногих вирусы развития ЦПД не вызывают. Универсальной моделью для выделения флавивирусов является интрацеребральное заражение новорожденных белых мышей, а также 3–4-недельных белых мышей, у которых отмечается развитие параличей. В качестве экспериментальной модели используют обезьян. Вирусы культивируют также путем заражения на хорионаллантоисную оболочку и в желточный мешок куриных эмбрионов, гибель которых отмечается через 72 ч. Для вирусов лихорадки денге высокочувствительной моделью является интра-торакальное и интракапсулярное заражение комаров.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления флавивирусных инфекций. Флавивирусы широко распространены в приро-

де и, как и другие арбовирусы, вызывают природно-очаговые заболевания с трансмиссивным механизмом заражения. Основным резервуаром и источником флавивирусов в природе являются кровососущие членистоногие переносчики, у которых доказано наличие трансфазовой и трансвариальной передачи флавивирусов. Большая часть флавивирусов распространяется *комарами* (вирусы лихорадки денге, вирус желтой лихорадки, японского энцефалита, лихорадки Западного Нила), некоторые передаются *клещами* (вирусы клещевого энцефалита, омской геморрагической лихорадки, вирус болезни леса Киассанур и т. д.). Комариные флавивирусные инфекции распространены преимущественно в южных широтах, в то время как клещевые встречаются повсеместно. Важную роль в поддержании флавивирусов в природе играют прокормители кровососущих членистоногих переносчиков теплокровные позвоночные животные, а именно грызуны, птицы, летучие мыши, приматы и т. д., у которых инфекция обычно протекает бессимптомно, но сопровождается выраженной вирусемией, что способствует трансмиссивному механизму заражения. Человек — случайное, «тупиковое» звено в экологии флавивирусов, однако для лихорадки денге и городского типа желтой лихорадки больной человек также является основным резервуаром и источником вируса.

Помимо основного, трансмиссивного механизма заражения и пути передачи, заражение флавивирусами может происходить контактным, аэрогенным и пищевым путями.

Патогенез заболеваний, вызываемых флавивирусами, сходен с патогенезом заболеваний, вызываемых другими арбовирусами (см. патогенез буньявирусных и альфавирусных инфекций). Флавивирусы более патогенны, чем альфавирусы, и помимо бессимптомных форм заболеваний, а также системных лихорадок с сыпью или без сыпи, вызывают тяжело протекающие заболевания, сопровождающиеся поражением печени и геморрагическим синдромом (желтая лихорадка, лихорадка денге, омская геморрагическая лихорадка, болезнь леса Киассанур) или развитием энцефалитов (клещевой энцефалит, японский энцефалит).

Иммунитет после перенесенных заболеваний напряженный, повторные заболевания не наблюдаются.

Микробиологическая диагностика флавивирусных инфекций. Диагностика флавивирусных инфекций основана на выделении вирусов путем интрацеребрального заражения мышей, культур клеток, куриных эмбрионов и заражения комаров, а также обнаружения антител в парных сыворотках. Материалом для вирусологического исследования служат: кровь (сыворотка, плазма, сгусток), взятая в первые дни заболевания и в период повторного приступа лихорадки; цереброспинальная жидкость; секционный материал (мозг, печень, селезенка, лимфатические узлы); внутренние органы погибших диких животных; переносчики — клещи, комары, москиты; молоко коз, коров и овец (вирус клещевого энцефалита); озерная вода, в которой находились тушки павших животных (при омской геморрагической лихорадке). Индикация вирусов проводится на основании гибели мышей и куриных эмбрионов, в культурах клеток с помощью РГА с эритроцитами гусей, по обнаружению ЦПД и бляшкообразованию. Идентификация проводится с помощью РН, РТГА, РСК, РИГА, реакции иммунодиффузии, РИФ, ИФА и РИА. По сравнению с РСК и РТГА, реакция нейтрализации наиболее специфична при работе с арбовирусами, позволяет осуществлять их типовую дифференциацию. При проведении идентификации широко используют моноклональные антитела.

Обнаружение антител в парных сыворотках проводят с помощью РТГА, РТНГА, РСК, РРГ, РН, РНИФ, ИФА и РИА. Диагностическим признаком считается нарастание титров антител более чем в 4 раза. Обнаружение IgM свидетельствует о свежем инфицировании. Наличие комплементсвязывающих антител в сыворотках крови больных и реконвалесцентов говорит либо о свежем инфицировании, либо о недавно перенесенном заболевании, так как при арбовирусных инфекциях комплементсвязывающие антитела значительно уменьшаются в титре через 6 месяцев после начала заболевания и перестают обнаруживаться через 2 года после перенесенного заболевания. При энцефалитах важную роль игра-

ет обнаружение антител в цереброспинальной жидкости, так как их раннее обнаружение свидетельствует о текущей инфекции.

Экспресс-диагностика флавивирусных инфекций осуществляется на основании обнаружения антигенов с помощью РНГА, РИФ, ИФА и РИА. Из молекулярно-генетических методов диагностики применяют молекулярную гибридизацию нуклеиновых кислот и ПЦР.

Лечение и профилактика флавивирусных инфекций. Из арсенала противовирусных препаратов для лечения применяют рибавирин, интерферон, реаферон, биназу. В целях создания пассивного искусственного приобретенного иммунитета для экстренной профилактики и лечения применяют гетерогенные и гомологичные иммуноглобулины. При проведении вакцинопрофилактики для создания активного искусственного приобретенного иммунитета применяют, в основном, убитые формалином вакцины, за исключением живой вакцины против желтой лихорадки.

17.1.5.1. Вирус желтой лихорадки

Таксономическое положение, биологические свойства. Возбудитель желтой лихорадки был открыт в 1901 г. на Кубе американской военной миссией во главе с майором У. Ридом (W. Reed). Это первый патогенный вирус, обнаруженный у человека, с него началось изучение арбовирусов. Он является типовым представителем семейства *Flaviviridae* и относится к роду *Flavivirus* (от лат. *flavus* — желтый). Это РНК-геномный вирус, серологических вариантов не имеет. Обладает вазотропизмом и поражает сосуды внутренних органов. Вирус желтой лихорадки поражает также клетки висцеральных органов и обладает нейротропностью. В экспериментальных условиях показано, что при длительных пассажах в культурах клеток и куриных эмбрионах патогенность вируса для обезьян существенно снижается. При пассировании на мышцах с использованием интрацеребрального способа заражения у вирусов снижаются пантропные и возрастают нейротропные свойства. Во внешней среде вирус малоустойчив.

Эпидемиология, патогенез, клинические проявления заболевания. Заболевание распро-

странено в тропических и субтропических странах Центральной и Южной Америки, Африки. Существует гипотеза о первичном распространении желтой лихорадки на Африканском континенте и последующем ее заносе в Америку во времена работорговли. Желтая лихорадка по уровню заболеваемости в мире занимает второе место после лихорадки денге. Желтая лихорадка не встречается там, где распространена лихорадка денге. Это два взаимоисключающих (викарирующих) вируса, что обусловлено их конкуренцией за рецепторы у переносчика.

Различают две эпидемиологические формы желтой лихорадки — джунглевую (зоонозную) и городскую (антропонозную). При джунглевой природно-очаговой зоонозной форме вирус циркулирует главным образом между обезьянами и комарами, которые могут нападать на людей. Главную роль в возникновении эпидемий играет городская форма желтой лихорадки, при которой вирус циркулирует между человеком и синантропными комарами *A. aegypti*. Штаммы вирусов, циркулирующие в природных очагах, обладают меньшей вирулентностью для человека. При городской форме желтой лихорадки после нескольких пассажей на людях вирулентность их возрастает. Комары при желтой лихорадке, как и другие кровососущие членистоногие насекомые при других арбовирусных инфекциях, не являются чисто механическими переносчиками вирусов. Вирусы активно размножаются в них, достигая определенных критических концентраций в слюнных железах комаров, что необходимо для инфицирования человека. Вспышки этого заболевания наблюдаются всюду, где есть переносчики вируса: от 42° с. ш. до 40° ю. ш.

Желтая лихорадка не только относится к особо опасным инфекциям, но и является единственной карантинной арбовирусной инфекцией. Механизм заражения трансмиссивный. Вирус попадает в организм человека при укусе его комарами и последующем кровососании. Инкубационный период при данном заболевании 3–6 дней. Вирус желтой лихорадки проникает в регионарные лимфатические узлы, где происходит его размножение в течение всего инкубационного

периода, а затем попадает в кровь. Вирусемия продолжается 3–4 дня. Распространяясь гематогенно и обладая вазотропизмом, вирус попадает в печень, почки, костный мозг, селезенку, а также головной мозг. Развивается дистрофия и некроз гепатоцитов, поражаются клубочковый и канальцевый аппараты почек. Заболевание может возникнуть также при попадании крови больного или погибшего человека на поврежденную кожу или на слизистые оболочки. Клинически заболевание проявляется лихорадкой, интоксикацией, геморрагическим синдромом, поражением печени и почек. Летальность достигает 20–50%. Иммуитет напряженный.

Микробиологическая диагностика. Диагностика основана на выделении вируса из крови не позднее 3–4-го дня болезни, а в летальных случаях — из печени путем заражения новорожденных белых мышей, комаров и культур клеток, а также определении нарастания титров антител в парных сыворотках с помощью РТГА, РСК, РН, РРГ и ИФА. Серологический метод исследования играет особенно важную роль при атипичном течении заболевания. Экспресс-диагностика основана на индикации вирусного антигена в крови больных или в печени умерших с помощью ИФА. Для ускоренной диагностики определяют IgM в сыворотках крови с помощью ИФА, что говорит о текущей инфекции.

Специфическое лечение и профилактика. Специфическое лечение желтой лихорадки не разработано. Сыворотки крови переболевших людей и естественно иммунизированных обезьян не оказывают лечебного воздействия, так как вирусы относятся к облигатным внутриклеточным паразитам. В целях профилактики всем лицам, выезжающим в неблагополучные по желтой лихорадке регионы и выезжающим из них, а также лицам, проживающим на эндемичных по желтой лихорадке территориях, применяют вакцину желтой лихорадки живую, сухую, представляющую вирусосодержащую суспензию тонко измельченной ткани куриных эмбрионов, инфицированных аттенуированным штаммом 17D вируса желтой лихорадки, очищенную от клеточного детрита. Вакцина создает напряженный иммунитет с 10-го дня после

первичной вакцинации, сохраняющийся не менее десяти лет. Вакцина термолабильна, при ее применении надо использовать холодную цепь. При возникновении вспышек желтой лихорадки немедленно приступают к массовой иммунизации населения с учетом определенных противопоказаний. Во избежание распространения желтой лихорадки действующие Международные санитарные правила предусматривают обязательную отчетность о случаях заболевания этой инфекцией. Изучение вируса и проведение планомерных противоэпидемических мероприятий привели к прекращению эпидемических вспышек желтой лихорадки в странах Американского континента к середине XX в. В настоящее время эпизодически возникают заболевания с количеством заболевших в несколько десятков человек в Бразилии, Колумбии, Перу, Венесуэле, Нигерии, Камеруне и Гане.

Российскими учеными на основе коммерческих препаратов разработана комплексная вакцинация против карантинных инфекций — чумы, холеры и желтой лихорадки.

17.1.5.2. Вирус клещевого энцефалита

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирус клещевого энцефалита был выделен в 1937 г. на Дальнем Востоке Л. А. Зильбером и сотрудниками экспедиции из мозга умерших, крови и ликвора больных, а также иксодовых клещей и диких позвоночных животных. Это первый патогенный вирус, обнаруженный на территории России, с него в России началось изучение арбовирусных инфекций. Вирус клещевого энцефалита относится к семейству *Flaviviridae* роду *Flavivirus* и является типовым представителем вирусов комплекса клещевого энцефалита, в состав которого входят вирус омской геморрагической лихорадки, вирус болезни леса Киассанур, шотландского энцефаломиелита овец, вирус Лангат и другие, сходные по биологическим свойствам и в антигенном отношении вирусы. Это типичный арбовирус умеренного пояса. Вирус клещевого энцефалита рассматривается как единый, широко распространенный политипический вид, которому свойственна значительная географическая и внутривидовая изменчивость по ряду антигенных и биологических признаков. Выделяют пять генотипов вируса,

имеющих некоторые антигенные различия, но только один структурный гликопротеин Е индуцирует образование вируснейтрализующих антител, общих для всех известных генотипов вируса. Он обладает четкой антигенной консервативностью. Несмотря на небольшую устойчивость вируса к действию физических и химических факторов, в организме переносчиков он сохраняет свою жизнеспособность в широком диапазоне температур, от -150°C до $+30^{\circ}\text{C}$, что способствует его широкому распространению. Он проявляет высокую резистентность к действию кислых значений рН, что важно при алиментарном пути заражения. Вирус обладает висцеротропностью и нейротропностью. К вирусу чувствительны белые мыши, обезьяны, а также бараны.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Переносчиком и основным долговременным резервуаром вируса являются иксодовые клещи (таежный — *I. persulcatus* и лесной — *I. ricinus*). У клещей происходит трансвариальная и трансфазовая передача вируса по ходу метаморфоза переносчиков. Поддержание его длительной циркуляции только за счет клещей невозможно из-за большой гибели членистоногих на каждом этапе метаморфоза. Поддержание циркуляции осуществляется за счет прокормителей клещей — грызунов, птиц, диких и домашних животных. Эти особенности вертикальной и горизонтальной передачи вируса обуславливают генетический, экологический и функциональный полиморфизм вирусной популяции. Для клещевого энцефалита характерна весенне-летняя сезонность. По уровню заболеваемости в России клещевой энцефалит занимает второе место после ГЛПС.

Человек заражается трансмиссивно при укусе инфицированными клещами, от которых в период кровососания вирус проникает в макроорганизм. Этим путем заражается около 80 % заболевших. Нередко для развития заболевания достаточно лишь наползания на кожу клещей и нимф. Проникновение вируса в организм возможно также контактным путем через мелкие повреждения кожи. Доказан и алиментарный путь заражения при употреблении сырого молока коз и овец (молочная лихорадка или двухволновой менингоэнце-

фалит). Употребление молока ведет к ощелачиванию желудочного сока, что препятствует инаktivации вируса. Употребление коровьего молока обычно не ведет к заражению, так как у коров к периоду лактации появляются вируснейтрализующие антитела. Инкубационный период — от 8 до 23 дней. Сначала вирус размножается в месте входных ворот инфекции под кожей, откуда он попадает в кровь. Возникает первая, так называемая резорбтивная вирусемия. Вирус проникает в эндотелий кровеносных сосудов, внутренних органов и фагоцитирующие клетки, где активно размножается. При пищевом пути заражения входными воротами является слизистая оболочка глотки и тонкой кишки. Вирусемия наступает позже, интенсивность ее менее выражена. В конце инкубационного периода в результате активного размножения вируса в эндотелии кровеносных сосудов возникает вторичная вирусемия, длящаяся 5 дней. Вирусы гематогенно, а возможно, и периневрально проникают в головной и спинной мозг, поражая мотонейроны. Особенно резко страдают крупные двигательные клетки в сером веществе спинного мозга и ядрах двигательных черепно-мозговых нервов в стволе головного мозга. Больной человек, несмотря на вирусемию, является «тупилом» для вируса, так как не может быть донором для клещей. Клещевой энцефалит рассматривают как единую нозологическую форму, проявляющуюся в виде определенных клинических синдромов.

Различают три клинические формы клещевого энцефалита: лихорадочную, менингеальную и очаговую; последняя протекает наиболее тяжело и сопровождается развитием параличей шеи и верхних конечностей. Двухволновое течение заболевания возникает не только при пищевом, но и при трансмиссивном заражении вирусом. Его вызывают вирусы, обладающие большей висцеротропностью и меньшей вирулентностью. В большинстве случаев взаимодействие вируса с макроорганизмом протекает бессимптомно, на субклиническом уровне в виде острого (до 6 месяцев) или хронического (свыше 6 месяцев) вирусоносительства. Очевидно, такой тип взаимодействия вируса с организмом человека лежит в основе естественного проэпи-

демичивания коренного населения природных очагов клещевого энцефалита и создания иммунной прослойки здорового населения. После перенесенного заболевания остается стойкий иммунитет. Вирус клещевого энцефалита относится к факультативным возбудителям медленных вирусных инфекций. У 70–74 % лиц, перенесших клещевой энцефалит с длительной вирусемией, отмечается стойкая цереброгенная астения. У 2–12 % больных отмечается прогрессивное течение заболевания (от лат. *gradatio* — постепенное усиление, неуклонное прогрессирование) с переходом его в хроническую форму на фоне активного антителообразования. Выделяют первично-прогрессивное или обезглавленное течение клещевого энцефалита с постепенным возникновением симптомов поражения ЦНС с тенденцией к их усилению у лиц, не имевших выраженного острого периода заболевания, и вторично-прогрессивное течение заболевания. При вторично-прогрессивном течении клещевого энцефалита после окончания острого периода появляются симптомы, отсутствующие в остром периоде, или же прогрессируют симптомы, сохранившиеся после окончания острого периода.

Микробиологическая диагностика клещевого энцефалита. Диагностика клещевого энцефалита проводится путем выделения вируса из крови и цереброспинальной жидкости больных, а также внутренних органов и мозга, умерших путем интрацеребрального заражения новорожденных белых мышей и культур клеток. Идентификацию вируса в суспензиях мозга мышей и культуральной жидкости проводят в РТГА, РИ и РСК, а в монослое культур клеток — в РИФ. Обнаружение антител в парных сыворотках и цереброспинальной жидкости проводят с помощью РСК и РТГА, а также других серологических реакций. Экспресс-диагностика основана на обнаружении вирусного антигена в крови с помощью РНГА и ИФА, выявлении IgM антител на первой неделе заболевания в цереброспинальной жидкости и обнаружении РНК-вируса в крови и цереброспинальной жидкости у людей, в клещах и внутренних органах животных с помощью ПЦР.

Специфическое лечение и профилактика. Для лечения и экстренной профилактики клещево-

го энцефалита у непривитых лиц, подвергшихся нападению клещей в эндемичных по клещевому энцефалиту районах, а также у привитых лиц, получивших множественные укусы, применяют **специфический гомологичный донорский иммуноглобулин против клещевого энцефалита**, полученный из плазмы доноров, проживающих в природных очагах клещевого энцефалита и содержащий в высоком титре антитела к вирусу клещевого энцефалита. Серотерапию необходимо начинать не позднее 3–4 дня заболевания. При отсутствии указанного выше препарата назначают **специфический гетерологичный лошадиный иммуноглобулин**. При лечении тяжелых форм клещевого энцефалита применяют иммуногемосорбцию и серотерапию иммунной плазмой доноров. Помимо специфических препаратов применяют виферон, йодантипирин, ридостин, рибонуклеазу. Для предупреждения развития затяжных и хронических форм заболевания применяют иммунотерапию, в том числе **вакцинотерапию**. Наиболее действенным методом защиты от клещевого энцефалита является активная иммунизация. Для вакцинации лиц, проживающих на эндемичных по клещевому энцефалиту территориях, а также выезжающих на эти территории в весенне-летний период, используются убитые вакцины. Для формирования надежной защиты необходима ревакцинация, так как при вакцинации убитыми вакцинами формируется кратковременный иммунитет. Протективным действием обладает неструктурный белок NS1 вируса клещевого энцефалита, который определяется как растворимый комплементсвязывающий антиген. Он является перспективным компонентом для будущих противовирусных вакцин. Для исключения пищевого пути заражения в природных очагах клещевого энцефалита необходимо потреблять только кипяченое молоко.

17.1.5.3. Вирус омской геморрагической лихорадки

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирус омской геморрагической лихорадки выделен из крови больных и от клещей в 1947 г. сотрудниками экспедиции под руководством М. П. Чумакова в Омской области. Возбудитель омской геморрагической лихорадки относится к семейству *Flaviviridae*

роду *Flavivirus*. Он близок по антигенным и биологическим свойствам вирусу клещевого энцефалита, но, в отличие от последнего, не проявляет выраженных нейротропных свойств. Вирус омской геморрагической лихорадки сравнительно хорошо размножается в нескольких видах клеточных культур, но только в культуре клеток эмбриона свиньи оказывает выраженное ЦПД с разрушением монослоя клеток. Вирус, пассированный на ондатрах и белых мышах, становится высоковирулентным и представляет большую опасность для лиц, работающих с ним.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Природные очаги омской геморрагической лихорадки зарегистрированы на территории Западной Сибири. **Основным природным хозяином и переносчиком вируса являются клещи** (норовый болотный и пастбищный клещи). Естественным резервуаром вируса в природе являются грызуны и птицы. Особенно высокочувствительны к вирусу ондатры. Больные ондатры заражают воду в водоемах. Занос вирусов в новые водоемы может осуществляться водяными крысами, а также другими млекопитающими и паразитирующими на них клещами. Важную роль в сохранении вируса омской геморрагической лихорадки в природе играет водяная крыса. Эти животные в ходе эволюции приобрели относительную резистентность к возбудителю. При заражении у них развивается бессимптомная инфекция с вирусемией, а также выделением возбудителя с мочой и экскрементами. Предполагается, что возбудитель омской геморрагической лихорадки — это видоизмененный штамм вируса клещевого энцефалита. Он произошел в результате селективного отбора мутантов вируса клещевого энцефалита, адаптировавшегося к организму ондатры, вывезенной в Сибирь из Канады. Несмотря на наличие активных природных очагов, в настоящее время регистрируются лишь единичные заболевания среди людей, занимающихся браконьерным промыслом ондатры, а также у сотрудников научно-исследовательских экспедиций, изучающих природные очаги заболевания.

Заражение человека происходит при укусе инфицированными клещами или при прямом

контакте с инфицированными животными (снятии шкур), а также через инфицированную вирусом воду. В вирусологических лабораториях возможно заражение аспирационным путем в результате аварийных ситуаций при проведении лабораторных работ. Возможна передача данных вирусов комарами, но доза вируса, вводимая в макроорганизм при укусе комаром, мала для развития клинически выраженного заболевания. Очевидно, комары играют роль в формировании иммунной прослойки среди животных и людей. **Человек не участвует в циркуляции вируса омской геморрагической лихорадки и служит для возбудителя биологическим «тупиком».** Для заболевания характерна четко выраженная сезонность. При трансмиссивном способе заражения кривая заболеваемости совпадает с кривой сезонного движения клещей («весенне-осенняя лихорадка»). При не трансмиссивном пути передачи вируса заболеваемость регистрируется в осенне-зимний период, когда наиболее интенсивно идет отлов ондатры («ондатровая болезнь»).

Инкубационный период — от 2 до 10 дней. Заболевание у людей характеризуется прежде всего поражением эндотелия кровеносных капилляров (**универсальный капилляротоксикоз**), нервной системы и надпочечников. Различают **типичную** (геморрагическую) и **атипичную** (без геморрагических проявлений) формы болезни. В большинстве случаев заболевание протекает типично, начинается остро, проявляясь лихорадкой, интоксикацией, геморрагическим синдромом и выраженными изменениями нервной системы (явления менингоэнцефалита), что является его клинической особенностью. Прогноз благоприятный. Летальность не превышает 1%. После перенесенного заболевания остается напряженный и длительный иммунитет.

При внутрилабораторном заражении заболевание протекает значительно тяжелее, чем обычно, что обусловлено более высокой вирулентностью вируса, передаваемого человеку в условиях лаборатории от восприимчивых к нему экспериментальных животных.

Микробиологическая диагностика. Диагностика омской геморрагической лихорадки основана на выделении вируса из крови больных путем внутримозгового заражения

белых мышей или культуры клеток эмбриона свиньи с последующей идентификацией в серологических реакциях, а также на обнаружении антител в парных сыворотках с помощью РПГА, РСК и ИФА.

Специфическое лечение и профилактика. Для лечения и профилактики вводят специфический гетерологичный иммуноглобулин, который как лечебный препарат обладает низкой эффективностью. Его применяют для создания искусственного пассивного приобретенного иммунитета в целях профилактики в лабораториях при возникновении аварийных ситуаций (подозрение на возможное заражение лабораторными штаммами вирусов), или в полевых условиях в гиперэндемичных районах при обнаружении присосавшихся клещей. Выраженным защитным действием обладает гомологичный иммуноглобулин. Комплексная терапия заболевания эффективна. В целях профилактики омской геморрагической лихорадки для создания искусственного активного приобретенного иммунитета в 1948–1949 гг. М. П. Чумаковым была получена **убитая формалином вакцина** из мозга зараженных белых мышей. Она защищала одновременно и от клещевого энцефалита. В дальнейшем, в связи с уменьшением заболеваемости до единичных спорадических случаев и относительно благоприятным течением, вакцинация была отменена. Она проводится лишь по строгим эпидемиологическим показаниям. В силу общности антигенной структуры вируса омской геморрагической лихорадки и вируса клещевого энцефалита, **вакцина против клещевого энцефалита** вызывает формирование иммунитета как против вируса клещевого энцефалита, так и против вируса омской геморрагической лихорадки. В настоящее время важно соблюдать гигиенические правила при промысле ондатры, а также режим работы в вирусологических лабораториях. Больной омской геморрагической лихорадкой не является источником инфекции, поэтому в строгой изоляции не нуждается. Карантин по поводу омской геморрагической лихорадки не назначают.

17.1.5.4. Вирус болезни леса Киассанур

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирус болезни леса Киассанур относится к се-

мейству *Flaviviridae* роду *Flavivirus* и входит в состав вирусов комплекса клещевого энцефалита. Он имеет связанный с нуклеокапсидом группоспецифический антиген, а также видовой и типоспецифический антиген, входящий в состав гликопротеинов внешней липидсодержащей оболочки. Вирус обладает гемагглютинирующими свойствами. Патогенен для белых мышей. Хорошо культивируется в куриных эмбрионах при заражении в желточный мешок, а также в культурах клеток, вызывая отчетливое ЦПД и образуя бляшки под агаровым покрытием.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Вирус болезни леса Киассанур первоначально был выделен в 1957 г. от людей и двух видов лесных обезьян (черномордых лангуров и южноиндийских макак) во время эпидемии у сельского населения, проживающего в районе леса Киассанур в Индии. В последующем он был выделен от иксодовых клещей *Haemophysalis spinigera*.

Возбудитель болезни леса Киассанур относится к арбовирусам. Резервуаром и переносчиком этого вируса являются иксодовые клещи, преимущественно в нимфальной стадии метаморфоза. Человек — случайный хозяин, не играющий роли в передаче вируса. Важную роль в качестве резервуара играют млекопитающие, особенно дикообразы, белки и крысы, а также обезьяны. У обезьян наблюдается значительная вирусемия и заболевание с возможным летальным исходом.

Механизм заражения трансмиссивный. Болеют лица, по характеру своей деятельности связанные с лесом Киассанур. Таким образом, данное заболевание имеет выраженную территориальную ограниченность. За пределами эндемичных очагов Индии болезнь леса Киассанур более нигде не встречается. Эта исключительно строгая географическая локализация очага заболевания до настоящего времени остается непонятной загадкой.

Отмечена **возможность аэрогенного заражения** у невакцинированного персонала вирусологических лабораторий.

Естественная восприимчивость у людей высокая. Вирус обладает висцеротропностью. **Инкубационный период** 3–8 дней. В отличие от других арбовирусов, вирус болезни леса Киассанур вызывает продолжительную вирусемию, сохраняющуюся до 10 дней и более. Заболевание начинается остро, с лихорадки, головных и мышечных болей. В тяжелых случаях развиваются желудочно-кишечные кровотечения, кровохарканье, что напоминает омскую геморрагичес-

кую лихорадку. Нередко после 7–21-го дня ремиссии наступает вторая волна лихорадки (двухволновое течение болезни), сопровождающаяся развитием симптомов менингоэнцефалита. Период выздоровления длительный — до 4–5 недель. Летальность достигает 10 %. Иммуитет после перенесенного заболевания напряженный.

Микробиологическая диагностика основана на **выделении вируса** из крови больных и цереброспинальной жидкости путем заражения новорожденных белых мышей, куриных эмбрионов и культур клеток, а также на **обнаружении антител** в парных сыворотках с помощью РН, РСК, РТГА и ИФА.

Лечение и профилактика. Специфическое лечение не разработано. Для профилактики сотрудников вирусологических лабораторий и других лиц с повышенным риском заражения вирусом болезни леса Киассанур в Индии используют убитую вакцину из местных штаммов этого вируса, полученных на культурах клеток и инактивированных формалином. Убитая вакцина против клещевого энцефалита обладает слабым защитным эффектом против вируса болезни леса Киассанур.

17.1.5.5. Вирус лихорадки денге

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирусную этиологию лихорадки денге и механизм его передачи комарами установили П. М. Ашберн и Ч. Ф. Крейг (P. M. Asburn и Ch. F. Craig) в 1907 г., но лишь в 1944 г. вирус лихорадки денге был выделен из крови больных на Гавайских островах и в Новой Гвинее и детально изучен А. Сэйбиным (A. Sabin). Вирус относится к семейству *Flaviviridae* роду *Flavivirus*. Названия вируса и заболевания происходят от искаженного англ. *dandy* — франт, что обусловлено яркой, пылающей окраской лица, инъекцией сосудов склер, нарушением осанки и манерной походкой у больных из-за боли в мышцах и суставах. В 1869 г. Королевский колледж врачей в Лондоне вместо разных названий этого заболевания (лихорадка денге, лихорадка жирафов, костоломная лихорадка и т. д.) ввел единый термин — «денге». Слово «денге» сходно с английским словом «dandy» и заимствовано из фразы на языке суахили «Ka denga rero», которая означает: внезапное появление боли у пациента. **Заболевание вызывают 4 серотипа вируса**, которые в антигенном отношении близки друг другу, но в то же время отличаются настолько, что после

заражения одним из них возникает только частичная перекрестная защита к другим серотипам вируса. Антигенные серотипы дифференцируются в РН, РТГА и РНИФ. Вирус лихорадки денге обладает выраженной геммагглютинирующей активностью, агглютинируя эритроциты гусей, цыплят и эритроциты человека группы крови 0. В человеческой крови вирус может сохранять инфекционность при 5 °С в течение нескольких недель. Его можно культивировать на чувствительных животных, в желточном мешке куриных эмбрионов и в культурах клеток. Наиболее чувствительны к вирусу новорожденные белые мыши, у которых при внутримозговом и внутрибрюшинном заражении развивается слабость, атаксия и другие симптомы энцефалита, ведущие к летальному исходу. Адаптированный к белым мышам вирус становится непатогенным для человека. Размножение вируса в культурах клеток сопровождается развитием ЦПД, которое чаще отмечается в культурах ВНК-21, HeLa и почек обезьян. ЦПД наиболее выражено у 2 и 3 серотипов вируса. Под агаровым покрытием цитопатогенные штаммы вируса вызывают образование бляшек. В культурах клеток комара вирус лихорадки денге вызывает развитие ЦПД по типу симпластообразования. Вирус очень термолабилен.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Лихорадка денге — это природно-очаговая арбовирусная инфекция, распространенная в тропических и субтропических регионах Юго-Восточной Азии, Южной части Тихоокеанского региона, в Африке, Центральной и Южной Америке в пределах 42° с. ш. и 40° ю. ш. По данным ВОЗ, в мире ежегодно болеют геморрагической лихорадкой денге до 50 млн, госпитализируется 500 000, а умирают 25 000 человек. По уровню заболеваемости в мире лихорадка денге занимает первое место среди арбовирусных инфекций. К вирусу более восприимчивы дети, у них заболевание протекает тяжело. В настоящее время геморрагическая форма лихорадки денге становится все более серьезной проблемой здравоохранения в большинстве стран тропической зоны регионов Юго-Восточной Азии и Западной части Тихого океана. *Эта болезнь входит в число 10 основных причин гос-*

питализации детей и детской смертности в тропических странах Азии.

Вирус лихорадки денге передается человеку через укусы комаров рода *Aedes*. Основной резервуар и источник вируса при **городском типе лихорадки денге** — человек. В джунглях Малайзии при **джунглевом типе лихорадки денге** резервуаром и источником вируса являются обезьяны, у которых заболевание протекает бессимптомно. В этом цикле в Малайзии участвуют комары *A. niveus*, которые нападают как на обезьян, так и на человека, что обеспечивает занос вируса в городскую среду обитания человека. Обезьяны Африки и Южной Америки не настолько чувствительны к вирусу лихорадки денге, чтобы поддерживать существование эндемичных очагов, но вирус может сохраняться в природе, благодаря трансвариальной его передаче у комаров. Главную эпидемиологическую опасность представляет антропонозная форма заболевания, а из комаров наиболее эффективным переносчиком является антропофильный комар *Aedes aegypti*, так как он обитает в жилище человека, размножается в воде, сохраняемой в различных емкостях для умывания и используемой для питья, в том числе в дождевой воде. Вирус лихорадки денге размножается в слюнных железах переносчика и при укусе человека и кровососании попадает в кровь, размножается в регионарных лимфатических узлах и эндотелии капилляров, затем вторично проникают в кровь.

Инкубационный период 4–6 дней. **Вирус лихорадки денге** обладает **вазотропизмом** и присутствует в крови во время острой фазы болезни (4–7 дней). В результате вирусемии вирус заносится в различные органы (печень, костный мозг, соединительная ткань, мышцы), где размножается. **Заболевание сопровождается явлениями капилляротоксикоза**. Каждый из четырех серотипов вируса может вызвать не только **классическую форму лихорадки денге**, но и **геморрагическую лихорадку денге**. В отличие от лихорадки денге, характеризующейся двухфазной лихорадкой, болями в мышцах и суставах, особенно коленных, что ведет к изменению походки больного, наличием пятнисто-папулезной сыпи, увеличением лимфатических узлов, **геморрагическая лихорадка**

денге характеризуется появлением выраженных **геморрагий** и тенденцией к **развитию шокового синдрома денге**, который может привести к летальному исходу у 40–50 % больных. Шоковый синдром денге часто встречается у детей, которые ранее были инфицированы вирусом лихорадки денге, и у младенцев, имеющих низкий уровень антител к вирусу, полученных пассивно от матерей. Отмечена парадоксальная особенность, характерная для геморрагической лихорадки денге. Она состоит в том, что повышенный риск развития шокового синдрома денге тесно связан с хорошим питанием детей. Этот синдром редко наблюдается у детей с клинически установленной недостаточностью питания. Согласно иммунопатологической гипотезе, геморрагическая лихорадка денге встречается в районах, в которых одновременно или последовательно циркулирует несколько серотипов вируса лихорадки денге. Она эндемична для тропических районов Азии, где высокая температура воздуха и практика хранения воды в открытых емкостях вблизи домов человека способствуют массовому выводу комаров *A. aegypti*, что ведет к частому одновременному или последовательному заражению разными серотипами вируса лихорадки денге. Первоначальная инфекция, протекающая бессимптомно, ведет к сенсибилизации макроорганизма, что способствует образованию при повторном заражении другим серотипом вируса иммунных комплексов, активирующих систему комплемента с образованием **С3а** и **С5а**, и проникновению вируса в клетки, содержащие на своей поверхности Fc-рецепторы к Ig (**моноциты и макрофаги**), где они усиленно размножаются. Образование моноцитами и макрофагами биологически активных веществ ведет к утяжелению течения заболевания. Лица, заразившиеся вирусом лихорадки денге в эндемичных очагах впервые во время эпидемии (приезжие иностранцы), переносят эту болезнь в классической и даже легкой форме. Заболевание часто может протекать бессимптомно. На каждый случай шокового синдрома денге приходится 150–200 скрытых или легких случаев заболевания. В отличие от желтой лихорадки **иммунитет после перенесенного заболевания типоспецифи-**

ческий, нестойкий, продолжительностью до 2 лет. После первой атаки вируса формируется лишь временная или частичная защита от трех остальных серотипов вируса лихорадки денге и через непродолжительное время возможна вторичная или последующие инфекции.

Микробиологическая диагностика заболевания основана на выделении вируса и обнаружении антител в парных сыворотках крови больных. Материалом для вирусологического исследования служат сыворотка, плазма или лейкоцитарная пленка, гомогенизированные ткани внутренних органов, взятые на аутопсии, гомогенизированная масса из комаров. Для выделения вируса лихорадки денге проводят интраторакальное и интракапугальное заражение комаров, культур клеток, а также интрацеребральное заражение мышей-сосунков. Для идентификации разных серотипов вирусов применяют РНИФ с использованием моноклональных антител и антивидовой флуоресцирующей сыворотки. Применение современных методов генодиагностики для идентификации позволяет определить источник заноса вируса на новые территории. Для обнаружения антител в парных сыворотках применяют РН, РТГА, РСК, ИФА.

Специфическое лечение и профилактика. Выраженным защитным действием обладает гомологичный иммуноглобулин. Гетерогенные иммуноглобулины не применяются. Вакцинопрофилактика находится на стадии разработки. Больных следует изолировать в условиях, исключающих доступ к ним комаров на протяжении всего заразного периода.

17.1.5.6. Вирус японского энцефалита

Таксономическое положение и биологические свойства. Вирус японского энцефалита (син. комариного энцефалита) выделен в 1933 г. М. Хияши (М. Hayashi) путем заражения обезьяны суспензией мозга людей, погибших от энцефалита. Он относится к семейству *Flaviviridae* рода *Flavivirus* и является представителем антигенного комплекса вирусов японского энцефалита, в состав которого входят также вирусы энцефалита долины Муррея, лихорадки Западного Нила, энцефалита Росио, энцефалита Сан-Луис, энцефалита Ильеус. Вирус японского энцефалита обладает характерными свойствами флавивирусов. Термостабилен. Имеет в своем

составе нуклеокапсидный антиген, выявляемый в РСК, и оболочечный гликопротеин, выявляемый в РН и РТГА с эритроцитами гусей, цыплят, голубей и петухов. Культивируется в куриных эмбрионах, культурах клеток и в организме многих лабораторных животных. При внутримозговом заражении обезьян, мышей, хомяков, белых крыс, котят, щенков, овец, коз и поросят возникает поражение ЦНС по типу энцефалита, сопровождающееся вирусемией. Новорожденные белые мыши восприимчивы к вирусу и при экстраневральном заражении. В культурах клеток вирус японского энцефалита вызывает развитие ЦПД, сопровождающееся образованием гигантских многоядерных клеток (симпластов). Характерно, что на поверхности последних не адсорбируются эритроциты человека группы крови 0 и различных видов животных. Отрицательный тест гемадсорбции, очевидно, связан с тем, что вирус не почкуется с краевых клеточных мембран.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Японский энцефалит относится к природно-очаговым арбовирусным инфекциям. Заболевание распространено в странах Южной и Юго-Восточной Азии, где представляет серьезную медицинскую проблему. В России природные очаги японского энцефалита есть на территории южных районов Приморского края, но заболевание у людей не выявляется уже в течение многих лет.

Природным резервуаром и источником вируса являются комары, у которых установлена трансовариальная передача вируса, а также птицы и дикие млекопитающие, у которых инфекция протекает в основном бессимптомно, но на фоне высокой вирусемии. Особо важную роль в качестве резервуара вируса и в развитии вспышек японского энцефалита среди людей играют свиньи, у которых развивается массивная вирусемия, достаточная для инфицирования комаров даже при однократном кровососании. Основным переносчиком вируса являются комары рода *Culex*. В циркуляции вируса принимают участие также другие роды комаров.

Заражение человека происходит при укусе его зараженными комарами и попадании вирусов в кровь в результате кровососания. Патогенетической особенностью японского энцефалита является значительное поражение

сосудистой системы с резко выраженными нарушениями микроциркуляции. Эти нарушения определяются во всех органах, но особенно в ЦНС. Вирус японского энцефалита обладает нейротропностью, преодолевает гематоэнцефалический барьер, размножается в нейронах ЦНС, что ведет к гибели клеток. Особенно часто поражаются ядра гипоталамической области, подкорковые образования, двигательные ядра ствола и шейного отдела спинного мозга, где и наблюдается наибольшая концентрация вируса. Помимо нервной ткани, вирус размножается в клетках паренхиматозных органов (печень, селезенка, костный мозг), что обуславливает высокий уровень вирусемии, хотя человек эпидемиологической опасности не представляет.

Инкубационный период — от 8 до 14 дней. У человека японский энцефалит может протекать в различных клинических формах — от легких случаев заболевания с наличием признаков общетоксического синдрома до картины тяжело протекающего энцефалита или менингоэнцефалита. Часто встречаются скрытые формы заболевания. Энцефалитическая форма характеризуется очень высокой летальностью — 90 % и выше. После перенесенного заболевания остается длительный и напряженный иммунитет.

Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса из крови (в первые 7 дней заболевания), цереброспинальной жидкости (в течение 15 дней) и кусочков мозга умерших, путем заражения новорожденных белых мышей, культур клеток и куриных эмбрионов, а также на обнаружении антител в парных сыворотках крови больных и цереброспинальной жидкости с помощью РН, РСК, РТГА, РНГА, РНИФ, ИФА. В ряде случаев применяют постановку кожной аллергической пробы с введением суспензии мозга зараженных мышей. Для обнаружения антигена используют РИФ и ИФА.

Специфическое лечение и профилактика. В первые дни заболевания эффективно повторное введение сыворотки крови переболевших японским энцефалитом или гетерогенного иммуноглобулина против японского энцефалита, выделенного из сыворотки крови лошадей, иммунизированных вирусом. Препарат предупреждает дальнейшее развитие заболевания, но не излечивает уже развив-

шиеся параличи. С профилактической целью препарат назначают в случаях лабораторного заражения вирусом японского энцефалита или массовых укусов комарами в очагах заболеваемости при наличии неблагоприятной эпидситуации. Вакцинопрофилактику японского энцефалита осуществляют убитыми и живыми вакцинами. В России применяют убитую вакцину отечественного производства. В эндемичных очагах вакцинация должна охватывать не только население, но и домашних животных, являющихся резервуаром вируса и его источником для комаров.

17.1.5.7. Вирус лихорадки Западного Нила

Таксономическое положение. Вирус лихорадки Западного Нила (син. энцефалита Западного Нила) относится к семейству *Flaviviridae* рода *Flavivirus* и является представителем антигенного комплекса вирусов японского энцефалита. Вирус имеет 4 генотипа (группы). Большинство вирусов, вызывающих эпидемии, относятся к 1-й группе.

Эпидемиология, патогенез и клинические проявления заболевания. Возбудитель лихорадки Западного Нила распространен во многих странах Азии, Европы и Африки, где регистрируются спорадические случаи заболевания и эпидемические вспышки. В России заболевание встречается в Западной Сибири и южных регионах (Краснодарский край, эпидемия 1999 г.). Резервуаром и источником вируса являются дикие и домашние птицы, главным образом водного и околородного экологического комплекса, грызуны, летучие мыши, комары и клещи. **Механизм передачи** вируса трансмиссивный, переносчики — комары рода *Culex*, а также аргасовые и иксодовые клещи. Восприимчивость у людей высокая. Болеют преимущественно сельские жители, хотя во Франции эта болезнь известна под названием «утиная лихорадка», так как оно возникает у городских жителей, приезжающих на охоту в долину р. Роны. Известны случаи лабораторного заражения.

Инкубационный период 2–8 дней. Заболевание начинается остро, с высокой лихорадки в течение 3–12 дней (иногда носит двухволновой характер), головных болей, болей в суставах, скарлатиноподобной сыпи и полиаденита. В большинстве случаев заболевание протекает

доброкачественно. Тяжелые случаи заболевания сопровождаются развитием менингита, а также энцефалита с парезами, параличами и летальным исходом. Иммуитет после перенесенного заболевания напряженный.

Микробиологическая диагностика основана на выделении вируса путем заражения новорожденных белых мышей и культур клеток, а также на обнаружения антител в парных сыворотках с помощью РН, РСК, РТГА, РНИФ и ИФА. Для обнаружения РНК вируса применяют ПЦР.

Специфическое лечение и профилактика не разработаны.

Биологические свойства вируса гепатита С и вируса гепатита G, которые относятся к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus* см. 17.6. «Возбудители парентеральных вирусных гепатитов». Данные вирусы не являются арбовирусами.

17.1.6. Ортомиксовирусы (вирусы гриппа)

Таксономия. Ортомиксовирусы (семейство *Orthomyxoviridae*) — это РНК-содержащие сложноорганизованные вирусы. Ортомиксовирусы получили свое название из-за родства к мукопротеидам поражаемых клеток и способности присоединяться к гликопротеинам — поверхностным рецепторам клеток (от греч. *orthos* — прямой, *муха* — слизь).

Семейство включает в себя роды *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B*, *Influenzavirus C*, в которые входят вирусы гриппа 3 серотипов¹: А, В и С. По антигенной структуре вирус гриппа типа А подразделяется на подтипы, а они, в свою очередь, на множество вариантов. В современной классификации вирусов гриппа человека, предложенной ВОЗ в 1980 г., принято описывать серотип, происхождение, штамм, год выделения и подтипы его поверхностных антигенов — нейраминидазы (N) и гемагглютинина (H). Например: вирус гриппа А/Москва/10/99/Н3N2. Наибольшее эпидемиологическое значение имеют вирусы гриппа типа А: они поражают и людей, и животных, и птиц; вызывают эпидемии и даже пандемии с высокой смертностью. Вирусы гриппа типа В обычно поражают людей и редко — жи-

вотных; способны вызывать лишь эпидемии, никогда не вызывали пандемии. Вирусы типа С встречаются редко и вызывают только спорадические заболевания, чаще у детей.

Вирусы рода *Influenzavirus* вызывают заболевание, получившее название грипп. *Grippe* (франц. *grippe*, *gripper* — схватывать, царапать) — острое инфекционное вирусное заболевание человека, характеризующееся поражением респираторного тракта, лихорадкой, общей интоксикацией, нарушением деятельности сердечно-сосудистой и нервной систем.

Во многих странах грипп называют «инфлюэнца», т. е. «влияние холода». Описание симптомов болезни было впервые сделано Гиппократом и Титом Ливием в 412 г. до н. э.

История выделения возбудителя. Вирус гриппа от свиней впервые выделил Шоп (Shape) в 1930 г. Вирус гриппа человека впервые был выделен в 1933 г. английскими вирусологами У. Смитом, К. Эндрюсом и П. Лейдлоу путем заражения хорьков носоглоточными смывами больного гриппом Уилсона Смита (отсюда название первого штамма — WS.). Позже этот вирус был отнесен к типу А. В России вирус гриппа типа А впервые выделили А. А. Смородинцев в 1936 г. в Ленинграде и Л. А. Зильбер в Москве. В 1940 г. Т. Френсис и Т. Меджил открыли существование вирусов гриппа типа В. Позже, в 1947 г., Р. Тейлор выделил вирусы гриппа типа С.

Морфология и состав вириона. Диаметр вирусной частицы 80–120 нм. Вирион имеет сферическую форму (см. рис. 2.15 б), но в свежeweделенных препаратах от больного могут встречаться нитевидные формы значительной длины. В центре вириона расположен нуклеокапсид, имеющий спиральный тип симметрии. Геном вирусов гриппа представляет собой спираль однонитчатой сегментированной минус-нитевой РНК (вирусы А и В имеют 8 сегментов, вирус С — до 7). Капсид состоит в основном из белка — нуклеопротеина (NP), а также белков полимеразного комплекса (P). Сегментированная РНК вирусов предрасположена к генетическим ре-

¹ В настоящее время данные серотипы обозначаются как виды: *Influenza A virus*, *Influenza B virus*, *Influenza C virus*,

комбинациям и, как следствие, к изменению антигенной структуры. Нуклеокапсид окружен слоем матриксных и мембранных белков (М), которые участвуют в сборке вирусной частицы. Поверх этих структур располагается суперкапсид — наружная липопротеиновая оболочка, за счет которой вирусы гриппа чувствительны к эфиру. Липопротеиновая оболочка имеет клеточное происхождение. Она несет на своей поверхности шипики — выросты длиной около 10 нм. Шипики образованы двумя сложными белками — гликопротеинами: гемагглютинином (Н) и нейраминидазой (N). Количество гемагглютинина в 5 раз больше количества нейраминидазы. У вирусов типа С нейраминидазы нет. Н- и N-белки кодируются вирусным геномом и в процессе репродукции вирусов встраиваются в мембрану клетки хозяина. Таким образом, выходя из клетки, вирусы покрываются оболочкой, уже содержащей Н- и N-белки. Шипики гемагглютинина — тример, т. е. состоит из 3 молекул белка, соединенных вместе. Шипики нейраминидазы — тетрамер, т. е. состоит из 4 молекул белка. На поверхности обоих гликопротеинов есть специальные области для связывания с рецепторами. Гемагглютинины вируса гриппа связываются с рецепторами на чувствительных клетках, а затем нейраминидаза их модифицирует, и вирус проникает в клетку путем эндоцитоза. Нейраминидаза участвует также в выходе из клетки новых вирионов (препятствует агрегации вирионов). Кроме того, она снижает вязкость секретов, и вирусы легче проникают в нижние отделы респираторного тракта. Оба гликопротеина могут быть получены в очищенном виде, что важно для производства субъединичных гриппозных вакцин, содержащих целые молекулы Н и N. Для этого существуют 2 способа: 1) вирусную частицу обрабатывают ферментами (например, бромелином), и они «срывают» белки с поверхности липидного слоя. При этом получают белки, лишенные гидрофобного С-конца, погруженного в липидный слой; 2) вирусную частицу обрабатывают детергентами, разрушающими липидный слой, при этом высвобождаются целые молекулы липопротеинов.

Стратегия генома (взаимодействие вируса с клеткой)

Для вирусов гриппа специфическими рецепторами являются соединения, содержащие сиаловую кислоту. На мембране клеток — разный состав сиалоолигосахаридов и липидных компонентов. Кроме того, у молекул гемагглютинина разных вирусов может быть разное строение «рецепторного кармана», который связывается с рецептором, образуя «эндоцитарную вакуоль», в результате чего вирус проходит внутрь клетки путем эндоцитоза. В клетке происходит частичная депротеинизация, и сердцевина вириона транспортируется к ядру клетки. На ядерной оболочке происходит завершение депротеинизации, т. е. удаление матриксного белка (М-белок), и в ядро проникает функционально активный нуклеокапсид. Геном минус-нитевой РНК не инфекционен, поэтому для своего функционирования нуждается в полимеразе, которая должна быть в самом вирионе. В ядре клетки происходит транскрипция генов, в которой участвуют полимеразный комплекс (РА, РВ1-РВ2) и белок NP. Вирус индуцирует синтез и процессинг клеточных мРНК, от которых белок РВ2 «откусывает» кэп-структуру и прилегающие 10–13 нуклеотидов. Они и являются праймером для синтеза вирусной мРНК. Затем мРНК транспортируется в цитоплазму, где и кодирует синтез соответствующего белка на рибосомах. При репликации генома, которая идет в ядре клеток, транскрибируется вся нить сегмента РНК. Сначала образуется плюс-нить, затем на матрице образуется минус-нить дочерних РНК. Сборка нуклеокапсида происходит в ядре. Формирование вирусных частиц идет на клеточных мембранах, в которые к этому времени уже встроены гемагглютинин и нейраминидаза, а выход из клетки происходит путем «почкования», что типично для оболочечных вирусов.

Антигенная структура. Вирусы гриппа имеют внутренние и поверхностные антигены. Внутренние антигены представлены нуклеопротеином (NP-белком) и М-белками. NP- и М-белки — это типоспецифические антигены. NP-белок способен связывать комплекс, поэтому тип вируса гриппа обычно определяют в РСК. Антитела к внутренним

антигенам не оказывают защитного действия при гриппе. Поверхностные антигены — это гемагглютинин и нейраминидаза. Их структуру, которая определяет подтип вируса гриппа, исследуют в РТГА, благодаря тор-можению специфическими антителами гемагглютинации вирусов, т. е. блокированию способности вириона присоединять эритроциты к активным участкам на своей поверхности. Поверхностные антигены являются протективными, так как действие защитных вируснейтрализующих антител в организме направлено именно на них. Структура поверхностных антигенов вирусов серотипа А постоянно изменяется, причем изменения Н- и N-антигенов происходят независимо друг от друга. В настоящее время известно 15 подтипов гемагглютинина и 9 подтипов нейраминидазы, но от человека стабильно выделяются только Н1, Н2, Н3 и N1, N2. Тип В более стабилен, хотя все же имеет 5 подтипов. Наиболее стабильной антигенной структурой обладает вирус гриппа типа С.

Необычайная изменчивость вирусов гриппа типа А объясняется двумя процессами, которые получили названия антигенный дрейф и антигенный шифт:

- ♦ дрейф происходит постоянно и обусловлен точечными мутациями в тех сайтах генома, которые отвечают за синтез и структуру антигенных детерминант гемагглютинина и нейраминидазы. В результате в популяции вирусов постоянно появляются новые сероварианты, которые незначительно отличаются от исходного штамма, но эти изменения не выходят за пределы подтипа. Новые варианты обуславливают периодические эпидемии гриппа, потому что через 2–3 года циркуляции любого штамма среди людей структура поверхностных протективных антигенов настолько изменяется, что выработанный ранее иммунитет лишь частично защищает от заболевания. Так коллективный иммунитет становится фактором отбора новых антигенных вариантов;

- ♦ шифт (англ. *shift* — скачок) обусловлен пересортировкой и полной заменой гена, кодирующего гемагглютинин или нейраминидазу определенной разновидности. Шифт происходит редко и обычно является результатом

рекомбинаций, происходящих при попадании в одну клетку двух разных подтипов вирусов. В результате шифта полностью заменяется структура антигена и образуется новый подтип вируса, который становится причиной пандемии. Считается, что источником новых подтипов могут быть вирусы гриппа животных.

Резистентность. В окружающей среде устойчивость вирусов — средняя. Вирусы гриппа чувствительны к высоким температурам (более 60 °С), УФ-облучению, жирорастворителям, но могут некоторое время сохраняться при низких температурах — в течение недели не погибают при температуре около +4 °С. Вирусы чувствительны к табельным дезинфектантам.

Эпидемиология. Грипп — антропоноз. Основной механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-капельный (при кашле, чихании, разговоре). Также возможна контактная передача. Грипп — высококонтагиозное заболевание и часто протекает в виде эпидемий и даже пандемий. Люди очень восприимчивы к вирусам гриппа. Развитие эпидемии регулируется формированием среди людей «иммунной прослойки», т. е. постепенным увеличением числа переболевших и, следовательно, защищенных от данной разновидности вируса. Чаше и тяжелее болеют дети, как не имеющие стойкого противогриппозного иммунитета. Но смертность выше среди взрослых, особенно из группы риска (пожилые люди, а также пациенты с ослабленной резистентностью). Вспышки инфекции легко возникают в «замкнутых» коллективах.

Периодически вирусы гриппа типа А вызывают пандемии. Юго-Восточная Азия (Китай) является эпицентром возникновения новых пандемических штаммов вируса типа А, так как там высокая плотность населения, тесный контакт с домашними животными и птицами, т. е. создаются условия для рекомбинации вирусов человека и животных (однако не все рекомбинанты способны «выжить» в популяции людей). В периоды между пандемиями каждые 2–3 года повторялись эпидемии, вызванные вирусом типа А. Эпидемии гриппа В происходили раз в 4–6 лет. В XX в. наиболее известны три пандемии. В 1918–1920 гг. возбудителем пандемии стал вирус типа А (подтип H1N1).

Грипп получил название «испанский». Во время этой тяжелейшей пандемии погибло более 20 млн человек. В 1957–1959 гг. возбудителем пандемии стал вирус типа А (подтип H2N2). Грипп получил название «азиатский» (вирус впервые был выделен в Сингапуре). Болело 1,5–2 млрд человек. В 1968–1970 гг. пандемическим штаммом стал вирус типа А (подтип H3N2). Грипп получил название «гонконгский», в соответствии с местом первичного выделения вируса. Болело около 1 млрд человек. Между описанными пандемиями нет одинаковых временных промежутков, и все они вызывались разными подтипами вируса гриппа А. Известно, что к моменту начала каждой следующей пандемии предыдущий пандемический штамм уже «уходил» из человеческой популяции. Однако считается, что эти вирусы продолжают циркулировать среди животных, сохраняя возможность «вернуться». Так, с 1977 г. наряду с вирусом подтипа А (H3N2) от людей опять стал выделяться вирус подтипа А (H1N1). И в последние годы в эпидпроцессе одновременно участвуют вирусы гриппа типа А (H3N2 и H1N1), а также вирус гриппа типа В. Поэтому именно такие разновидности вирусов включены в состав современных вакцин для профилактики гриппа. Однако, несмотря на создание профилактических средств, грипп относят к числу неуправляемых инфекций, поэтому так важна созданная ВОЗ программа глобального эпиднадзора за гриппом, в которой участвует и Россия.

Патогенез. Обычно входные ворота инфекции — это верхние дыхательные пути, но вирус может проникнуть сразу в альвеолы, что вызывает развитие первичной острой пневмонии. У пациентов из групп высокого риска именно она — частая причина смерти. Первичная репродукция вирусов происходит в клетках эпителия респираторного тракта. Инфицированные клетки начинают вырабатывать интерферон, обладающий неспецифическим противовирусным действием. Развивается воспаление, отек, набухание базальной мембраны и происходит десквамация клеток поверхностного эпителия. Через поврежденные эпителиальные барьеры вирус гриппа А проникает в кровоток и вызывает вирусемию. Всасывание продуктов распада клеток также оказывает токсическое

и сенсibiliзирующее действие на организм. Вирус активирует систему протеолиза и вызывает повреждение эндотелия капилляров. Это повышает проницаемость сосудов и серозных оболочек, что вызывает геморагии и нарушение гемодинамики с расстройствами микроциркуляции. При гриппе также развивается транзиторный вторичный иммунодефицит, что предрасполагает к развитию вторичной бактериальной инфекции. Вторичная бактериальная пневмония — тоже частая причина смерти.

Клиника. Инкубационный период 1–2 дня. Клинические проявления сохраняются 3–7 дней. Реконвалесценция 7–10 дней. При гриппе типа А начало болезни острое, у больного обычно наблюдается интоксикация (высокая одноволновая лихорадка с ознобом, суставные и мышечные боли, сильная головная боль). Вирус гриппа А — нейротропен, поэтому возможно развитие нейротоксикоза, в результате чего может наступить смерть (чаще у детей). Развивается катар верхних дыхательных путей («саднящий» сухой кашель, боли за грудиной, нарушение фонации, ринит и ринорея). Характерен геморрагический синдром — кровоизлияния в кожу, серозные и слизистые оболочки и внутренние органы, повышенная кровоточивость. Опасное осложнение — геморрагическая пневмония и отек легких, в результате чего быстро наступает смерть. Редко и чаще у детей бывает абдоминальный синдром (боли в животе, тошнота, рвота, диарея). Осложнения при гриппе проявляются в виде бактериальной суперинфекции, обычно вызванной пневмококками или золотистым стафилококком. Грипп А также может осложняться нарушениями функций нервной, сердечно-сосудистой систем, нарушениями функции печени и почек и др. Грипп В обычно протекает легче, чем грипп А и может сопровождаться такими симптомами как конъюнктивит, глазная боль, или фотофобия. Кроме того, вирус типа В не обладает нейротропностью. Грипп, вызванный вирусами типа С протекает легко.

Иммунитет. Во время заболевания в противовирусном ответе участвуют факторы неспецифической защиты: выделительная функция

организма, сывороточные ингибиторы, альфа-интерферон, специфические IgA в секретах респираторного тракта, которые обеспечивают местный иммунитет. Протективные вируснейтрализующие штаммоспецифические сывороточные антитела появляются на 7–8-й день болезни и достигают максимального уровня через 2–3 недели. Количество их сохраняется высоким в течение месяца, а затем постепенно снижается. В ходе реконвалесценции важна роль клеточного иммунитета (NK-клетки и специфические цитотоксические Т-лимфоциты, действующие на клетки, инфицированные вирусом). Постинфекционный иммунитет достаточно длителен и прочен, но высокоспецифичен (он тип-, подтип- и даже вариантоспецифичен). Вывод о прочности приобретенного иммунитета позволили сделать наблюдения 1977–1978 гг., когда после 20-летнего отсутствия в популяцию людей «вернулся» вирус гриппа типа А (H1N1). Тогда возникшая эпидемия охватила почти исключительно лиц моложе 20 лет, которые ранее не контактировали с этим подтипом вируса и не имели иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Диагноз «грипп» базируется на (1) выделении и идентификации вируса, (2) определении вирусных АГ в клетках больного, (3) поиске вирусоспецифических антител в сыворотке больного. При отборе материала для исследования важно получить пораженные вирусом клетки, так как именно в них происходит репликация вирусов. Материал для исследования — носоглоточное отделяемое, которое берут тампонами или отсасывают с задней стенки глотки и носа в первые три дня болезни. Иногда исследуют мазки-отпечатки со слизистой носа. Возможно постмортальное исследование аутопсийного материала (кусочки пораженной легочной ткани, соскобы со слизистой бронхов и трахеи). Материал доставляют в лабораторию, поместив в специальные растворы для сохранения жизнеспособности инфицированных вирусом клеток. Вирус гриппа теряет свою инфицирующую активность при температурах от -1 до -20 °С, поэтому материал либо хранят при $+4$ °С, если исследование планируется в ближайшие 1–2 дня после взятия материала, либо замораживают при температуре ниже -50 °С, если исследование

будет проводиться в более поздние сроки. Для определения антител исследуют парные сыворотки крови больного.

Методы

Экспресс-диагностика. Обнаруживают вирусные антигены в исследуемом материале с помощью РИФ (прямой и непрямой варианты) и ИФА. Можно обнаружить в материале геном вирусов при помощи ПЦР.

Вирусологический метод. Оптимальная лабораторная модель для культивирования большинства штаммов вирусов гриппа — это куриный эмбрион, но выделить вирусы можно и в культуре клеток (первичная культура клеток почек обезьян, клетки почек собак — MDCK, почек макак-резус и т. п.), и в организме лабораторных животных. С 1998 г. появились новые штаммы вируса А (H3N2) и вируса гриппа типа В, для которых оптимальной моделью являются культуры клеток.

Индикацию вирусов проводят в зависимости от лабораторной модели (по гибели, по клиническим и патоморфологическим изменениям, ЦПД, образованию «бляшек», «цветной пробе», РГА и гемадсорбции). Идентифицируют вирусы по антигенной структуре. Применяют РСК, РТГА, ИФА, РБН (реакцию биологической нейтрализации) вирусов и др. Обычно тип вирусов гриппа определяют в РСК, подтип — в РТГА.

Серологический метод. Диагноз ставят при четырехкратном увеличении титра антител в парных сыворотках от больного, полученных с интервалом в 10–14 дней. Применяют РТГА, РСК, ИФА, РБН вирусов. Следует помнить, что если человек повторно заболел гриппом, то в его организме повышается уровень антител не только к тому серотипу, который вызвал данное заболевание, но и к тем, которыми он был инфицирован ранее. Метод часто используют для ретроспективной диагностики.

Лечение. В большинстве случаев течение гриппа доброкачественное и требует только симптоматического/патогенетического лечения (применяют жаропонижающие, сосудосуживающие, антигистаминные препараты, витамины, детоксикацию, иммуномодуляторы, ангиопротекторы, ингибиторы протеолиза и т. д.). Неспецифически угнетает размножение вирусов α -интерферон, препараты

которого применяют интраназально. Можно применять препараты — индукторы эндогенного интерферона. Этиотропное лечение включает различные препараты. Ремантадин препятствует репродукции вирусов, блокируя М-белки. Ремантадин эффективен только в отношении вируса гриппа А, так как блокирует ионные каналы белка М2 и изменение рН лизосом клетки (у вирусов типа В нет белка М2, вместо него — белок NB, в котором нет адамантан-связывающего сайта, поэтому ремантадин на него не действует). Такое лечение эффективно лишь в первые 48 ч после заражения. Из-за побочного действия препарат не назначают беременным, детям до 7 лет, лицам с нарушениями функции печени и почек, тиреотоксикозом. Арбидол — препарат, который действует на вирусы гриппа типов А и В, нетоксичен, является иммуномодулятором и индуктором эндогенного интерферона.

Другая группа препаратов — ингибиторы нейраминидазы (озельтамивир и др.). Препараты связываются со стабильными (консервативными) участками нейраминидазы, одинаковыми у всех типов вирусов гриппа. В результате блокируется выход вирусных частиц из инфицированных клеток. Лечение эффективно только в первые 36 ч после заражения. При тяжелых формах гриппа, которые чаще развиваются у пациентов «группы риска», можно применять также противогриппозный донорский иммуноглобулин и нормальный человеческий иммуноглобулин для внутривенного введения. Если присоединяется бактериальная инфекция — назначают антибиотики.

Профилактика. Для неспецифической профилактики гриппа применяют противоэпидемические мероприятия, ограничивающие распространение вирусов гриппа аэрогенно и контактно (изоляция больных, карантин в детских коллективах и лечебных учреждениях, дезинфекция белья и посуды, ношение марлевой повязки, тщательное мытье рук, т. п.). Большое значение имеет повышение общей сопротивляемости организма. Для неспецифической противовирусной профилактики применяют интраназально препараты альфа-интерферона и оксолина (интраназально 2 раза в день 0,25% мазь в течение 25 дней во время эпидемии гриппа). Для экстренной хи-

миопрофилактики во время эпидемии гриппа можно применять ингибиторы нейраминидазы, а также арбидол и ремантадин (в течение не менее 2–3 недель). Следует помнить, что действие ремантадина ограничено типом вируса, а также то, что он может вызвать побочные эффекты (возбуждение ЦНС, желудочно-кишечные расстройства).

Специфическая плановая профилактика состоит в применении вакцин. Их применяют перед началом эпидемического сезона (октябрь — середина ноября). Вакцинирование рекомендовано прежде всего лицам из группы высокого риска, персоналу лечебных учреждений и т. п. В результате заболеваемость снижается в 2,5 раза у привитых лиц по сравнению с непривитыми. Разработано несколько разновидностей вакцин для профилактики гриппа А и В, приготовленных на основе штаммов, прогностически «актуальных» в данный эпидсезон. Вакцинные штаммы обновляются раз в 2–3 года. В настоящее время в России разрешены к применению вакцины: живые аллантоисные интраназальная и подкожная, тривалентные инактивированные цельновирионные гриппозные интраназальная и парентеральная-подкожная («Грипповак»), химические «Инфлювак», «Агриппал», полимер-субъединичная «Гриппол», сплит-вакцины «Ваксигрипп», «Бегривак», «Флюарикс» и т. д. Живые вакцины создают наиболее полноценный, в том числе местный, иммунитет. Инактивированные цельновирионные или «убитые» вакцины могут вызывать аллергию у лиц с повышенной чувствительностью к овоальбумину. Сплит-вакцины, т. е. высокоочищенные «расщепленные», содержат полный набор вирусных антигенов, но из них удалены липиды внешней оболочки, чтобы уменьшить пирогенный эффект. Субвирионные или «химические» вакцины содержат только протективные антигены Н и N. Современные субъединичные вакцины нового поколения обладают также иммуномодулирующим действием за счет полимеров-адьювантов.

Для поддержания напряженного иммунитета требуется ежегодная ревакцинация, однако следует помнить, что частое введение вакцин может дать поствакцинальные осложнения — развитие иммунологического паралича, а у беременных женщин может быть повреждение плода.

Таблица 17.2. Характеристика парамиксовирусов человека

| Род | Представители | Свойства вирусов |
|---------------|---|--|
| Respirovirus | Вирусы Сендай, парагриппа человека 1, 3 (ВПГЧ-1, -3) | Вирион содержит негaгивный РНК-геном в спиральном нуклеокапсиде и окружен оболочкой с гликопротеиновыми шипами — F и другими (HN — вирусов парагриппа и паротита; H — вируса кори; G — РС-вирус). Вирионы проникают в клетку слиянием оболочки с плазмалеммой клетки. Репликация и сборка вирионов — в цитоплазме; выход — почкованием |
| Rubulavirus | Вирус эпидемического паротита, парагриппа человека (ВПГЧ-2, -4а, -4b) | |
| Morbillivirus | Вирус кори | |
| Pneumovirus | РС-вирус | |

17.1.7. Парамиксовирусы (семейство *Paramyxoviridae*)

Парамиксовирусы (семейство *Paramyxoviridae*, от лат. *para* — около, *myxa* — слизь) — семейство РНК-содержащих вирусов. Включает два подсемейства: **Paramyxovirinae**, которое содержит 4 рода — *Morbillivirus*, *Respirovirus* (ранее — *Paramyxovirus*), *Rubulavirus*, *Henipavirus*; и **Pneumovirinae**, которое содержит 2 рода — *Pneumovirus*, *Metapneumovirus* (табл. 17.2). В семейство входят респираторно-синтициальный вирус, вирусы кори, паротита, парагриппа. Они передаются аэрогенным механизмом.

Структура. Вирион парамиксовирусов имеет диаметр 150–300 нм, окружен оболочкой с гликопротеиновыми шипами (рис. 17.5). Под оболочкой находится спиральный нуклеокапсид, состоящий из нефрагментированной линейной однонитевой минус-РНК, связанной с белками: нуклеопротеином (NP), поддерживающим геномную структуру; полимеразой-фосфопротеином (P) и большим (L) белком. Нуклеокапсид ассоциирован с матриксным (M) белком, расположенным под оболочкой вириона. Оболочка вириона содержит ши-

пы — два гликопротеина: белок слияния (F — от англ. *fusion*), который вызывает слияние мембран вируса и клетки; прикрепительный белок (гемагглютинин-нейраминидаза {HN}, гемагглютинин {H} или {G} белок). F-белок активизируется протеолитическим расщеплением с образованием F1-, F2-гликопротеинов.

Репродукция (см. рис. 3.9) парамиксовирусов инициируется связыванием HN, H или G-белка на оболочке вириона с сиаловой кислотой на поверхности клетки (1). F-белок обеспечивает слияние оболочки вируса с плазматической мембраной клетки. Вирионы проникают в клетку без образования эндосом. Парамиксовирусы индуцируют слияние клеток, образуя поликарионы — синцитий. Вирус Сендай мышей (с расщепленным F-белком) часто используют для слияния клеток при получении клеточных гибридов. Репликация генома сходна с репликацией минус-РНК-геномных вирусов (например, вируса бешенства): РНК-полимераза вносится в клетку с нуклеокапсидом вируса. Транскрипция, синтез белка и репликация генома происходят в цитоплазме клетки хозяина. Геном транскрибируется в отдельные иРНК (2) и полноценную плюс-матрицу (3) для геномной РНК. Новые геномы взаимодействуют с L-, N- и NP-белками, образуя нуклеокапсиды, которые связываются с M-белком и окружаются оболочкой из модифицированной плазмолеммы клетки. Вирионы выходят из клетки почкованием (4).

Культивирование парамиксовирусов осуществляют в первичных и перевиваемых культурах клеток.

Резистентность. Парамиксовирусы относятся к наименее устойчивым вирусам. Они чувствительны к высокой температуре (50 °С), детергентам, дезинфицирующим веществам и

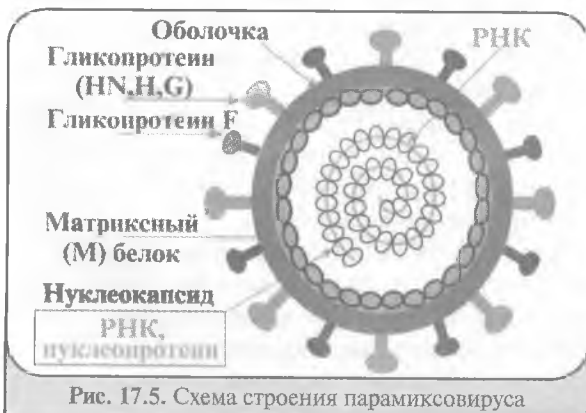


Рис. 17.5. Схема строения парамиксовируса

другим факторам. Отмечается большая устойчивость к низким температурам.

17.1.7.1. Вирусы парагриппа

Парагрипп — острая инфекционная болезнь, характеризующаяся преимущественным поражением верхних дыхательных путей, в основном гортани, и умеренной интоксикацией.

Таксономия. Возбудители относятся к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae*. Вирусы парагриппа человека серотипы 1 и 3 относятся к роду *Respirovirus*, а серотипы 2 и 4а, 4b — к роду *Rubulavirus*. Вирусы парагриппа человека были открыты в 1956 г. Р. Ченоком.

Структура и антигенные свойства. По своей структуре вирусы парагриппа человека не отличаются от других представителей семейства. Они также содержат одонитевую, нефрагментированную минус-РНК, кодирующую 7 белков. Оболочка имеет гликопротеиновые шипы (HN, F). Нуклеокапсид является внутренним антигеном. Гликопротеиновые шипы являются поверхностными антигенами. По антигенам вирусных белков HN, NP, F различают 4 основных серотипа вирусов парагриппа: (ВПГЧ-1, ВПГЧ-2, ВПГЧ-3, ВПГЧ-4). Серотипы 1, 2, 3 перекрестно реагируют с антителами к вирусу паротита. У ВПГЧ-1, ВПГЧ-2, ВПГЧ-3 имеются общие антигены с вирусом эпидемического паратита. Гемагглютинин имеется у всех серотипов, но он отличается по спектру действия: ВПГЧ-1 и ВПГЧ-2 склеивают разные эритроциты (человека, кур, морской свинки и др.); ВПГЧ-3 не агглютинирует эритроциты кур; ВПГЧ-4 склеивает только эритроциты морской свинки.

Культивирование вирусов производят в основном на первичных культурах клеток.

Резистентность вирусов парагриппа человека такая же, как у других представителей семейства.

Эпидемиология. Источник парагриппа — больные люди. Заражение происходит через дыхательный тракт. Основной путь передачи — воздушно-капельный, но возможен также и контактно-бытовой путь. Заболевание широко распространено (чаще от больных выделяют

ВПГЧ-1, ВПГЧ-2 и ВПГЧ-3) и очень контагиозно. Почти у всех взрослых обнаруживают антитела к вирусам парагриппа. Сезонность в возникновении парагриппа не отмечается.

Патогенез. Входные ворота инфекции — верхние дыхательные пути. ВПГЧ адсорбируются на клетках слизистой оболочки верхних дыхательных путей, внедряются в них и размножаются, вызывая гибель клеток. Патологический процесс быстро спускается в нижние отделы респираторного тракта, вызывая здесь воспаление. ВПГЧ-1 и ВПГЧ-2 являются самой частой причиной крупа (острого ларинготрахеобронхита у детей). ВПГЧ-3 вызывает очаговую пневмонию. Имеет место непродолжительная вирусемия. Продукты распада погибших клеток и вирусов вызывают интоксикацию организма. Вирусы вызывают вторичный иммунодефицит, способствующий развитию бактериальных осложнений.

Клиника. Инкубационный период 3–6 дней. Повышается температура, появляется слабость, насморк, боль в горле, кашель, т. е. специфические симптомы отсутствуют. При тяжелых формах у детей возможно развитие крупа и пневмонии. У взрослых заболевание обычно протекает как ларингит.

Иммунитет. Иммунитет после перенесенного заболевания непрочный и непродолжительный. И хотя он типоспецифичен, возможны реинфекции теми же типами.

Микробиологическая диагностика. От больного берут слизь или смыв из дыхательных путей, мокроту. Применяют вирусологический метод на культуре клеток. Индикацию проводят по цитопатическому действию вирусов, РГА, но самым важным критерием является феномен гемадсорбции, наиболее выраженный у ВПГЧ-1, -2, -3 (раньше эти вирусы называли гемадсорбирующими). Идентификацию осуществляют с помощью РТГА, РСК, РН. Возможно использование серологического метода как для выявления антигенов вируса, так и для обнаружения антител в парных сыворотках крови больного в РТГА, РСК, РН и др. (ретроспективная диагностика).

Лечение. Помимо симптоматической терапии возможно использование арбидола, интерферона, других иммуномодуляторов.

Профилактика. Только неспецифическая.

17.1.7.2. Вирус эпидемического паротита

Эпидемический паротит («свинка») — острая детская инфекция, характеризующаяся поражением околоушных слюнных желез, реже — других органов.

Таксономия. Вирус паротита относится к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae* рода *Rubulavirus*. Вирусная природа болезни установлена в 1934 г. К. Джонсоном и Э. Гудпасчером.

Структура и антигенные свойства. Вирус паротита имеет сферическую форму, диаметр 150–200 нм. Строение сходно с другими парамиксовирусами (рис. 17.5). Внутри вируса расположен NP-белок, а снаружи — оболочка с шипами (HN- и F-гликопротеины). Вирус агглютинирует эритроциты кур, морских свинок и др. Проявляет нейраминидазную и симпластообразующую активность. Существует один серотип вируса.

Культивирование вирусов производят на культуре клеток и курином эмбрионе.

Резистентность. Как и другие парамиксовирусы, возбудитель паротита обладает невысокой резистентностью к факторам окружающей среды.

Эпидемиология. Эпидемический паротит — строго высококонтагиозная антропонозная инфекция; источник — больные люди. Возбудитель передается воздушно-капельным путем, иногда — через загрязненные слюной предметы. Наиболее восприимчивы дети от 5 до 15 лет, но могут болеть и взрослые. Заболевание встречается повсеместно.

Патогенез. Входные ворота инфекции — верхние дыхательные пути. Вирусы размножаются в эпителии слизистых верхних дыхательных путей и, возможно, в околоушных железах. Затем они поступают в кровь и разносятся по организму, попадая в яички, поджелудочную и щитовидную железы, мозговые оболочки и другие органы, вызывая их воспаление.

Клиника. Инкубационный период 14–21 день. Болезнь начинается с повышения температуры, головной боли, недомогания. Воспаляются одна или обе околоушные железы (*glandula parotis*); могут вовлекаться в патологический процесс другие слюнные железы. Болезнь продолжается около недели. Наиболее частые осложнения — орхит (и как следствие — бесплодие), менингит,

менингоэнцефалит, панкреатит. Нередко наблюдается бессимптомное течение.

Иммунитет. После перенесенной болезни вырабатывается пожизненный.

Микробиологическая диагностика. Производится редко, так как очень характерна клиническая картина. Материал для исследования — слюна, цереброспинальная жидкость, моча, сыворотка крови. Применяют вирусологический метод, заражая культуру клеток куриных фибробластов или куриный эмбрион. Вирус идентифицируют с помощью РТГА, РИФ, РН, РСК. При серологическом методе в парных сыворотках крови больного определяют анти-тела с помощью ИФА, РСК, РТГА.

Лечение и профилактика. Для лечения и поздней профилактики можно использовать специфический иммуноглобулин. Для специфической профилактики детям старше одного года вводят живую вакцину (в первые 6 месяцев жизни у ребенка есть плацентарный иммунитет).

17.1.7.3. Вирус кори и ПСПЭ

Корь — острая инфекционная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, катаральным воспалением слизистых оболочек верхних дыхательных путей и глаз, а также пятнисто-папулезной сыпью на коже.

Таксономия. Возбудитель относится к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae* рода *Morbivirus* (лат. название болезни — *morbilli*). Выделен в 1954 г. Дж. Эндерсом и Т. Пиблсом.

Структура и антигенные свойства. Морфология вируса типична для парамиксовирусов (рис. 17.5). Диаметр вириона 150–250 нм. Геном вируса — однонитевая, нефрагментированная минус РНК. Имеются следующие основные белки: NP — нуклеокапсидный; М — матриксный, а также поверхностные гликозилированные белки липопротеиновой оболочки — гемагглютинин (H) и белок слияния (F), гемолизин. Вирус кори обладает гемагглютинирующей и гемолитической активностью. Нейраминидаза отсутствует. Имеет общие антигены с вирусом чумы собак и крупного рогатого скота.

Культивирование. Вирус кори культивируют на первично-трипсинизированных культурах клеток почек обезьян и человека, пересаживаемых культурах клеток HeLa, Vero. Возбудитель размножается с образованием гигантских многоядерных клеток — симпластов; появляются цитоплазматические и внутриядерные включения. Белок F вызывает слияние клеток.

Резистентность. В окружающей среде вирус кори нестойк, при комнатной температуре инактивируется через 3–4 ч. Быстро гибнет от солнечного света, УФ-лучей. Чувствителен к детергентам, дезинфектантам.

Восприимчивость животных. Корь воспроизводится только на обезьянах, остальные животные маловосприимчивы.

Эпидемиология. Корь — антропонозная инфекция, распространена повсеместно. Восприимчивость человека к вирусу кори чрезвычайно высока. Болеют люди разного возраста, но чаще дети 4–5 лет. Источник инфекции — больной человек. Основной путь инфицирования — воздушно-капельный, реже — контактный. Наибольшая заражаемость происходит в продромальном периоде и в 1-й день появления сыпи. Через 5 дней после появления сыпи больной не заразен.

Патогенез. Возбудитель проникает через слизистые оболочки верхних дыхательных путей и глаз, откуда попадает в подслизистую оболочку, лимфатические узлы. После репродукции он поступает в кровь (вирусемия) и поражает эндотелий кровеносных капилляров, обуславливая тем самым появление сыпи. Развиваются отек и некротические изменения тканей.

Клиника. Инкубационный период 8–15 дней. Вначале отмечаются острые респираторные проявления (ринит, фарингит, конъюнктивит, фотофобия, температура тела 38,8–39,0 °С). Затем, на 3–4-й день, на слизистых оболочках и коже появляется пятнисто-папулезная сыпь, распространяющаяся сверху вниз: сначала на лице, затем на туловище и конечностях. За сутки до появления сыпи на слизистой оболочке щек появляются мелкие пятна (диаметр около 1 мм) Филатова—Коплика, окруженные красным ореолом. Заболевание длится 7–9 дней, сыпь исчезает, не оставляя следов.

Возбудитель вызывает аллергию, подавляет активность Т-лимфоцитов и иммунные реакции, что способствует появлению осложнений в виде пневмоний, воспаления среднего уха и др. Редко развиваются энцефалит и ПСПЭ.

ПСПЭ — медленная вирусная инфекция со смертельным исходом в результате поражения нервной системы с гибелью нейронов и развитием двигательных и психических нарушений. Заболевание развивается в возрасте 2–30 лет и обусловлено персистенцией вируса в клетках нейроглии без образования полноценных вирионов. В дефектных вирионах нарушается формирование оболочки, изменяется белок F, отсутствует белок M. В крови и ликворе больных обнаруживаются антитела в разведениях до 1:16 000, а в клетках мозга — вирусные нуклеокапсиды. Вместе с этим показано, что возбудитель ПСПЭ по своим свойствам ближе к вирусу чумы собак.

Иммунитет. После перенесенной кори развивается гуморальный стойкий пожизненный иммунитет. Повторные заболевания редки. Пассивный иммунитет, передаваемый плоду через плаценту в виде IgG, защищает новорожденного в течение 6 месяцев после рождения.

Микробиологическая диагностика. Исследуют смыв с носоглотки, соскобы с элементов сыпи, кровь, мочу. Вирус кори можно обнаружить в патологическом материале и в зараженных культурах клеток с помощью РИФ, РТГА и реакции нейтрализации. Характерно наличие многоядерных клеток и антигенов возбудителя в них. Для серологической диагностики применяют РСК, РТГА и реакцию нейтрализации.

Лечение. Симптоматическое.

Специфическая профилактика. Активную специфическую профилактику кори проводят подкожным введением детям первого года жизни или живой коревой вакцины из аттенуированных штаммов (Л-16), или ассоциированной вакцины (против кори, паротита, краснухи). В очагах кори ослабленным детям вводят нормальный иммуноглобулин человека. Препарат эффективен при введении не позднее 7-го дня инкубационного периода.

17.1.7.4. Респираторно-синцитиальный вирус

Респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус) вызывает заболевания нижних дыхательных путей у новорожденных и детей раннего возраста¹. Основной путь передачи — воздушно-капельный.

Таксономия. РС-вирус относится к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae* рода *Pneumovirus*. Он был выделен от детей Р. Ченоком в 1956 г.

Структура и антигенные свойства. РС-вирус, как все парамиксовирусы (рис. 17.5), имеет однонитевую спиральную минус-РНК. Вирионы полиморфны: кроме обычной сферической формы встречаются и нитевидные формы. На липопротеиновой оболочке расположены гликопротеиновые шипы, отвечающие за связь с рецепторами клетки (гликопротеин G) и слияние с мембранами клетки (гликопротеин F). Гликопротеин F вызывает слияние клеток, в результате чего образуется синцитий. Свое название РС-вирус получил по характерному ЦПД в культуре клеток — по образованию симпластов и синцития. Гемагглютинин отсутствует. По специфическому поверхностному антигену возможно отличие трех серотипов РС-вируса.

Культивирование. РС-вирус культивируют на перевиваемых культурах клеток и на первичных культурах почек обезьян. В качестве биологической модели можно использовать обезьян.

Резистентность. РС-вирус, как и многие парамиксовирусы, очень чувствителен к факторам окружающей среды.

Эпидемиология. Источником заболевания является больной. Инфицирование человека происходит через респираторный тракт. Пути передачи — контактно-бытовой (через руки, белье, другие предметы) и воздушно-капельный (при кашле, чихании). Заболевание широко распространено (составляет 3–16 % в структуре всех ОРЗ) и высококонтагиозно (у $\frac{3}{4}$ детей к трем годам обнаруживаются вируснейтрализующие антитела, главным образом секреторные IgA). Наиболее опасен РС-вирус для детей первых 6 месяцев — у них развиваются тяжелые бронхиты и пнев-

монии. Старшие дети и взрослые болеют нетяжело.

Патогенез. Входные ворота инфекции — верхние дыхательные пути: вирусы проникают в эпителиальные клетки и размножаются, вызывая их гибель. Патологический процесс быстро распространяется на нижние дыхательные пути. Развивается вторичный иммунодефицит, что приводит к развитию вторичных бактериальных инфекций. Кроме того, образуются иммунные комплексы, в результате чего развиваются иммунопатологические реакции.

Клиника. Инкубационный период 3–5 дней. Сначала появляются признаки ОРЗ, а затем трахеобронхита, пневмонии.

Иммунитет. После перенесенного заболевания развивается непродолжительный иммунитет. Возможны рецидивы, но с более легким течением.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат отделяемое носоглотки, ткань легких (исследуемый материал нельзя замораживать). В вирусологическом методе используют культуры клеток. Индикацию вирусов производят по характеру ЦПД — образованию синцития, а идентификацию вирусов — с помощью РН, РСК и др. Возможно применение серологического метода, направленного на обнаружение специфического антигена с помощью РИФ, ИФА (экспресс-диагностика); реже, используя РСК, РН, выявляют антитела в сыворотке крови больного. У грудного ребенка могут быть антитела матери в титре 1:320, что затрудняет выявление нарастания титра антител. При микроскопическом (гистологическом) исследовании в эпителии слизистой оболочки бронхов обнаруживают многоядерные клетки и синцитий.

Лечение. При РС-инфекции применяют иммуномодуляторы и рибавирин.

Специфическая профилактика. Отсутствует.

17.1.8. Рабдовирусы (семейство *Rhabdoviridae*)

Рабдовирусы — семейство РНК-содержащих вирусов, включающее около 80 вирусов родов *Lyssavirus* (вирус бешенства) и *Vesiculovirus* (вирус везикулярного стоматита). Вызывают заболевания животных и растений.

¹ К РС-вирусу близок (по свойствам) метапневмовирус, открытый в 2001 г. Он является одним из ведущих возбудителей инфекций верхних дыхательных путей детей первого года жизни.

Структура. Размер вирионов $130 \div 300 \times 60 \div 80$ нм. Вирионы имеют форму цилиндра с полукруглым и плоским концами (форма пули), отсюда и название — *Rhabdoviridae* (греч. *rhabdos* — прут, палка). Пулевидная форма характерна для вирусов, поражающих позвоночных, а бациллярная с закругленными с обеих сторон концами — для вирусов везикулярного стоматита.

Вирионы рабдовирусов состоят из двухслойной липопротеиновой оболочки и РНП (нуклеокапсида) спиральной симметрии (рис. 17.6). Оболочка изнутри выстлана М-белком (англ. *matrix*), а снаружи от нее отходят шипы гликопротеина G (длина 5–10 нм, диаметр 3 нм). РНП состоит из геномной РНК и белков: N-белок (англ. *nucleocapsid*), укрывающий как чехол геномную РНК; L-белок (англ. *large*) и NS-белок, являющиеся полимеразой (транскриптазой) вируса. Геном рабдовирусов представлен односторонней нефрагментированной линейной минус-РНК.

Репродукция. Репродукция рабдовирусов сходна с репродукцией минус-РНК-содержащих вирусов (рис. 17.7). Рабдовирусы связываются гликопротеинами оболочки с рецепторами клетки и проникают в нее путем эндоцитоза (1). Затем, после удаления оболочки, освободившийся РНП попадает в цитоплазму клетки (2). Здесь, с помощью РНК-зависимой РНК-полимеразы (3), синтезируются неполные (4) плюс-нити РНК (пять индивидуальных иРНК для синтеза вирусных белков) и полные (6) плюс-нити РНК, являющиеся матрицей для синтеза геномной РНК (7). В результате трансляции иРНК рибосомами (5) образующиеся вирусные белки преобразуются в аппарате Гольджи и включаются в плазмолемму клетки (8). Образование РНП происходит путем взаимодействия геномной (минус-нити) РНК с белками N, NS и L. После сборки вирионов происходит их почкование и выход из клетки (9).

17.1.8.1. Вирус бешенства

Вирус бешенства вызывает бешенство (*Rabies*, синонимы: водобоязнь, гидрофобия) — вирусную инфекционную болезнь, развивающуюся после укуса или ослюнения раны инфицированным животным. Поражаются нейроны ЦНС с развитием симптомов возбуждения, параличом дыхательной и плотательной мускулатуры. Болезнь заканчивается летально. Вирусная этиология бешенства доказана П. Ремленже в 1903 г.

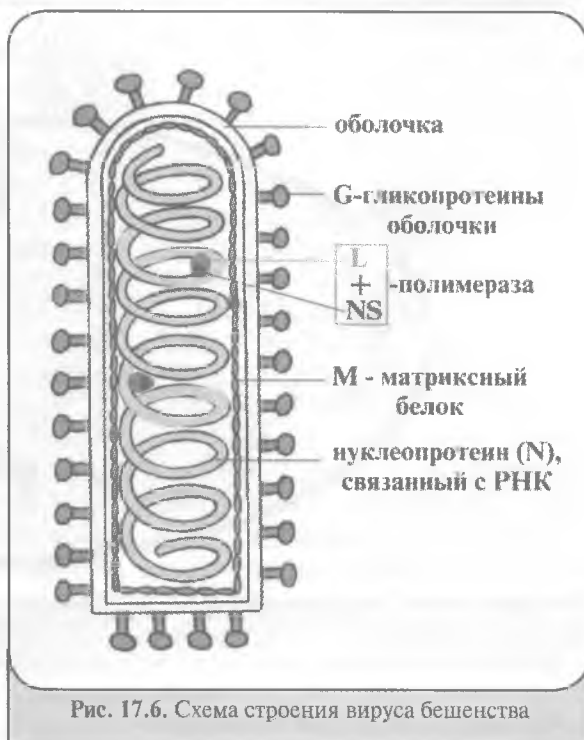


Рис. 17.6. Схема строения вируса бешенства

Таксономия. Возбудитель бешенства — РНК-содержащий вирус, относится к семейству *Rhabdoviridae* рода *Lyssavirus*, включающему еще 5 других вирусов (*Lagos*, *Mokola*, *Duvenhage*, *Kotonkan*, *Obodhiang*), выделенных от различных животных, насекомых в Африке и сходных с вирусом бешенства.

Морфология и антигенные свойства. Вирион имеет форму пули (рис. 17.6), размер 75–180 нм; состоит из сердцевинны (РНП спирального типа и матриксного белка), окруженной липопротеиновой оболочкой с гликопротеиновыми шипами. Гликопротеин G отвечает за адсорбцию и внедрение вируса в клетку, обладает антигенными (типоспецифический антиген) и иммуногенными свойствами. Антитела к нему нейтрализуют вирус и выявляются в РН. РНП состоит из геномной односторонней линейной минус-РНК и белков: N-белка, укрывающего как чехол геномную РНК; L-белка и NS-белка, являющихся полимеразой (транскриптазой) вируса. РНП является группоспецифическим антигеном; выявляется в РСК, РИФ, РП.

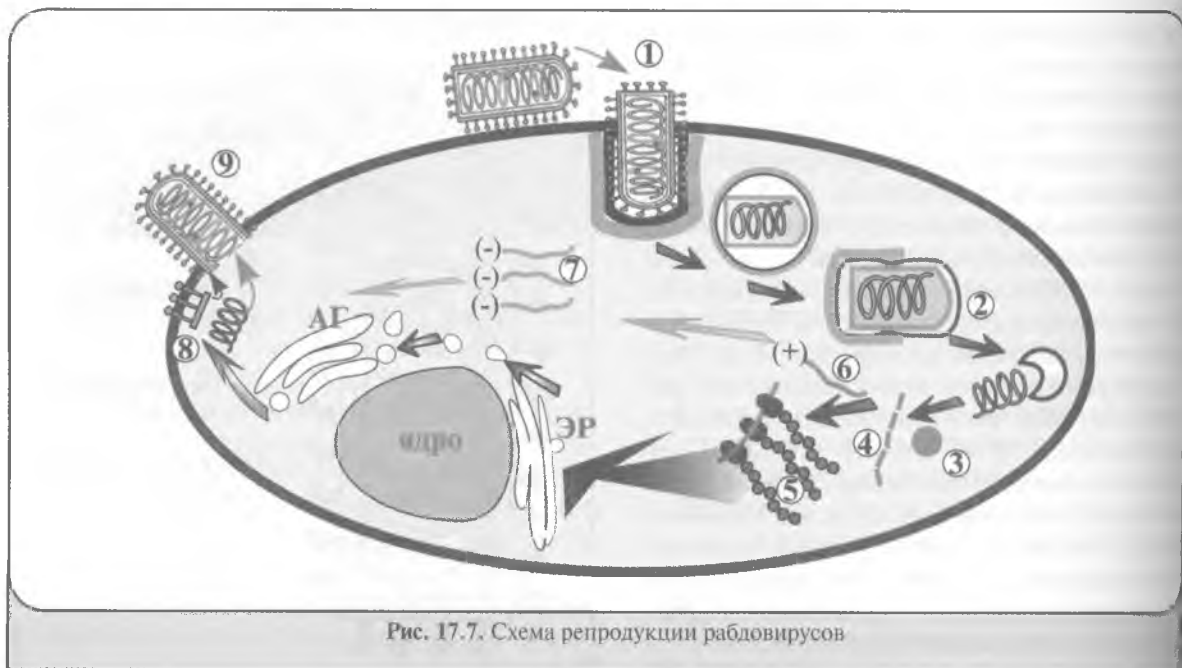


Рис. 17-7. Схема репродукции рабдовирусов

Различают два вируса бешенства:

- дикий (уличный) вирус, циркулирующий среди животных, патогенный для человека;
- фиксированный (*virus fixe*), полученный Л. Пастером в качестве антирабической вакцины многократным пассированием дикого вируса через мозг кроликов, утративший патогенность для человека, не образующий включений, не выделяющийся со слюной. Оба вируса идентичны по антигенам.

Культивирование. Вирус культивируют путем внутримозгового заражения лабораторных животных (кроликов, белых мышей, крыс, хомячков, морских свинок, овец и др.) и в культуре клеток: почек хомячка; нейробластомы мыши; фибробластов человека, куриного эмбриона; Vero-клетки почки обезьяны и др. В нейронах головного мозга зараженных животных образуются цитоплазматические включения, содержащие антигены вируса. Эти включения впервые были описаны В. Бабешем (1892) и А. Негри (1903) и названы тельцами Бабеша—Негри (эозинофильные включения вируса овальной формы размером 1–15 мкм, состоящие из вирусного РНП).

Резистентность. Вирус бешенства неустойчив: быстро погибает под действием солнечных и УФ-лучей, а также при нагревании

до 60 °С. Чувствителен к дезинфицирующим веществам, жирорастворителям, пропиолатону, щелочам и протеолитическим ферментам; сохраняется при низких температурах (–20...–70 °С).

Эпидемиология. Заболевание распространено повсеместно, кроме некоторых островных государств, где осуществляются карантинные и профилактические мероприятия. Источниками инфекции в природных очагах (природное, дикое бешенство) являются лисы, волки, енотовидные собаки, песцы, шакалы, грызуны, насекомоядные, плотоядные и кровососущие летучие мыши, а в антропоургических очагах (городское бешенство) – собаки и кошки, чаще других передающие возбудителя. Вирус бешенства накапливается в слюнных железах больного животного и выделяется со слюной. Животное заразно в последние дни инкубационного периода (за 2–10 дней до клинических проявлений болезни). Механизм передачи возбудителя – контактный при укусах, реже – при обильном ослонении поврежденных наружных покровов. Возможен аэрогенный механизм передачи вируса, например, в пещерах, населенных летучими мышами, которые многомесячно могут выделять вирус бешенства со слюной. Иногда

ГЛАВА 17. Частная вирусология

заболевание развивается при употреблении мяса больных животных или при трансплантации инфицированных тканей (например, роговицы глаза).

У собаки после инкубационного периода (14–16 дней) появляются возбуждение, обильное слюнотечение, рвота, водобоязнь. Она грызет место укуса, посторонние предметы, бросается на людей, животных. Через 1–3 дня наступают паралич и смерть животного.

Патогенез и клиника. Вирус, попав со слюной больного животного в поврежденные наружные покровы, реплицируется и персистирует в месте внедрения. Затем возбудитель распространяется по аксонам периферических нервов, достигает клеток головного и спинного мозга, где размножается. В цитоплазме нейронов мозга, чаще в гиппокампе, обнаруживаются тельца Бабеша—Негри. Клетки претерпевают дистрофические, воспалительные и дегенеративные изменения. Размножившийся вирус попадает из мозга по центробежным нейронам в различные ткани, в том числе в слюнные железы. Выделяется вирус со слюной за 8 суток до начала и в течение всей болезни. Инкубационный период у человека при бешенстве — от 10 дней до 3 месяцев, иногда до года и более, что зависит от характера и локализации повреждения. Короткий инкубационный период отмечается при множественных укусах в голову, более продолжительный — при укусах в конечности. Инкубационный период при передаче вируса летучими мышами более короткий (не более 3–4 недель). В начале заболевания появляются недомогание, страх, беспокойство, бессонница, затем развиваются рефлекторная возбудимость, спазматические сокращения мышц глотки и гортани; дыхание шумное, судорожное. Судороги усиливаются при попытке пить, при виде льющейся воды (гидрофобия), от дуновения (аэрофобия), яркого света (фотофобия), шума (акустофобия) и при других воздействиях. Развиваются галлюцинации, а в конце болезни (на 3–7-й дни болезни) — параличи мышц конечностей и дыхания. Реже болезнь развивается без возбуждения и водобоязни; развивается паралич и слюнотечение (тихое бешенство). Летальность — около 95 %.

Иммунитет. Человек относительно устойчив к бешенству: при укусах бешеным волком заболевает около 50 % не привитых людей, а бешеной собакой — около 30 %. Постинфекционный иммунитет не изучен, так как больной обычно погибает. Введение людям, укушенным бешеным животным, инактивированной антирабической вакцины вызывает выработку антител, интерферонов и активацию клеточного иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Постморальная диагностика включает обнаружение телец Бабеша—Негри в мазках-отпечатках или срезах из ткани мозга (чаще из гиппокампа, пирамидальных клеток коры большого мозга и клеток Пуркиньи мозжечка), а также выделение вируса из мозга и подчелюстных слюнных желез. Тельца Бабеша—Негри выявляют методами окраски по Романовскому—Гимзе, Манну, Туревичу, Муромцеву и др. Вирусные антигены в клетках обнаруживают с помощью РИФ.

Выделяют вирус из патологического материала путем биопробы на белых мышах: мышей-сосунков заражают интрацеребрально. Срок наблюдения до 28 дней. Обычно зараженные животные погибают через неделю. Идентификацию вирусов проводят с помощью ИФА, а также в РН на мышах, используя для нейтрализации вируса антирабический иммуноглобулин.

Прижизненная диагностика основана на исследовании: отпечатков роговицы, биоптатов кожи с помощью РИФ; выделении вируса из слюны, цереброспинальной и слезной жидкости путем интрацеребрального инфицирования мышей-сосунков. Возможно определение антител у больных с помощью РСК, ИФА.

Лечение. Симптоматическое; эффективное лечение отсутствует. Прогноз при развитии заболевания всегда неблагоприятный.

Профилактика. Профилактические мероприятия по борьбе с бешенством направлены на выявление, изоляцию или уничтожение животных — возможных источников инфекции: бродячих собак, кошек и др. Важно соблюдение правил содержания домашних животных. Проводятся карантинные мероприятия при импорте животных. Большое значение имеет иммунизация антирабической вакциной

служебных и домашних собак. Животное, покусавшее людей или животных, необходимо наблюдать в течение 10 дней. Пострадавшему промывают рану водой с мылом, обрабатывают спиртом или препаратами йода. Край раны иссекают и в первые 3 дня не зашивают. Специфическую профилактику проводят антирабической вакциной и антирабической сывороткой или иммуноглобулином.

Первую вакцину против бешенства приготовил Л. Пастер из фиксированного вируса бешенства. Последовательно пассируя уличный вирус бешенства через мозг кролика, ему удалось (на 133 пассаже — заражения от кролика к кролику) первоначальный инкубационный период с 15–20 дней снизить до 7 дней. В последующем инкубационный период не изменялся. Полученный вирус с постоянным инкубационным периодом Л. Пастер назвал фиксированным в отличие от уличного. Фиксированный вирус утратил вирулентность для других видов животных. Для большего снижения вирулентности фиксированного вируса Л. Пастер высушивал инфицированный мозг над едким калием. Первая вакцинация была проведена в 1885 г. мальчику, укушенному бешеной собакой.

В настоящее время для специфической профилактики применяют инактивированную УФ- или гамма-лучами концентрированную культуральную вакцину. Разрабатывается генно-инженерная вакцина, содержащая гликопротеин G возбудителя.

Иммунизации вакциной подлежат люди, связанные с риском заражения (собаколовы, ветеринары и др.). С лечебно-профилактической целью иммунизируют людей, укушенных подозрительными на бешенство животными. При этом активный иммунитет формируется уже во время инкубационного периода.

При множественных укусах для ускоренной защиты создают пассивный иммунитет введением антирабического иммуноглобулина.

17.1.8.2. Вирус везикулярного стоматита

Везикулярный стоматит — вирусная инфекционная болезнь животных (домашний скот и др.), иногда поражающая человека в виде гриппоподобной инфекции. Характеризуется везикулярными высыпаниями на слизистой оболочке рта, гортани, языка, кожи. Вызывается вирусом везикулярного стоматита, относящегося к семейству *Rhabdoviridae* роду *Vesiculovirus*. Вирус индуцирует интенсивное образование интерферона и высокочувствителен

к нему. Растет на культуре клеток, вызывая ЦПД и образование бляшек. Относится к арбовирусам, переносится различными комарами. Возбудитель выделяют из везикул на культуре клеток и курином эмбрионе. Идентификация вируса везикулярного стоматита проводится с помощью РИФ, РСК, ИФА. Специфическая профилактика не разработана. Лечение симптоматическое.

17.1.9. Филовирусы (семейство *Filoviridae*)

Филовирусы (лат. *filum* — нить) — семейство нитевидных РНК-содержащих вирусов. Содержит род «Марбургподобных вирусов» и род «Эболаподобных вирусов», включающие **вирусы Марбург и Эбола** — возбудителей африканских геморрагических лихорадок.

Структура и репродукция. Вирусы имеют вид длинных филаментов (80–1000 нм) с оболочкой и однонитевой минус-РНК, заключенной в капсид. Содержат полимеразу. Симметрия капсида спиральная. На оболочке имеются шипы (спикулы). Репликация и сборка — в цитоплазме. Выход из клетки — почкованием через клеточную мембрану. При электронной микроскопии негативно контрастированных препаратов вируса Эбола (рис. 17.8) видны нитевидные, иногда ветвящиеся вирионы, имеющие форму цифры или кольца. Они имеют липопротеиновую оболочку (с поверхностными выступами — шипами), окружающую спиральный нуклеокапсид.

Микробиологическая диагностика. Для определения компонентов вирусов и антител применяют ПЦР, РИФ, ИФА, РН, РСК.

17.1.9.1. Вирусы Марбург и Эбола

Вирус Марбург вызывает геморрагическую лихорадку Марбург — тяжелое заболевание с геморрагическим синдромом и высокой летальностью. Заболевание впервые описано в г. Марбурге (ФРГ) среди лабораторных работников, проводивших исследования на африканских зеленых марышках. Размножается в культуре клеток, иногда не вызывая цитопатического эффекта. Резервуаром вируса являются африканские зеленые марышки. Человек высоковосприимчив к вирусу. Заражение человека происходит при контакте с кровью больных и обезьян, а также воздушно-капельным путем. Описаны отдельные вспышки болезни, а также случаи внутрилабораторных заражений.

ГЛАВА 17. Частная вирусология

Инкубационный период 2–19 дней. Начало острое, с высокой температурой, нарушением самочувствия, симптомами со стороны дыхательной системы, ЖКТ, а на 5–7-е сутки появляется геморрагическая сыпь на фоне кровавой рвоты, кровавого поноса, которые могут привести к летальному исходу (50 % случаев).

Клинический диагноз подтверждается вирусологическими и серологическими данными (постановка ИФА, РИФ).

Лечение — плазмой рековалесценто́в, интерферонотерапия. Специфическая профилактика не разработана. Больные подлежат строгой изоляции с соблюдением мер профилактики внутрибольничных и внутрилабораторных заражений.

Вирус Эбола вызывает геморрагическую лихорадку Эбола, характеризующуюся высокой температурой, интоксикацией, диареей и геморрагическим синдромом. Различают 3 серотипа вируса. Вирус плохо культивируется в культурах клеток.

Естественный резервуар вируса не установлен. Источником инфекции является человек. Заражение происходит контактным и алиментарным путями, а также парентерально через кровь больного человека. Инкубационный период 7–14 дней. Начало острое, с высокой температурой, головными болями, болями в грудной клетке, в области живота, рвотой, диареей. Развивается геморрагический синдром (кореподобная сыпь). Летальность достигает 90 %.

Диагностика основана на клинико-эпидемиологических данных и подтверждается вирусологическими и серологическими данными (ИФА, ПЦР и др.).

Лечение — плазмой рековалесценто́в, или специфическим гаммаглобулином. Специфическая профилактика не разработана. Больные подлежат изоляции, устанавливается строгий режим как при карантинных инфекциях.

17.1.10. Коронавирусы (семейство *Coronaviridae*)

Таксономия. Семейство *Coronaviridae* включает в себя род *Coronavirus*, объединяющий более 10 видов, вызывающих заболевания у человека и животных. На поверхности вирусной частицы обнаруживаются выступы — шипики в виде короны. Коронавирусы широко рас-

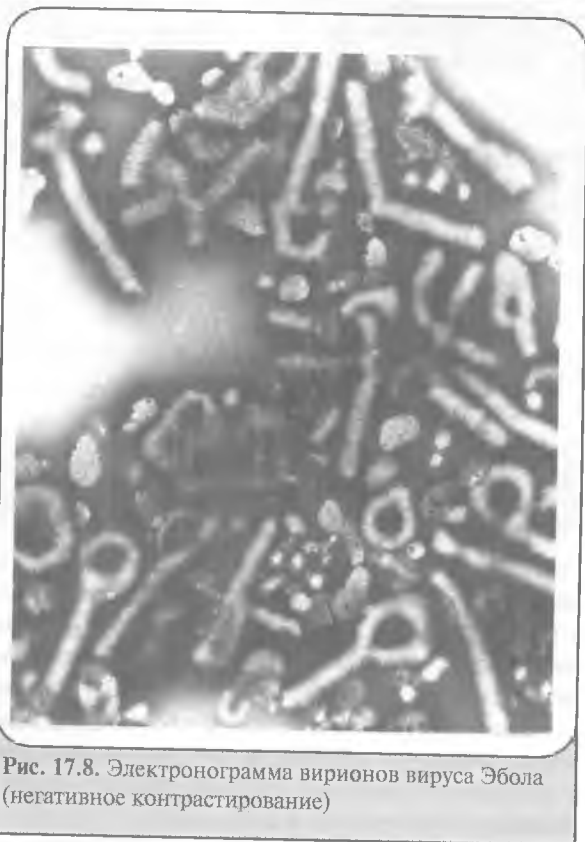
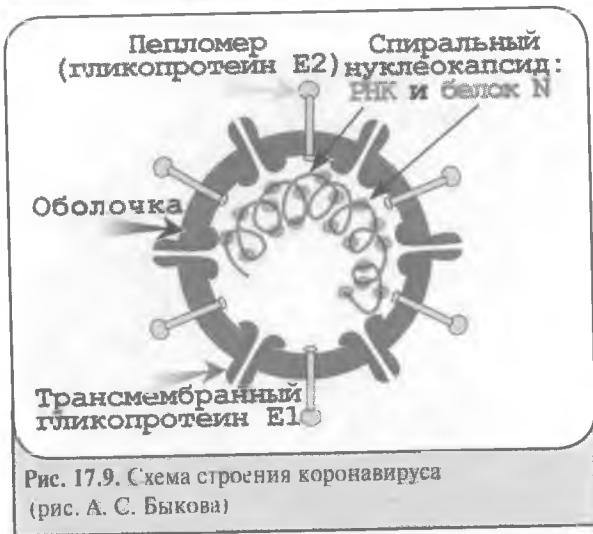


Рис. 17.8. Электронограмма вирионов вируса Эбола (негативное контрастирование)

пространены в природе, вызывают поражения респираторных органов (в том числе SARS), ЖКТ, нервной системы человека, а также животных. Вирус впервые был выделен в 1965 г. D. Tyrrell от больного острым ринитом.

Морфология. Вирионы среднего размера (80–220 нм), округлой формы (рис. 17.9). Сердцевина вириона представлена спиральным нуклеокапсидом, содержащим однонитевую плюс-РНК. Нуклеокапсид, имеющий вид спирали, окружен липидной оболочкой, покрытой снаружи булавовидными выступами — пепломерами, которые при прикреплении к вириону образуют узкий «перешеек». Пепломеры придают вирусной частице вид солнечной короны. В оболочку вириона встроены гликопротеины E1 и E2, которые отвечают за адсорбцию вируса на клетке и проникновение в клетку хозяина.

Антигены. Коронавирусы имеют сложный антигенный состав, выделяют 3 антигенно отличных субъединицы. Антигенные детерминанты располагаются на пепломерах. При попадании в организм коронавирусы вызы-



Эпидемиология и патогенез. Коронавирусы вызывают у человека острые респираторные заболевания, в том числе бронхиты и пневмонию, SARS преимущественно в осенне-зимний период. Источник инфекции — больной человек, основной путь заражения — воздушно-капельный. Так как входными воротами инфекции в большинстве случаев являются верхние дыхательные пути, то болезнь протекает по типу ОРЗ. При попадании вируса через рот возможно развитие гастроэнтеритов.

Клиника. Инкубационный период 3–4 дня. В клетках слизистой оболочки верхних дыхательных путей происходит первичная репродукция вируса, при этом развивается профузный насморк, как правило, без повышения температуры. Продолжительность болезни 5–7 дней. Возможно развитие симптомов острого гастроэнтерита. Коронавирусная инфекция может сочетаться с другими заболеваниями вирусной или бактериальной этиологии.

Иммунитет. После перенесенного заболевания формируется гуморальный иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — отделяемое носоглотки. В качестве экспресс-диагностики используют РИФ — обнаружение антигена в клетках эпителия верхних дыхательных путей. Выделение вируса затруднено, поэтому основной метод диагностики — серологический. Исследуют парные сыворотки, применяя РТГА, РСК, РН.

Лечение. Симптоматическое.

Специфическая профилактика. Не разработана.

17.1.11. Ретровирусы (семейство *Retroviridae*)

Ретровирусы — семейство *Retroviridae*, объединяющее около 150 видов однопитевых РНК-содержащих, обратнотранскрибирующихся вирусов.

Ретровирусы имеют сферическую форму, размер 80–130 нм. Вирион имеет оболочку и нуклеокапсидную сердцевину. Капсид икосаэдрический. Типичным является наличие обратной транскриптазы (РНК-зависимой ДНК-полимеразы), связанной с геномом — однопитевой плюс-РНК в виде комплекса из двух идентичных субъединиц. Вирусы содержат протеины: группового антигена (gag), по-

вают образование вируснейтрализующих, агглютинирующих, преципитирующих и других антител. У некоторых штаммов обнаружен гемагглютинин. Выявлены общие антигены у коронавирусов, выделенных от человека, и изолированных от животных. По антигенной структуре коронавирусы, выделяемые от человека, разделены на 4 группы.

Резистентность. Вирусы чувствительны к воздействию жирорастворителей, кислот и щелочей, УФ-лучам; при нагревании до 56 °С погибают через 10–15 мин. При комнатной температуре сохраняются в течение нескольких дней. Устойчивы при низких температурах, хорошо переносят лиофилизацию.

Культивирование. Коронавирусы репродуцируются в клетках их естественных хозяев. Так, возможно использование в качестве биологических моделей клеток эмбриона человека, а также первичных клеток эпителия человека. Оптимальная температура культивирования 33–35 °С. Возбудители заболеваний птиц размножаются в куриных эмбрионах. Внутриклеточные включения не образуются.

Репродукция. Коронавирусы проникают в клетку путем эндоцитоза, репродукция происходит в цитоплазме. Сборка вириона осуществляется на мембране эндоплазматической сети. Вирусные частицы отпочковываются внутри эндоплазматического ретикулума или аппарата Гольджи. Выход вируса из инфицированных клеток осуществляется путем экзоцитоза.

ГЛАВА 17. Частная вирусология

Таблица 17.3. Характеристика ретровирусов (семейство *Retroviridae*)

| Род | Типовой вид и некоторые представители рода |
|-------------------|---|
| Alpharetrovirus | Вирусы лейкемии, саркомы птиц, саркомы Рауса кур |
| Betaretrovirus | Вирус рака молочных желез мышей, эндогенный ретровирус человека, вирус обезьян Мезон—Пфайзера |
| Gammaretrovirus | Вирусы саркомы и лейкемии мышей, кошек, приматов |
| Deltaretrovirus | Вирус лейкемии крупного рогатого скота, лимфотропные вирусы Т-клеток человека (HTLV-1,-2) |
| Epsilonretrovirus | Вирус саркомы кожи |
| Lentivirus | Вирус иммунодефицита человека, вирус Мэди/Висна |
| Spumavirus | Пенящие вирусы человека, обезьян, бычий синцитиальный вирус |

лимеразный протеин (pol) и белки оболочки (env). Известно около 30 онкоантигенов.

Семейство ретровирусов включает 7 родов, приведенных в табл. 17.3.

В патологии человека значение имеют 4 вида: ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусы Т-клеточных лейкозов (HTLV-1 и HTLV-2).

17.1.11.1. Вирус иммунодефицита человека

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ, или HIV — от англ. Human Immunodeficiency Virus) вызывает ВИЧ-инфекцию, заканчивающуюся развитием синдрома приобретенного иммунного дефицита (СПИД, или от англ. AIDS — Acquired Immunodeficiency Syndrome). СПИД характеризуется преимущественным поражением иммунной системы, длительным течением, полиморфностью клинических проявлений, высокой летальностью, передачей в естественных условиях от больного человека здоровому (главным образом, при половых контактах или парентерально с инфицированными ВИЧ-материалами, от больной матери плоду, при грудном вскармливании) и склонностью к быстрому эпидемическому распространению. Типичный антропоноз.

Возбудитель ВИЧ-инфекции — лимфотропный вирус, относящийся к семейству *Retroviridae* рода *Lentivirus*. Вирус открыт в 1983 г. одновременно французским вирусологом Л. Монтанье и американским ученым Р. Галло.

История возникновения и эпидемиология ВИЧ-инфекции. Впервые СПИД описан в 1981 г. в «Еженедельном вестнике заболева-

емости и смертности», издаваемом в США (Атланта). Врачи госпиталя Нью-Йоркского университета, а затем Лос-Анджелеса в течение 1980/81 г. зарегистрировали групповое появление у гомосексуалистов необычных форм саркомы Капоши и злокачественной пневмоцистной пневмонии. Когда таких больных было зарегистрировано больше сотни, врачи заподозрили, что имеют дело с каким-то новым заболеванием, назвав его «чумой беспутных», так как оно было связано с гомосексуализмом и возникло в период разгула в США «сексуальной революции», ростом проституции, венерических заболеваний, порнографией. Впоследствии обнаружилось, что такое же заболевание встречается и среди людей, страдающих гемофилией, которым многократно переливают плазму крови. Затем было установлено, что заболевание передается при половых контактах, особенно в извращенных формах.

Все это дало основание предположить, что человечество имеет дело с каким-то новым инфекционным заболеванием. Начались поиски возбудителя, которые увенчались успехом в 1983 г. — из организма больного был выделен новый, ранее неизвестный вирус, названный впоследствии ВИЧ.

Между тем, новое заболевание — ВИЧ-инфекция — за 20 с лишним лет охватило все страны и все без исключения континенты. По состоянию на 2003 г. всего на земном шаре зафиксировано более 40 млн ВИЧ-инфицированных, и более 16 млн из них погибло от СПИДа. Например, в ряде стран Африки до 15–20 % взрослого населения поражено ВИЧ,

в США — более 0,5 % населения, в некоторых странах Европы (Испания, Франция, Швейцария и др.) — 0,3–0,5 % населения. В России зарегистрировано около 300 тыс. ВИЧ-инфицированных. По прогнозам специалистов, пандемия ВИЧ-инфекция будет продолжаться.

Причиной быстрого распространения ВИЧ-инфекции являются всеобщая восприимчивость людей к ВИЧ, многообразие естественных путей передачи, высокая инфекционность вируса, длительный период заразности инфицированного, отсутствие до настоящего времени эффективных средств лечения и профилактики.

Морфологические и культуральные свойства. Антигены ВИЧ. ВИЧ — РНК-содержащий вирус (рис. 17.10) Вирусная частица имеет сферическую форму, диаметр 100 нм. Оболочка вируса состоит из двойного слоя липидов, пронизанного («утыканного») гликопротеинами. Липидная оболочка происходит из плазматической мембраны клетки хозяина, в которой репродуцируется вирус. Гликопротеиновая молекула (gp 160), имеющая молекулярную массу 160 кДа, состоит из 2 субъединиц: gp 120 (молекулярная масса 120 кДа), находящейся на поверхности вириона, и gp 41 (молекулярная масса 41 кДа), пронизывающей его липидную оболочку.

Сердцевина вируса имеет конусовидную форму и состоит из капсидных белков p24 и

p25 (молекулярная масса соответственно 24 и 25 кДа), ряда матриксных белков (p6, p7) и белков протеазы (p10, p11). Геном образует две нити РНК (состоит из 7900–9800 п.н.), для осуществления процесса репродукции ВИЧ имеет обратную транскриптазу, или ревертазу.

Геном вируса состоит из 3 основных структурных генов (gag, pol, env) и 7 регуляторных и функциональных генов (tat, rev, nef, vif, vpr, vrc, vpx). Ген gag (от англ. *group antigen* — групповой антиген) кодирует матриксные, капсидные, нуклеокапсидные белки и белки протеазы. Ген pol (от англ. *polymerase* — полимеразы) кодирует обратную транскриптазу (p61/p51, p15-РНКазу, p32-интегразу); Ген env (от англ. *envelope* — оболочка) кодирует поверхностный белок gp 120 и трансмембранный gp 41. Функциональные гены выполняют регуляторные функции (reg, tat, nef) и обеспечивают осуществление процессов репродукции и участие вируса в инфекционном процессе (vif, vpr, vrg, vpx).

Жизненный цикл ВИЧ (см. рис. 3.10) состоит из 4 стадий:

- 1) адсорбция и проникновение вируса путем эндоцитоза в клетку;
- 2) высвобождение вирусной РНК, синтез ДНК-провируса и интеграция провируса с геномом клетки хозяина;
- 3) синтез РНК вируса, трансляция и формирование вирусных белков;
- 4) сборка, созревание и высвобождение путем почкования вновь образованных вирионов.

Полный жизненный цикл вируса реализуется всего за 1–2 суток, причем в сутки формируется до одного миллиарда вирусных частиц.

Вирус поражает в основном Т- и В-лимфоциты, а также некоторые клетки моноцитарного ряда (макрофаги, лейкоциты, клетки Лангерганса, дендритные клетки), клетки нервной ткани и другие клетки в связи с тем, что все эти клетки содержат на поверхности рецепторы CD4, с которыми специфически взаимодействует оболочечный белок gp 120 ВИЧ. Не исключено также рН-независимое слияние оболочки вируса с клеточной мембраной и проникновением вируса в клетку. Таким образом вирус может поражать также эпителиальные, эндотелиальные и другие клетки, не содержащие рецептора CD4.

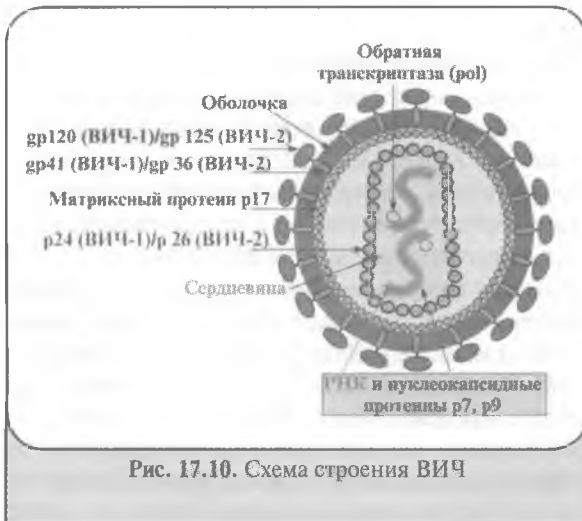


Рис. 17.10. Схема строения ВИЧ

Высокая скорость и многоэтапность процесса репродукции ВИЧ в различных клетках-мишенях сопровождаются генетическими ошибками, которые, суммируясь, обуславливают уникальную чрезвычайную изменчивость вируса. Этому способствует наличие в поверхностном белке gp 120 гипервариабельного участка (V-3), состоящего из 5 аминокислотных остатков, который определяет основную нейтрализующую доминанту вируса.

Изменчивость ВИЧ в сотни и тысячи раз превосходит изменчивость гриппа. Это затрудняет диагностику и специфическую профилактику ВИЧ-инфекции.

Выделяют 2 типа вируса — ВИЧ-1 и ВИЧ-2, которые различаются по структурным и антигенным характеристикам. В частности, геном ВИЧ-2 отличается от генома ВИЧ-1 структурой гена env и заменой гена vif на vifx. Так, ВИЧ-2 (вместо белков gp 120, gp 41, gp 160, p 24 у ВИЧ-1) содержит белки gp 140, gp 105, gp 36, p 26. Это обуславливает различия в течении заболеваний, вызываемых инфекциями ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

ВИЧ-1, как наиболее распространенный, в силу своей изменчивости имеет не менее 10 генотипов (субтипов): А, В, С, D, Е, F и т. д., отличающихся между собой на 25–30 % по аминокислотному составу белков. Внутри субтипа уровень такой вариабельности составляет 5–20 %.

В настоящее время ВИЧ-1 делят на 3 группы: М, N, O. Большинство изолятов относится к группе М, в которой выделяют 10 подтипов: А, В, С, D, F-1, F-2, G, H, I, K. При этом около 10 % ВИЧ-1 имеют мозаичную структуру, т. е. являются рекомбинантами. Субтипы распространены по регионам неравномерно. В России на 2003 г. доминирует подтип А, встречаются подтип В и рекомбинантный подтип АВ.

Культивируется ВИЧ на культуре клеток Т-лимфоцитов и моноцитов человека, но для этого требуется присутствия ИЛ-2. К вирусу нечувствительны все виды животных, кроме шимпанзе, хотя клиническое проявление у последних отличается от такового у человека. Известны самостоятельные вирусы иммунодефицита, поражающие кошек (ВИК), лошадей, обезьян, овец. Они видоспецифич-

ны и не поражают другие виды животных и человека.

Устойчивость ВИЧ. Вирус чувствителен к физическим и химическим факторам, гибнет в течение 30 мин при нагревании выше 56 °С, гибнет в течение короткого времени (через 5–10 мин) при действии дезинфектантов (например, после обработки спиртом, эфиром); для него губительны солнечная радиация, искусственное УФ-излучение, ионизирующая радиация. Имеются данные, что ВИЧ теряет активность при воздействии ферментов слюны и пота.

Однако вирус может длительно (до 2 недель) сохраняться в высушенном состоянии, в высохшей крови, а в донорской крови может сохраняться годами. Вирус длительно сохраняется также в кровососущих насекомых, однако это не имеет эпидемиологического значения, так как ВИЧ при укусах насекомых (комары, вши, блохи, клопы, клещи) не передается.

Факторы патогенности, патогенеза ВИЧ-инфекции. Вирус обладает лимфотропностью благодаря тому, что на лимфоцитах Т-хелперах и других клетках (см. выше) существуют в норме рецепторы CD4 (до 300 тыс. на одном лимфоците), имеющие сродство к белку gp 120 ВИЧ.

Это обуславливает прикрепление вируса к лимфоциту, проникновению вируса в клетку и его репродукцию в лимфоците. В результате размножения ВИЧ в лимфоците последние разрушаются или теряют свои функциональные свойства (могут образовываться синцитии). Однако вирус поражает не только Т-хелперы, но и другие клетки (В-лимфоциты, макрофаги, лейкоциты, клетки Лангерганса, дендритные, нервные и другие клетки), которые имеют рецепторы CD4 как у Т-лимфоцитов.

В результате размножения вируса в различных клетках происходит накопление его в органах и тканях, и он обнаруживается в крови, лимфе, слюне, сперме, слезах, моче, поте, каловых массах, содержимом уrogenитального тракта, грудном молоке, в гное при воспалительных процессах.

При ВИЧ-инфекции снижается число Т4-лимфоцитов, а также отношение Т4/Т8, нарушается функция В-лимфоцитов, подавляется

функция естественных киллеров и ответ на антигены и митогены, снижается и нарушается продукция комплемента, лимфокинов и других факторов, регулирующих иммунные функции (ИЛ, ИФН и др.), в результате чего наступает дисфункция иммунной системы и расстройство всей ее деятельности.

Поражение иммунных и других клеток, нарушение синтеза важных иммунореагентов приводит к снижению защитных функций иммунной системы, развитию иммунодефицитов и проявлению вторичных заболеваний инфекционной и неинфекционной природы, в первую очередь гнойно-воспалительных заболеваний, вызываемых условно-патогенной флорой, а также злокачественных опухолей.

Клиника. При ВИЧ-инфекции поражается дыхательная система (пневмоцистная пневмония, бронхиты, плевриты); ЦНС (абсцессы, менингиты, энцефалиты, деменция и др.); ЖКТ (упорные диареи, энтериты, снижение массы тела и др.); возникают злокачественные новообразования (саркома Капоши, опухоли внутренних органов).

ВИЧ-инфекция, по В. И. Покровскому, протекает в несколько стадий: 1) инкубационный период, составляющий в среднем 2–4 недели; 2) стадия первичных проявлений, характеризующаяся вначале острой лихорадкой, лимфаденопатией, диареей и другими малозначительными симптомами; завершается стадия бессимптомной фазой и персистенцией вируса, восстановлением самочувствия, однако в крови определяются ВИЧ-антитела. Эта стадия может длиться годами и затем перейти в 3-ю стадию вторичных заболеваний, проявляющихся поражением или дыхательной, или нервной системы, желудочно-кишечного тракта, возникновением злокачественных опухолей в различных сочетаниях. Завершается ВИЧ-инфекция последней, 4-й терминальной стадией, собственно СПИДом, характеризующимся кахексией, упорной диареей, адинамией, анемией, деменцией, снижением всех иммунных показателей с летальным исходом.

В настоящее время среднюю продолжительность жизни инфицированного человека оценивают примерно в 12 лет; средние сроки от сероконверсии до развития СПИДа — в

7–15 лет, однако эти сроки варьируют, так и в другую сторону.

Микробиологическая диагностика. Основана на установлении факта зараженности В. И. на определении стадии заболевания. Для этого применяют комплекс эпидемиологических, клинических, иммунологических и лабораторных данных.

Вирусологические и серологические исследования включают методы определения антигенов и антител ВИЧ. Для этого используют ИФА, ИБ и ПЦР. Сыворотки больных ВИЧ-1 и ВИЧ-2 содержат антитела к вирусным белкам. Однако для подтверждения диагноза определяют антитела к белкам gp41, gp120, gp160, p24 у ВИЧ-1 и к белкам gp36, gp105, gp140 у ВИЧ-2. Антитела появляются через 2–4 недели инфицирования и определяются на всех стадиях ВИЧ-инфекции и при СПИДе. В ранние сроки выявляются антигены. Метод выявления вируса в крови, лимфатических узлах превосходит по информативности другие тесты, однако он трудоемок и дорог. Для определения ВИЧ-антител разработано множество тест-систем, позволяющих выявить до 99,9 % всех положительных проб. Однако при любой положительной пробе для подтверждения результатов ставится реакция ИБ. Применяют также ПЦР, способную выявлять ВИЧ-инфекцию в инкубационном и раннем клиническом периоде, однако чувствительность несколько ниже, чем ИФА.

Клинический и серологический диагноз подтверждаются иммунологическими исследованиями, если они указывают на наличие иммунодефицита у обследуемого пациента.

Лечение. Все испытанные противовирусные химиотерапевтические методы лечения не дают эффекта, и они могут лишь облегчить течение ВИЧ-инфекции. Наиболее действенным оказалось применение ингибиторов обратной транскриптазы, действующих в активированных клетках. Такими препаратами являются производные тимидина — азидотимидин, фосфазид. Фосфазид — отечественный препарат, более эффективен и менее токсичен, чем азидотимидин. Однако полного излечения эти препараты не дают.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. За рубежом и в России ведутся интенсивные работы по созданию профилактической вакцины. Некоторые образцы вакцин уже проходят клинические испытания.

В настоящее время профилактика ВИЧ-инфекции сводится к социальным и противоэпидемическим мероприятиям, а именно: к механической защите от инфицирования с помощью презервативов, к пользованию одноразовыми шприцами, иглами, медицинскими инструментами, системами для переливания крови, к обеззараживанию материалов и медицинских препаратов из крови и т. д. Важное значение имеет своевременное обследование и выявление ВИЧ-инфицированных, в первую очередь в организованных коллективах, борьба с проституцией, наркоманией, гомосексуализмом, безнравственностью, к правильному половому воспитанию, просветительской работе среди населения. В России действует закон, предусматривающий уголовное наказание за заведомую постановку другого лица в опасность заражения ВИЧ или умышленное заражение ВИЧ.

Вирусы Т-клеточного лейкоза. Вирусы Т-клеточного лейкоза (*Human T-lymphotropic virus*, HTLV) вызывают Т-клеточный лейкоз взрослых (HTLV-1) и волосато-клеточный лейкоз взрослых (HTLV-2). Эти вирусы объединяет одно свойство — они лимфотропны, в связи с чем вызывают преимущественное поражение иммунной системы. Отсюда характер заболеваний, вызываемых вирусами Т-клеточного лейкоза, во многом сходен с ВИЧ-инфекцией. Т-клеточные лейкозы, так же как и ВИЧ-инфекция, характеризуются полиморфностью клинических проявлений, тяжестью течения (доходящей до 100 % летальности), разнообразием путей инфицирования, схожестью эпидемического процесса. Однако, если ВИЧ-инфекция хорошо изучена (известны структура и биологические свойства вируса, патогенез заболеваний, разработаны методы диагностики, ведется интенсивный поиск средств лечения и специфической профилактики, тщательно изучена эпидемиология ВИЧ-инфекции), то такого нельзя сказать в отношении вирусов Т-кле-

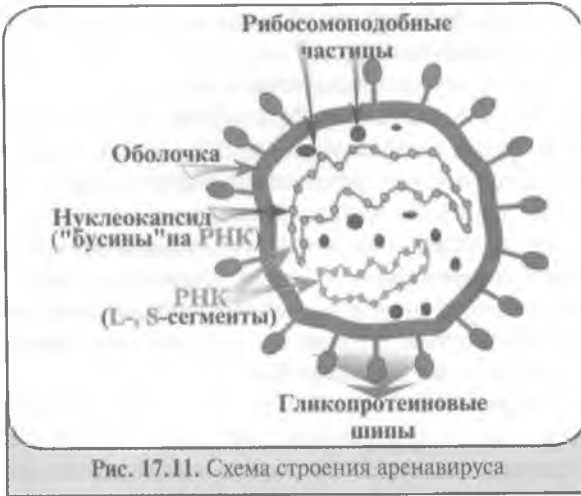
точного лейкоза и заболеваний, вызываемых этими вирусами.

Болезни, вызываемые вирусами Т-клеточных лейкозов, зафиксированы в странах Северной и Южной Америки, в том числе в США, а также в Японии, Израиле, в европейских странах (Великобритания, Голландия и др.), в странах Африки, т. е. практически на всех континентах. Зарегистрировано (по серологическим данным) распространение вирусов и среди населения России, особенно в Сибири и на Дальнем Востоке.

Новое заболевание, названное Т-клеточным лейкозом (лимфомой взрослых), было впервые описано Такауки с соавт. в конце 70-х годов прошлого века. Более чем 20-летний период изучения заболевания показал, что число инфицированных вирусами Т-клеточного лейкоза от числа обследованных колеблется, по разным регионам и у разных исследователей, от 4 до 100 %. В России систематическое направленное обследование населения на вирусы Т-клеточного лейкоза практически не проводится, что, кстати, относится и к большинству стран мира. Между тем, учитывая распространенность вирусов среди населения планеты, многообразие естественных путей передачи, тяжесть и летальный исход заболевания, отсутствие эффективных средств лечения и профилактики Т-клеточных лейкозов, эта вирусная инфекция выдвигается в число актуальных, требующих концентрации сил и средств для планомерного ее изучения, разработки (заблаговременно до перерастания этой инфекции в пандемию) мер профилактики и лечения. В противном случае Т-клеточный лейкоз уже в ближайшее время может выйти на такой же уровень в инфекционной патологии, какой сейчас занимает ВИЧ-инфекция.

17.1.12. Аренавирусы (семейство *Arenaviridae*)

Аренавирусы — семейство РНК-содержащих безоболочечных вирусов. Свое название семейство *Arenaviridae* получило от греч. *arenosa* — песчаный (из-за рибосом в вирионе, похожих на песчинки). Семейство включает вирус лимфоцитарного хориоменингита, а также вирусы Ласса, Хунин, Мачупо,



Гуанарито, вызывающие тяжелые геморрагические лихорадки (табл. 17.4).

Структура и репродукция. Вирион, имеющий сферическую или овальную форму имеет диаметр около 120 нм. Снаружи он окружен оболочкой с булавовидными гликопротеиновыми шипами GP1 и GP2. (рис. 17.11). Под оболочкой расположены 12–15 клеточных рибосом, похожих на песчинки. Капсид спиральный. Геном представлен двумя сегментами (L, S) однонитевой минус-РНК; кодируется 5 белков, в частности L-, Z-, N-, G-белки. Вирион содержит транскриптазу (L-белок, РНК-полимераза). Репродукция — в цитоплазме; после сборки и включения в вирион рибосомоподобных частиц происходит его почкование через плазматическую мембрану клетки.

Резистентность. Аренавирусы чувствительны к действию детергентов, УФ-, гамма-излучению и к нагреванию. Не чувствительны к замораживанию и лиофилизации.

Культивирование. Аренавирусы культивируют в курином эмбрионе, в организме грызунов и на культуре клеток, например Vero — культуре клеток почек зеленых марышек.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Аренавирусы относятся к робовирусам, т. е. распространяются

с выделениями (моча, кал, слюна) грызунов, загрязняющих продукты питания, воду и воздух. Люди заражаются алиментарным путем или аэрогенным механизмом, реже контактным путем. Инкубационный период 1–2 недели. Вирусы обычно попадают через кишечный или респираторный тракты. Размножившись в регионарных лимфатических узлах, они распространяются в ретикуло-эндотелиальной системе, циркулируют в крови. В результате взаимодействия цитотоксических Т-лимфоцитов с вирусинфицированными клетками происходит разрушение ткани. При геморрагических лихорадках образуются иммунные комплексы антиген—антитело, откладывающиеся на базальных мембранах клеток. Происходят некротические изменения печени и селезенки, развиваются гломерулонефрит, миокардит и сосудистые изменения. Заболевания (в зависимости от особенностей организма и возбудителя) протекают в виде гриппоподобных проявлений или более тяжело — с развитием лихорадки, сыпи, отеков, геморрагических изменений различной локализации, пневмонии, почечной недостаточности, поражений ЦНС.

Иммунитет. После перенесенного заболевания обычно формируется длительный иммунитет.

17.1.12.1. Вирусы лимфоцитарного хориоменингита, Ласса, Хунин, Мачупо и др.

Вирус лимфоцитарного хориоменингита вызывает лимфоцитарный хориоменингит, протекающий в виде гриппоподобного заболевания или тяжелых форм в виде серозного менингита или менингоэнцефалита с лейко- и тромбоцитопенией. Лимфоцитарный хориоменингит распространяется с выделениями домашних мышей, загрязняющих продукты питания, воду и воздух.

Вирус Ласса вызывает геморрагическую лихорадку Ласса, характеризующуюся интоксикацией, лихорадкой, геморрагическими высыпаниями, поражением ЦНС. Вирус передается от домашних многососковых крыс (*Mastomys natalensis*), или иногда от человека к человеку (заболевания Либерии, США и др.). Заражение чело-

Таблица 17.4. Характеристика семейства *Arenaviridae*

| Род | Представители | Свойства вирусов |
|------------|---|---|
| Arenavirus | Вирусы лимфоцитарного хориоменингита, Ласса. Вирусы комплекса Така-рибе, включая вирусы Хунин, Мачупо, Гуанарито, Сабиа | Вирусы полиморфные (50–300 нм), имеют оболочку, однонитевую минус-РНК из 2 сегментов. Симметрия капсида спиральная. Содержат транскриптазу. Репродукция — в цитоплазме |

века в природных очагах происходит респираторным, алиментарным, контактно-бытовым и парентеральным путями. Естественная восприимчивость людей высокая. Длительность постинфекционного иммунитета не установлена. Лихорадка Ласса — зооноз, имеет природно-очаговый характер. Распространена в странах Западной и Центральной Африки (в Нигерии, Сенегале, Гвинее, Заире и др.), где наблюдаются отдельные вспышки. Первая вспышка была выявлена в 1969 г. в г. Ласса (Нигерия), в связи с чем болезнь и получила свое название.

Болезнь протекает тяжело и характеризуется появлением разнообразных симптомов. Летальность среди всех инфицированных лиц составляет 1–2% (при нозокомиальных вспышках летальность достигает 50%). Инкубационный период составляет в среднем 7–8 дней. Болезнь начинается постепенно, с озноба, повышения температуры; появляются рвота, диарея, боли в животе, груди и кашель. Через неделю развивается макуло-папулезная и петехиальная сыпь на коже лица, туловища, конечностей; отмечаются кровохарканье и кишечные кровотечения. Лечение эффективно рибавирином.

Вирусы Хунин и Мачупо вызывают американские геморрагические лихорадки.

Вирус Хунин — возбудитель аргентинской геморрагической лихорадки; *вирус Мачупо* — возбудитель боливийской геморрагической лихорадки. Резервуаром этих вирусов в Южной Америке являются грызуны.

Вирус Гуанарито — новый член комплекса Такарибе, рода *Arenavirus*, выделенный в 1989 г. в Венесуэле. Вызывает венесуэльскую геморрагическую лихорадку, сопровождается токсокозом, гриппоподобными явлениями, диареей. Резервуар инфекции — дикие грызуны (хлопковые крысы и др.).

Вирус Сабиа — новый член комплекса Такарибе, рода *Arenavirus*, выделенный в 1993 г. в Бразилии. Вызывает бразильскую геморрагическую лихорадку. Предполагают, что резервуаром инфекции являются грызуны.

Микробиологическая диагностика аренавирусных инфекций. При диагностике аренавирусных инфекций используют вирусологический и серологический методы. Вирусологический метод: вирус выделяют (из крови, отделяемого глотки, из плевральной, цереброспинальной жидкости, мочи) при заражении культуры клеток или мышей-сосунков, хомячков. Вирусы идентифицируют в РСК, РН, РИФ, ИФА; применяют ПЦР. Серологический метод: антитела в сыворотке крови выявляют в РСК, РИФ, ИФА.

Лечение и профилактика. Лечение симптоматическое. В начальном периоде возможно применение лечебных специфических иммунных сывороток или плазмы крови реконвалесцентов. Для специфической профилактики разрабатываются живые вакцины.

17.1.13. Калицивирусы (семейство *Caliciviridae*)

Калицивирусы — семейство РНК-содержащих безоболочечных вирусов с икосаэдрическим капсидом, имеющим чашеобразные углубления (лат. *calix* — чаша). Содержит вирусы *гастроэнтерита группы Норволк* и вирус Саппоро. В соответствии с решениями 7-го Международного Конгресса по таксономии вирусов с 1 января 2002 г. вступила в силу новая классификация, по которой вирус гепатита Е переведен из семейства *Caliciviridae* в группу гепатит Е-подобных вирусов.

Структура. Вирион безоболочечный; имеет икосаэдрический капсид с 32 чашеобразными углублениями (ямками). Форма — сферическая (диаметр 27–38 нм) с неровным профилем. На поверхности вириона различают 10 выступов, сформированных краями чашеобразных углублений. Вирионы имеют один главный полипептид и два минорных белка. Геном — линейная, однонитчатая плюс-РНК. С РНК ковалентно связан небольшой полипептид (VPg).

Репродукция и сборка вирионов — в цитоплазме. Выход вирионов — при лизисе клеток.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Механизм передачи фекально-оральный. Основной путь передачи — водный и пищевой. Инкубационный период 1–2 дня. Вирусы вызывают некротические поражения эпителиоцитов тонкой кишки, боли в животе и диарею.

Микробиологическая диагностика. Применяют метод иммунной электронной микроскопии для обнаружения калицивирусов в кале.

17.1.13.1. Вирус гепатита Е

Вирус гепатита Е (HEV) вызывает гепатит Е — антропонозную инфекцию с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя и преимущественным поражением печени.

HEV ранее относился к семейству *Caliciviridae*. Недавно он переведен из данного семейства в отдельный род *Hepevirus*. Впервые описан М. С. Балаяном и соавт. в 1983 г.

Структура. Вирион безоболочечный, сферический; диаметр 27–34 нм. Геном — однонитчатая плюс-РНК, которая кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу, папаинподобную протеазу и трансмембранный белок, обеспечивающий внедрение вируса в клетку.

Эпидемиология, клиника. Источник инфекции — больные люди. Основной путь передачи — водный. Инкубационный период 2–6 недели. Заболевание сопровождается умеренным поражением печени, интоксикацией и, реже, желтухой. Прогноз благоприятный, кроме беременных, у которых заболевание может привести к летальному исходу.

Иммунитет. После перенесенного заболевания стойкий.

Микробиологическая диагностика: 1) серологический метод — в сыворотке, плазме крови с помощью ИФА определяют: антитела к вирусу (анти-HEV IgM, анти-HEV IgG); 2) молекулярно-генетический метод — применяют ПЦР для определения РНК вируса (HEV RNA) в кале и в сыворотке крови больных в острой фазе инфекции.

Лечение. Симптоматическое. Беременным рекомендуется введение специфического иммуноглобулина.

Профилактика. Неспецифическая профилактика направлена на улучшение санитарно-гигиенических условий и снабжение качественной питьевой водой. Созданы неживые цельновирионные вакцины, разрабатываются рекомбинантные и живые вакцины.

17.2. ДНК-содержащие вирусы

17.2.1. Парвовирусы (семейство *Parvoviridae*)

Семейство *Parvoviridae* (лат. *parvus* — маленький) — семейство мелких безоболочечных ДНК-содержащих

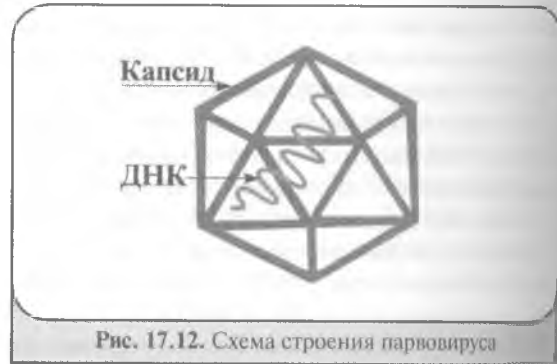


Рис. 17.12. Схема строения парвовируса

вирусов, состоящее из двух подсемейств: *Parvovirinae* и *Densovirinae*. Вирусы, патогенные для позвоночных входят в подсемейство *Parvovirinae*, которое включает 3 рода: *Erythrovirus*, *Parvovirus*, *Dependovirus* (табл. 17.5). Наиболее патогенный представитель — парвовирус человека В19 (возбудитель инфекционной эритемы).

Структура парвовирусов (рис. 17.12). Парвовирусы необычайно маленькие (диаметр 18–26 нм). Вирион безоболочечный Икосаэдрический капсид заключает линейную однонитчатую ДНК. Плюс- или минус-нити ДНК упакованы в отдельные вирионы. Два структурных, один неструктурный и несколько меньших белков закодированы на плюс-нити ДНК.

Репродукция парвовирусов (рис. 17.13). Поглощенный парвовирус доставляет геном в ядро клетки, где однонитчатая ДНК преобразуется в двунитчатую ДНК клеточными факторами и ДНК-полимеразой. Двунитчатая ДНК-версия вирусного генома требуется для транскрипции и репликации. Репликация происходит только в растущих клетках. Вирусные белки синтезируются в цитоплазме и затем возвращаются в ядро, где собираются вирионы. В результате ядро и цитоплазма клетки дегенерируют. Вирусы освобождаются в результате лизиса клетки.

Резистентность. Вирусы устойчивы к действию температуры (остаются инфекционными при воздействии 60 °С в течение часа), детергентов и низком pH среды. Чувствительны к УФ-излучению.

Таблица 17.5. Характеристика семейства *Parvoviridae*

| Род | Представители | Свойства вирусов |
|---------------------|---|--|
| <i>Erythrovirus</i> | Парвовирус человека В19 | Вирион имеет форму икосаэдра (18–26 нм в диаметре). Оболочки нет. Капсид икосаэдрический, содержит три белка и заключает линейную однонитчатую ДНК |
| <i>Parvovirus</i> | Вирус алеутской болезни норки, вирусы грызунов | |
| <i>Dependovirus</i> | Адено-ассоциированный вирус (спутниковый вирус) людей (типы 1–5), обезьян, коров, собак | |

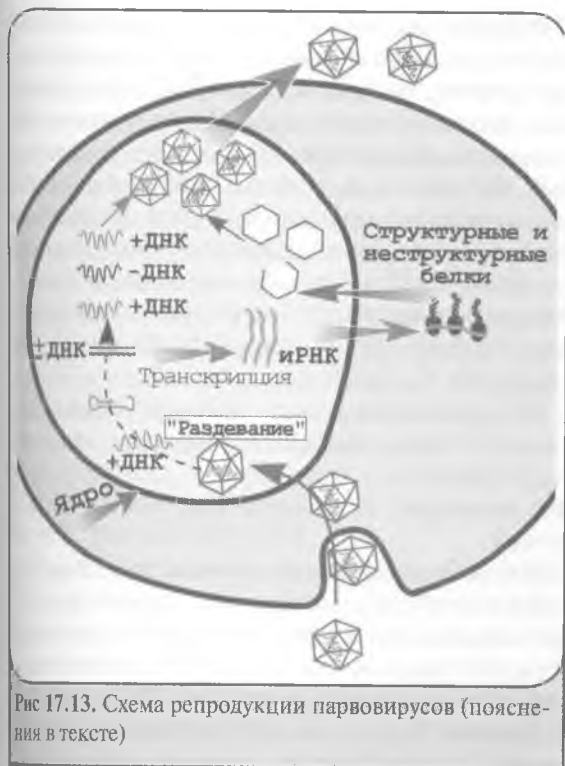


Рис 17.13. Схема репродукции парвовирусов (пояснения в тексте)

Краткая характеристика основных представителей

Парвовирус человека В19 — возбудитель инфекционной эритемы, сопровождающейся эритематозными, пятнисто-папулезными высыпаниями. Инфицирует клетки-предшественники эритроидного ряда, поражает эритробласты и ретикулоциты, вызывает анемию и острый полиартрит. Вирус может оказывать эмбриопатическое действие.

Адено-ассоциированные вирусы не могут самостоятельно размножаться. Часто являются дефектными и репродуцируются в присутствии аденовируса-«помощника».

Микробиологическая диагностика. 1) Вирусологический метод: вирусы выделяют на быстрорастущих культурах клеток и идентифицируют их при электронной микроскопии, РИФ или с помощью молекулярных зондов. 2) Серологический метод: антитела в сыворотке больных выявляют в РСК, РН.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана.

17.2.2. Паповавирусы (семейство Papovaviridae)

Паповавирусы (от папилломавирусы, полиомавирусы и вакуолизирующий обезьяний вирус, SV-40) — семейство *Papovaviridae* безоболочечных ДНК-содержащих вирусов; включает 2 рода: *Papillomavirus*, *Polyomavirus* (табл. 17.6). Недавно семейство *Papovaviridae* разделено на 2 семейства: *Polyomaviridae*, *Papillomaviridae*. В зависимости от клетки хозяина вирусы вызывают литические, латентные и трансформирующие инфекции. Паповавирусы человека вызывают бородавки (папилломы), несколько генотипов ассоциированы с раком у человека (например, цервикальная карцинома). JC- и BK-вирусы человека обуславливают бессимптомную инфекцию, но связаны с болезнью почек и прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией у иммуносупрессированных людей. Вирус обезьян (Simian virus, SV-40) — прототип полиомавирусов, является онкогенным вирусом. См. также разд. 17.7 «Онкогенные вирусы».

Структура и репродукция. Представители семейств *Polyomaviridae*, *Papillomaviridae* — маленькие (диаметр 45–55 нм) безоболочечные вирусы с икосаэдрическим капсидом и двунитевой циркулярной ДНК (рис. 2.146). ДНК вирусов связана с гистоновым клеточным белком. Репродукция и сборка вирионов — в ядре клетки. Вирионы выходят при разрушении клетки.

Таблица 17.6. Характеристика семейства Papovaviridae

| Род | Представители | Свойства вирусов |
|-----------------------|--|---|
| <i>Papillomavirus</i> | Папилломавирусы человека, папилломавирусы кролика (Шоупа) | Вирион оболочки не имеет. Икосаэдрический капсид содержит два-три белка и заключает кольцевидную двунитевую ДНК |
| <i>Polyomavirus</i> | Полиомавирусы человека (вирусы JC и BK), Simian virus (SV-40), полиомавирус мышей, лимфотропный вирус африканских зеленых мартышек и др. | |

17.2.2.1. Папилломавирусы человека

Папилломавирусы человека в соответствии с решениями 7-го Международного Конгресса по таксономии вирусов с 1 января 2002 г. выделены в новое семейство — *Papillomaviridae*. Папилломавирусы человека инфицируют и размножаются в сквамозном эпителии кожи, образуя доброкачественные бородавки, и в слизистых оболочках, вызывая генитальные, оральные и конъюнктивальные папилломы; индуцируют пролиферацию эпителия. Папилломавирусы обладают онкогенным потенциалом (см. 17.7 «Онкогенные вирусы»). Так, папилломавирусы человека (ПВЧ-16, ПВЧ-18) вызывают цервикальные папилломы, дисплазию, рак. ПВЧ-16 — самый распространенный в России высокоонкогенный тип.

Структура. Вирион папилломавируса без оболочки (см. рис. 2.146). Икосаэдрический капсид (диаметр 55 нм) состоит из двух структурных (капсидных) белков, формирующих 72 капсомера. Геном — двунитевая циркулярная ДНК; имеет 8 ранних — early (E1-E8) генов, в зависимости от вируса, и 2 поздних — late (L1, L2), или структурных (капсидных) генов. Различают около 120 генотипов папилломавирусов.

Репродукция. Зависит от клетки хозяина. В культуре клеток вирус не растет. Латентный вирус в форме плазмиды находится в базальном слое клеток, но репродуцируется в дифференцирующихся эпителиальных клетках кожи или слизистой оболочки. Он интенсивно размножается в поверхностных слоях (в чешуйчатых клетках).

После адсорбции, проникновения в базальную клетку, транспортировки вириона к ядру клетки и его депротенинизации происходит транскрипция ранних генов, трансляция ранних белков и начальная репликация ДНК. Затем этот процесс продолжается в вирусинфицированных супрабазальных эпителиальных клетках. По мере завершения дифференциации эпителиальной клетки в ее ядре происходит сборка вирусных компонентов, сборка вирионов и их выход при разрушении ядра. Вирусный геном в трансформируемых клетках обычно интегрирован в геном клетки.

Эпидемиология. Вирусы передаются при микротравмах кожи и слизистых оболочек, а также половым путем. При родах вирусы передаются новорожденным.

Клиника. Более высокая заболеваемость наблюдается в возрасте от 18 до 30 лет.

Папилломавирусная инфекция часто сочетается с инфекциями, передаваемыми половым путем (сифилис, гонорея, хламидиоз, генитальный герпес и др.). Папилломавирусы у женщин вызывают образование генитальных бородавок в области влагалища, матки, наружного отверстия уретры. У мужчин развиваются поражения головки полового члена, крайней плоти, мошонки и ануса. Высокоонкогенными являются следующие типы папилломавирусов: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68.

При респираторном рецидивирующем папилломатозе развивается доброкачественное опухолевидное заболевание — распространение папиллом от полости носа до гортани и легких.

Микробиологическая диагностика. Вирусы содержатся в кератинизированных клетках папиллом, однако не культивируются. Антитела образуются в низком титре. Для диагностики применим метод гибридизации ДНК.

Лечение. Этиотропная терапия не разработана. Лечение направлено на удаление экзофитных папиллом с применением хирургических и деструктивных методов (криодеструкция, лазеротерапия и др.). Возможно саморазрушение генитальных кондилом.

17.2.2.2. Полиомавирусы человека

Полиомавирусы человека в соответствии с решениями 7-го Международного Конгресса по таксономии вирусов с 1 января 2002 г. выделены в новое семейство — *Polyomaviridae*. Полиомавирусы человека широко распространены. Антитела к вирусам имеют около 75 % людей. Полиомавирусы обычно не вызывают болезнь, но иногда могут поражать почки (**ВК-вирус**, выделенный из мочи человека с пересаженной почкой) или глиальные клетки (**КС-вирус**, выделенный из мозга больного прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией) у иммуносупрессированных людей. Вирус обезьян (*Simian virus*, SV-40, или OB-40) — прототип полиомавирусов мартышек и макаков. Для человека непатогенен.

Структура и репродукция. Вирионы полиомавирусов — безоболочечные. Полиомавирусы имеют меньший размер (диаметр 45 нм), чем папилломавирусы, и содержат меньшее количество ДНК. Геном разделен на ранний, поздний и некодирующий регионы.

Среди белков вирусов различают: ранние неструктурные белки, большой Т-антиген и малый t-антиген; поздние (капсидные) белки — VP1, VP2, VP3. Белок VP1 — главный капсидный белок. Он участвует в прикреплении вируса к клетке. При продуктивной инфекции вирус собирается в ядре и выходит при лизисе клетки. Геном полиомавирусов обычно интегрирован в геном трансформируемой клетки.

Микробиологическая диагностика. Вирусы вызывают цитопатический эффект (ЦПЭ), вакуолизируют цитоплазму (ОВ-40) культур клеток почек зеленой мартышки или плода человека, обладают бляшкообразующими свойствами. Они дифференцируются в РН. Антитела образуются в низком титре.

17.2.3. Аденовирусы (семейство *Adenoviridae*)

Семейство *Adenoviridae* включает 2 рода: *Mastadenovirus* — вирусы млекопитающих (80 видов) и *Aviadenovirus* — вирусы птиц (14 видов). Медицинское значение имеет только 1-й род.

Впервые ДНК-геномные аденовирусы выделил в 1953 г. У. Роу и соавт. из тканей миндалин и аденоидов детей. Дальнейшие исследования показали, что из тканей лимфоглоточного кольца Пирогова—Вальдейера и из фекалий здорового человека любого возраста можно выделить аденовирусы.

Структура. Нуклеокапсид представляет собой сферические частицы диаметром 70–90 нм. Капсид состоит из 252 капсомеров, построен по икосаэдрическому типу симметрии. Внешняя оболочка отсутствует. Геном состоит из линейной двунитевой ДНК, которая, связываясь с белками, образует плотную сердцевину вируса.

Аденовирусы разделяют на 7 подгрупп на основе гомологичности их ДНК-геномов. Аденовирусный геном — это линейная двунитевая ДНК, кодирующая структурные и неструктурные полипептиды. Репродуктивный цикл аденовирусов может привести либо к лизису клетки, либо к формированию латентной инфекции (в лимфоидных клетках). Некоторые типы аденовирусов вызывают онкогенную трансформацию (опухоль у грызунов, но не у людей).

Известно около 100 серотипов у аденовирусов млекопитающих, из которых 49 серотипов являются патогенными для человека.

Эпидемиология. Аденовирусные инфекции достаточно распространены среди людей, $\frac{3}{4}$ которых составляют дети до 14 лет. Источником инфекции являются больные люди с острой или латентной аденовирусной инфекцией. Механизмы распространения — респираторный и контактный. «Кишечные» аденовирусы имеют фекально-оральный механизм передачи.

Во внешней среде аденовирусы более устойчивы, чем большинство других вирусов человека. Они выдерживают прогревание до 50 °С; два месяца сохраняют активность при 4 °С, сохраняются в замороженном состоянии и при лиофилизации; устойчивы при рН 5,0–9,0.

Заболееваемость имеет осенне-зимнюю сезонность. Отмечаются вспышки и спорадическая заболеваемость.

Патогенез. После инкубации (4–5 суток), в течение которой вирус размножается в чувствительных тканях, начинает появляться симптоматика.

Первичная репродукция аденовирусов происходит в эпителиальных клетках слизистой оболочки дыхательных путей и кишечника, в конъюнктиве глаза и в лимфоидной ткани (миндалины и мезентериальные узлы).

После появления первых симптомов отмечается короткая вирусемия. По типу пораженных чувствительных клеток различают 3 типа инфекций:

1. Продуктивная инфекция — сопровождается гибелью клетки после выхода из нее следующей популяции вирионов (до 1 млн вирионов). Однако инфекционностью обладают лишь 1–5 % вирионов. Для некоторых хозяев бывает более низкий выход вирионов (низкопродуктивная инфекция), особенно при заражении малочувствительных клеток, либо полное отсутствие выхода вирионов из клетки (абортивная инфекция).

2. Персистирующая инфекция — бывает при замедленной скорости репродукции вируса, что позволяет клетке исправлять повреждения, наносимые вирусом, а тканям — восполнять убыль инфицированных (погибших) клеток за счет деления неинфицированных клеток. Такая форма инфекции протекает хронически, бессимптомно.

3. Трансформирующая инфекция — возникает при заражении новорожденных мышшей, крыс, хомяков аденовирусами человека. У них возникают опухоли. По способности к трансформированию аденовирусы человека можно разделить на 6 групп (В—G); вирусы группы А вызывают опухоли у хомяков. Вирусы подгруппы В (серотипы 3, 7, 11, 14, 21) и подгруппы Е (серотип 4) вызывают острые циклические инфекции; вирусы подгруппы С (серотипы 1, 2, 5, 6) вызывают более легкие поражения, но имеют тенденцию к длительной персистенции в миндалинах, в брыжеечных лимфоузлах.

Клиника аденовирусных инфекций весьма разнообразна (табл. 17.7).

Чаще всего регистрируются ОРВИ, протекающие как гриппоподобные заболевания с осенне-зимней сезонностью. Фарингоконъюнктивиты чаще наблюдают у детей раннего возраста. Максимум заболеваний приходится на теплое время года, так как заболеваемость связана с купанием в естественных и искусственных водоемах.

Эпидемические кератоконъюнктивиты связаны с инфицированием роговицы при травмах или медицинских вмешательствах. Возможны тяжелые воспаления роговицы с потерей зрения.

Нижние отделы дыхательных путей аденовирусной этиологии у маленьких детей нередко напоминает инфекции, вызываемые вирусом парагриппа серотипа 3 и РС-вирусом. Наиболее тяжелые поражения вызывают

аденовирусы серотипов 1, 2, 5. Возможны также тяжелые инфекции (пневмонии) среди организованных коллективов, например детских, в среде военнослужащих, особенно новобранцев. Наиболее тяжело протекает аденовирусная инфекция у больных с иммунодефицитами (энцефалиты).

У детей младшего возраста наблюдаются гастроэнтериты, вызванные аденовирусами серотипа 38. Иногда аденовирусы вторично инфицируют лимфатический аппарат кишечника, что вызывает инвагинацию кишечника с последующей непроходимостью последнего.

К редким аденовирусным инфекциям относятся менингоэнцефалиты и геморрагические циститы (у детей старшего возраста).

Иммунитет. Перенесенное заболевание оставляет непродолжительный типоспецифический иммунитет, который носит клеточно-гуморальный характер.

Микробиологическая диагностика. Возможно выделение аденовирусов на культуре клеток человека (эпителиальных). Исследуемый материал: отделяемое носоглотки, зева, конъюнктивы, фекалии и др. в зависимости от клинической формы болезни. Для идентификации вирусов используют РИФ, ИФА, РИА, РСК, РТГА, РН.

Лечение и профилактика. Лечение симптоматическое. Применяются интерферон, дезоксирибонуклеаза, глазные мази с теброфеном, оксолином и другие противовирусные препараты.

Таблица 17.7. Основные клинические формы инфекций, вызываемые аденовирусами

| Поражения | Серотипы |
|---|----------------------|
| Инфекции нижних отделов дыхательных путей (пневмонии, бронхиты) | 1, 2, 3, 5, 6, 7, 21 |
| Фарингоконъюнктивиты | 1, 2, 3, 4, 6, 7, 14 |
| Острые респираторные инфекции | 3, 4, 7 |
| Гастроэнтериты | 2, 3, 5, 40, 41 |
| Поражения тонкого кишечника | 12 |
| Конъюнктивиты | 2, 3, 5, 7, 19, 21 |
| Эпидемические кератоконъюнктивиты | 8, 19, 37 |
| Геморрагические циститы | 11, 21 |
| Менингоэнцефалиты | 2, 6, 7, 12, 32 |
| Диссеминированные поражения | 5, 34, 35, 39 |
| Цервициты и уретриты | 37 |

Разработаны живые и убитые вакцины, не получившие, однако, практического применения из-за онкогенных свойств аденовирусов.

17.2.4. Гепаднавирусы

(семейство *Hepadnaviridae*, вирус гепатита В)

Гепаднавирусы (семейство *Hepadnaviridae*) относятся к обратно транскрибирующимся ДНК-содержащим вирусам; включают вирус гепатита В (ВГВ).

Гепатит В — антропонозная инфекция, преимущественно с парентеральным механизмом заражения, которая может протекать в форме вирусного носительства, острой и хронической форм и характеризуется поражением печени с возможным развитием острой печеночной недостаточности, хронического гепатита, цирроза печени и первичного рака печени (гепатонеллюлярной карциномы).

Таксономия. ВГВ относится к семейству *Hepadnaviridae* рода *Orthohepadnavirus*. Впервые был обнаружен под электронным микроскопом в 1970 г. Дейном, получив название «частица Дейна».

Морфология ВГВ является сложноорганизованным ДНК-содержащим вирусом сферической формы (диаметр 42–47 нм). Он состоит из сердцевинки, построенной по кубическому типу симметрии, состоящей из 180 белковых частиц, составляющих сердцевинный НВс-антиген, диаметром 28 нм, и липидсодержащей оболочки, содержащей поверхностный НВс-антиген. Внутри сердцевинки находятся ДНК, фермент ДНК-полимераза, обладающая ревертазной активностью, и концевой белок НВе-антиген.

Геном представлен двунитевой ДНК кольцевой формы, с молекулярной массой $1,6 \times 10^6$ Да, у которой плюс-цепь укорочена на $\frac{1}{3}$ длины. Полноценная минус-цепь ковалентно связана с ДНК-полимеразой, которая достраивает плюс-цепь до полноценной структуры. Геном записан на минус-цепи и состоит из 4 генов-транскриптов: Р, С, S, Х, кодирующих структурные белки и полимеразу.

Культуральные свойства. ВГВ не культивируется на куриных эмбрионах, не облада-

ет гемолитической и гемагглютинирующей активностью. ВГВ культивируется только в культуре клеток, полученной из ткани первичного рака печени, в виде персистирующей инфекции, без оказания цитопатического эффекта и с малым накоплением вирионов. К вирусу чувствительны приматы: шимпанзе, горилла, орангутанг, которые используются в качестве экспериментальной модели.

Резистентность. ВГВ отличается высокой устойчивостью к факторам окружающей среды и дезинфицирующим веществам. Температуру -20°C выдерживает более 10 лет. При нагревании до 100°C в течение 5 мин сохраняет инфекционную активность. Термоустойчивость вируса повышается, если он находится в крови, т. е. защищен белками крови. Вирус устойчив к длительному воздействию кислой среды (рН 2,3), УФ-излучению, действию спирта, фенола. Чувствителен к действию формалина, эфира, хлорамина.

Антигенная структура. ВГВ обладает сложной антигенной структурой. В сулеркапсиде вируса находится НВс-антиген, который локализован в гидрофильном слое на поверхности вириона. В формировании НВс-антигена участвуют 3 полипептида в гликозилированной форме:

- preS1 — большой полипептид;
- preS2 — средний полипептид;
- S — малый мажорный полипептид.

Белки оболочки различаются по антигенной специфичности. Существует 4 антигенных фенотипа вируса (ау_г, ау_в, ад_г, ад_в), которые распространены в различных географических зонах.

НВс-антиген обнаруживается в крови не только в составе вирионов, но и в виде самостоятельных фрагментов. Впервые НВс-антиген был обнаружен и описан Б. Блумбергом. 1963 г. в крови австралийских аборигенов, поэтому получил название «австралийского антигена». Присутствие НВс-антигена в крови свидетельствует об инфицированности организма ВГВ.

Сердцевинный НВс-антиген никогда не обнаруживается в свободном состоянии в крови. Его можно обнаружить в зараженных вирусом гепатоцитах.

НВе-антиген также является сердцевинным антигеном, производным НВс-антигена.

Появление HBe-антигена в крови связано с репликацией вируса в гепатоцитах.

HVx-антиген — трансактиватор, является еще одним антигеном ВГВ, накопление которого связывается с развитием первичного рака печени.

Эпидемиология. ВГВ повсеместно распространен среди населения земного шара. Восприимчивость людей к ВГВ высокая. Наиболее восприимчивы дети первого года жизни. Для инфицирования достаточно 0,0001 мл инфицированной крови. Основным резервуаром ВГВ и источником инфекции являются вирусоносители, общее число которых в мире значительно превышает 400 млн. Источником инфекции являются также больные острой и хронической формами гепатита В. Особенно опасны лица с HBe-антигеном в крови. Ежегодно в мире от патологий, связанных с гепатитом В, умирает около 2 млн человек.

Развитие инфекционного процесса наступает при попадании ВГВ в кровь. Заражение происходит при парентеральных манипуляциях (инъекциях, хирургических вмешательствах, трансплантации органов, искусственном оплодотворении, стоматологических и гинекологических манипуляциях, нанесении татуировок), переливании крови и при введении препаратов из крови. Часто заражение происходит также при половых контактах, через микротравмы в быту и, вероятно, трансмиссивно через клопов. ВГВ передается трансплацентарно от матери плоду и при прохождении плода через родовые пути. Риск заражения ребенка от матери — носителя ВГВ составляет 60 %, а в случае свежего заболевания матери — 90 %. ВГВ у всех инфицированных лиц находится во всех биологических жидкостях: крови, слюне, моче, сперме, влагалищном секрете, синовиальной жидкости, цереброспинальной жидкости, грудном молоке. В крови ВГВ появляется за 2–3 месяца до наступления симптомов поражения печени и хранится до 5 лет после клинического выздоровления.

Патогенез и клиника заболевания. Инкубационный период 3–6 месяцев. Инфекционный процесс наступает после проникновения вируса в кровь. ВГВ из крови эндоцитозом проникает в гепатоцит, видимо, при посред-

ничестве сывороточного альбумина, рецепторы к которому обнаружены как на preS2-антигене ВГВ, так и на гепатоцитах. После проникновения вируса в гепатоцит происходит достраивание плюс-нити ДНК ДНК-полимеразой до полноценной структуры, после чего возможно развитие двух типов вирусной инфекции: интегративной и продуктивной.

Интегративная инфекция сопровождается интеграцией кольцевой ДНК вируса в хромосому гепатоцита с образованием провируса. При этом наблюдается синтез HBs-антигена. Клинически это проявляется вирусоносительством, показателем которого является обнаружение в крови HBs-антигена. У носителей ВГВ ДНК вируса может быть обнаружена встроенной, помимо ДНК гепатоцитов, в ДНК клеток поджелудочной железы. Следствием вирусоносительства может быть развитие первичного рака печени, при этом в крови начинает определяться HVx-антиген. Предполагается, что HVx-антиген связывает белок p53, который выполняет функцию супрессора опухолевого роста, регулируя процессы клеточного деления.

В процессе продуктивной инфекции происходит формирование новых вирусных частиц. Клинически это проявляется активным инфекционным процессом в виде острого или хронического гепатита, маркером которых служит появление в крови анти-HBc-IgM антител. Репликация ВГВ протекает в цитоплазме. Процесс репликации у ВГВ сложный. Считается, что на матрице минус-цепи двухцепочечной вирусной ДНК клеточной РНК-полимеразой синтезируются две РНК: мРНК и прегеномная РНК. мРНК транслируется на клеточных рибосомах, в результате чего синтезируется ДНК-полимераза вируса, которая за счет своей ревертазной активности на матрице прегеномной РНК синтезирует полноценную минус-цепь вирусной ДНК, которая в дальнейшем служит матрицей для синтеза $2/3$ плюс-цепи ДНК. Маркером репликации вируса является появление в крови HBe-антигена. Особенностью продуктивной вирусной инфекции при гепатите В является то, что ВГВ сам не обладает цитолитическим эффектом и не разрушает гепатоцит. Повреждение опосредуется CD8 Т-лимфоцитами,

которые взаимодействуют с НВс-антигеном, накопившимся на поверхности зараженных гепатоцитов, и вызывают цитолитическую реакцию.

Клиническая картина характеризуется симптомами поражения печени, в большинстве случаев сопровождается развитием желтухи. Возможны и безжелтушные формы. В 1 % случаев возникают молниеносные формы, обычно со смертельным исходом. Острый гепатит в 5–10 % случаев переходит в хроническое течение, с развитием цирроза и пожизненного носительства ВГВ. Вероятность возникновения пожизненного носительства ВГВ особенно велика в 50–90 % случаев у детей первого года жизни, заразившихся от матерей.

Иммунитет. Гуморальный иммунитет, представленный главным образом антителами к НВс-антигену, которые образуются как в процессе активной вирусной инфекции, так и у носителей, защищает гепатоциты от вируса, элиминируя его из крови.

Клеточный иммунитет, в формировании которого основная роль принадлежит НВс-антигену, освобождает организм от инфицированных гепатоцитов благодаря цитолитической функции Т-киллеров (CD8 Т-лимфоцитов), а выделяемые ими цитокины вызывают угнетение репликации вируса. Переход острой формы в хроническую обеспечивается нарушением Т-клеточного иммунитета, а также дефектами образования α -интерферона и ИЛ-1. Сероконверсия, характеризующаяся исчезновением из крови НВс-антигена и появлением антител к нему, имеет положительное прогностическое значение, так как коррелирует с активацией Т-клеточного (CD4) иммунного ответа. У лиц, с хроническим персистирующим гепатитом В отсутствует выраженный Т-клеточный (CD4) иммунный ответ.

Микробиологическая диагностика. Используют серологический метод и ПЦР. Методами ИФА и РНГА в крови определяют маркеры гепатита В: антигены (НВс и НВе) и антитела (анти-НВс-IgM, анти-НВс-IgG, анти-НВс, анти-НВе-IgM). ПЦР определяют наличие вирусной ДНК в крови и биоптатах печени. Для острого гепатита в преджелтушном и начальной стадии желтушного периода ха-

рактерно обнаружение НВс антигена, НВе антигена и анти-НВс-IgM антитела; в период реконвалесценции — анти-НВс-IgM, анти-НВс-IgG, анти-НВс антител.

Лечение. Использование интерферона, интерфероногенов: виферона, амиксина, ингибитора ДНК-полимеразы, препарата аденин-рибозид.

Профилактика. Важнейшей и наиболее эффективной мерой профилактики гепатита В является исключение попадания вируса при парентеральных манипуляциях и переливаниях крови. Это достигается: а) применением одноразовых шприцев, систем переливания крови, инструментов с последующим, после их использования, регламентированным сбором и уничтожением; б) надежной стерилизацией инструментов в централизованных пунктах; в) проверкой на гепатит В по наличию НВс-антигена в крови доноров крови, органов и тканей, используемых для трансплантации и искусственного обсеменения; г) учетом всех вирусоносителей в диспансерах и лечением больных гепатитом В в специализированных отделениях инфекционных больниц; д) обязательной работой персонала, имеющего дело с кровью, в перчатках. Группу высокого риска заражения гепатитом В составляют хирурги, гинекологи, акушеры, стоматологи, манипуляционные сестры, сотрудники отделений переливания крови, гемодиализа, сотрудники лабораторий и лица, занятые в производстве иммунобиологических препаратов из донорской и плацентарной крови.

Для предотвращения передачи гепатита В половым путем принимают все те же меры, что при ВИЧ-инфекции.

Специфическая профилактика осуществляется вакцинацией рекомбинантной генно-инженерной вакциной, содержащей НВс-антиген. Вакцинации подлежат все новорожденные в первые 24 часа жизни, далее — по календарю прививок — через 1 месяц и в 5–6 месяцев или по схеме: 4–5 месяцев, 5–6 месяцев, 12–13 месяцев жизни ребенка. Среди взрослого населения трехкратной вакцинации подвергаются лица, относящиеся к группе высокого риска заражения гепатитом В. Длительность поствакцинального иммунитета — не менее 7 лет.

17.2.5. Герпесвирусы
(семейство *Herpesviridae*)

Герпесвирусы (семейство *Herpesviridae*) — крупные оболочечные ДНК-содержащие вирусы, вызывающие разнообразные инфекции.

Выделены следующие популяции вирусов герпеса (от греч. *herpes* — ползучий):

1. Вирус простого герпеса — ВПГ тип 1 (*Herpes simplex virus* тип 1 — **HSV-1**), или герпесвирус человека ГВЧ-1

2. Вирус простого герпеса — ВПГ тип 2 (*Herpes simplex virus* тип 2 — **HSV-2**), или герпесвирус человека ГВЧ-2

3. Вирус ветряной оспы — опоясывающего герпеса (*Varicella-zoster virus* — **VZV**), или герпесвирус человека ГВЧ-3.

4. Вирус Эпштейна—Барр — ВЭБ (*Epstein—Barr virus*, **EBV**), или герпесвирус человека ГВЧ-4.

5. Цитомегаловирус — ЦМВ, или герпесвирус человека ГВЧ-5.

6. Герпесвирус человека тип 6 — ГВЧ-6 (*Human herpesvirus* — **HHV6**), или герпес вирус человека ГВЧ-6.

7. Герпесвирус человека тип 7 — ГВЧ-7 (*Human herpesvirus* — **HHV7**).

8. Герпесвирус человека тип 8 — ГВЧ-8 (*Human herpesvirus* — **HHV8**).

Семейство *Herpesviridae* включает 3 подсемейства, отличающихся по структуре генома, тканевому тропизму, цитопатологии и локализации латентной инфекции (табл. 17.8):

1. Подсемейство *Alphaherpesvirinae* — вирусы герпеса (**ВПГ-1, ВПГ-2, VZV**). Для этой группы характерен быстрый рост. Вирусы размножаются в эпителиальных клетках, вызывая цитолитическое действие. В нейронах вызывают латентную, персистирующую инфекцию.

Таблица 17.8. Характеристика герпесвирусов человека (семейство *Herpesviridae*)

| Подсемейство | Название вируса (общепринятое и официальное) | | Цитопатология | Латентная инфекция | Заболевание |
|----------------------------|--|-------|-------------------------------|--------------------|---|
| <i>Alphaherpesvirinae*</i> | <i>Herpes simplex</i> тип 1 (Вирус простого герпеса) | ГВЧ-1 | Цитолиз эпителия | В нейронах | Оральный герпес, энцефалит |
| | <i>Herpes simplex</i> тип 2 (Вирус простого герпеса) | ГВЧ-2 | | | Генитальный герпес, менингоэнцефалит |
| | <i>Varicella-zoster virus</i> (Вирус ветряной оспы — опоясывающего герпеса) | ГВЧ-3 | | | Ветряная оспа, опоясывающий герпес (лишай) |
| <i>Betaherpesvirinae</i> | Цитомегаловирус | ГВЧ-5 | Лимфопролиферативное действие | В Т-клетках | Цитомегалия, рак предстательной железы? |
| | <i>Herpes lymphotropic virus</i> | ГВЧ-6 | | | Экзантема младенцев (до 2 лет), синдром хронической усталости |
| | Герпесвирус человека типа 7 | ГВЧ-7 | | | |
| <i>Gamaherpesvirinae</i> | Вирус Эпштейна—Барр | ГВЧ-4 | Лимфопролиферативное действие | В лимф. В-клетках | Инфекционный мононуклеоз, лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома |
| | Герпесвирус человека типа 8 | ГВЧ-8 | | | В лимф. ткани |

* Подсемейство включает также **В вирус обезьян** Старого Света, вызывающий летальное неврологическое поражение.

ГЛАВА 17. Частная вирусология

II. Подсемейство *Betaherpesvirinae* — вирусы герпеса (ЦМВ, ГВЧ-6, ГВЧ-7). Для этой группы характерен медленный рост (латентная инфекция) в клетках эпителия слюнных желез, в glandax, почках, лимфоцитах. Вирусы оказывают цитомегалическое действие (ЦМВ) и лимфопролиферативное действие

III. Подсемейство *Gammaherpesvirinae*. Вирусы (ВЭБ) растут в лимфобластоидных клетках, оказывают лимфопролиферативное действие. Вызывают латентную инфекцию в лимфоидной ткани, лимфоцитах, эпителиальных клетках рта и глотки, слюнных желез. ВЭБ вызывает размножение В-лимфоцитов и персистирует в них.

Морфология. Вирион герпесвируса (см. рис. 2.15a и 17.15) имеет овальную форму, диаметр 150–200 нм. В центральной части вириона находится ДНК, окруженная икосаэдрическим **капсидом**, состоящим из 162 капсомеров. Снаружи вирус окружает **оболочка с гликопротеиновыми шипами**, сформированными из внутреннего слоя ядерной мембраны клетки. Пространство между капсидом и оболочкой называется **тегумент** (содержит вирусные белки и ферменты, необходимые для инициации

репликации). **Геном** — двуниевая линейная ДНК. Она состоит: у ВПГ и ЦМВ — из двух фрагментов (короткого S и длинного L), каждый из которых у ВПГ заключен между двумя наборами инвертированных повторов, позволяющих геному рекомбинировать с образованием 4 изомеров; у VZV — также из двух фрагментов (короткого S и длинного L), но содержит один набор инвертированных повторов, поэтому формируются две изомерные формы.

Репродукция (рис. 17.14). После прикрепления к рецепторам клетки оболочка вириона сливается с клеточной мембраной (1, 2). Освободившийся нуклеокапсид (3) доставляет в ядро клетки ДНК вируса. Далее происходит транскрипция части вирусного генома (с помощью клеточной ДНК — зависимой РНК-полимеразы); образовавшиеся иРНК (4) проникают в цитоплазму где происходит синтез (трансляция) самых ранних **альфа-белков** (I), обладающих регулирующей активностью. Затем синтезируются ранние **бета-белки** (II) — ферменты, включая ДНК-зависимую ДНК-полимеразу и тимидинкиназу, участвующие в репликации геномной ДНК вируса. Поздние **гамма-белки** (III) являются структурными белками, включая капсид и гликопротеины (A, B, C, D, E, F, G, X) ви-

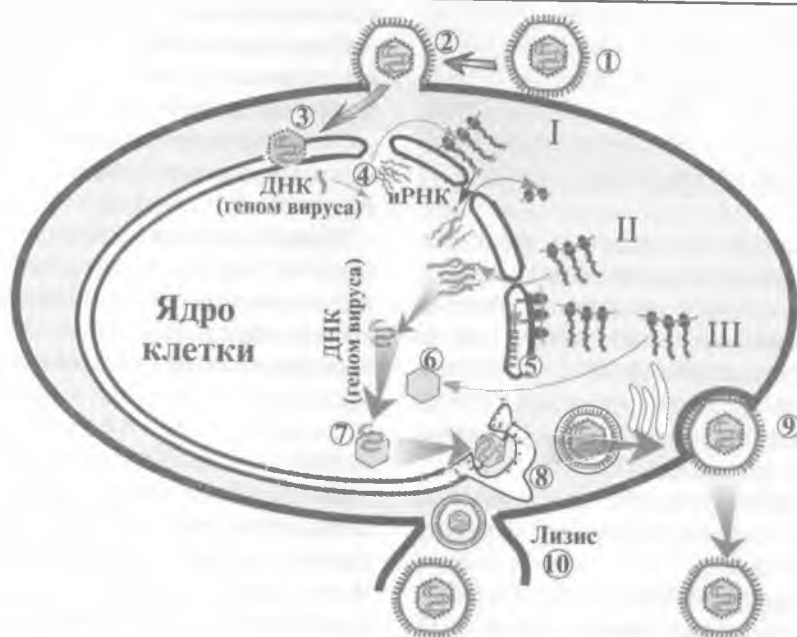


Рис. 17.14. Схема репродукции герпесвирусов

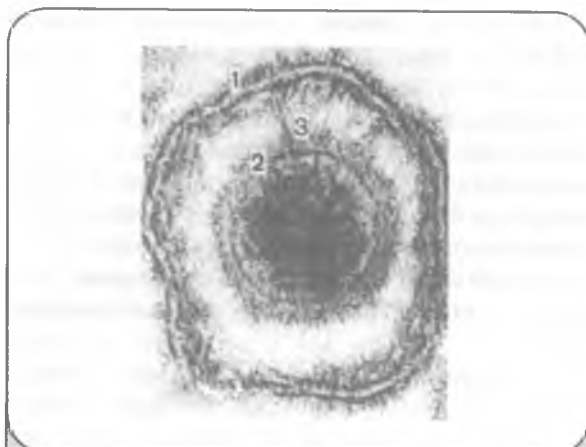


Рис. 17.15. Электронограмма ультратонкого среза ВПГ: 1 — липопротеиновая оболочка; 2 — капсид; 3 — тегумент (по А. Ф. Быковскому)

руса. Гликопротеины диффузно прилегают к ядерной оболочке (5). Формирующийся капсид (6) заполняется вирусной ДНК и почкуется через модифицированные мембраны ядерной оболочки (8). Перемещаясь через аппарат Гольджи, вирионы транспортируются через цитоплазму и выходят из клетки путем экзоцитоза (9) или лизиса клетки (10).

17.2.5.1. Вирусы простого герпеса

ВПГ вызывает герпетическую инфекцию, или простой герпес, характеризующийся везикулярными высыпаниями на коже, слизистых оболочках, поражением ЦНС и внутренних органов, а также пожизненным носительством (*персистенцией*) и рецидивами болезни.

Вирус простого герпеса включает два типа: **ВПГ-1** и **ВПГ-2**; распространен повсеместно, поражает большую часть населения земли и существует в организме в латентной форме до момента реактивации. **ВПГ-1** поражает преимущественно область рта, глаз, ЦНС; **ВПГ-2** — гениталии, за что и получил название генитального штамма.

Таксономия. ВПГ относится к семейству *Herpesviridae* роду *Simplexvirus*. Открыт У. Грютером в 1912 г.

Структура. Структура ВПГ (рис. 17.15) сходна с другими герпесвирусами. Геном ВПГ кодирует около 80 белков, необходимых для репродукции вируса и взаимодействия пос-

леднего с клетками организма и иммунным ответом. ВПГ кодирует 11 гликопротеинов, являющихся прикрепительными белками (gB, gC, gD, gH), белками слияния (gB), структурными белками, иммунными белками «уклонения» (gC, gE, gI) и др. Например, С3-компонент комплемента связывается с gC, а Fc-фрагмент IgG — с gE/gI-комплексом, маскируя вирус и вирусинфицированные клетки. Существуют гликопротеины, имеющие общие антигенные детерминанты (gB и gD) для ВПГ-1 и ВПГ-2.

Репродукция. ВПГ может инфицировать большинство типов клеток человека и клеток других видов. Вирус вызывает литические инфекции фибробластов, эпителиальных клеток и латентные инфекции нейронов.

Культивирование. Для культивирования вируса применяют куриный эмбрион (на хорион-аллантаической оболочке образуются мелкие плотные бляшки) и культуру клеток, на которой он вызывает цитопатический эффект в виде появления гигантских многоядерных клеток с внутриядерными включениями. Вирус патогенен для многих животных. При экспериментальном заражении кроликов в роговицу глаза ВПГ вызывает кератит, при введении в мозг — энцефалит. В естественных условиях животные не болеют.

Резистентность. Вирус нестойк, погибает через несколько часов на поверхности предметов обихода, чувствителен к солнечным и УФ-лучам, жирорастворителям, детергентам. Сохраняется в течение месяца при температуре 4 °С.

Эпидемиология. Заболевания герпесом широко распространены в виде спорадических случаев и небольших вспышек в детских коллективах, больницах. У 80–90 % взрослых людей обнаруживаются антитела к ВПГ. Источник инфекции — больной или вирусоноситель.

ВПГ-1 и ВПГ-2 передаются преимущественно контактными путем (с везикулярной жидкостью, при поцелуях — со слюной, половых контактах — с влагалищными секретами), через предметы обихода, реже — воздушно-капельным путем, через плаценту, при рождении ребенка. Возможна реактивация вируса при снижении иммунитета (рецидивирующий

герпес). Начальное инфицирование ВПГ-2 происходит в жизни позже, чем инфицирование ВПГ-1, и коррелирует с возрастанием половой активности.

Оба типа вирусов могут вызывать оральный и генитальный герпес. ВПГ-1 чаще поражает слизистые оболочки ротовой полости и глотки, вызывает энцефалиты, а ВПГ-2 — гениталии (генитальный герпес).

Патогенез. Различают первичный и рецидивирующий простой герпес. Чаще вирус вызывает бессимптомную или латентную инфекцию.

Первичная инфекция. Везикула — типичное проявление простого герпеса с дегенерацией эпителиальных клеток. Основу везикулы составляют многоядерные клетки (иногда называемые Тцанк-клетками, выявляемые в препаратах, окрашенных по Гимзе). Пораженные ядра клеток содержат эозинофильные включения (тельца Каудри). Верхушка везикулы через некоторое время вскрывается, и формируется язвочка, которая вскоре покрывается струпом с образованием корочки с последующим заживлением.

Минув входные ворота эпителия, вирусы проходят через чувствительные нервные окончания с дальнейшим передвижением нуклеокапсидов вдоль аксона к телу нейрона в чувствительных ганглиях. Репродукция вируса в нейроне заканчивается его гибелью. Некоторые вирусы герпеса, достигая ганглионарных клеток, способны приводить к развитию латентной инфекции, при которой нейроны не гибнут, но содержат в себе вирусный геном. Большинство людей (70–90 %) являются пожизненными носителями вируса, который сохраняется в ганглиях, вызывая в нейронах латентную персистирующую инфекцию.

Латентная инфекция чувствительных нейронов является характерной особенностью нейротропных герпесвирусов ВПГ и VZV. Наиболее изучена латентная инфекция, вызванная ВПГ-1. В латентно инфицированных нейронах около 1 % клеток в пораженном ганглии несет вирусный геном. При этом вирусная ДНК существует в виде свободных циркулярных эписом (около 20 копий в клет-

ке). ВПГ-1 обнаруживается в тригеминальных и других ганглиях, а ВПГ-2 — в сакральных ганглиях.

Реактивация герпесвирусов и обострение (рецидив) вызывается различными факторами (переохлаждение, лихорадка, травма, стресс, сопутствующие заболевания, действие УФ и др.), снижающими иммунитет. Интервал между действием этих факторов и проявлением клинических симптомов составляет 2–5 дней. Предполагают, что ДНК герпесвирусов проходит по аксону обратно к нервному окончанию, где и может происходить развитие инфекции с репродукцией вируса в эпителиальных клетках.

Клиника. Инкубационный период 2–12 дней. Болезнь начинается с возникновения на пораженных участках зуда, появления отека и пузырьков, заполненных жидкостью. В месте образования везикулы пациенты ощущают сильную, жгучую боль. После подсыхания пузырьков и отторжения корочек рубцы не образуются. ВПГ поражает кожу (везикулы, экзема), слизистые оболочки рта, глотки (стоматит) и кишечника, печень (гепатиты), глаза (кератит и др.) и ЦНС (энцефалит, менингоэнцефалит). Рецидивирующий герпес обусловлен реактивацией вируса, сохранившегося в ганглиях. Он характеризуется повторными высыпаниями и поражением органов и тканей.

Генитальная инфекция является результатом аутоинокуляции из других пораженных участков тела; но наиболее часто встречающийся путь заражения — половой, включая урогенитальные контакты. Поражение проявляется в образовании везикулы, которая довольно быстро изъязвляется. Чаще поражаются у мужчин головка и тело полового члена, а у женщин — половые губы и вагина, возможно также распространение процесса и на шейку матки. Считают, что ВПГ-2 может вызвать рак шейки матки.

Вирус простого герпеса, в основном ВПГ-2, проникает во время прохождения новорожденного через родовые пути матери, вызывая *неонатальный герпес (герпес новорожденных)*. Неонатальный герпес обнаруживается на 6-й день после родов, т. е. с момента заражения. Вирус диссеминирует во внутренние органы с развитием генерализованного сепсиса.

Основной мерой предупреждения заболевания неонатальным герпесом является выявление генитального герпеса у матери и его лечение; кесарево сечение также снижает риск заражения ребенка.

Иммунитет. Основным иммунитет при простом герпесе — клеточный. Развивается ГЗТ. НК-клетки играют важную роль в ранней противомикробной защите. Организм пораженного реагирует на гликопротеины вируса, продуцируя цитотоксические Т-лимфоциты (CD8), а также Т-хелперы (CD4), активирующие В-лимфоциты с последующей продукцией специфических антител.

Гликопротеины вызывают образование вируснейтрализующих антител. Вируснейтрализующие антитела подавляют межклеточное распространение вирусов, но не препятствуют персистенции вирусов в клетках и возникновению рецидивов. Новорожденные «получают» антитела матери через плаценту, что облегчает последствия неонатального герпеса.

Микробиологическая диагностика. Для диагностики используют содержимое герпетических везикул, слюну, соскобы с роговой оболочки глаз, кровь, спинномозговую жидкость и мозг при летальном исходе. В окрашенных мазках наблюдают гигантские многоядерные клетки (синцитий), клетки с увеличенной цитоплазмой и внутриядерными включениями Каудри. Для выделения вируса исследуемым материалом заражают клетки HeLa, Herp-2, человеческие эмбриональные фибробласты. Рост в культуре клеток идет довольно быстро, и через 24 ч становится видимым ЦПЭ. Он проявляется округлением клеток с последующим прогрессирующим поражением всей культуры клеток. Заражают также куриные эмбрионы или мышей-сосунков, у которых после внутримозгового заражения развивается энцефалит. Выделенный вирус идентифицируют в РИФ и ИФА с использованием моноклональных антител.

Серодиагностику проводят с помощью РСК, РИФ, ИФА и реакции нейтрализации по нарастанию титра антител больного. ИБ также способен выявлять типоспецифические антитела.

При экспресс-диагностике в мазках-отпечатках из высыпаний, окрашенных по Ро-

мановскому—Гимзе, выявляются гигантские многоядерные клетки с внутриядерными включениями. Для идентификации вируса используют также амплификацию генов вирусной ДНК в реакции ПЦР.

Лечение. Для лечения применяют препараты интерферона, индукторы интерферона и противовирусные химиотерапевтические препараты (ацикловир, фамцикловир, валацикловир, идоксуридин, видарабин, тебренфовую и флореналевую мазь и др.).

Профилактика. Специфическая профилактика рецидивирующего герпеса осуществляется в период ремиссии многократным введением инактивированной культуральной герпетической вакцины.

17.2.5.2. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса

Вирус вызывает две болезни. **Ветряная оспа** (*varicella*) встречается главным образом у детей, протекает с лихорадкой, интоксикацией, сыпью в виде везикул с прозрачным содержимым. **Опоясывающий герпес** (*herpes zoster*), или опоясывающий лишай, — эндогенная инфекция взрослых, перенесших в детстве ветряную оспу. Болезнь проявляется в виде везикулезной сыпи по ходу нервов.

Таксономия. Вирус получил название *Varicella-zoster virus (VZV)*, или вирус герпеса человека типа 3. Открыт Б. Э. Араго в 1911 г., относится к семейству *Herpesviridae* рода *Varicellovirus*.

Структура. Строение VZV сходно со строением других герпесвирусов. Однако он имеет самый малый геном среди герпесвирусов.

Культивирование. VZV размножается в человеческих диплоидных фибробластах с образованием внутриядерных включений. Вызывает цитопатический эффект, образует гигантские многоядерные клетки-симпласты. Вирус размножается более медленно и поражает меньшее количество типов клеток, чем ВПГ. Для животных непатогенен.

Резистентность. Вирус неустойчив в окружающей среде, чувствителен к жирорастворителям и дезинфицирующим средствам; при 60°C гибнет в течение 30 мин.

Эпидемиология. Ветряная оспа — антропоноз. Восприимчивость высокая. Чаще болеют дети в возрасте от 2 мес. до 10 лет. Источник инфекции — больной ветряной оспой или вирусоноситель. Период заразительности длится с конца инкубационного периода и в течение 5 дней с момента появления сыпи; больной опоясывающим герпесом иногда бывает заразен. Вирус передается воздушно-капельным путем, через контакт с везикулами кожи; возможна трансплантационная передача. Вирус длительно персистирует в клетках человека, обуславливая латентную инфекцию.

Опоясывающим герпесом болеют в основном взрослые; болезнь развивается в результате реактивации вируса, персистирующего в организме, т. е. вируса, сохранившегося после перенесенной в детстве ветряной оспы.

Патогенез. Возбудитель проникает через слизистые оболочки верхних дыхательных путей и током крови заносится в различные органы и ткани, но, главным образом, в эпителий кожи (дерматотропное действие) и слизистых оболочек.

После первичной инфекции вирус становится латентным в заднем корешке или ганглии черепно-мозгового нерва.

Клиника. Инкубационный период при ветряной оспе составляет 11–23 дня. Болезнь характеризуется лихорадкой, появлением папуловезикулярной сыпи на коже туловища, шеи, лица и конечностей, иногда половых органов и полости рта. Сыпь похожа на высыпания при натуральной оспе (отсюда произошло название болезни).

Образовавшиеся круглые пузырьки через 1–3 дня лопаются и подсыхают. После отпадения корок рубцы не остаются (в отличие от натуральной оспы). У детей в возрасте от 2 мес. до 1 года и у взрослых ветряная оспа протекает тяжело, с развитием иммунодефицита; возможны пневмонии, гепатиты, энцефалиты, отиты, пиодермии и другие осложнения. Летальность при ветряной оспе составляет 0,01–0,05 %.

Опоясывающий герпес может развиваться в результате реактивации вируса, длительно сохраняющегося в нервных клетках спинного мозга. Этому способствуют различные заболевания, переохлаждение и травмы, снижающие иммунитет.

При инфицировании вирус, проникая через кожу и слизистые оболочки, поражает спинальные и церебральные ганглии, что сопровождается болевым синдромом, характерным для опоясывающего герпеса. Появляется сыпь в виде обруча вокруг туловища по ходу пораженных (чаще межреберных) нервов; возможны высыпания по ходу тройничного нерва, на ушной раковине, а также гангренозная (некротическая) форма поражения.

Иммунитет. Заболевание «оставляет» пожизненный клеточно-гуморальный иммунитет. Однако это не мешает длительному сохранению вируса в организме и возникновению рецидивов опоясывающего герпеса.

Микробиологическая диагностика. Для исследования отбирают содержимое высыпаний, отделяемое носоглотки и кровь. Вирус можно выявить в мазках-отпечатках, окрашенных по Романовскому—Гимзе, по образованию синцития и внутриядерных включений (*тельца Липшютца*). Вирус плохо реплицируется в культурах клеток. Культивирование в человеческих диплоидных фибробластах возможно после длительного инкубационного периода. Идентифицируется вирус в РИФ, РСК, ИФА и реакции нейтрализации. При серодиагностике применяют ИФА, РСК и реакцию нейтрализации.

Лечение. Для лечения можно применять ацикловир, видарабин, а также интерфероны, интерфероногены и другие иммуномодуляторы. Элементы сыпи смазывают 1–2% водным раствором перманганата калия или 1–2% водным или спиртовым раствором бриллиантового зеленого.

Специфическая профилактика. Разработана живая вакцина для VZV. В очагах ветряной оспы ослабленным детям можно вводить препараты иммуноглобулина.

17.2.5.3. Вирус Эпштейна—Барр

ВЭБ вызывает *лимфопролиферативные болезни*, а также *инфекционный мононуклеоз*, характеризующийся интоксикацией, поражением небных и глоточных миндалин, увеличением лимфатических узлов, печени, селезенки, изменениями в крови.

Таксономия. ВЭБ (вирус герпеса человека типа 4) относится к семейству *Herpesviridae* роду *Lymphocryptovirus*. Вирионы вируса были обнаружены при электронной микроскопии биоптата лимфомы Беркитта.

Структура. ВЭБ имеет ядерные антигены — nuclear antigens (EBNAs) 1, 2, 3A, 3B, 3C; латентные протеины (LPs); латентные мембранные протеины (LMPs) 1, 2 и две маленькие Эпштейна—Барр-кодируемые РНК (EBER) молекулы — EBER1 и EBER2. EBNAs и LPs являются ДНК-связывающими белками, считающимися основными для развития инфекции (EBNA-1), иммортализации (EBNA-2) и других целей. LMPs — мембранные белки с онкогеноподобным действием.

Эпидемиология. Заболевание малоконтагиозно. Источником инфекции являются больной человек или вирусоноситель. Вирус передается воздушно-капельным путем, при контакте через слюну. Антитела к вирусу имеются у большинства населения.

Патогенез и клиника. ВЭБ вызывает размножение В-лимфоцитов и персистирует в них; обуславливает латентную инфекцию в лимфоидной ткани, эпителиальных клетках рта и глотки, слюнных желез. ВЭБ вызывает бессимптомную, хроническую или острую инфекцию, а также лимфопролиферативные болезни.

1. **Инфекционный мононуклеоз** характеризуется высокой лихорадкой, недомоганием, фарингитом, лимфаденопатией, спленомегалией.

2. **Хроническая инфекция** может развиваться как циклическая рекуррентная болезнь. Сопровождается низкой лихорадкой, повышенной утомляемостью, головной болью и воспалением горла.

3. **Лимфопролиферативные болезни** также могут индуцироваться ВЭБ. Вирус является митогеном для В-лимфоцитов. Способствует развитию опухолей. Люди с дефектом Т-клеточного иммунитета вместо инфекционного мононуклеоза могут страдать поликлональной лейкемиеподобной В-клеточной пролиферативной болезнью и лимфомой. Возможно также развитие *X-связанной лимфопролиферативной болезни*. Реципиенты трансплантата после иммуносупрессивной терапии являются группой риска для *посттрансплантационной лимфопролиферативной болезни* вместо развития

инфекционного мононуклеоза после контакта с вирусом или реактивации латентного вируса. Подобные болезни развиваются у больных с ВИЧ-инфекцией. *Африканская лимфома Беркитта (эндемическая лимфома)* ассоциирована с малярией в Африке. Большой процент с лимфомой Ходжкина также содержат последовательности ДНК ВЭБ. Опухолевые клетки *носоглоточной карциномы*, эндемичной на Востоке, также содержат последовательности ДНК ВЭБ. В отличие от лимфомы Беркитта, в которой опухолевые клетки получены из лимфоцитов, опухолевые клетки *носоглоточной карциномы* имеют эпителиальное начало.

4. **Волосистая оральная лейкоплакия** — характерное для СПИДа поражение слизистой оболочки рта

Иммунитет. Гуморальный, клеточный, пожизненный. Повторные заболевания не описаны.

Микробиологическая диагностика. Инфекционный мононуклеоз документируется обнаружением атипичных лимфоцитов, лимфоцитозом (моноциты составляют 60–70 % белых кровяных клеток с 30 % атипичных лимфоцитов). Применяют также вспомогательные реакции (агглютинация эритроцитов барана сывороткой крови больного и др.).

Недавняя ВЭБ-инфекция выявляется по различным показателям: появление IgM-антител к вирусному капсидному антигену (VCA); повышение титра EBNA и др.

Лечение и специфическая **профилактика** не разработаны.

17.2.5.4. Вирус цитомегалии

Вирус цитомегалии, или цитомегаловирус — ЦМВ (от греч. *cytos* — клетка, *megas* — большой), вызывает инфекцию человека, характеризующуюся поражением многих органов и тканей и протекающую разнообразно — от пожизненной латентной инфекции до тяжелой острой генерализованной формы с летальным исходом.

Таксономия. ЦМВ (ВГЧ-5) содержит ДНК, относится к семейству *Herpesviridae* роду *Cytomegalovirus*. Впервые выделен К. Смитом в 1956 г.

Структура и культивирование. ЦМВ имеет самый большой геном среди герпесвиру-

сов. Реплицируется только в клетках человека (фибробластах, эпителиоцитах и макрофагах). Вызывает латентную инфекцию в мононуклеарных лимфоцитах, клетках стромы костного мозга и других клетках.

Вирус культивируется в культуре фибробластов и в диплоидных клетках легких эмбриона человека с образованием гигантских (цитомегалических) клеток с внутриядерными включениями. Патогенен для обезьян.

Резистентность. Вирус неустойчив, термолабилен, чувствителен к дезинфектантам и жирорастворителям.

Эпидемиология. ЦМВ-инфекция широко распространена. Более 60 % населения имеют антитела против цитомегаловируса. Острая инфекция проявляется у 95 % лиц со СПИДом. Механизмы передачи вируса — контактно-бытовой, респираторный, иногда фекально-оральный. Источник инфекции — человек, больной острой или латентной формой. Заражение происходит через кровь, слюну, мочу, сперму, грудное молоко и др. Входными воротами инфекции служат кожа, слизистые оболочки, дыхательные пути и плацента (врожденная цитомегалия). Инфицирование может быть при половых контактах, переливании крови и трансплантации органов.

Патогенез и клиника. Болезнь развивается в результате первичного инфицирования цитомегаловирусом, но чаще формируется латентная инфекция, сохраняющаяся на протяжении всей жизни. Реактивация вируса нередко происходит у беременных, у лиц после переливания крови, трансплантации органов и при других состояниях, сопровождающихся снижением иммунитета. ЦМВ вызывает разнообразные патологические проявления: латентную инфекцию в почках и слюнных железах, иммунодефицит, нарушение зрения, слуха и умственной деятельности, пневмонию. ЦМВ-инфекция может осложнять течение ряда сопутствующих заболеваний.

Наибольшую опасность представляет **врожденная ЦМВ-инфекция**. Около 1 % новорожденных инфицируются через плаценту. У них развиваются гепатоспленомегалия, желтуха, кахексия, микроцефалия и другие пороки, приводящие к смерти.

Вирус потенциально может вызывать опухоли (аденокарциному предстательной железы и др.). Инкубационный период не установлен, так как инфекция чаще протекает в латентной форме.

Иммунитет. Формируется гуморальный и клеточный иммунитет, однако вирусонейтрализующие антитела не препятствуют сохранению вируса в организме.

Микробиологическая диагностика. Исследуют кровь, грудное молоко, мочу, слюну, отделяемое цервикального канала и спинномозговую жидкость. Инфицированные клетки в организме человека характеризуются увеличенными размерами (25–35 мкм) и внутриядерными включениями в виде «глаза совы» (окраска гематоксилин-эозин). Вирус выделяют в культуре клеток. Идентификацию проводят с помощью ПЦР, а также в РИФ и ИФА с использованием моноклональных антител. Антитела в сыворотке крови больных определяют в ИФА, РСК, реакции нейтрализации и др.

Лечение. Для лечения применяют аналоги нуклеозидов (ацикловир, ганцикловир, фоскарнет и др.), иммуномодуляторы (интерферон, левамизол и др.) и индукторы интерферона (полудан и др.), а также нормальный иммуноглобулин человека.

Профилактика. Специфические методы профилактики отсутствуют. Необходимо оберегать лиц с ослабленным иммунитетом от контактов с инфицированными лицами, детьми с врожденной цитомегалией, которые могут до 5 лет выделять вирус в окружающую среду.

При рождении ребенка с врожденной цитомегалией повторная беременность может быть рекомендована не ранее чем через два года (срок персистенции вируса).

17.2.5.5. Герпесвирус человека типов 6, 7 и 8

ГВЧ-6 и ГВЧ-7 являются лимфотропными вирусами, они инфицируют Т-лимфоциты. **ГВЧ-6 и ГВЧ-7** относятся к роду *Roseolovirus*. **ГВЧ-6** был выделен в 1986 г. группой Р. Галло из лимфоцитов крови больных лимфопролиферативными заболеваниями и СПИДом. Это распространенный лимфотропный вирус, как ВЭБ и ЦМВ. Предполагают, что **ГВЧ-6** может

постоянно инфицировать слюнные железы и выделяться из них. Очевидно вирус становится латентным после первичного инфицирования и может реактивироваться после иммуносупрессии. Известны две разновидности — ГВЧ-6А и ГВЧ-6В.

ГВЧ-6 вызывает: 1) внезапную экзантему у младенцев (0,5–3 лет жизни) с внезапным подъемом температуры (40 °С) и таким же спадом через три дня на фоне сыпи; 2) синдром хронической усталости с субфебрильной температурой, потливостью, артралгией и слабостью. Возможна лимфаденопатия.

ГВЧ-7 был выделен в 1990 г. Френкелем из Т-лимфоцитов здоровых людей, а затем его выделяли от больных СПИДом, синдромом хронической усталости.

ГВЧ-8. В 1994 г. при изучении ткани от эпидемических форм саркомы Капоши у больных СПИДом были идентифицированы ДНК-последовательности нового герпесвируса человека, получившего название **ГВЧ-8**, или герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши. **ГВЧ-8** относится к роду *Rhadinovirus*. Лабораторная диагностика — ПЦР.

Микробиологическая диагностика. ГВЧ-6 или ГВЧ-7 выделяют при ко-культивировании лимфоцитов периферийной крови с митоген-активированными лимфоцитами. В культуре образуются большие многоядерные клетки. Вирионы можно выделить из слюны.

В диагностике, в том числе **ГВЧ-8**, определяют маркерные гены возбудителя в ПЦР.

17.2.6. Поксвирусы (семейство *Poxviridae*)

Поксвирусы (*Poxviridae* от англ. *pox* — оспа + вирусы) — семейство ДНК-содержащих крупных вирусов, включающие два подсемейства: *Chordopoxvirinae* — вирусы оспы позвоночных (табл. 17.9); *Entomopoxvirinae* — вирусы оспы насекомых. Семейство содержит вирусы натуральной оспы, вакцины, оспы обезьян и др.

17.2.6.1. Вирус натуральной оспы и другие вирусы

Натуральная оспа — особо опасная высококонтагиозная инфекция, характеризующаяся тяжелым течением, лихорадкой и обильной пустулезно-папулезной сыпью на коже и слизистых оболочках. Болезнь до ликвидации на земном шаре (в 1977 г.) относилась к карантинным инфекциям.

Таксономия. Вирус натуральной оспы — ДНК-содержащий, относится к семейству *Poxviridae* (от англ. *pox* — язва) роду *Orthopoxvirus*.

Морфология и антигенная структура. Вирионы поксвирусов (рис. 17.16) имеют кирпичеобразную или овоидную форму (230 × 400 нм). Вирус натуральной оспы — один из самых крупных вирусов, впервые обнаружен

Таблица 17.9. Характеристика подсемейства *Chordopoxvirinae*

| Род | Представители | Свойства вирусов |
|-------------------------|--|--|
| <i>Orthopoxvirus</i> | Вирусы вакцины, натуральной оспы, оспы коров, оспы обезьян, верблюдов, мышей и др. | Поксвирусы — самые крупные вирусы: имеют овоидную форму (230 × 400 нм); состоят из оболочки, наружной мембраны и сердцевины (ДНК и белки), расположенной между боковыми телами. Геном вириона — двунитевая линейная ДНК. Репродукция происходит в цитоплазме (включения Гварниери). Вирионы почкуются через плазматическую мембрану и выходят при лизисе клетки |
| <i>Parapoxvirus</i> | Вирусы Орф, папулезного стоматита коров, паравакцины (псевдокоровьей оспы) и др. | |
| <i>Avipoxvirus</i> | Вирус оспы кур | |
| <i>Carpipoxvirus</i> | Вирусы оспы овец, оспы коз | |
| <i>Leporipoxvirus</i> | Вирусы миксомы, фибромы кроликов и белок | |
| <i>Suipoxvirus</i> | Вирус оспы свиней | |
| <i>Molluscipoxvirus</i> | Вирус контагиозного моллюска | |
| <i>Yatapoxvirus</i> | Яба-вирус опухоли обезьян. Танапоксвирусы человека, обезьян | |

в световом микроскопе Е. Пашеном (1906). Вирионы видны при специальных методах окраски в виде так называемых элементарных телец Пашена (окраска серебрением по Морозову). Поверхность вириона состоит из нитевидных, овоидных элементов. Оболочка и наружная мембрана вириона заключают сердцевину (ДНК и белки) и мембрану сердцевинны. Сердцевина имеет гантелевидную форму; она находится между двумя боковыми телами. Геном вириона — двунитевая линейная ДНК с ковалентно замкнутыми концами (шпильки или теломеры). Вирусы имеют более 30 структурных белков. Наружная мембрана собирается вокруг сердцевинны в цитоплазме, а оболочка приобретает при выходе из клетки. Ортопоксвирусы синтезируют не-вирионный гемагглютинин.

Антигены — нуклеопротеиновый, растворимые и гемагглютинин; имеются общие антигены с вирусом вакцины.

Репродукция вируса (рис. 17.17). Вирион проникает с помощью фагоцитарной вакуоли. В вакуоле наружная мембрана вириона удаляется. Затем, с помощью ферментов вируса, происходит транскрипция ранних генов (1). Образуются иРНК, кодирующие ранние ферменты: «раздевающий белок» (2), удаляющий мембрану сердцевинны и освобождающий вирусную ДНК в цитоплазму; вирусная ДНК-полимераза, реплицирующая геном.

В результате поздней транскрипции (3) ДНК и белки вируса собираются в сердцевинну с сердцевинной мембраной. Образующиеся вирионы покрываются модифицированными мембранами аппарата Гольджи. Наружная мембрана окутывает сердцевинну, латеральные тела и ферменты; вирионы почкуются через плазматическую мембрану и выходят при лизисе клетки. Репродукция поксвирусов уникальна для ДНК-содержащих вирусов, поскольку весь цикл происходит в цитоплазме, где образуются включения Гварниери. В результате поксвирусы должны кодировать ферменты для синтеза информационной РНК (иРНК) и ДНК, тогда как другие ДНК-вирусы получают их от клетки хозяина.

Культивирование. Вирус натуральной оспы размножается: в куриных эмбрионах с образованием белых «бляшек» на хорион-аллантоисной оболочке; в культуре клеток, в цитоплазме которых формируются характерные околядерные включения (тельца

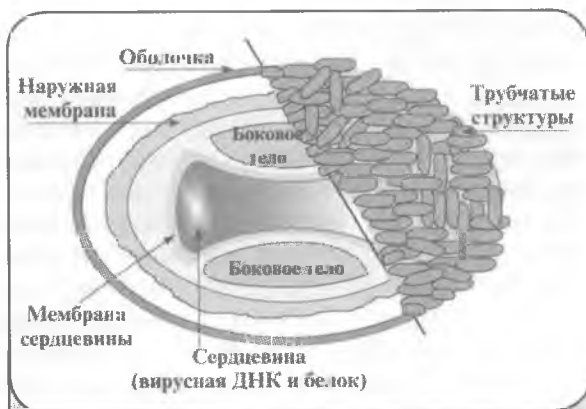


Рис. 17.16. Схема строения ортопоксвируса

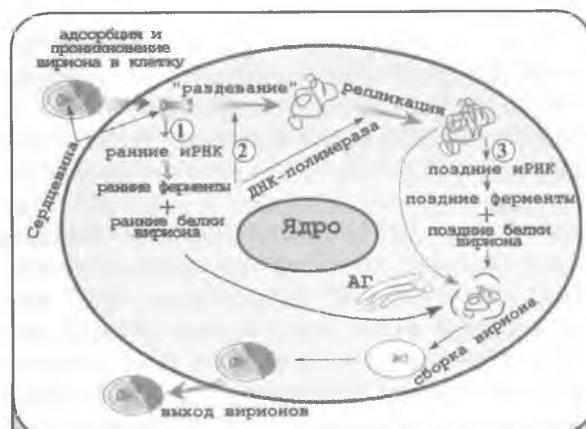


Рис. 17.17. Схема репродукции ортопоксвирусов (пояснения в тексте)

Гварниери); последние впервые описал в 1892 г. Г. Гварниери, выявив их на срезах из роговицы зараженного вирусом кролика.

Резистентность. Вирусы устойчивы к высушиванию и низким температурам, нечувствительны к эфиру; длительно сохраняются в корочках оспенных пустул. Моментально погибают при 100 °С, а при 60 °С — через 15 мин; при обработке хлорамином погибают через несколько часов.

Восприимчивость животных. Для большинства животных вирус натуральной оспы малопатогенен. Клиническую картину можно воспроизвести у обезьян.

Эпидемиология. Натуральная оспа известна с древних времен. До глобальной ликвидации она была широко распространена в странах Азии, Африки, Южной Америки (XVI в. и

позже) и Европы (VI в. и далее). В отдельные годы смертность от оспы достигала 2 млн человек. В связи с высокой контагиозностью, тяжестью течения и большой летальностью болезнь относится к особо опасным конвенционным (карантинным) инфекциям. Источником инфекции является больной человек, который заразен с последних дней инкубационного периода и до отпадения корок высыпаний (около 3 недель). Инфицирование происходит воздушно-капельным, воздушно-пылевым, а также контактно-бытовым путями при соприкосновении с вещами больного, загрязненными слюзью, гноем, корочками с пораженных наружных покровов, калом и мочой, содержащими вирус.

В 1958 г. ВОЗ по предложению СССР разработала программу ликвидации оспы в мире, что было успешно реализовано в 1977 г. в результате глобальной противооспенной вакцинации населения. Для осуществления программы СССР безвозмездно передал ВОЗ свыше 1,5 млрд доз оспенной вакцины. Большая роль в ликвидации оспы принадлежит отечественным ученым И. М. Жданову, С. С. Маренниковой и О. Г. Анджапаридзе. Последний случай заболевания был в 1977 г. в Сомали; в 1978 г. в Бирмингеме было два случая лабораторного заражения оспой. Возбудитель натуральной оспы по решению ВОЗ хранится в специальных лабораториях США и России.

Патогенез. Вирус натуральной оспы проникает через слизистые оболочки верхних дыхательных путей, реже — через кожу и после размножения в регионарных лимфатических узлах попадает в кровь. Из крови возбудитель заносится в кожу и лимфоидные ткани, в которых происходит дальнейшее размножение вирусов, формируются очаги поражения в коже (дерматотропные свойства), слизистых оболочках и паренхиматозных органах. Характерно образование папулезных, а затем везикуло-пустулезных высыпаний.

Клиника. Инкубационный период 7–17 дней. Заболевание проявляется высокой температурой тела, рвотой, головной и поясничной болями, появлением сыпи. Первоначально сыпь имеет вид розовых пятен, которые затем переходят сначала в узелки — папулы размером с горошину, а затем — в пузырьки

(везикулы) и пустулы (гноячки), подсыхающие и превращающиеся в корки. После отпадения корок на коже остаются рубцы (рябины), особенно заметные на лице.

Различают несколько форм оспы: тяжелую (пустулезно-геморрагическая, или черная оспа, сливная оспа) со 100% летальностью; среднетяжелую (рассеянная оспа); легкую (вариолоид, оспа без сыпи, оспа без повышения температуры тела).

Иммунитет. После перенесенной болезни формируется стойкий пожизненный иммунитет, обусловленный появлением вируснейтрализующих антител, интерферонов и активацией факторов клеточного иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Работу проводят по правилам для особо опасных инфекций. Исследуют содержимое элементов сыпи, отделяемое носоглотки, кровь, пораженные органы и ткани. Вирус выявляют при электронной микроскопии, в РИФ, РП, по образованию телец Гварниери. Выделяют вирус путем заражения куриных эмбрионов и культур клеток с последующей идентификацией в реакции нейтрализации (на куриных эмбрионах), РСК, РТГА. Серологическую диагностику проводят в РТГА, РСК, РПГА, реакции нейтрализации.

Лечение. Симптоматическое, а также индукторами интерферона и противовирусными препаратами.

Специфическая профилактика. Прочный иммунитет создает живая оспенная вакцина. Ее готовят из соскобов сыпи телят или при культивировании вируса вакцины (осповакцины) на куриных эмбрионах. Вакцину вводят скарификационным способом или накожно с помощью безыгольного инъектора. Разработана оральная таблетированная вакцина, не уступающая по эффективности накожной, но менее реактогенная (А. А. Воробьев и соавт.). В связи с ликвидацией оспы обязательная ранее вакцинация отменена с 1980 г.

Другие поксвирусы, поражающие человека

Вирус вакцины использовался в качестве живой вакцины при осуществлении программы ликвидации оспы на Земле. Происхождение вируса вакцины неизвестно; является самостоятельным вирусом, отличающимся от возбудителя оспы коров, хотя полагают, что он произошел от последнего. Считают, что вирус

вакцины существует только в виде лабораторных штаммов. Вирус вакцины вызывает оспоподобные локальные поражения, иногда — генерализованную папулезную сыпь.

Вирус контагиозного моллюска вызывает образование эритематозных узелков, превращающихся в жемчужно-розовые капсулы; возбудитель передается контактно через микротравмы кожи и слизистых оболочек. Поражает детей и взрослых. У взрослых поражения чаще локализируются в области гениталий.

Танапоксвирусы человека вызывают лихорадку и образование на коже одного везикулярного очага. Вирус оспы Тана встречается среди племен в Кении, проживающих в долине реки и озера Тана.

Вирус Орф вызывает контагиозную эктиму (болезнь Орф) — инфекционный пустулезный дерматит в виде лихорадки и везикулярных высыпаний на лице и руках. Основной резервуар вируса — овцы.

Вирус оспы обезьян — инфекционная болезнь, вызываемая вирусом оспы обезьян, характеризуется интоксикацией, лихорадкой и пустулезно-папулезной сыпью. Вирус выделен в 1958 г. от больных обезьян, а в 1970 г. — от больного ребенка.

Таксономия и антигенные свойства. Возбудитель по таксономическим, биологическим и антигенным свойствам близок к вирусу натуральной оспы.

Эпидемиология и патогенез. Вирус оспы обезьян патогенен для человека, хотя восприимчивость людей относительно невысокая. Источником инфекции для людей являются обезьяны. Контагиозность больного человека невысокая. Механизм передачи возбудителя воздушно-капельный.

Клиника. Инкубационный период точно не установлен. Клинические проявления болезни похожи на легкую форму оспы человека, однако имеются случаи летальных исходов.

Микробиологическая диагностика. Такая же, как при натуральной оспе.

Лечение. Применяют противовирусные препараты (интерферон, интерфероногены и др.).

Профилактика. Для профилактики можно применять противооспенную живую вакцину.

17.2.7. Цирциновирусы (семейство *Circinoviridae* — TTV)

Circinoviridae содержит ТТ-вирус (TTV) — безоболочечный ДНК-содержащий вирус, первоначально отнесенный к семейству *Circoviridae*. Однако на основании полного секвенирования ДНК ТТ-вируса его предположительно классифицировали как пер-

вого представителя нового семейства *Circinoviridae*. Передается гемотрансмиссивно и фекально-оральным механизмом.

TTV обнаружен в 1997 г. Nishizawa и др. в сыворотке крови больного с инициалами Т. Т., страдавшего гепатитом неизвестной этиологии. Название вируса соответствует инициалам данного больного.

Структура. TTV — простоустроенный вирус, имеющих икосаэдрический тип симметрии. Размер вириона 30–50 нм. Он содержит кольцевую сдвоенную минус-ДНК. Капсид икосаэдрический, состоит из белка VP1. Различают более 10 генотипов вируса.

Репродукция вируса, очевидно, происходит в ядрах гемопоэтических клеток. Вирионы собираются в цитоплазме и выходят при лизисе клеток. Предположительным резервуаром вируса являются гепатоциты.

Эпидемиология. Вирус широко распространен. Устойчив к факторам окружающей среды. Передается гемотрансмиссивно и фекально-оральным механизмом. Однако эпидемиология TTV-инфекции изучена недостаточно.

Патогенез и иммунитет. Патогенез изучен недостаточно. Предполагают, что TTV можно рассматривать как представителя нормальной микрофлоры человека. TTV-вирусемия распространена среди здоровых людей. Возможно участие вируса в поражении печени (гепатит). В результате высокой изменчивости вируса, одновременного наличия в организме различных вариантов TTV происходит «ускользание» вируса от иммунитета.

Микробиологическая диагностика. В сыворотке крови больных выявляют ДНК вируса (с помощью ПЦР) и антитела против вируса в реакции преципитации и др. Дифференциация проводится с учетом маркеров других возбудителей вирусных гепатитов.

17.3. Медленные вирусные инфекции и прионные болезни

Медленные вирусные инфекции характеризуются следующими признаками:

- 1) необычно длительным инкубационным периодом (месяцы, годы);
- 2) своеобразным поражением органов и тканей, преимущественно ЦНС;
- 3) медленным неуклонным прогрессирующим заболеванием;
- 4) неизбежным летальным исходом.

Медленные вирусные инфекции могут вызывать вирусы, известные как возбудители острых вирусных инфекций. Например, вирус кори иногда вызывает ПСПЭ (см. разд. 17.1.7.3), вирус краснухи — прогрессирующую врожденную краснуху и краснушный панэнцефалит (табл. 17.10).

Типичную медленную вирусную инфекцию животных вызывает вирус Мэди/Висна относящийся к ретровирусам. Он является возбудителем медленной вирусной инфекции и прогрессирующей пневмонии овец.

Сходные по признакам медленных вирусных инфекций заболевания вызывают прионы — возбудители прионных инфекций.

Прионы — белковые инфекционные частицы (транслитерация от сокр. англ. *proteinaceous infection particle*). Прионный белок обозначается как PrP (англ. *prion protein*), он может быть в двух изоформах: клеточной, нормальной (PrP^C) и измененной, патологической (PrP^{Sc}). Ранее патологические прионы относили к возбудителям медленных вирусных инфекций, теперь более правильно их относить к возбудителям конформационных болезней, вызывающим диспротеиноз (табл. 17.11).

Прионы — неканонические патогены, вызывающие трансмиссивные губкообразные энцефалопатии: человека (куру, болезнь Крейтцфельда—Якоба, синдром Герстмана—Штреусслера—Шейнкера, семейная фатальная бессонница, амиотрофический лейкоспонгиоз); животных (скрепи овец и коз, трансмиссивная энцефалопатия норок, хро-

ническая изнуряющая болезнь находящихся в неволе оленя и лося, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, губкообразная энцефалопатия кошек).

Патогенез и клиника. Прионные инфекции характеризуются губкообразными изменениями мозга (трансмиссивные губкообразные энцефалопатии). При этом развиваются церебральный амилоидоз (внеклеточный диспротеиноз, характеризующийся отложением амилоида с развитием атрофии и склероза ткани) и астроцитоз (разрастание астроцитарной нейроглии, гиперпродукция глиальных волокон). Образуются фибриллы, агрегаты белка или амилоида. Иммунитета к прионам не существует.

Куру — прионная болезнь, ранее распространенная среди папуасов (в переводе означает дрожание или дрожь) на о. Новая Гвинея в результате ритуального каннибализма — поедания недостаточно термически обработанного инфицированного прионами мозга погибших сородичей. В результате поражения ЦНС нарушаются координация движений, походка, появляются озноб, эйфория («хохочущая смерть»). Смертельный исход наступает через год. Инфекционные свойства болезни доказал К. Гайдушек.

Болезнь Крейтцфельда—Якоба — прионная болезнь (инкубационный период — до 20 лет), протекающая в виде деменции, зрительных и мозжечковых нарушений и двигательных расстройств со смертельным исходом через 9 месяцев от начала болезни. Возможны различные пути инфицирования и причины развития болезни: 1) при употреблении недостаточно термически обработан-

Таблица 17.10. Возбудители некоторых медленных вирусных инфекций человека

| Возбудитель | Болезнь |
|-------------------------------|--|
| Вирус кори | Подострый склерозирующий панэнцефалит |
| Вирус краснухи | Прогрессирующая врожденная краснуха, прогрессирующий краснушный панэнцефалит |
| Вирус клещевого энцефалита | Прогрессирующая форма клещевого энцефалита |
| Вирус простого герпеса | Подострый герпетический энцефалит |
| Вирус иммунодефицита человека | ВИЧ-, СПИД-инфекция |
| HTLV-1, -2 | T-клеточная лимфома |
| Полиомавирус JC | Прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия |

Таблица 17.11. Свойства прионов

| PrP ^C (cellular prion protein) | PrP ^{Sc} (scrapie prion protein) |
|---|--|
| PrP ^C (cellular prion protein) — клеточная, нормальная изоформа прионного белка с молекулярной массой 33–35 кДа, детерминируется геном прионного белка (прионный ген — PrNP — находится на коротком плече 20-й хромосомы человека). Нормальный PrP ^C появляется на поверхности клетки (заякорен в мембрану гликопротеином молекулы), чувствителен к протеазе. Он регулирует передачу нервных импульсов, циркадианные ритмы (суточные циклы), участвует в метаболизме меди в ЦНС | PrP ^{Sc} (scrapie prion protein — от названия прионной болезни овец скрепи — scrapie) и другие, например, PrP ^{Chd} (при болезни Крейтцфельда—Якоба) — патологические, измененные посттрансляционными модификациями изоформы прионного белка с молекулярной массой 27–30 кДа. Такие прионы устойчивы к протеолизу (к протеазе К), к излучениям, высокой температуре, формальдегиду, глютаральдегиду, бета-пропиолактону; не вызывают воспаления и иммунной реакции. Отличаются способностью к агрегации в амилоидные фибриллы, гидрофобностью и вторичной структурой в результате повышенного содержания бета-складочных структур (более 40 % по сравнению с 3 % у PrP ^C). PrP ^{Sc} накапливается в плазматических везикулах клетки |

Схема пролиферации прионов представлена на рис. 17.18.

ных продуктов животного происхождения, например мяса, мозга коров, больных губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота, а также; 2) при трансплантации тканей, например роговицы глаза, при применении гормонов и других биологически активных веществ животного происхождения, при использовании контаминирован-

ных или недостаточно простерилизованных хирургических инструментов, при прозекторских манипуляциях; 3) при гиперпродукции PrP и других состояниях, стимулирующих процесс преобразования PrP^C в PrP^{Sc}. Заболевание может развиваться в результате мутации или вставки в области прионного гена. Распространен семейный характер бо-

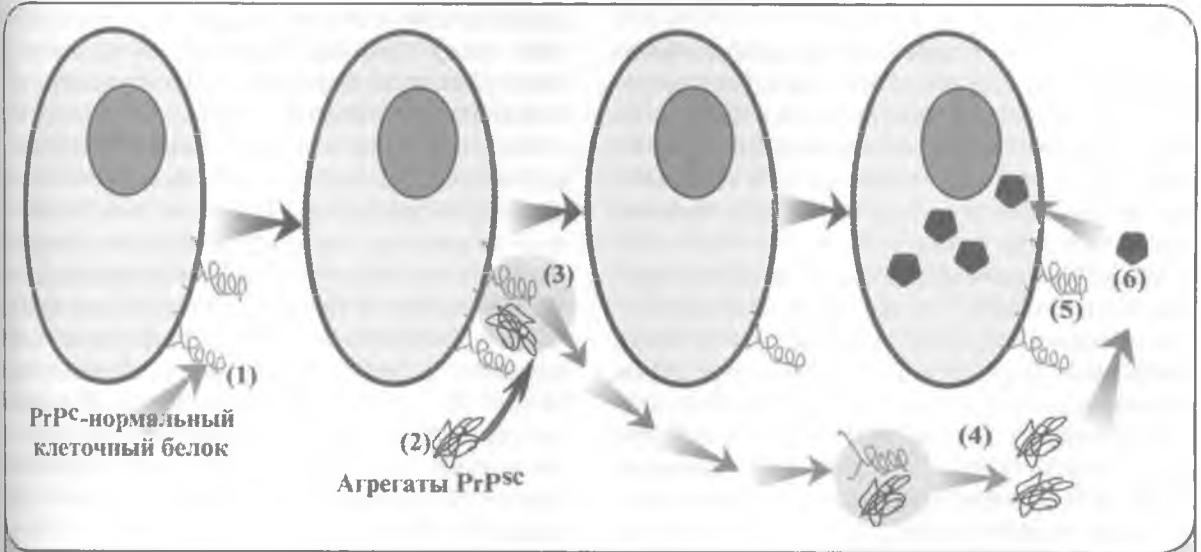


Рис. 17.18. Схема пролиферации прионов (пояснения в тексте).

Превращение PrP^C в измененные формы (PrP^{Sc} и др.) происходит при нарушении кинетически контролируемого равновесия между ними. Процесс усиливается при возрастании количества патологического (PrP) или экзогенного приона. PrP^C — нормальный белок, заякоренный в мембране клетки (1). PrP^{Sc} — глобулярный гидрофобный белок, образующий агрегаты с собой и с PrP^C на поверхности клетки (2): в результате PrP^C (3) преобразуется в PrP^{Sc} (4). Клетка синтезирует новый PrP^C (5), и далее цикл продолжается. Патологическая форма PrP^{Sc} (6) накапливается в нейронах, придавая клетке губкообразный вид. Патологические изоформы приона могут образовываться при участии шаперонов (от англ. *chaperon* — временное сопровождающее лицо), участвующих в правильном сворачивании полипептидной цепи агрегируемого белка, ее преобразовании в процессе агрегации

лезни в результате генетической предрасположенности к данному заболеванию.

Синдром Герстманна—Штреусслера—Шейнкера — прионная болезнь с наследственной патологией (семейное заболевание), протекающая с деменцией, гипотонией, нарушением глотания, дизартрией. Нередко носит семейный характер. Инкубационный период — от 5 до 30 лет. Летальный исход наступает через 4–5 лет от начала заболевания.

Фатальная семейная бессонница — аутосомно-доминантное заболевание с прогрессирующей бессонницей, симпатической гиперреактивностью (гипертензия, гипертермия, гипергидроз, тахикардия), тремором, атаксией, миоклониями, галлюцинациями. Нарушаются циркадианные ритмы. Смерть — при прогрессировании сердечно-сосудистой недостаточности.

Скрепи (от англ. *scrape* — скрести) — «чесотка», прионная болезнь овец и коз, характеризующаяся сильным кожным зудом, поражением ЦНС, прогрессирующим нарушением координации движений и неизбежной гибелью животного.

Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота — прионная болезнь крупного рогатого скота, характеризующаяся поражением ЦНС, нарушением координации движений и неизбежной гибелью животного. У животных наиболее инфицированы головной, спинной мозг и глазные яблоки.

Микробиологическая диагностика. При прионной патологии характерны губкообразные изменения мозга, астроцитоз (глиоз), отсутствие инфильтратов воспаления. Мозг окрашивают на амилоид. В цереброспинальной жидкости выявляют белковые маркеры прионных мозговых нарушений (с помощью ИФА, ИБ с моноклональными антителами). Проводят генетический анализ прионного гена; ПЦР для выявления PrP.

Профилактика. Введение ограничений на использование лекарственных препаратов животного происхождения. Прекращение производства гормонов гипофиза животного происхождения. Ограничение трансплантации твердой мозговой оболочки. Использование резиновых перчаток при работе с биологическими жидкостями больных.

17.4. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций

ОРВИ — это группа клинически сходных, острых инфекционных вирусных заболеваний человека, которые передаются преимущественно аэрогенно и характеризуются поражением органов дыхания и умеренной интоксикацией.

Актуальность. ОРВИ относятся к числу самых распространенных болезней человека. Несмотря на обычно доброкачественное течение и благоприятный исход, эти инфекции опасны своими осложнениями (например, вторичными инфекциями). ОРВИ, ежегодно поражающие миллионы людей, наносят значительный ущерб экономике (теряется до 40 % рабочего времени). Только в нашей стране каждый год затрачивается около 15 млрд рублей на оплату медицинской страховки, лекарств и средств профилактики острых респираторных инфекций.

Этиология. Острые инфекционные заболевания, при которых поражается дыхательный тракт человека, могут быть вызваны и бактериями, и грибами, и простейшими, и вирусами. Различные вирусы могут передаваться аэрогенно и вызывать симптоматику, характерную для поражения респираторного тракта (например, вирусы кори, эпидемического паротита, вирусы герпеса, некоторые энтеровирусы и др.). Однако **возбудителями ОРВИ** принято считать только те вирусы, у которых первичная репродукция происходит исключительно в эпителии респираторного тракта. В качестве возбудителей ОРВИ зарегистрировано более 200 антигенных разновидностей вирусов. Они относятся к разным таксонам, каждый из которых имеет свои особенности.

Таксономия. Большинство возбудителей впервые выделены от человека и типированы в 50–60-е годы XX в. Наиболее частыми возбудителями ОРВИ являются представители семейств, приведенных в табл. 17.12.

Общая сравнительная характеристика возбудителей. Большинство возбудителей ОРВИ — РНК-содержащие вирусы, только аденовирусы содержат ДНК. Геном у виру-

ГЛАВА 17. Частная вирусология

Таблица 17.12. Наиболее частые возбудители ОРВИ

| Семейство | Род | Вирусы |
|-----------------------|----------------|---|
| РНК-содержащие | | |
| Paramyxoviridae | Respirovirus | Вирусы парагриппа человека, серотипы 1, 3 |
| | Pneumovirus | РС-вирус, 3 серотипа |
| | Rubulavirus | Вирусы парагриппа человека, серотипы 2, 4а, 4б, <i>вирус эпидемического паротита и др.*</i> |
| | Morbillivirus | <i>Вирус кори и др.*</i> |
| Coronaviridae | Coronavirus | Коронавирусы, 11 серотипов (в т. ч. SARS-коронавирус) |
| Picornaviridae | Rhinovirus | Риновирусы (более 113 серотипов) |
| Reoviridae | Orthoreovirus | респираторные реовирусы, 3 серотипа |
| ДНК-содержащие | | |
| Adenoviridae | Mastadenovirus | аденовирусы, чаще серотипы 3, 4, 7 (известны вспышки, вызванные типами 12, 21) |

*Инфекции являются самостоятельными нозологическими формами и обычно не включаются в группу собственно ОРВИ.

сов представлен: двухцепочечной линейной ДНК — у аденовирусов, одноцепочечной линейной плюс-РНК — у рино- и корона-вирусов, одноцепочечной линейной минус-РНК — у парамиксовирусов, а у реовирусов РНК двухцепочечная и сегментированная. Многие возбудители ОРВИ генетически стабильны, хотя РНК, особенно сегментированная, предрасполагает к готовности генетических рекомбинаций у вирусов и, как следствие, к изменению антигенной структуры. Геном кодирует синтез структурных и неструктурных вирусных белков.

Среди вирусов ОРВИ есть простые (адено-, рино- и реовирусы) и сложные оболочечные (парамиксовирусы и коронавирусы). Сложноорганизованные вирусы чувствительны к эфиру. У сложных вирусов — спиральный тип симметрии нуклеокапсида и форма вириона сферическая. У простых вирусов — кубический тип симметрии нуклеокапсида и вирион имеет форму икосаэдра. У многих вирусов имеется дополнительная белковая оболочка, покрывающая нуклеокапсид (у адено-, ортомиксо-, корона- и реовирусов). Размеры вирионов у большинства вирусов средние (60–160 нм). Самые мелкие — риновирусы (20 нм); самые крупные — парамиксовирусы (200 нм).

Антигенная структура вирусов ОРВИ сложная. У вирусов каждого рода, как правило,

есть общие антигены; кроме того, вирусы имеют и типоспецифические антигены, по которым можно проводить идентификацию возбудителей с определением серотипа. В состав каждой группы вирусов ОРВИ входит различное количество серотипов и серовариантов. Большинство вирусов ОРВИ обладает гемагглютинирующей способностью (кроме РС-, SARS- и риновирусов), хотя не все они имеют собственно гемагглютинины. Этим определяется применение РТГА для диагностики многих ОРВИ. Реакция основана на блокировании активности гемагглютининов вируса специфическими антителами.

Репродукция вирусов ОРВИ происходит: а) целиком в ядре клетки (у аденовирусов); б) целиком в цитоплазме клетки (у остальных). Эти особенности имеют значение для диагностики, так как определяют локализацию и характер внутриклеточных включений. Такие включения представляют собой «фабрики» по производству вирусов и обычно содержат большое количество вирусных компонентов, «неиспользованных» при сборке вирусных частиц. Выход вирусных частиц из клетки может происходить двумя способами: у простых вирусов — «взрывным» механизмом с разрушением клетки хозяина, а у сложных вирусов — путем «отпочковывания». При этом сложные вирусы получают от клетки хозяина свою оболочку.

Культивирование большинства вирусов ОРВИ проводится достаточно легко (исключения составляют коронавирусы). Оптимальная лабораторная модель для культивирования этих вирусов — культуры клеток. Для каждой группы вирусов подобраны наиболее чувствительные клетки (для аденовирусов — клетки HeLa, эмбриональные клетки почек; для коронавирусов — эмбриональные клетки и клетки трахеи, и т. д.). В зараженных клетках вирусы вызывают ЦПЭ, но эти изменения не патогномичны для большинства возбудителей ОРВИ и обычно не позволяют идентифицировать вирусы. Культуры клеток используют также при идентификации возбудителей с цитолитической активностью (например, аденовирусов). Для этого применяют так называемую реакцию биологической нейтрализации вирусов в культуре клеток (РБН или РН вирусов). В ее основе — нейтрализация цитолитического действия вирусов типоспецифическими антителами.

Эпидемиология. «Респираторные» вирусы встречаются повсеместно. Источник инфекции — больной человек. Основной механизм передачи инфекции — аэрогенный, пути — воздушно-капельный (при кашле, чихании), реже — воздушно-пылевой. Доказано также, что некоторые возбудители ОРВИ могут передаваться контактно (адено-, рино- и РС-вирусы). В окружающей среде устойчивость респираторных вирусов средняя, инфекционность особенно хорошо сохраняется при низких температурах. Прслеживается сезонность большинства ОРВИ, которые чаще возникают в холодное время года. Заболеваемость выше среди городского населения. Предрасполагающими и утяжеляющими течение факторами являются пассивное и активное курение, заболевания органов дыхания, физиологический стресс, снижение общей сопротивляемости организма, иммунодефицитные состояния и неинфекционные заболевания, при которых они наблюдаются.

Болеют и дети, и взрослые, но чаще дети. В развитых странах большинство посещающих детские сады и ясли дошкольников болеют ОРВИ 6–8 раз в год, причем обычно это инфекции, вызванные риновируса-

ми. Естественный пассивный иммунитет и грудное вскармливание формируют защиту против ОРВИ у новорожденных (до 6–11 месяцев).

Патогенез. Входные ворота инфекции — верхние дыхательные пути. Респираторные вирусы инфицируют клетки, прикрепляясь своими активными центрами к специфическим рецепторам. Например, практически у всех риновирусов белки капсида соединяются с молекулами рецептора адгезии ICAM-1, чтобы затем проникнуть в фибробласты и другие чувствительные клетки. У вирусов парагриппа белки суперкапсида присоединяются к гликозидам на поверхности клеток, у коронавирусов прикрепление осуществляется за счет связывания с гликопротеиновыми рецепторами клетки, аденовирусы взаимодействуют с клеточными интегринами, и т. п.

Большинство респираторных вирусов реплицируется локально в клетках респираторного тракта и, соответственно, вызывает лишь кратковременную вирусемию. Местные проявления ОРВИ вызваны в большинстве своем действием медиаторов воспаления, в частности, брадикининов. Риновирусы обычно вызывают незначительные повреждения эпителия слизистой носа, но РС-вирус значительно более разрушителен и может вызывать некроз эпителия дыхательного тракта. Некоторые аденовирусы имеют цитотоксическую активность и быстро оказывают цитопатический эффект и отторжение инфицированных клеток, хотя обычно сам вирус не распространяется дальше регионарных лимфоузлов. Отек, клеточная инфильтрация и десквамация поверхностного эпителия в месте локализации возбудителей характерны и для других ОРВИ. Все это создает условия для присоединения вторичных бактериальных инфекций.

Клиника. При ОРВИ различной этиологии клиническая картина может быть сходной. Течение заболевания может существенно различаться у детей и взрослых. Для ОРВИ характерен короткий инкубационный период. Заболевания, как правило, кратковременные, интоксикация слабая или умеренная. Нередко ОРВИ даже протекают без

сколько-нибудь значимого подъема температуры. Характерными симптомами являются катар верхних дыхательных путей (ларингит, фарингит, трахеит), ринит и ринорея (при риновирусной инфекции часто бывает изолированный ринит и сухой кашель). При аденовирусной инфекции могут присоединиться фарингоконъюнктивит, лимфоаденопатия. У детей обычно тяжело протекает инфекция, вызванная РС-вирусами. При этом поражаются нижние отделы дыхательного тракта, возникают бронхолиты, острая пневмония и астматический синдром. При ОРВИ часто развивается сенсibilизация организма.

Тем не менее большинство неосложненных ОРВИ у практически здоровых лиц протекает не тяжело и заканчивается в течение недели полным выздоровлением больного даже без сколько-нибудь интенсивного лечения.

Течение ОРВИ нередко осложняется, так как на фоне постинфекционного иммунодефицита возникают вторичные бактериальные инфекции (например, синуситы, бронхиты, отиты и т. п.), которые значительно утяжеляют течение заболевания и увеличивают его продолжительность. Наиболее тяжелым «респираторным» осложнением является острая пневмония (вирусно-бактериальные пневмонии протекают тяжело, нередко приводя к гибели больного из-за массивного разрушения эпителия дыхательных путей, геморрагий, формирования абсцессов в легких). Кроме того, течение ОРВИ может осложняться неврологическими расстройствами, нарушением функций сердца, печени и почек, а также симптомами поражения ЖКТ. Это может быть связано с действием как самих вирусов, так и с токсическим воздействием продуктов распада инфицированных клеток.

Иммунитет. Наиболее важную роль в защите от повторных заболеваний, несомненно, играет состояние местного иммунитета. При ОРВИ наибольшими защитными функциями в организме обладают вируснейтрализующие специфические IgA (обеспечивают местный иммунитет) и клеточный иммунитет. Сывороточные антитела обычно продуцируются слишком медленно, чтобы быть

эффективными факторами защиты во время заболевания. Другим важным фактором в защите организма от вирусов ОРВИ является местная выработка α -интерферона, появление которого в носовом отделяемом приводит к значительному снижению количества вирусов. Важной особенностью ОРВИ является формирование вторичного иммунодефицита.

Постинфекционный иммунитет при большинстве ОРВИ нестойкий, непродолжительный и типоспецифический. Исключение составляет аденовирусная инфекция, которая сопровождается формированием достаточно прочного, но также типоспецифического иммунитета. Большое число серотипов, большое количество и разнообразие самих вирусов объясняют высокую частоту повторных заболеваний ОРВИ.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат носоглоточная слизь, мазки-отпечатки и смывы из зева и носа.

Экспресс-диагностика. Обнаруживают вирусные антигены в инфицированных клетках. Применяют РИФ (прямой и непрямой методы) с использованием меченных флюорохромами специфических антител, а также ИФА. Для труднокультивируемых вирусов используют генетический метод (ПЦР).

Вирусологический метод. В течение долгого времени заражение культур клеток секретари респираторного тракта для культивирования вирусов было основным направлением в диагностике ОРВИ. Индикацию вирусов в зараженных лабораторных моделях проводят по ЦПЭ, а также РГА и гемадсорбции (для вирусов с гемагглютинирующей активностью), по образованию включений (внутриядерные включения при аденовирусной инфекции, цитоплазматические включения в околоядерной зоне при реовирусной инфекции и т. п.), а также по образованию «бляшек», и «цветной пробе». Идентифицируют вирусы по антигенной структуре в РСК, РПГА, ИФА, РТГА, РБН вирусов.

Серологический метод. Противовирусные антитела исследуют в парных сыворотках больного, полученных с интервалом в 10–14 дней. Диагноз ставят при увеличении титра антител как минимум в 4 раза. При этом

определяется уровень IgG в таких реакциях, как РБН вирусов, РСК, РПГА, РТГА и др. Так как продолжительность заболевания часто не превышает 5–7 дней, то серологическое исследование обычно служит для ретроспективной диагностики и эпидемиологических исследований.

Лечение. Эффективного этиотропного лечения ОРВИ в настоящее время нет (попытки создать препараты, действующие на вирусы ОРВИ, ведутся в двух направлениях: препятствие «раздеванию» вирусной РНК и блокирование клеточных рецепторов). Неспецифическим противовирусным действием обладает α -интерферон, препараты которого применяют интраназально. Внеклеточные формы адено-, рино- и миксовирусов инактивирует оксолин, который применяют в виде глазных капель или мази интраназально. Только при развитии вторичной бактериальной инфекции назначают антибиотики. Основное лечение — патогенетическое/симптоматическое (включает детоксикацию, обильное теплое питье, жаропонижающие препараты, витамин С и т. п.). Для лечения можно использовать антигистаминные препараты. Большое значение имеет повышение общей и местной сопротивляемости организма.

Профилактика. Неспецифическая профилактика заключается в противоэпидемических мероприятиях, ограничивающих распространение и передачу вирусов аэрогенно и контактно. В эпидсезон необходимо принимать меры, направленные на повышение общей и местной сопротивляемости организма.

Специфическая профилактика большинства ОРВИ не эффективна. Для профилактики аденовирусной инфекции разработаны пероральные живые тривалентные вакцины (из штаммов типов 3, 4 и 7; вводятся перорально, в капсулах), которые применяются по эпидпоказаниям.

17.5. Возбудители вирусных острых кишечных инфекций

Острые кишечные инфекции (ОКИ) — обширная группа инфекционных заболеваний преимущественно антропонозного ряда с

фекально-оральным механизмом заражения. В этиологической структуре ОКИ основными возбудителями являются представители семейства Enterobacteriaceae. Все большее значение приобретают криптоспоридии и *Clostridium difficile*.

Важнейшее место в этиологической структуре ОКИ занимают вирусы: энтеровирусы ротавирусы, вирусы гепатитов А и Е, некоторые аденовирусы и др. При ОКИ вирусной природы наряду с поражениями кишечника отмечаются изменения со стороны верхних дыхательных путей: неба, дужек, язычка — при ротавирусной инфекции; трахеобронхит — при аденовирусной инфекции.

Диагноз устанавливается на основании клинических признаков болезни, результатов микробиологического (вирусологического, серологического) исследования, эпидемиологического анамнеза.

17.6. Возбудители парентеральных вирусных гепатитов В, D, С, G

Возбудителями парентеральных вирусных гепатитов является вирус гепатита В (см. разд. 17.2.4), а также вирусы гепатитов D, С, G.

Вирус гепатита D

Вирус гепатита D (VGD) впервые был обнаружен в 1977 г. Ризетто. VGD не классифицирован. VGD является сателлитом вируса гепатита В и представляет дефектный вирус, не имеющий собственной оболочки. Вирион VGD имеет сферическую форму (диаметр 36 нм), который состоит из односторонней РНК и сердцевинного HDc-антигена (дельта-антигена), который построен из двух белков, имеющих полипептидные цепи разной длины. Эти белки регулируют синтез генома вируса: один белок стимулирует синтез генома, другой — тормозит. Различают три генотипа вируса. В России преобладает 1 генотип. Все генотипы относятся к одному серотипу. В качестве внешней оболочки VGD использует HBs-антиген внешней оболочки вируса гепатита В.

Резервуаром VGD в природе являются носители VGB. Заражение VGD аналогично инфицированию VGB. Одновременное инфицирование VGB и VGD (коинфекция) приво-

дит к развитию умеренной формы болезни. Инфицирование ВГD больных хронической формой гепатита В утяжеляет течение инфекции, приводя к развитию острой печеночной недостаточности и цирроза печени. РНК вируса можно обнаружить в гепатоцитах ПЦР.

Диагностика осуществляется серологическим методом путем определения антител к ВГD методом ИФА.

Для профилактики гепатита D применяются все те мероприятия, которые используют для профилактики гепатита В. Для лечения используют препараты интерферона. Вакцина против гепатита В защищает и от гепатита D.

Вирус гепатита С

Вирус гепатита С (ВГС) относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus*.

Морфология. ВГС является сложноорганизованным РНК-содержащим вирусом сферической формы (диаметр 55–65 нм). Геном представлен одной линейной «+» цепью РНК, обладает большой вариабельностью. Известно около 14 генотипов вируса. Наиболее вирулентен 1b генотип.

Антигенная структура. Вирус обладает сложной антигенной структурой. Антигенами являются:

1. Гликопротеины оболочки (gp-антигены), Е1 и Е2.
2. Сердцевинный антиген НСс-антиген (core-антиген)
3. Неструктурные белки: NS2, NS3, NS4, NS5.

Культуральные свойства. ВГС не культивируется на куриных эмбрионах, не обладает гемолитической и гемагглютинирующей активностью. Экспериментальной моделью является шимпанзе. Трудно адаптируется к культивированию в культуре клеток.

Резистентность. ВГС чувствителен к эфиру, детергентам, УФ-лучам, нагреванию до 50 °С.

Эпидемиология. Заражение ВГС аналогично заражению ВГВ. Однако для заражения ВГС требуется большая заражающая доза, чем при гепатите В. Наиболее часто ВГС передается при переливаниях крови ($\frac{2}{3}$ случаев), трансплантационно (10 %), половым путем (7 %). В мире насчитывается более 200 млн носителей ВГС.

Клиника заболевания. Инкубационный период короче, чем при гепатите В, и составляет от 6 до 120 недель. Клиническое течение острого гепатита С более легкое, чем гепатита В. Часто встречаются безжелтушные формы, выявить заболевание при которых можно по увеличению аланинтрансаминазы в крови. Но, несмотря на более легкое, чем при гепатите В, течение инфекции в острой форме, в 50 % случаев процесс переходит в хроническое течение с развитием цирроза и первичного рака печени. Переход в хроническое состояние связан с отсутствием выраженного клеточного CD4 иммунного ответа. CD4 иммунный ответ направлен против неструктурного белка NS3 и направлен на эпитоп, который одинаков у всех генотипов. При ослаблении CD4 иммунного ответа происходит реактивация вируса. Предполагается, что ВГС представляет собой персистирующую вирусную инфекцию, при которой вирус персистирует в лимфатических узлах.

Диагностика. Используются ПЦР и серологическое исследование. Подтверждением активного инфекционного процесса является обнаружение в крови вирусной РНК ПЦР. Серологическое исследование направлено на определение антител к NS3 в парных сыворотках методом ИФА.

Профилактика и лечение. Для профилактики используют те же мероприятия, что и при гепатите В. Для лечения применяют интерферон и рибовирин. Специфическая профилактика не разработана.

Вирус гепатита G

Вирус гепатита G предположительно относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus*. Известно 5 генотипов вируса: GB-A, GB-B, GB-C и др. Вирус гепатита G пока мало изучен. Известно, что он имеет РНК-зависимую протеиназу, поверхностный HGs- и сердцевинный HGs-антигены. Предполагается, что в сердцевинном (core) белке имеется дефект, поэтому для его репликации требуется вирус гепатита С. Считается, что вирус гепатита G обладает лимфотропностью, с ним связывают развитие персистирующих форм инфекции, а популяция GB-C, возможно, вызывает молниеносную инфекцию.

17.7. Онкогенные вирусы

Впервые этиологическая роль вирусов была продемонстрирована в 1910 г. П. Раусом на примере саркомы кур, хотя гипотеза о вирусной этиологии опухолей высказывалась и ранее. В 30-е годы XX в. была показана роль фильтрующих агентов в развитии папилломы и рака кожи у кроликов, рака молочной железы у мышей, лимфомы у цыплят. В 1946 г. российский вирусолог Л. А. Зильбер опубликовал монографию «Вирусная теория происхождения злокачественных новообразований», в которой изложил свою вирусогенетическую теорию происхождения опухолей. Основу этой теории составляет постулат о необходимости тесного взаимодействия геномов вируса и клетки для последующей ее трансформации. Благодаря развитию молекулярной биологии, вирусогенетическая теория онкогенеза в начале 70-х годов XX в. нашла экспериментальное подтверждение.

В настоящее время установлена связь между вирусной инфекцией и последующей трансформацией клетки для вирусов, входящих в следующие семейства:

РНК-содержащие: семейство *Retroviridae*.

ДНК-содержащие: семейства *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Adenoviridae* 12, 18, 31, *Hepadnaviridae*, *Herpesviridae*, *Poxviridae*

Наиболее хорошо изучен механизм вирусного онкогенеза у представителей РНК-содержащих вирусов семейства *Retroviridae*.

РНК-содержащие онкогенные вирусы

Семейство *Retroviridae* включает 7 родов (см. разд. 17.1.11).

Онковирусы являются сложноорганизованными вирусами. Вирионы построены из сердцевин (диаметр 70–80 нм), окруженной липопротеиновой оболочкой с шипами. Размеры и формы шипов, а также локализация сердцевин служат основой для подразделения вирусов на 4 морфологических типа (А, В, С, D), а также вирус бычьего лейкоза.

Большинство онкогенных вирусов относится к типу С. Этот тип распространен среди рыб, пресмыкающихся, птиц, млекопитающих, включая человека. К типу В относятся вирусы, вызывающие рак молочной железы

у мышей, а некоторые онковирусы обезьян принадлежат к типу D.

Капсид онковирусов построен по кубическому типу симметрии. В него заключены нуклеопротеин и фермент ревертаза (обратная транскриптаза). От наличия этого фермента, осуществляющего обратную (лат. *retro* — обратный), и произошло название семейства. Ревертаза обладает способностью транскрибировать ДНК как на матрицу РНК, так и ДНК, а также нуклеазной активностью.

Геном представлен двумя идентичными позитивными цепями РНК, т. е. геном обладает диплоидностью. Обе молекулы РНК связаны на 5'-конце водородными связями. С 5'-концом каждой цепи связана тРНК клеточного происхождения, которая служит затравкой при транскрипции генома.

Геном состоит из структурных и регуляторных генов. Последовательность структурных генов от 5'-конца к 3'-концу следующая: gag—pol—env.

Gag кодирует синтез группоспецифических антигенов капсида, основными из которых являются белки капсида с р27–р30. Pol кодирует ревертазу. Env кодирует белки шипов оболочки.

Структурные гены с двух сторон ограничены длинными концевыми повторами, получившими название LTR (*long terminal repeat*, англ.), которые выполняют регуляторную функцию. В их состав входят сайты, связывающие затравку, которой является тРНК, и клеточные полимеразы. Кроме того, имеется ген-трансактиватор, являющийся усилителем транскрипции.

По краям LTR ограничены повторяющимися последовательностями, которые представляют участки узнавания в процессе интеграции провируса в геном клетки.

Культивирование вирусов. Не культивируются на куриных эмбрионах, культивируются в организме чувствительных животных, а также культурах клеток.

Репродукция вирусов. Онковирусы проникают в клетку путем эндоцитоза. После освобождения из вакуоли нуклеокапсида начинает функционировать ревертаза. Этот процесс включает 3 этапа:

– синтез ДНК, на матрице РНК, при использовании тРНК в качестве затравки;

– ферментативное расщепление матричной РНК;

– синтез комплементарной нити ДНК на матрице первой нити ДНК.

Все три этапа осуществляются ревертазой. Благодаря наличию на LTR инвертированных повторов, линейная двухцепочечная ДНК замыкается в кольцо и интегрирует в ДНК клетки.

Транскрипция участков хромосомы, соответствующих геному провируса, осуществляется с помощью клеточной РНК-полимеразы 2.

Существуют две большие группы онковирусов: эндогенные и экзогенные.

Эндогенные онковирусы являются составными элементами генома всех органов и тканей организма человека и животных и передаются потомству от одного поколения другому, т. е. «вертикально», подобно обычным клеточным генам. Эндогенные онковирусы не являются онкогенными для представителей того вида животного, в клетках которого они находятся в виде постоянного генетического элемента.

Экзогенные онковирусы распространяются «горизонтально» от одной особи другой в форме вирионов.

Механизм онкогенеза, вызываемого онковирусами, связан с функционированием онкогенов, которые имеются в геноме всех клеток человека и животных. В нормальных здоровых тканях этот онко-ген находится в неактивном состоянии, в так называемой форме проонкогена. В настоящее время известно более двух десятков онко-генов, функционирование которых приводит к трансформации клетки. Например, src-ген связан с развитием саркомы Рауса у кур, gas-ген опосредует развитие саркомы у крыс.

Включение в геном клетки ДНК-провируса может приводить к активации онко-гена, результатом чего будет развитие трансформации клетки. Кроме того, в процессе исключения ДНК-провируса из хромосомы клетки онко-ген может встроиться в вирусный геном и в составе вирусного генома попасть в новые клетки в активном состоянии.

Последовательность одного и того же про-тоонкогена может определять трансформи-

рующую активность онковирусов разных животных.

Активация протоонкогена может быть результатом увеличения транскрипционной активности вследствие действия трансактиватора, расположенного на LTR генома провируса, а также результатом перестройки генетического материала, как следствие включения провируса в геном клетки.

Помимо онковирусов активацию протоонкогена могут вызвать мутагены, подвижные генетические элементы.

Онковирусы чувствительны к эфиру, детергентам, формалину, инактивируются при температуре +56 °С. Устойчивы к УФ-лучам и низким температурам.

К семейству *Retroviridae* относится примерно 150 видов вирусов, вызывающих развитие опухолей у животных, и только 2 вида вызывают опухоли у человека: HTLV-1, HTLV-2.

Вирусы Т-клеточного лейкоза человека

К семейству *Retroviridae* роду *Deltaretrovirus* относятся вирусы, поражающие CD4 Т-лимфоциты, для которых доказана этиологическая роль в развитии опухолевого процесса у людей: HTLV-1 и HTLV-2

Вирус HTLV-1 (*human T-lymphotropic virus*) является возбудителем Т-клеточного лимфолейкоза взрослых. Вирус был изолирован в 1980 г. от больного Т-лимфомой. Он является экзогенным онковирусом, который, в отличие от других онковирусов, имеет два дополнительных структурных гена: tax и rex.

Продукт tax-гена действует на терминальные повторы LTR, стимулируя синтез вирусной иРНК, а также образование ИЛ-2 рецепторов на поверхности зараженной клетки.

Продукт rex-гена определяет очередность трансляции вирусных иРНК.

HTLV-2 был изолирован от больного волосисто-клеточным лейкозом. Отличается от HTLV-1 по группоспецифическим антигенам.

Оба вируса передаются половым, трансфузионным и трансплацентарным путями. Заболевания, вызываемые вирусами, характеризуются медленным развитием (инкубационный период — до 20 лет с момента заражения) и летальным исходом. Патогенез и течение инфекции напоминают таковые ВИЧ-инфек-

ции, так как при обеих инфекциях поражается иммунная система. В крови у больных можно обнаружить антитела к вирусам. Заболевания встречаются среди представителей населения определенных географических регионов: в Сахаре, на Антильских островах, островах Юга Японии, а также в России (Восточная Сибирь, Дальний Восток). Эпидемиология Т-клеточных лейкозов изучена недостаточно. Специфическая профилактика и лечение не разработаны.

ДНК-содержащие онкогенные вирусы

Для многих ДНК-содержащих онкогенных вирусов механизмы вызываемого ими онкогенеза схожи. Это связано с тем, что большинство таких вирусов вызывают трансформацию непермиссивных клеток, т. е. тех клеток, в которых они не реплицируются с формированием нового поколения вирионов.

Существенным шагом в осуществлении онкогенеза ДНК-содержащими вирусами является экспрессия так называемых «ранних» генов. Эти гены кодируют набор белков, называемых Т- (англ. *tumor* — опухоль) антигенами, большинство из которых локализуется в ядре, но некоторые — в клеточной мембране.

В механизм онкогенеза, вызываемого ДНК-содержащими вирусами, также вовлечены клеточные белки, являющиеся продуктами опухоль-супрессирующих генов: p53 и Rb.

Белок p53 является супрессором опухолевого роста. Он представляет собой фосфопротеин, синтез которого усиливается в ответ на поврежденную ДНК. P53 активирует транскрипцию белка (WAF1), который, в свою очередь, связывает и инактивирует два важных циклина, усиливающих клеточное деление. Результатом деятельности белка p53 является ограничение деления клеток. Если же происходит репарация поврежденной ДНК, уровень p53 падает и клеточное деление восстанавливается.

Rb (англ. *retinoblastome* — ретинобластома) ген кодирует белок, который осуществляет контроль клеточной пролиферации.

Семейство Papillomaviridae включает в себя вирусы папилломы человека, кроликов, коров, собак.

Вирусы папилломы человека вызывают продуктивную инфекцию только в дифференцированных клетках плоского эпителия. Размножающиеся клетки базального слоя не способны к поддержанию полного репродуктивного цикла.

Насчитывается более 100 типов вируса папилломы человека, большинство из которых вызывает образование доброкачественных бородавок, папиллом и кондилом в области половых органов, ануса, на слизистых оболочках дыхательных путей и пищеварительного тракта, а также на коже. В клетках этих образований ДНК вируса находится в ядре в виде независимой от генома клетки плазмидной формы кольцевой двухцепочечной ДНК.

Определенные типы вируса папилломы человека, в частности типы 2, 5, 8, способны вызвать рак кожи, злокачественные опухоли в полости рта, гортани. Типы 16 и 18 почти в 100 % случаев являются возбудителями рака шейки матки.

В раковых клетках вирусная ДНК интегрирована в клеточную. Канцерогенез связан с экспрессией белков Е6 и Е7, которые инактивируют супрессирующие опухолевый рост белки p53 и Rb.

Семейство Polyomaviridae (от лат. *poly* — много, *oma* — опухоль), а также вакуолизирующий вирус обезьян SV-40 различаются между собой по антигенным свойствам.

Полиомавирусы и вирус SV-40 имеют одинаковый механизм онкогенеза. Эти вирусы вызывают продуктивную инфекцию в клетках природных хозяев. При инфицировании новорожденных животных других видов или гетерологических культур клеток они стимулируют образование опухолей широкого гистологического спектра.

В трансформированных клетках вирусная ДНК интегрирована в клеточную и экспрессирует только ранние белки. Некоторые из них, в частности Т-антиген, препятствуют связыванию белка p53 с клеточной ДНК.

Известны два вируса полиомы человека: ВК, изолированный из мочи больного, с трансплантацией почки и JC.

Вирус JC был выделен из мозга человека, страдающего прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией — заболевания,

характеризующегося демиелинизацией белого вещества мозга и встречающегося у лиц с пониженным Т-клеточным иммунитетом. Вирус JC способен вызвать развитие опухолей мозга у обезьян и новорожденных хомячков.

Вакуолизирующий вирус SV-40 был обнаружен в культуре клеток почки макаки-резуса, в которой он не вызывал ни ЦПД, ни трансформации. При заражении этим вирусом культуры клеток из почки зеленой мартышки он вызвал вакуолизацию и гибель клеток. SV-40 вызывает также развитие опухолей у хомячков, крыс и обезьян-мармозеток.

Вирус SV-40 не обладает онкогенным эффектом в отношении человека. Об этом свидетельствуют наблюдения за десятками миллионов лиц, которым в детстве (в первые годы массовых прививок против полиомиелита) был введен этот вирус, так как им были контаминированы культуры клеток почки макаки-резуса, на которых получали вакцину. Тщательные наблюдения за эти контингентом, а также за добровольцами из США, которые были инфицированы SV-40, показали, что вирус вызывает у человека бессимптомное носительство, стимулирует образование антител, но не вызывает опухолеродного эффекта.

Семейство Adenoviridae. Некоторые аденовирусы человека, особенно серотипы 12, 18 и 31, индуцируют саркомы у новорожденных хомячков и трансформируют культуры клеток грызунов. Механизм онкогенеза аналогичен таковому у полиомавирусов, за исключением того факта, что в непермиссивных клетках не вся ДНК вируса, а только 10 % генома интегрирует в ДНК-клетки, экспрессируя при этом Т-антиген.

Данные о способности аденовирусов вызывать онкогенез у человека отсутствуют.

Вирус гепатита В. ВГВ вызывает развитие первичного рака печени. Опухоль развивается у хронических носителей вируса, у которых

вирусная ДНК интегрирована в геном гепатоцита. Онкогенез связывают с возможностью интеграции вирусной ДНК в район сильно-го промотора, в результате чего начинается синтез и накопление НВх-антигена, который обладает способностью связывать супрессор опухолевого роста p53.

Семейство Poxviridae. В состав семейства входят вирусы фибромы-миксомы кролика, вирус Ябы, вызывающий развитие опухолей у обезьян, и вирус контагиозного моллюска, патогенный для человека. Этот вирус вызывает образование эритематозных узелков, локализующихся на коже лица, шеи, век, половых органов. Болезнь передается при прямом и половом контакте.

Семейство Herpesviridae. Различные представители семейства вызывают лимфомы у обезьян, карциному почки у лягушки (болезнь Люке), нейролимфому у цыплят (болезнь Марека)

Онкогенез у человека связан с вирусом простого герпеса 2 типа (ВПГ-2) и вирусом Эпштейна—Барр (ВЭБ).

ВПГ-2 связывали с развитием рака шейки матки у женщин. Эта корреляция была основана только на результатах эпидемиологического анализа. В 1996 г. ВОЗ основным возбудителем рака шейки матки признал ВПЧ 16, 18 серотипов.

С ВЭБ связывают лимфомы Беркитта — опухоли верхней челюсти, встречающейся у детей и юношей в странах Африки, и карциномы носоглотки, которая, в основном, поражает мужское население в некоторых районах Китая. В клетках опухолей обнаруживаются множественные копии интегрированного генома вируса. В ядрах пораженных клеток выявляется ядерный антиген ВЭБ. В крови больных вначале появляются антитела к капсидному антигену, а позже — к мембранному и ядерному антигенам ВЭБ.

ГЛАВА 18. ЧАСТНАЯ МИКОЛОГИЯ

В зависимости от локализации грибов, первичной колонизации организма грибами, а также от алергизирующих и токсических свойств грибов можно выделить следующие заболевания.

1. Поверхностные микозы, или кератомикозы — поражения поверхностных слоев кожи и волос.

2. Эпидермофитии (эпидермомикозы, дерматомикозы) — поражения эпидермиса, кожи и волос.

3. Подкожные, или субкутанные, микозы, вовлекающие в процесс дерму, подкожные ткани, мышцы и фасции.

4. Системные, или глубокие, микозы, при которых поражаются внутренние органы и ткани.

5. Оппортунистические микозы.

6. Алергии, вызванные грибами (пневмоаллергии и дермоаллергии).

7. Микотоксикозы — пищевые интоксикации, вызванные токсинами грибов.

18.1. Возбудители поверхностных микозов

Возбудителями поверхностных микозов (кератомикозов) являются кератомицеты — малоконтагиозные грибы, поражающие поверхностные отделы рогового слоя эпидермиса и поверхность волоса (табл. 18.1).

Лечение поверхностных микозов. Лечение направлено на удаление пораженных участков с помощью кератолитических средств. Применяют препараты, содержащие дисульфид селена, тиосульфат, амфотерицин В, салициловую кислоту. Противогрибковый эффект достигается применением нитрата миконазола, подавляющего синтез эргостерола. При инфекциях, вызванных *Piedraia hortae* или *Trichosporon beigeli* эффективно удаление волос бритвой и соблюдение личной гигиены.

18.1.1. Возбудитель разноцветного лишая (*Malassezia furfur*)

Malassezia furfur (*Pityrosporum orbicularae*) — широко распространенный дрожжеподобный липофильный грибок, обитающий в норме на коже человека. Чаще грибок находят в областях тела с повышенным количеством сальных желез из-за потребности его в сложных жирных кислотах. Кроме *M. furfur* различают еще 6 видов.

M. furfur может поражать поверхностные отделы рогового слоя эпидермиса. Вызывает разноцветный (пестрый, отрубевидный) лишай, характеризующийся появлением на коже туловища, шее, руках розовато-желтых невоспалительных пятен. Кроме гиперпигментированных пятен образуются и гипопиг-

Таблица 18.1. Характеристика кератомицетов

| Вид гриба | Болезнь | Форма гриба в ткани |
|-----------------------------|--------------------|--|
| <i>Malassezia furfur</i> | Отрубевидный лишай | В роговом слое эпидермиса короткие, изогнутые гифы и дрожжеподобные клетки |
| <i>Exophiala werneckii</i> | Черный лишай | В роговом слое эпидермиса темные, сегментированные гифы и почкующиеся клетки |
| <i>Piedraia hortae</i> | Черная пьедра | На волосе черные узелки, содержащие аски |
| <i>Trichosporon beigeli</i> | Белая пьедра | Вокруг волоса желтые узелки, содержащие фрагменты мицелия и артроконидии |

ментированные пятна. При соскабливании на пятнах появляются чешуйки, похожие на отруби, в которых находятся дрожжеподобные клетки и псевдомицелий в виде коротких, слегка изогнутых нитей.

Микробиологическая диагностика. В чешуйках, обработанных 20% щелочью, выявляются короткие, слегка изогнутые гифы и дрожжеподобные почкующиеся клетки *M. furfur*. Культивирование проводят на средах, содержащих твин 80 и липидные компоненты. Можно использовать среду Сабуро с тетрациклином. После посева в среду добавляют несколько капель стерильного оливкового масла. Рост отмечается через неделю в виде белых сливкообразных колоний, состоящих из овальных, бутылкообразных почкующихся клеток (2×6 мкм). Истинный мицелий отсутствует.

18.1.2. Возбудитель черного лишая (*Exophiala werneckii*)

Возбудитель черного лишая — *Exophiala (Phaeoanellomyces) werneckii*. Встречается в тропиках. Растет в роговом слое эпидермиса в виде почкующихся клеток и фрагментов коричневых, ветвистых, септированных гиф. На ладонях и подошвах появляются коричневые или черные пятна. Гриб образует меланин, растет на сахарных средах в виде коричневых, черных колоний. Колонии состоят из дрожжеподобных клеток. В старых культурах преобладают мицелиальные формы и конидии.

Микробиологическая диагностика. Выявление *E. werneckii* проводится путем микроскопического изучения мазка из клинического материала, обработанного гидроокисью калия.

Лечение. Назначают антимикотики местного применения.

18.1.3. Возбудитель черной пьедыры (*Piedraia hortae*)

Черная пьедра (пьедраиоз) — поверхностная инфекция волос, вызываемая *Piedraia hortae*. Встречается в тропических регионах Южной Америки и Индонезии. Колонизация волоса, вплоть до внедрения гриба в кутикулу, происходит в результате полового размножения гриба (телеоморфа). Появляются овальные, крупные (размер до 50 мкм) аски, которые содержат веретенообразные аскоспоры. Культуры, растущие на питательных средах, например на среде Сабуро, размножаются

бесполом путем (анаморфа). Колонии мелкие, темно-коричневые, с бархатистыми краями. Состоят из темно-коричневого мицелия с хламидоспорами.

Главным признаком черной пьедыры является наличие плотных черных узелков (диаметр 1 мм) на инфицированном волосе. Узелки состоят из темно-бурых, септированных, ветвящихся нитей толщиной 4–8 мкм и асков.

Микробиологическая диагностика. Выявление *P. hortae* проводится путем микроскопического исследования пораженных волос.

Лечение. Назначают антимикотики местного применения.

18.1.4. Возбудитель белой пьедыры (*Trichosporon beigelii*)

Белая пьедра (трихоспороз) — инфекция волос головы, усов, бороды, вызываемая *Trichosporon beigelii (Trichosporon cutaneum* — комплекс). Заболевание чаще встречается в странах с тропическим климатом. Этот дрожжеподобный гриб образует зеленовато-желтый чехол из твердых узелков вокруг волоса и поражает кутикулу волоса. Септированные гифы гриба, толщиной около 4 мкм, фрагментируются с образованием овальных артроконидий.

На питательной среде, например на среде Сабуро, образуются кремовые и серые морщинистые колонии, состоящие из септированного мицелия, артроконидий и бластоконидий.

Микробиологическая диагностика. Выявление *T. beigelii* проводится путем микроскопического исследования пораженного волоса и по биохимической активности чистой культуры гриба.

Лечение. Назначают антимикотики местного применения, например клотримазол.

18.2. Возбудители эпидермофитий

Возбудители эпидермофитий (эпидермомикозов, дерматофитий, дерматомикозов) — дерматофиты, или дерматомицеты; поражают кожу, ногти и волосы, вызывая трихофитию, микроспорию, фавус, эпидермофитию и др. Дерматофиты подразделяют на 3 рода: *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*. Они отличаются по способам споруляции (рис. 18.1–18.4).

Морфология и физиология. Дерматофиты образуют септированный мицелий с артроконидиями, хламидоспорами, макро — и микро-

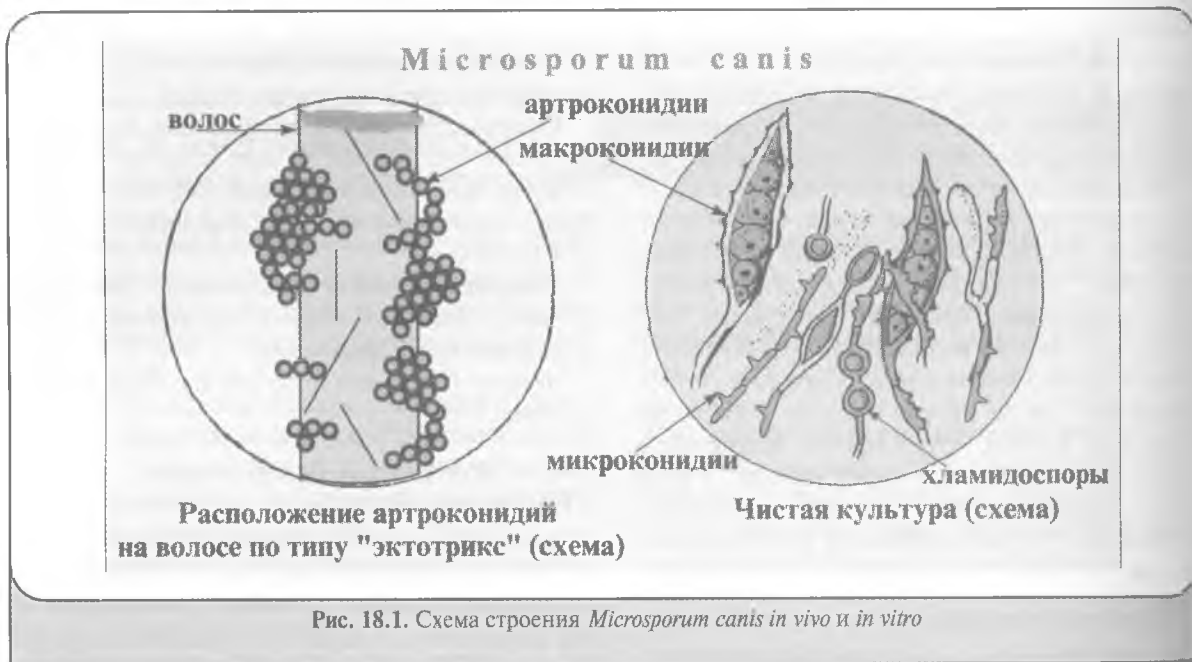


Рис. 18.1. Схема строения *Microsporum canis* in vivo и in vitro

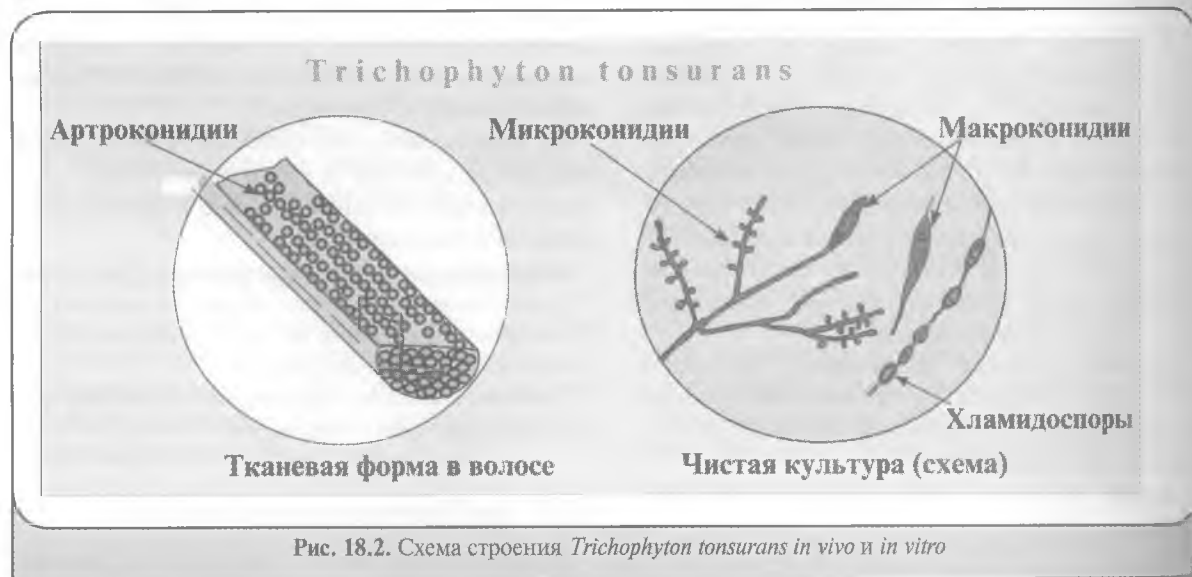


Рис. 18.2. Схема строения *Trichophyton tonsurans* in vivo и in vitro

конидиями. Макроконидии различны: у рода *Microsporum* — толстостенные, многоядерные, веретенообразные и покрыты шипами (рис. 18.1); у рода *Trichophyton* — крупные, гладкие, септированные (см. рис. 18.2 и 18.3); у рода *Epidermophyton* имеется множество гладких дубинкообразных макроконидий (см. рис. 18.4).

Грибы размножаются бесполом (анаморфы) или половым (телеоморфы) путями, образуя аски. Растут на среде Сабуро и др.

Колонии (в зависимости от вида) разноцветные, мучнистые, зернистые, пушистые.

Резистентность. Грибы устойчивы к высушиванию и замораживанию. Трихофитоны сохраняются в волосах до 4–7 лет. Дерматофиты погибают при 100 °С через 10–20 мин. Чувствительны к действию УФ-лучей, растворов щелочи, формальдегида, йода.

Эпидемиология. Около 40 видов дерматофитов вызывают патологические процессы у че-

Trichophyton mentagrophytes

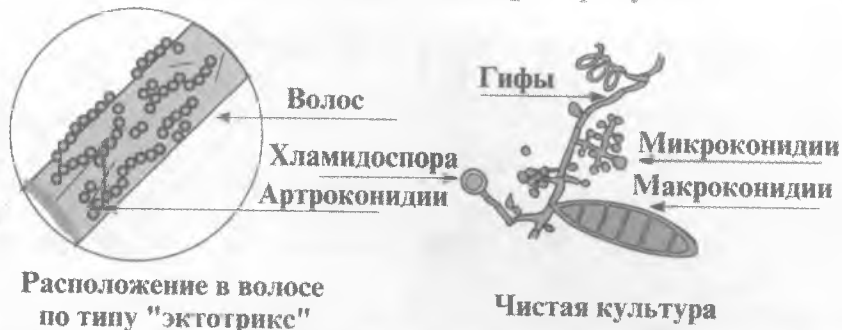


Рис. 18.3. Схема строения *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes* in vivo и in vitro

Таблица 18.2. Антропофильные дерматофиты

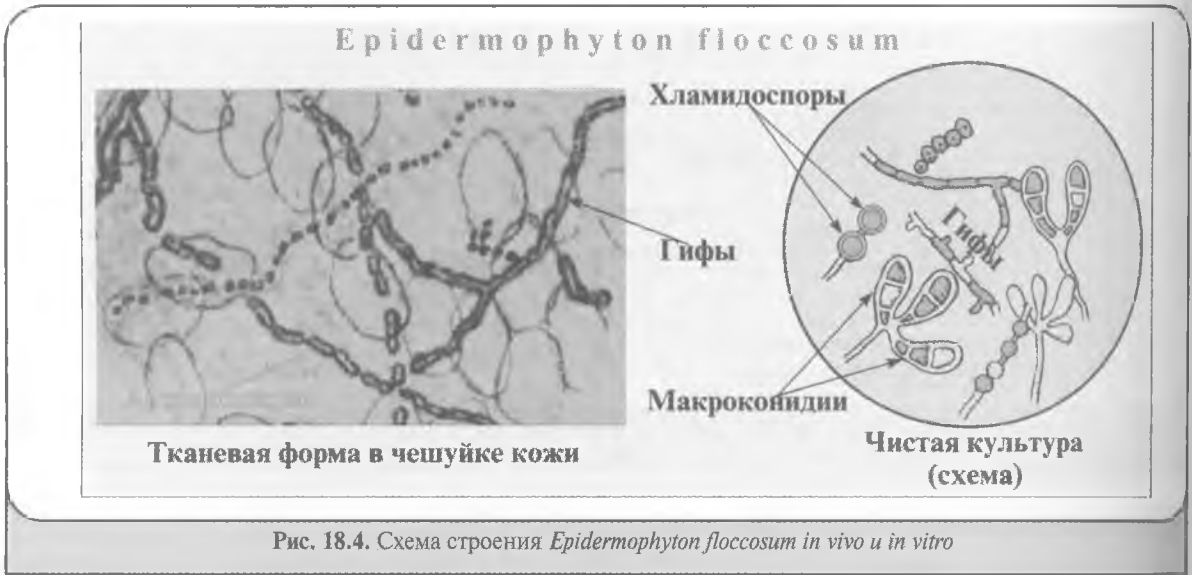
| Вид дерматофитов | Вызываемые микозы |
|--|--|
| <i>Microsporum audouinii</i> | Микроспория |
| <i>Microsporum ferrugineum</i> | |
| <i>Trichophyton tonsurans</i> | Трихофития |
| <i>Trichophyton violaceum</i> | |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i> | Эпидермофития стоп Эпидермофития ногтей (онихомикоз) |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> | Эпидермофития паховая Эпидермофития ногтей (онихомикоз) |
| <i>Trichophyton rubrum</i> | Руброфития стоп и др. Руброфития ногтей (онихомикоз) |
| <i>Trichophyton schoenleini</i> | Фавус |

Таблица 18.3. Зоофильные дерматофиты

| Вид дерматофитов | Природный резервуар | Микозы |
|---|----------------------|-------------|
| <i>Microsporum canis</i> | Кошки, собаки | Микроспория |
| <i>Microsporum gallinae</i> | Домашняя птица | |
| <i>Trichophyton verrucosum</i> | Крупный рогатый скот | Трихофития |
| <i>Trichophyton equinum</i> | Лошади | |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i> | Грызуны | |

Таблица 18.4. Геофильные дерматофиты

| Вид дерматофитов | Вызываемые микозы |
|----------------------------|-------------------|
| <i>Microsporum cookei</i> | Микроспория |
| <i>Microsporum gypseum</i> | |
| <i>Microsporum fulvum</i> | |
| <i>Microsporum nanum</i> | |



ловека. Возбудитель передается при контакте с больным человеком или животным, а также при контакте с различными объектами окружающей среды, через предметы обихода (расчески, полотенца). Люди чаще инфицируются в банях, душевых, бассейнах.

Различают антропофильные, зоофильные и геофильные грибы (табл. 18.2–18.4). *Антропофильные дерматофиты* передаются от человека человеку, *зоофильные дерматофиты* — человеку от животных. Например, *Trichophyton verrucosum* передается от крупного рогатого скота («телячий лишай»). *Геофильные дерматофиты* обитают в почве и передаются при контакте с ней. Например, *Microsporum gypseum* передается при обработке почвы голыми руками — «микроспория садоводов».

Патогенез и клиника. Развитию заболевания способствуют мацерация, мелкие повреждения кожи, повышенная потливость, ослабленный иммунитет, эндокринные нарушения, длительное применение антибиотиков и др. В зависимости от вида гриба, в различной степени поражаются кожа, волосы и ногти. Возбудители обитают на ороговевших субстратах (кератинофильные грибы). Продуцируют кератиназу, расщепляющую кератин наружных покровов. Дерматофиты не проникают далее базальной мембраны эпидермиса.

Различают дерматомироз туловища, конечностей (*tinea corporis*), лица (*tinea facialis*), сто-

пы (*tinea pedis*), ногтей (*tinea unguium*), кисти (*tinea manus*), промежности (*tinea cruris*), области бороды (*tinea barbae*), волосистой части головы (*tinea capitis*).

Волосы, пораженные грибами, обламываются; развивается плешивость, очаговое облысение. Кожа шелушится, появляются везикулы, пустулы, трещины. Развивается зуд очагов поражения. Воспаление отсутствует или может быть в выраженной форме. Например, *M. gypseum* вызывает гнойно-воспалительный процесс волосистой части головы (кериян), заканчивающийся через 8 недель умеренным рубцеванием.

Грибковые инфекции ногтей (онихомикозы) сопровождаются изменением цвета, прозрачности, толщины, поверхности, прочности и целостности ногтевой пластинки. Возбудителем онихомикоза может быть любой дерматофит, но чаще его вызывают *Trichophyton rubrum* и *Trichophyton interdigitale*.

Иммунитет. Снижение иммунитета способствует развитию микозов. У людей, инфицированных грибами, появляются антитела IgM, IgG, IgE; развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. Применяют микроскопический, микологический (культуральный), аллергологический, серологический и биологический методы диагностики.

Микроскопически исследуют соскобы с пораженной кожи, чешуйки, ногтевые пластинки,

волосы, обработанные в течение 10–15 мин 10–15% раствором КОН. При микроскопии выявляют нити мицелия, артроконидии, макро- и микроконидии, бластоспоры. Артроконидии рода *Trichophyton* (см. рис. 18.2 и 18.3) могут располагаться параллельными цепочками снаружи волоса (эктотрикс) и внутри волоса (эндотрикс). Артроконидии рода *Microsporum* располагаются мозаично снаружи волоса (см. рис. 18.1). При фавусе внутри волоса обнаруживаются элементы гриба и пузырьки газа.

При микологическом методе делают посев на питательные среды — сусло-агар, Сабуро и др. Рост грибов изучается через 1–3 недели культивирования при 25 °С.

Для серодиагностики используют РСК, РПГА, РП, РИФ, ИФА.

При аллергологической диагностике ставят кожно-аллергические пробы с аллергенами из грибов.

Биопробу ставят на лабораторных животных (морские свинки, мыши и др.), заражая их в кожу, волосы и когти.

Лечение. Проводят местную и системную противогрибковую терапию. Назначают гризефульвин, тербинафин, амфотерицин В, низорал (кетоназол), клотримазол и другие антимикотики. Пораженные ногтевые пластинки удаляют.

Профилактика. Профилактика основана на соблюдении правил гигиены (гигиена кожи, использование только личной обуви и др.), выявлении и лечении больных, обследовании контактных лиц. В эпидемических очагах проводят дезинфекцию.

18.2.1. Возбудители микроспории (род *Microsporum*)

Микроспория (син. стригущий лишай) — высококонтагиозное заболевание, в основном детей, вызываемое грибами рода *Microsporum*. Поражается преимущественно волосистая часть головы (кожа, волосы), редко ногти. Вокруг волос образуются муфты или чехлы из мозаично расположенных спор (по типу «экто — эндотрикс»).

Возбудители антропонозной микроспории M. audouinii, M. ferrugineum поражают практически только человека.

Чистая культура *M. audouinii* состоит из широкого (4–5 мкм) септированного мицелия, хламидоспор (диаметр около 30 мкм) и артроспор. Редко встречаются макро- и микроконидии.

Чистая культура *M. ferrugineum* представлена ветвистым септированным мицелием, артроспорами и хламидоспорами.

Возбудитель зооантропонозной микроспории M. canis вызывает заболевание у кошек, собак и человека. Часто бессимптомно находится в шкуре животных. Чистая культура гриба состоит из септированного мицелия, округлых хламидоспор и толстостенных, многоклеточных, веретенообразных макроконидий с шипами (см. рис. 18.1).

18.2.2. Возбудители трихофитии (род *Trichophyton*)

Трихофития (син. стригущий лишай) вызывается грибами рода *Trichophyton*. Различают антропонозную и зооантропонозную трихофитию.

Антропонозная (поверхностная) трихофития вызывается *T. tonsurans* и *T. violaceum*. Болеют только люди, чаще дети. Развивается воспаление и шелушение кожи. Волосы поражаются по типу «эндотрикс» и надламываются у поверхности кожи (см. рис. 18.2).

Чистая культура *T. tonsurans* представлена тонким (2–3 мкм), редко — септированным мицелием, грушевидными микроконидиями, артроспорами, хламидоспорами и, иногда, макроконидиями.

Чистая культура *T. violaceum* состоит из тонкого (3–4 мкм), извитого, малосептированного мицелия, разнообразных хламидоспор. В старых культурах появляются артроспоры.

Зооантропонозная (инфильтративно-нагноительная) трихофития вызывается *T. mentagrophytes var. mentagrophytes* (см. рис. 18.3). Возбудитель передается человеку от мышей, домашних животных. В коже развиваются абсцессы, гранулемы. Снаружи волос имеются артроконидии («эктотрикс»); волосы выпадают. Поражается волосистая часть головы, борода, ногти, стопы. Чистая куль-

тура гриба состоит из тонкого (2 мкм) септированного мицелия со штопорообразными гифами, а также из округлых микроконидий (2–4 мкм), хламидоспор и удлинённых макроконидий (8 × 40 мкм).

18.2.3. Возбудитель фавуса (*Trichophyton schoenleinii*)

Фавус (син. парша) — хроническое заболевание, главным образом детей, вызываемое *Trichophyton schoenleinii*. Антропоноз. Поражаются кожа, волосы и ногти.

Характерным является образование желтого цвета скутулы — скопления спор, мицелия, клеток эпидермиса и жира. В чешуйках наблюдается ветвящийся септированный мицелий с артросторами. Внутри пораженного волоса обнаруживают пузырьки газа и элементы гриба: септированный мицелий, скопления спор («эндотрикс»).

В чистой культуре *T. schoenleinii* представлен септированным мицелием с утолщениями и ветвлениями (канделябры, рога оленя), а также артросторовым мицелием, хламидоспорами и макроконидиями (8×50 мкм).

18.2.4. Возбудитель эпидермофитии паховой (*Epidermophyton floccosum*)

Эпидермофития паховая вызывается грибом *Epidermophyton floccosum*. Антропоноз. Поражаются кожа паховых складок, голеней, реже — кожа межпальцевых складок и ногтевые пластинки.

В чешуйках кожи выявляются септированный ветвящийся мицелий, прямоугольные артросторы, расположенные цепочками.

В чистой культуре *E. floccosum* состоит из септированного желтоватого мицелия, крупных хламидоспор (20–30 мкм) и тупоконечных макроконидий. Макроконидии располагаются группами на концах гиф (см. рис. 18.4).

Поражения паха (паховый дерматомикоз) могут также вызывать *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, грибы рода *Candida*.

18.2.5. Возбудитель эпидермофитии стоп (*Trichophyton interdigitale*)

Эпидермофития стоп вызывается грибом *Trichophyton interdigitale* (*T. mentagrophytes* var. *interdigitale*). Антропоноз. Поражаются ногтевые пластинки (онихомикозы) и кожа стоп (образование пузырьков, трещин, чешуек и эрозий). Волосы не поражаются.

В соскобе ногтевых пластинок и в чешуйках кожи находятся мицелий и артросторы.

Чистая культура *T. interdigitale* состоит из тонкого ветвистого септированного мицелия с грушевидными микроконидиями (2–3 мкм), макроконидий (5 × 25 мкм) и хламидоспор.

Поражения стоп могут также вызывать *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*.

18.2.6. Возбудитель руброфитии (*Trichophyton rubrum*)

Руброфития (рубромикоз) — распространенный микоз кожи туловища и конечностей, ногтей и пушковых волос, вызванный красным трихофитом (*Trichophyton rubrum*). Антропоноз.

В четко отграниченных очагах поражения кожи появляются мелкие розовые очаги, пузырьки, корочки. В чешуйках выявляют нити ветвящегося септированного мицелия, реже — артросторы.

В чистой культуре *T. rubrum* видны септированные тонкие ветвистые нити мицелия, скопления грушевидных, овальных микроконидий, а также удлинённые макроконидии (6 × 50 мкм). При старении культуры гриба появляются хламидоспоры.

18.3. Возбудители подкожных, или субкутанных, микозов

Возбудители подкожных, или субкутанных, микозов (табл. 18.5) находятся в почве, древесине или на отмирающих, гниющих растениях. Внедряясь в местах микротравмы кожи (повреждения занозой, шипом, внедрение других посторонних тел), они вовлекают в процесс глубокие слои дермы, подкожные ткани, мыш-

Таблица 18.5. Возбудители подкожных, или субкутанных, микозов

| Возбудитель | Микозы |
|--|------------------------|
| <i>Sporothrix schenckii</i> | Споротрихоз |
| <i>Fonsecaea compacta</i> , <i>Fonsecaea pedrosoi</i> , <i>Phialophora verrucosa</i> , <i>Cladophialophora carrionii</i> , <i>Exophiala jeanselmei</i> | Хромобластомикоз |
| <i>Madurella grisea</i> , <i>Phialophora cryanescens</i> , <i>Exophiala jeanselmei</i> , <i>Pseudallescheria boydii</i> , <i>Acremonium (Cephalosporium) falciforme</i> , <i>Leptosphaeria senegalensis</i> , <i>Curvularia spp.</i> | Мицетома (мадуромикоз) |
| Главным образом виды <i>Exophiala</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Wangiella</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohilum</i> , <i>Cladophialophora</i> , <i>Phaeoannellomyces</i> , <i>Aureobasidium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Phoma</i> | Феогифомикоз |

цы и фасции. К подкожным микозам относятся споротрихоз, хромобластомикоз, феогифомикоз и эумикотическая мицетома.

18.3.1. Возбудитель споротрихоза (*Sporothrix schenckii*)

Споротрихоз (болезнь Шенка) — хроническая болезнь с локальным поражением кожи, подкожной клетчатки и лимфоузлов. Возбудитель (*Sporothrix schenckii*) впервые описан Шенком в 1898 г.

Морфология и физиология. *Sporothrix schenckii* — диморфный гриб. В организме больного он растет в дрожжевой (тканевой) форме, образуя сигарообразные, овальные клетки диаметром 2–6 мкм. Выявляются также астероидные тела (10–20 мкм). Астероидные тела образованы дрожжеподобными клетками и окружены лучеобразными радиально расположенными структурами.

На питательной среде (глюкозный агар, среда Сабуро, при 18–30 °С) гриб образует складчатые белые или темные колонии, состоящие из тонкого септированного мицелия (мицелиальная форма) со скоплениями овальных конидий в виде «цветов маргаритки». Встречаются также «сидячие» (на гифах) конидии более темного цвета. Конидии (споры) связаны с гифами волосками, отсюда и их название — *Sporothrix*.

Эпидемиология. *S. schenckii* в мицелиальной форме обитает в почве и на гниющем растительном материале; его находят в древесине,

в воде и воздухе. Распространен в тропиках и субтропиках. Чаще болеют лица, занятые на сельскохозяйственных работах. Возбудитель попадает в участки микроповреждений кожи контактным путем (болезнь работающих с розами). При первичной легочной форме возможно попадание его по аэрогенному механизму.

Патогенез и клиника. На месте проникновения *S. schenckii* через поврежденную кожу образуются язва неправильной формы, узелки и абсцессы. Гриб распространяется лимфогенным путем. По ходу проксимальных лимфатических путей формируются узелки с последующим их изъязвлением. Наиболее распространенная форма болезни — **лимфангический (лимфокожный) споротрихоз**. Пораженные участки уплотнены и безболезненны. Узелковые поражения кожи могут появляться и при микобактериозах, вызываемых условно-патогенными микобактериями (*M. marinum* и др.).

Иногда происходит диссеминация возбудителя с развитием висцерального споротрихоза: поражаются легкие, костная система, органы брюшной полости и мозг. Возможно развитие и первичного легочного споротрихоза.

Иммунитет. При споротрихозе появляются антитела, развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом исследовании мазка или биоптата из очага поражения выявляют дрожжеподобные клетки и «астероидные тела» гриба.

Чистую культуру гриба, в виде мицелиальной фазы, выделяют путем культивирования на питательных средах при 22–25 °С в течение 7–10 дней (при 37 °С развивается дрожжевая форма гриба). В случае интестестулярного введения морским свинкам взвеси выращенного мицелия происходит его превращение в дрожжевую форму.

В сыворотке крови больных выявляют антитела в РА, РП, ИФА и др.

Лечение. Локальные поражения лечат йодидом калия, а системные — амфотерицином В.

Профилактика. Профилактика не разработана.

18.3.2. Возбудители хромобластомикоза

Хромобластомикоз (хромомикоз) — хроническая гранулематозная болезнь с поражением кожи, подкожной клетчатки и нижних конечностей.

Возбудители хромомикоза (*Fonsecaea compacta*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Phialophora verrucosa*, *Cladophialophora carrionii*, *Exophiala jeanselmei*, *Rhinosporidium seeberi*) являются диморфными грибами. Они относятся (наряду с возбудителями феогифомикозов и мицетомы) к *демацевым грибам*, характеризующимся коричнево-черным оттенком колоний и клеточных стенок элементов гриба. Темный оттенок обусловлен наличием в них меланинов.

Морфология и физиология. Возбудители находятся в тканях и экссудатах в виде скоплений округлых делящихся клеток (диаметр 10 мкм).

Грибы, выращенные на среде Сабуро, образуют пушистые колонии темно-коричневых тонов, состоящие из септированного мицелия и разного типа конидий.

Эпидемиология. Возбудители хромобластомикоза обитают в почве на растениях, в гнилой древесине. Передаются контактным путем. Больной не заразен для окружающих. Чаще заболевания встречаются в тропиках и субтропиках.

Патогенез и клиника. Возбудитель попадает в микро-травмы кожи, причем чаще на ступнях и голенях. В течение нескольких месяцев или лет на коже образуются бородавчатые узелки, появляются абсцессы и рубцовые изменения. Вокруг первичного поражения образуются сателлитные изменения в виде цветной капусты.

Иммунитет. При хромомикозе появляются антитела, развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. В патологическом материале, обработанном 10% раствором КОН, выявляются коричневые округлые клетки возбудителя и его тела (так называемые склероции) с перегородками. Исключение составляет *Exophiala jeanselmei*, отличающийся образованием септированных гиф, а также *Rhinosporidium seeberi*¹, образующий спорангии и спорангиоспоры.

При культивировании на агаре Сабуро при 20–25 °С возбудители хромобластомикоза образуют медленно растущие колонии (рост 5–30 дней), состоящие из черного септированного мицелия и разного типа конидий.

Лечение. При лечении хромобластомикоза применяют итраконазол, 5-флуцитозин и амфотерицин В. Проводят также хирургическое удаление пораженных участков.

Профилактика. Не разработана.

18.3.3. Возбудители феогифомикоза

Феогифомикоз — микоз, вызванный множеством демациевых (коричнево-пигментированных) грибов, образующих в тканях гифы (мицелий).

Этиологические агенты включают различные демациевые гифомицеты², особенно представители родов *Exophiala*, *Phialophora*, *Wangiella*, *Bipolaris*, *Exserohilum*, *Cladophialophora*, *Phaeoannellomyces*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Alternaria*, *Phoma*. Феогифомикоз (феомикотическая киста) развивается после попадания из почвы демациевых грибов в микроповреждения кожи. Образуется безболезненная осумкованная масса, которая некротизируется, и развивается подкожный абсцесс. В тканях, гное обнаруживают коричневые дрожжеподобные клетки, псевдогифы и гифы. Эти грибы могут вызывать оппортунистические инфекции, в том числе синусит (например, виды *Bipolaris*, *Exserohilum*, *Curvularia*, *Alternaria* у больных с хроническим аллергическим ринитом или иммуносупрессией), и абсцесс мозга при имму-

¹ *Rhinosporidium seeberi* является возбудителем риноспориидоза — хронической гранулематозной болезни, сопровождающейся образованием больших полипов и повреждений носа или конъюнктивы (обычно в Индии и Шри-Ланке).

² Различают также не демациевые грибы — **гиалогифомицеты** (гиалиновые гифомицеты), образующие мицелии. Они вызывают **гиалогифомиоз**, этиологическими агентами которого являются различные виды: *Acremonium*, spp., *Beauveria*, spp., *Fusarium* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Scopulariopsis*.

нодефицитах после ингаляции конидий. Чаще поражения мозга вызывает нейротропный гриб *Cladophialophora bantiana*.

Микробиологическая диагностика. В патологическом материале (соскобы кожи, биоптаты тканей, мокрота, цереброспинальная жидкость и др.), обработанном 10% раствором КОН, выявляют коричневые септированные гифы. Делают посевы на питательные среды типа Сабуро-декстрозный агар.

Лечение. Хирургическое удаление пораженных участков; назначают амфотерицин В, итраконазол.

18.3.4. Возбудители мицетомы

Мицетома (мадуromикоз, «мадурская нога») — хронический гнойно-воспалительный процесс подкожной клетчатки и смежных тканей.

Возбудителями мицетомы являются демадиевые грибы (эумикотическая мицетома) или актиномицеты (актиномицетома) родов *Actinomyces*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Actinoadura*. Среди грибов встречаются: *Madurella grisea*, *Phialophora cryanescens*, *Exophiala jeanselmei*, *Pseudallescheria boydii*, *Acremonium (Cephalosporium) falciforme*, *Leptosphaeria senegalensis*, *Curvularia spp.*

Эпидемиология. Возбудители мицетомы обитают в почве и на растениях. Передаются контактным путем. Возможна также аэрогенная передача с поражением дыхательных путей. Мицетома чаще встречается в тропиках и субтропиках.

Патогенез и клиника. Возбудители проникают в организм через поврежденную кожу. Постепенно образуются папулы, глубинные узлы и абсцессы. Деструктивный процесс затрагивает фасции, мышцы и кости. Развивается фибринозная ткань. Чаще поражаются нижние конечности. Стопа отекает и деформируется.

Микробиологическая диагностика. В гное, биоптате, обработанном раствором КОН, выявляют характерные разноцветные «зерна» (0,5–2 мкм в диаметре), септированные гифы и хламидоспоры грибов. Гифы *Pseudallescheria boydii* трудно отличить от *Aspergillus*. При наличии актиномицет видны друзы и ветвящиеся тонкие бактериальные нити.

Лечение. При мицетоме, вызванной грибами, применяют 5-флуцитозин, кетоконазол, амфотерицин В. Проводят также хирургическое удаление пораженных участков.

Профилактика. Не разработана.

18.4. Возбудители системных, или глубоких, микозов

18.4.1. Возбудители гистоплазмоза (*Histoplasma capsulatum*, *H. duboisii*)

Гистоплазмоз — природно-очаговый глубокий микоз, характеризующийся преимущественным поражением дыхательных путей.

Различают *американский гистоплазмоз* (*H. capsulatum*) и *африканский* (*H. duboisii*) *гистоплазмоз*, который регистрируется только на Африканском континенте. Для последнего характерны поражения кожи, подкожной клетчатки и костей у сельских жителей, а также у лиц, контактирующих с почвой и пылью. Кроме человека, в природных условиях этим микозом болеют обезьяны бабуины.

Морфология. Диморфные грибы; мицелиальная фаза представлена септированным мицелием толщиной 1–5 мкм, микроконидиями сферической или грушевидной формы диаметром 1–6 мкм, бугристыми макроконидиями диаметром 10–25 мкм. При 35–37 °С растут в виде дрожжевых клеток, размеры которых составляют у *H. capsulatum* — 1,5÷2×3÷3,5 мкм, а у *H. duboisii* — 15–20 мкм.

Культуральные свойства. Колонии дрожжеподобные, блестящие, мягкой консистенции. Оптимальная температура роста 25–30 °С, рН 5,5–6,5, но возможен рост в широких интервалах рН 5–10.

Антигенная структура. *H. capsulatum* имеет общие антигены с *Blastomyces dermatitidis*. При росте на жидкой среде в течение 3 суток мицелиальная форма продуцирует экзоантигены h, m которые можно определять с помощью иммунодиффузии в геле.

Факторы патогенности. Микроконидии.

Устойчивость. Микроконидии обладают высокой устойчивостью во внешней среде, сохраняя жизнеспособность в сухой почве около 4 лет, в воде при 4 °С — около 600 дней. Чувствительны к амфотерицину В и кетоконазолу, а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Гистоплазмоз — сапроноз; естественной средой обитания является почва. Гриб хорошо вегетирует в почве, загрязненной

пометом птиц и летучих мышей, где он растет в виде мицелия. Экология *H. duboisii* изучена недостаточно, сообщения о выделении этого вида из почвы носят единичный характер.

Источником возбудителя инфекции для человека и животных служит почва эндемичных зон. Эндемические зоны выявлены в Северной, Центральной и Южной Америке, странах Карибского бассейна, Южной Африке, Индии, Юго-Восточной Азии, Новой Зеландии и Австралии. Больные люди и животные не заразны для окружающих. Механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-пылевой. Восприимчивость населения — всеобщая.

Патогенез и клиника. Заражение происходит микроконидиями, которые трансформируются в организме в дрожжевые клетки. Инкубационный период — около 10 дней. Клинические проявления болезни зависят от иммунного статуса организма: острые формы наблюдаются у детей в силу особенностей их иммунной системы, хронические диссеминированные формы, как правило, развиваются на фоне недостаточности клеточного звена иммунитета.

Иммунитет. Клеточный, но его напряженность и длительность не изучены.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат гной из язвенных поражений кожи и слизистых оболочек, мокрота, кровь, моча, ликвор, пунктаты костного мозга, селезенки, печени, лимфатических узлов и подкожной клетчатки.

Используют *микроскопический, микологический, биологический, серологический, аллергологический и гистологический методы диагностики. Работа с возбудителем проводится в лабораториях особо опасных инфекций.*

Микроскопическое исследование гноя и экссудата позволяет выявлять гистоплазмы в гиперплазированных клетках системы мононуклеарных фагоцитов в виде овальных дрожжеподобных клеток размером 10–15 мкм, располагающихся внеклеточно или внутри моноцитов и макрофагов. Мазки окрашивают по Романовскому—Гимзе.

Для выделения чистой культуры исследуемый материал сеют на среду Сабуро, сывороточный или кровяной агар, а также заражают куриные эмбрионы.

Для стимуляции роста в среды добавляют тиамин, для подавления роста бактерий — пе-

нициллин и стрептомицин. Часть посевов выращивают при 22–30 °С, а другую — при 37 °С в течение 3 недель. Затем выделенную культуру идентифицируют по морфологическим признакам и результатам биопробы на мышах. Выявление двухфазного гриба с характерной морфологией мицелиальной фазы (тонкий септированный мицелий, микроконидии и бугристые макроконидии) и дрожжевых колоний, состоящих из мелких клеток, позволяет идентифицировать *H. capsulatum*. Выделение лишь мицелиальной формы гриба требует доказательства его диморфизма. Трансформация достигается либо выращиванием мицелиальных элементов при 30–35 °С, либо внутрибрюшинным заражением мышей, которые на 2–6-й неделе погибают, и во внутренних органах выявляют мелкие дрожжи.

Выделить чистую культуру можно путем внутрибрюшинного заражения белых мышей или золотистых хомячков. Через месяц животных забивают, измельченную печень и селезенку засевают в среду Сабуро с глюкозой и выращивают 4 недели в термостате при 25, 30 и 37 °С, после чего посеvy исследуют на наличие гистоплазм.

Выделение культуры при первичном гистоплазмозе затруднено из-за минимальных изменений в легких, поэтому в таких случаях следует ориентироваться на результаты серологических реакций, из которых наиболее эффективны РП и РСК с гистоплазмином. РП, иммунодиффузия и латекс-агглютинация становятся положительными на 2–5-й неделе после заражения. Позднее выявляется положительная РСК, титры которой повышаются при генерализации инфекции.

Положительная внутрикожная проба с гистоплазмином (1:100) появляется на ранней стадии заболевания и сохраняется в течение многих лет. Диагностическое значение имеет лишь переход ранее отрицательной реакции в положительную. Гистоплазминовая внутрикожная проба может стимулировать антителогенез, поэтому ее надо ставить после серологических исследований.

Для гистологического исследования препараты-срезы окрашивают реактивом Шиффа, но наиболее четкие результаты дает метод Гомори—Грокотта: дрожжевые клетки окрашиваются

в черный или коричневый цвет. Возбудитель можно обнаружить в цитоплазме лимфоцитов, гистиоцитов в виде небольших округлых одиночных или почкующихся клеток.

Лечение. Препарат выбора — кетоконазол. Для лечения неясных и быстро прогрессирующих форм применяют амфотерицин В.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана.

18.4.2. Возбудитель бластомикоза (*Blastomyces dermatitidis*)

Бластомикоз (син. североамериканский бластомикоз, болезнь Джилкрайста) — хронический микоз, первично повреждающий легкие и склонный к гематогенной диссеминации у некоторых больных, приводящей к поражению кожи и подкожной клетчатки, костей и некоторых внутренних органов.

Морфология. Двухфазный гриб; мицелиальная фаза образуется при 22–30 °С; мицелий ветвящийся септированный, поперечный размер около 3 мкм. Микроконидии округлые, овальные или грушевидные размером 2 × 10 мкм, прикрепляющиеся к боковым конидиеносцам. В большом количестве выявляются бугристые хламидоспоры, напоминающие макроконидии гистоплазм. При 37 °С и в пораженном организме гриб представлен дрожжевой фазой. Дрожжевые клетки крупные (10–20 мкм), многоядерные, несут единичные почки, прикрепляющиеся к материнской клетке широким основанием.

Культуральные свойства. Не отличается прихотливостью к питательному субстрату.

Антигенная структура. Обладает общими антигенами с *H. capsulatum*. При росте на жидкой среде в течение 3 суток мицелиальная форма продуцирует экзоантиген А, который можно определить с помощью иммунодиффузии в геле.

Факторы патогенности. Микроконидии.

Устойчивость. В почве — низкая. Чувствительны к амфотерицину В и кетоконазолу, а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Бластомикоз — сапроноз; естественной средой обитания является почва

эндемичных зон (южные и южно-центральные штаты США, Канада, Южная Америка и Африка).

Источником возбудителя инфекции является почва эндемичных зон. Механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-пылевой. Массивное попадание дрожжевых клеток может приводить к внедрению возбудителя через слизистые оболочки. Восприимчивость населения — всеобщая, больные не заразны для окружающих.

Патогенез и клиника. Микроконидии попадают в легкие, где развиваются первичные очаги воспаления. Микроконидии трансформируются в дрожжевые клетки крупных размеров. На ранних стадиях заболевания очаги воспаления инфильтрированы гранулоцитами, которые затем замещаются эпителиоидными и гигантскими клетками. Даже при формировании гранулемы выявляются участки нагноения и некроза, соседствующие с неповрежденными тканями. Выраженные процессы альтерации определяют массивность выделения гриба с патологическим материалом. Имеют место случаи первичного бластомикоза кожи, развившегося после травмы. Развитию микоза способствуют сахарный диабет, туберкулез, гемобластозы, иммуносупрессивные состояния; у таких лиц бластомикоз проявляет склонность к диссеминации. Диссеминированная (системная) форма заболевания может развиться спустя несколько лет после первичного легочного поражения. В патологический процесс могут вовлекаться любые органы, но чаще поражаются кожа, кости, органы мужской мочеполовой системы, надпочечники.

Инкубационный период колеблется от нескольких недель до 4 месяцев. Заболевание может начинаться по типу респираторной инфекции с минимальной симптоматикой или же остро и сопровождаться внезапным подъемом температуры, кашлем с выделением гнойной мокроты, миалгиями и артралгиями. Пневмония нередко заканчивается в течение 6–8 недель без лечения, однако в последующем у ряда таких больных развивается диссеминированная форма микоза. Распространенная пневмония нередко приводит к гибели больного, несмотря на своевременное лечение.

При кожной форме заболевания первичные очаги представлены узелками, из которых формируются веррукозные язвы с нависающими краями. Участки изъязвления с гнойным отделяемым чередуются с зонами рубцевания. Язвенные поражения могут охватывать слизистую оболочку ротовой полости, распространяясь на глотку и гортань.

Иммунитет. Развивается по клеточному типу, но его напряженность и длительность не изучены.

Микробиологическая диагностика. Исследуемым материалом служит гной из свищей и абсцессов, ликвор, мокрота, моча, пунктат лимфатических узлов.

Применяют *микроскопический, микологический, биологический, серологический и аллергологический методы диагностики.*

При *микроскопическом исследовании* в нативном препарате, осветленном щелочью, обнаруживают круглые или овальные крупные дрожжевые клетки с двухконтурной клеточной стенкой, которые образуют единичную почку с широким основанием.

Для выделения чистой культуры исследуемый материал сеют на среду Сабуро, сахарный агар, пивное сусло. Посевы инкубируют при температуре 37 °С для получения дрожжевых клеток и при 25–30 °С — мицелиальной фазы. Трансформация дрожжевых клеток в мицелий достигается снижением температуры выращивания до 25–30 °С.

Характерные морфологические элементы мицелиальной фазы удается наблюдать на 2–3-й неделе инкубации. В мазках из культуры гриба обнаруживают капсулу, широкий септированный мицелий с толстыми стенками. Конидии круглые, овальные или грушевидные. В старых культурах образуются хламидоспоры.

Биопробу ставят путем заражения белых мышей с последующим посевом пораженной ткани на питательные среды.

Для *серодиагностики* применяют РСК. Комплементсвязывающие антитела в достаточных титрах выявляются на поздних стадиях заболевания.

Внутрикожные *аллергические пробы* ставят с аллергеном бластомицином.

Лечение. Препарат выбора — кетоконазол. Для лечения неясных и быстро прогрессирующих форм применяют амфотерицин В.

Профилактика. Не разработана.

18.4.3. Возбудитель кокцидиоидоза (*Coccidioides immitis*)

Кокцидиоидоз — эндемичный системный микоз с преимущественным поражением дыхательных путей.

Морфология. Диморфный гриб; в естественных условиях и культивировании при комнатной температуре (20–22 °С) растет в виде мицелиальной фазы. Мицелий септированный, шириной 2–4 мкм, лишен микроконидий. По мере роста культуры цитоплазматическое содержимое концентрируется, мицелиальная трубка в области септ запусевает, затем клеточная стенка мицелия разрывается и мицелиальная нить распадается на артроспоры шириной 1,5–2,3 мкм и длиной 1,5–15,0 мкм. Фрагментация наблюдается на 10–12-е сутки культивирования.

Культуральные свойства. Не требователен к питательным средам; на среде Сабуро образует при комнатной температуре разнообразные колонии белого, серого или коричневого цвета.

Антигенная структура. При росте на жидкой среде в течение 3 суток мицелиальная форма продуцирует экзоантигены HS, F, HL, которые можно определить с помощью иммунодиффузии в геле.

Факторы патогенности. Вирулентность связана с интенсивностью образования артроспор; снижение артроспорообразования у музейных штаммов сопровождается падением их вирулентности.

Устойчивость. Артроспоры гриба обладают высокой устойчивостью к факторам внешней среды; чувствительны к антибиотикам (амфотерицину В, кетоконазолу, миконазолу), а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Экологической нишей гриба является почва эндемичных зон (западные и юго-западные штаты США, Центральная и Южная Америка). Гриб преимущественно выявляется в зонах пустынь и полупустынь, но встречается также в тропических зонах и прибрежных лесных массивах (Северная Калифорния). Почва является естественной средой обитания гриба, вовлечение в его жизненный цикл организма человека и животных — случайный момент и не является условием сохранения возбудителя как биологического вида.

Кокцидиоидоз — сапроноз. Источником возбудителя инфекции является почва эндемичных зон, в которой в течение влажного периода года идет интенсивный рост гриба, а с наступлением сухого сезона мице-

лий распадается на артрспоры, являющиеся единственным инфицирующим элементом. Больной человек не заразен для окружающих. Механизм передачи — аэрогенный и контактный, путь — воздушно-пылевой. Любое соприкосновение с зараженной почвой в эпидемических зонах может приводить к заражению. Восприимчивость населения — всеобщая, для возникновения болезни достаточно аспирации 10 артрспор. Наибольшему риску заражения подвержены лица с различными иммунодефицитами.

Патогенез. После заражения артрспоры в организме хозяина трансформируются в тканевую форму — сферулу. Сферулы представляют собой округлые образования размером 20–90, реже — 200 мкм с мощной двухконтурной клеточной стенкой шириной до 5 мкм. При разрыве клеточной стенки сферул содержащиеся в них эндоспоры распространяются по организму, что обеспечивает диссеминацию возбудителя и формирование вторичных очагов. Развивается ГЗТ. Вторичный кокцидиоидоз развивается у лиц со сниженным клеточным иммунитетом на антигены возбудителя. Подобный Т-клеточный иммунодефицит служит причиной развития тяжелой пневмонии с последующим распространением гриба по организму из первичного очага воспаления.

Клиника. Инкубационный период 1–6 недель. Клиническая картина неспецифическая и определяется характером пораженных грибами органов. Для вторичного генерализованного кокцидиоидоза характерна триада признаков:

- 1) хроническое течение: ремиссии сменяются обострениями в течение десятилетий;
- 2) наличие фистулезных ходов, открывающихся на поверхности тела, нередко удаленных от очага гнойного воспаления;
- 3) наличие сферул в патологическом материале.

Иммунитет. Клеточный.

Основную роль играют Т-эффекторы, в том числе и Т-эффекторы ГЗТ, которые накапливаются на 2–3-й неделе заболевания. Фагоцитоз незавершенный, фагоциты не способны защитить организм на стадии проникновения возбудителя. Антитела и комплемент не играют роли в защите организма; напротив, наличие антител при отрицательной ГЗТ на антигены гриба является плохим прогностическим признаком.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат гной, мокрота, кровь, ликвор, биопсийный материал.

Применяют *микроскопический, микологический, биологический, серологический и аллергологический методы диагностики.*

Микроскопическое исследование нативных и окрашенных по Мак—Манусу или Граму—Вейгеру препаратов позволяет обнаружить тканевую фазу гриба — сферулу (шаровидные с двухконтурной оболочкой образования, наполненные мелкими округлыми эндоспорами).

Несмотря на характерную морфологию сферулы, возможны артефакты: макрофаги, содержащие фагоцитированные минеральные частицы («пылевые» клетки), а также скопления детрита гранулоцитов могут имитировать сферические структуры, трудноотличимые от тканевой фазы возбудителя. Диагностика, основанная лишь на поиске сферул, ведет к ложноположительным результатам. Простой способ, позволяющий исключить артефакты, заключается в проращивании сферул: патологический материал смешивают в равных объемах с дистиллированной водой, готовят препарат методом «раздавленной капли», покровное стекло герметизируют парафином и инкубируют при 37 °С. Истинная сферула через 4–6 ч порастает нитями мицелия, исходящими из эндоспор.

Микологическое исследование проводят с соблюдением особого режима. На плотных питательных средах кокцидиококки образуют при температуре 37 °С колонии кожистой консистенции, врастающие в субстрат; при температуре 25 °С развивается мицелиальная форма гриба.

Мицелий септирован, хламидоспоры крупные, расположены на концах и по бокам мицелия. Типичные артрспоры формируются на 10–12-й день инкубации.

Биологическое исследование проводят на хомьяках и самцах морской свинки. Заражение экспериментальных животных интрастестиккулярно и интраперитонеально приводит к развитию тканевых форм гриба — сферул.

Для *серодиагностики* используют РА, РП, РСК, РНГА, РИФ. РП становится положительной у 53 % больных на 1-й неделе и у 91 % больных на 2–3-й неделе заболевания. Четкие диагностические титры РСК отсутствуют, поэтому в целях диагностики определяют 4-кратную сероконверсию. Динамика

РСК имеет также и прогностическое значение: увеличение ее титра свидетельствует о генерализации процесса.

Внутрикожная *аллергическая проба* с кокцидиоидином имеет диагностическое значение лишь у лиц, у которых она в начале заболевания была отрицательной; в иных случаях эта проба может служить показателем инфицированности и используется для определения границ эндемичной зоны.

Лечение. Для лечения первичной инфекции применяют амфотерицин В. Вторичный генерализованный кокцидиоидоз лечат кетоконазолом, миконазолом.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана. Для предупреждения внутрилабораторных заражений все манипуляции с подозрительными культурами надо производить после предварительной их заливки стерильным физиологическим раствором, что исключает распыление артроспор.

18.4.4. Возбудитель паракокцидиоидоза (*Paracoccidioides brasiliensis*)

Паракокцидиоидоз (син. южно-американский бластомикоз, синдром Лутца—Спландоре—Алмейды) — хронический микоз, характеризующийся поражением легких, кожи, слизистых оболочек ротовой полости и носа с развитием у некоторых больных диссеминированной формы заболевания.

Морфология. Диморфный гриб, формирующий при температуре 37 °С дрожжевую фазу, а при 20–30 °С — мицелиальную. Дрожжевые клетки — крупных размеров (10–60 мкм) с множественными почками диаметром 2–10 мкм. Мицелий гриба тонкий септированный, образует хламидоспоры. Микроконидии размером 2–3 мкм.

Культуральные свойства. Гриб неприхотлив к питательному субстрату, активно размножается в стерильной почве, частичках овощей, воде. На естественных субстратах (дрожжевой экстракт, почвенная вытяжка) наблюдается интенсивная споруляция.

Биохимическая активность. При культивировании дрожжевых клеток в питательной

среде накапливается фунгицидный метаболит, близкий по химической структуре к фенолу и бензойной кислоте, вызывающий денатурацию белка.

Антигенная структура. При росте на жидкой среде в течение 3 суток мицелиальная форма продуцирует экзоантигены 1, 2, 3, которые можно определить с помощью иммунодиффузии в геле.

Факторы патогенности. Микроконидии.

Устойчивость. Дрожжевая фаза малоустойчива во внешней среде. Мицелий устойчив к изменениям pH, температурным колебаниям и высушиванию. Чрезвычайно чувствителен к антагонистическому действию нормальной микрофлоры окружающей среды. Чувствителен к кетоконазолу и амфотерицину В, а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Паракокцидиоидоз — сапроноз; естественной средой обитания является почва эндемичных зон (Южная Америка, Мексика и др.). Источник возбудителя инфекции — почва эндемичных зон. Механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-пылевой. Восприимчивость населения неизвестна, среди заболевших преобладают сельские жители. Больные не заразны для окружающих.

Патогенез и клиника. Заражение осуществляется микроконидиями. Локализация очагов поражения — на коже и слизистой оболочке ротовой полости, носа и в легких. Кожные поражения носят язвенный или веррукозный характер, в пределах которых чередуются участки нагноения и рубцевания. При диссеминации поражаются кости, надпочечники, печень, мозг, кожа и слизистые оболочки. У всех больных в воспалительный процесс вовлекается селезенка.

Болезнь описана только у человека. Инкубационный период — от одного до нескольких месяцев. У большинства больных образуются язвы на слизистой оболочке ротовой полости или носа, отличающиеся безболезненностью. Обычно очаги множественные, реже встречаются единичные пустулезные поражения или подкожные абсцессы. Язвенные поражения кожи и слизистых оболочек сопровождаются увеличением регионарных лимфатических узлов. Легочные поражения сопровождаются кашлем, болями в грудной клетке, образованием инфильтратов, выявляемых рентгенографически.

Иммунитет. Клеточный, мало изучен.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служит гной, ликвор, мокрота, моча, пунктат лимфатических узлов.

Применяют *микроскопический, микологический, биологический, серологический и аллергологический методы диагностики.*

При *микроскопическом исследовании* изучают нативные или окрашенные по Граму, Романовскому—Гимзе и другими методами мазки из исследуемого материала. Клетки гриба крупные, имеют круглую или эллипсоидную форму и толстые стенки. Материнская клетка окружена мелкими дочерними почками и имеет вид короны. Аналогичные клетки выявляются и в тканевых срезах. Морфология дрожжевой фазы настолько характерна, что при выявлении таких клеток гриба диагноз не вызывает сомнений.

Для выделения чистой культуры материал сеют на питательные среды с углеводами, кровяной и сывороточный агар, которые инкубируют при температуре 25–30 °С и 37 °С для получения соответственно мицелиальных и дрожжевых колоний. Возбудитель растет медленно, образуя через 3 недели колонии, напоминающие дрожжевые.

Биопробу ставят на мышках или морских свинках, заражая их внутрибрюшинно исследуемым материалом и выделяя чистую культуру из их внутренних органов.

При *серологическом исследовании* определяют антитела в сыворотке больных в РП или РСК, особенно на поздних сроках болезни. Диагностическое значение имеют РП и РСК в титре 1:16 и более с параккокцидиоидином.

Аллергическая проба ставится с аллергеном из тканевой формы гриба.

Лечение. Препарат выбора — кетоконазол, также применяют амфотерицин В.

Профилактика. Не разработана.

18.4.5. Возбудитель криптококкоза (*Cryptococcus neoformans*)

Криптококкоз (син. торулез, европейский бластомикоз, болезнь Буссе—Бушке) — подострый или хронический диссеминированный микоз, обычно наблюдаемый у лиц с выраженным иммунодефицитом. Характеризуется поражением кожи, слизистых оболочек полости носа и рта, крови, ЦНС.

Возбудитель криптококкоза — условно-патогенный дрожжеподобный гриб *Cryptococcus neoformans* (совершенная форма — *Filobasidiella neoformans*). Среди грибов рода *Cryptococcus* только два вида патогенны для человека и вызывают криптококкоз: *C. neoformans* (основной возбудитель) и *C. laurentii* (отмечены спорадические заболевания).

Морфология. Гриб имеет форму круглых, реже овальных дрожжевых клеток размером 6–13 мкм (иногда до 20 мкм), которые окружены капсулой, размер которой может достигать 5–7 мкм, а порой превышает поперечник вегетативной клетки. Капсула состоит из кислого полисахарида, ее размеры напрямую зависят от вирулентности штамма. Инвазивные формы представлены дрожжевыми клетками, окруженными большой капсулой, придающей им значительные размеры (до 25 мкм).

Культуральные свойства. Неприхотлив к питательному субстрату и хорошо растет на обычных средах (Сабуро, сусло-агар, МПА), оптимальной является слабокислая или слабощелочная реакция среды. *C. neoformans* одинаково хорошо растет как при температуре 25 °С, так и при 37 °С, в то время как сапрофитные криптококки не способны размножаться при 37 °С. Образует типичные блестящие сочные колонии, опосредованные наличием полисахаридной капсулы. На агаре Сабуро может формировать блестящие кремово-коричневые колонии.

Биохимическая активность. Низкая: инертны к сахарам, не утилизируют нитраты, проявляют уреазную активность. В качестве источника углерода могут использовать глюкозу, галактозу, мальтозу и сахарозу.

Антигенная структура. По структуре капсулярных полисахаридных АГ выделяют четыре серовара: А, В, С, D; среди возбудителей доминируют серовары А и D; серовары В и С вызывают спорадические поражения в тропиках и субтропиках.

Факторы патогенности. Капсула, защищающая возбудитель от действия фагоцитов и гуморальных защитных факторов, неспецифически активирующая субпопуляцию Т-супрессоров и индуцирующая расщепление компонентов комплемента и сывороточных опсоинов. Как возможный фактор патоген-

ности рассматривается фермент фенолоксидаза, секретируемый грибом.

Устойчивость. Хорошо сохраняются в почве; чувствительны к амфотерицину В и флуконазолу, а также к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов.

Эпидемиология. Источник инфекции — почва. Гриб выделен из почвы, гнезд голубей и помета этих птиц, из фруктовых соков, молока, масла. Механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-пылевой. Из почвы, где гриб при недостатке влаги имеет малые размеры (2–3 мкм), с пылью он попадает в легкие. Первичные очаги поражения локализованы в легких, хотя нельзя исключить возможность внедрения гриба в кожу и слизистые оболочки при пищевом и контактном путях передачи. Восприимчивость населения — низкая, зависит от состояния клеточного иммунитета. Заболевания носят спорадический характер, среди заболевших преобладают мужчины. Описаны групповые заболевания, связанные с вдыханием инфицированной пыли при работе в старых строениях, загрязненных пометом голубей. Больной не заразен для окружающих. Основные состояния, предрасполагающие к развитию заболевания, — СПИД, лейкозы, болезнь Ходжкина, нарушения обменных процессов, состояния после трансплантации органов и длительного приема иммунодепрессантов.

Патогенез и клиника. Криптококки формируют первичный очаг воспаления в легких с вовлечением регионарных лимфатических узлов. В большинстве случаев процесс заканчивается спонтанным излечением, однако возможно диссеминирование грибов из первичного очага в легких. Воспалительный ответ варьирует в зависимости от иммунного статуса пациента, и в первую очередь от состояния клеточного иммунитета. Группу риска по диссеминированию образуют лица с нарушением функций Т-лимфоцитов. В элиминации возбудителя основную роль играют цитотоксические реакции, в меньшей мере — гуморальные реакции.

Инкубационный период — месяцы и годы. Основные клинические формы заболевания составляют менингеальные поражения, имеющие характерные признаки (до 80 % криптококковых менингитов наблюдают у больных со СПИДом).

Первичный криптококкоз часто протекает либо бессимптомно, либо его проявления незначительны и не требуют медицинской помощи. Случаи выявления первичных форм чрезвычайно редки. Значительно реже наблюдают первичные поражения кожи. Основную клинически диагностируемую форму заболевания составляет криптококковый менингит. Для поражений характерны медленное развитие и отсутствие специфических признаков в начальной стадии. Типичны перемежающиеся головные боли (возрастающие по интенсивности), головокружение, нарушения зрения, повышенная возбудимость. В динамике заболевания (через недели или месяцы после начала) наблюдают нарушения сознания. Клиническая картина включает типичные признаки менингита — высокую температуру тела и ригидность затылочных мышц. Возможны эпилептоидные припадки, отек диска зрительного нерва и симптоматика поражений черепных нервов. Более чем у 50 % пациентов наблюдают остаточные неврологические расстройства.

Иммунитет. Клеточный, антитела и комплекс не обеспечивают резистентности организма к возбудителю. Наличие у больных антител при отрицательной ГЗТ на антигены гриба является плохим прогностическим признаком. Как правило, у больного имеется клеточный иммунодефицит.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат мокрота, гной, соскобы язв, цереброспинальная жидкость, моча, кости, биоптаты тканей.

Применяют *микроскопический, микологический, биологический, серологический методы диагностики.*

В нативных препаратах возбудитель, окрашенный слизистой желтоватой капсулой, имеет вид округлых или яйцевидных клеток размером $2 \times 5 \div 10 \times 20$ мкм. Грибы легко обнаружить во влажных мазках спинномозговой жидкости, окрашенных тушью. Для выявления капсулы готовят тушевые препараты или окрашивают их по Бури—Гинсу. Для выявления *C. neoformans* в гистопатологических препаратах их окрашивают муцикармином.

Для выделения чистой культуры исследуемый материал засевают на сахарный агар, среду Сабуро, пивное сусло с добавлением антибиотиков.

Посевы патологического материала инкубируют при 37 °С, колонии формируются

через 2–3 недели. На плотных средах образуются колонии от беловато-желтоватого до темно-коричневого цвета, сметанообразной консистенции; на морковно-картофельном агаре колонии гриба имеют темно-коричневую или бурю окраску. Идентификация *S. neoformans* проводится с учетом образования уреазы на среде Христеансена и неспособности усваивать лактозу и неорганический азот, вирулентности, роста при 37 °С.

Биопробу ставят на мышах, которых внутривенно или интракранеально заражают кровью, осадком мочи или экссудатом от больного. Через 2–4 недели животных забивают, вскрывают и засевают на среды с антибиотиками гомогенат печени, селезенки и головного мозга. Выделенные культуры гриба идентифицируют по культуральным, морфологическим и ферментативным свойствам.

В сыворотке больных агглютинины, преципитины, комплементсвязывающие антитела обнаруживаются в невысоких титрах и непостоянно. Титры антител в РСК редко составляют 1:16 и — как исключение — 1:40. Появление антител и увеличение их титра служат благоприятным прогностическим признаком. Абсолютное диагностическое значение имеет выявление в реакции латекс-агглютинации циркулирующего антигена, при этом титры реакции порой составляют 1:1280 и более.

Лечение. Амфотерицин В, флуконазол.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана.

18.4.6. Возбудители адиспиромикоза (*Emmonsia crescens*, *E. parva*)

Адиспиромикоз (снп. гагломикоз) — хронический микоз, характеризующийся преимущественным поражением легких.

Морфология. Диморфные грибы, микроскопическая картина мицелиальной фазы идентична. Мицелий редко септированный, микроконидии (алеирии) размером 2–4, иногда 5–6 мкм формируются на конидиеносцах одиночно или в виде коротких цепочек. Возможно прикрепление алейрии или их скоплений (кластов) к мицелию без конидиеносцев. В организме развивается

тканевая форма гриба адиспоро (т. е. неделяющаяся). Адиспороы *E. crescens* бывают диаметром 700 мкм и являются многоядерными, а *E. parva* — диаметром 40 мкм при одном ядре.

Культуральные свойства. Нетребовательны к питательному субстрату, хорошо растут на простых питательных средах. Растут в широком интервале температуры — от 4 до 30 °С и рН среды.

Антигенная структура и факторы патогенности. Изучены мало.

Устойчивость. Способны расти при низких температурах; чувствительны к действию обычно применяемых антисептиков и дезинфектантов, а также к антибиотикам.

Эпидемиология. Экологическая ниша — почва. Адиспиромикоз — сапроноз. Источник возбудителя инфекции — почва. Больной человек не опасен для окружающих; гибель инфицированных животных может приводить к формированию дополнительных очагов размножения грибов в почве. Механизм передачи — аэрогенный, путь — воздушно-пылевой. Восприимчивость населения — всеобщая.

Патогенез. В естественных условиях инфицирование осуществляется алейриями, которые из-за малых размеров способны проникать в дыхательную систему вплоть до альвеол. Вдыхаемые алейрии оседают в мелких бронхах и альвеолах, вызывая минимальную тканевую реакцию (реакция на инородное тело). Алейрии трансформируются в адиспороы, которые, увеличиваясь в размерах, вызывают разрастание соединительной ткани. Тяжесть заболевания зависит от массивности обсеменения легких: выраженность фиброза обуславливает степень сердечно-легочной недостаточности. Кроме легких, возбудитель может проникать в поврежденные ткани при загрязнении ран почвой.

Клиника. Инкубационный период не установлен. При формировании единичных адиспор (солитарный тип) инфекция протекает бессимптомно; массивное попадание алейрии приводит к диссеминированным поражениям. Заболевание в таких случаях может протекать по типу бронхопневмонии неясной этиологии, туберкулеза, аллергического альвеолита, гемосидероза, ретикулеза, саркоидоза с явлениями легочной недостаточности и субфебрилитета. Патогномоничная симптоматика отсутствует.

Иммунитет. Клеточный, но его напряженность и длительность не изучены.

Микробиологическая диагностика. Спаянность адияспор с легочной тканью, отсутствие альтернативных изменений исключают возможность их попадания в мокроту и получение культуры возбудителя. Единственный способ диагностики — *гистологическое* и *культуральное исследование* биопсированной ткани.

Лечение. Сульфаниламиды, амфотерицин В, нистатин.

Профилактика. Не разработана.

18.5. Возбудители оппортунистических микозов

Возбудители оппортунистических микозов — условно-патогенные грибы родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Candida* и др. (табл. 18.6). Находятся в почве, воде, воздухе, на гниющих растениях; некоторые входят в состав факультативной микрофлоры человека (например, грибы рода *Candida*). Вызывают заболевания у лиц с трансплантатами, на фоне сниженного иммунитета, нерациональной длительной антибиотикотерапии, гормонотерапии, использования инвазивных методов исследования.

18.5.1. Возбудители кандидоза (род *Candida*)

Возбудители кандидоза (кандидомикоза) относятся к роду *Candida*. Род *Candida* содержит около 200 видов. Таксономические взаимоотношения внутри рода недостаточно изучены. Часть представителей рода является дейтеромицетами (*Fundi imperfecti*); половое размножение которых не установлено.

Выявлены также телеоморфные роды, включающие представителей с половым способом размножения: *Clavispora*, *Debaryomyces*, *Issatchenkia*, *Kluuyveromyces* и *Pichia*.

Клинически значимыми видами являются: *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. catenulata*, *C. ciferrii*, *C. guilliermondii*, *C. haemulonii*, *C. kefyr* (ранее *C. pseudotropicalis*), *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. parapsilosis*, *C. pulcherrima*, *C. rugosa*, *C. utilis*, *C. viswanathii*, *C. zeylanoides* и *C. glabrata* (прежнее название — *Torulopsis glabrata*). Ведущее значение в развитии кандидоза имеют *C. albicans* и *C. tropicalis*.

Морфология и физиология. Кандиды представлены овальными почкующимися дрожжевыми клетками, псевдогифами и септированными гифами. Аэробы. На простых питательных средах при температуре 25–27 °C образуют дрожжевые и псевдогифальные клетки. Колонии выпуклые, блестящие, сметанообразные, непрозрачные с различными оттенками. Для *C. albicans* характерно образование «ростковой трубки» из бластоспоры (почки) при помещении их в сыроватку. Кроме того, *C. albicans* образует хламидоспоры — толстостенные двухконтурные крупные овальные споры. В тканях кандиды растут в виде дрожжей и псевдогиф.

Эпидемиология. Кандиды обитают на растениях, плодах, являются частью нормальной микрофлоры млекопитающих и человека. Виды рода *Candida*, являющиеся частью нормальной микрофлоры, могут вторгаться в ткань (эндогенная инфекция) и вызывать кандидоз у пациентов с ослабленной иммунной защитой. Реже возбудитель передается детям при рождении, при кормлении грудью.

Таблица 18.6. Возбудители оппортунистических микозов

| Возбудитель | Микозы |
|---|-------------------------|
| <i>Candida</i> spp. | Кандидоз |
| Зигомицеты (<i>Rhizopus</i> spp., <i>Mucor</i> spp. и др.) | Зигомикоз (фикомикоз) |
| <i>Aspergillus</i> spp. | Аспергиллез |
| <i>Penicillium</i> spp. | Пенициллез |
| <i>Fusarium</i> spp. | Фузариоз, микотоксикоз |
| <i>Pneumocystis carinii</i> | Пневмоцистная пневмония |

При передаче половым путем возможно развитие урогенитального кандидоза.

Патогенез и клиника. Кандиды — одни из наиболее распространенных возбудителей микозов (кандидозов). Развитию кандидоза способствуют неправильное назначение антибиотиков, обменные и гормональные нарушения, иммунодефициты, повышенная влажность кожи, повреждения кожи и слизистых оболочек. Наиболее часто кандидоз вызывается *C. albicans*, которая обладает следующими факторами вирулентности: продукция протеазы и поверхностных интегриноподобных молекул для адгезии к экстрацеллюлярным матриксным белкам и др.

Различают поверхностный кандидоз слизистых оболочек, кожи и ногтей; хронический (гранулематозный) кандидоз; висцеральный кандидоз различных органов, системный (диссеминированный или кандидоз-сепсис) кандидоз; аллергию на антигены кандид.

При кандидозе рта на слизистых оболочках развивается так называемая «молочница» с развитием белого творожистого налета, возможно развитие атрофии или гипертрофии, гиперкератоза сосочков языка. При кандидозе влагалища (вульвовагинит) происходит отек и эритема слизистых оболочек, появляются белые творожистые выделения. Поражение кожи чаще развивается у новорожденных; на туловище и ягодицах наблюдаются мелкие узелки, папулы и пустулы.

Висцеральный кандидоз развивается с воспалительным поражением определенных органов и тканей (кандидоз пищевода, кандидный гастрит, кандидоз органов дыхания, кандидоз мочевыделительной системы). Важным признаком диссеминированного кандидоза является грибковый эндофтальмит (экссудативное изменение желто-белого цвета сосудистой оболочки глаза).

Возможно развитие кандидной аллергии желудочно-кишечного тракта, аллергическое поражение органов зрения с развитием зуда век, блефароконъюнктивита.

Иммунитет. В защите организма от кандид участвуют фагоциты-мононуклеары,

нейтрофилы и эозинофилы, захватывающие элементы грибов. Антитела и комплемент взаимодействуют с грибами, вызывая их опсонизацию. Развивается ГЗТ, формируются гранулемы с эпителиоидными и гигантскими клетками.

Микробиологическая диагностика. При кандидозе в мазках из клинического материала выявляют псевдомицелий (клетки соединены перетяжками), мицелий с перегородками и почкующиеся бластоспоры.

Посевы клинического материала проводят на среду Сабуро, сусло-агар и др. Колонии *C. albicans* беловато-кремовые, выпуклые, круглые. Выросшие грибы дифференцируют по морфологическим, биохимическим и физиологическим свойствам. Виды кандид отличаются при росте на глюкозо-картофельном агаре по типу филаментации: расположению гломерул — скоплений мелких округлых дрожжеподобных клеток вокруг псевдомицелия. Для бластоспор *C. albicans* характерно образование «ростковых трубок» при культивировании на жидких средах с сывороткой или плазмой (2–3 ч при 37 °С). Кроме того, у *C. albicans* выявляют хламидоспоры: участок посева на рисовом агаре покрывают стерильным покровным стеклом и после инкубации (при 25 °С в течение 2–5 дней) микроскопируют.

Сахаромицеты, в отличие от *Candida spp.*, являются настоящими дрожжами и образуют аскоспоры, расположенные внутри клеток, окрашиваемые по модифицированной окраске по Циллю—Нельсену; сахаромицеты обычно не образуют псевдомицелия.

Наличие *кандидемии* устанавливают при положительной гемокультуре с выделением из крови *Candida spp.* Кандидозная уроинфекция устанавливается при обнаружении более 10⁵ колоний *Candida spp.* в 1 мл мочи.

Можно также проводить серологическую диагностику (реакция агглютинации, РСК, РП, ИФА) и постановку кожно-аллергической пробы с кандида-аллергеном.

Лечение. При кандидозе применяют препараты нистатина, леворина (для лечения местных поверхностных микозов, например орофарингеального), клотримазола, кетоконазола, флуконазола (не действует на *C. krusei*,

многие штаммы *C. glabrata*), амфотерицина В (не активен против *C. lusitaniae*).

Профилактика. Профилактика направлена на контроль асептики, стерильности инвазивных процедур (катетеризация вен, мочевого пузыря, бронхоскопия и др.). Для предупреждения развития системного кандидоза больным с выраженной нейтропенией назначают противокандидозные препараты.

18.5.2. Возбудители зигомикоза

Зигомикозы (фикомикозы) вызываются зигомикетами, относящимся к низшим грибам (фикомицетам) с несептированными гифами. Возбудители — грибы родов *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Rhizomucor*, *Basidiobolus*, *Conidiobolus* и др.

Морфология и физиология. Гифы зигомикетов ветвятся и не имеют перегородок. Размножение бесполое с образованием спорангиоспор и половое с образованием зигоспор. Спорангиоспоры содержатся в округлых спорангиях, которые отходят от споронесущей гифы — спорангиеносца (см. рис. 2.9). Зигоспоры формируются при половом процессе в результате слияния двух клеток, не дифференцированных на гаметы. Воздушный мицелий некоторых зигомикетов (виды *Rhizopus*) имеет дугообразно изогнутые гифы — «усы», или столоны. Мицелий прикрепляется к субстрату ризоидами — специальными ответвлениями.

Элементы грибов различны: *Mucor mucedo* образует крупные (до 200 мкм) желто-бурые спорангии с овальными спорами; *Rhizopus nigricans* образует темно-бурый мицелий с чернеющими спорангиями (диаметр до 150 мкм), содержащими шероховатые споры; *Absidia corymbifera* образует спорангии диаметром 40–60 мкм, содержащие бесцветные эллипсоидные, гладкие, реже шероховатые споры.

Грибы растут на простых питательных средах, среде Сабуро. Аэробы. Температурный оптимум роста 22–37 °С.

Эпидемиология. Зигомикеты широко распространены в почве, воздухе, пище, на гниющих растениях, плодах. Споры грибов проникают в организм аэрогенным механизмом

или при контакте с травмированными тканями желудочно-кишечного тракта (алиментарным путем) и кожи (контактным путем).

Патогенез и клиника. Грибы вырабатывают липазы и протеазы, способствующие распространению в тканях грибов и их токсинов. У иммунодефицитных лиц грибы проникают в кровеносные сосуды, вызывая тромбоз. Происходит ишемический некроз тканей и образование полиморфно-ядерного инфильтрата. Различают инвазивный легочный зигомикоз, а также желудочно-кишечную и кожную формы болезни. Поражаются также мозг и другие органы и ткани. Известна молниеносная форма инфекции — риноцеребральный зигомикоз.

Иммунитет. Развивается клеточный иммунитет, сопровождаемый ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. При микроскопии мазков из патологического материала выявляют широкие неравномерной толщины несептированные гифы. На питательных средах образуются серые, черно-серые, коричневые колонии.

Лечение. Применяются амфотерицин В, итраконазол, нистатин, 5-флуцитозин.

Профилактика. Профилактика осуществляется на основе санитарно-гигиенических мероприятий. Внутрибольничное инфицирование предупреждается контролем стерильности медицинского оборудования и чистоты воздуха.

18.5.3. Возбудители аспергиллеза (род *Aspergillus*)

Аспергиллез вызывается аспергиллами — септированными плесневыми грибами рода *Aspergillus*.

Морфология и физиология. Аспергиллы имеют септированный ветвящийся мицелий (см. рис. 2.10). Размножаются в основном бесполом путем, образуя конидии черного, зеленого, желтого или белого цветов. Конидии отходят от одного или двух рядов клеток — стеригм (метул, фиалид), находящихся на вздутии споронесущей гифы (конидиеносца). Аспергиллы — строгие аэробы. Растут на средах Сабуро, Чапека, сусло-агаре и других при температуре 24–37 °С. Через 2–4 дня на плотных

средах вырастают белые пушистые колонии с последующей дополнительной окраской.

Эпидемиология. Аспергиллы находятся в почве, воде, воздухе и на гниющих растениях. Из 200 изученных видов аспергилл около 20 видов (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. nidulans* и др.) вызывают заболевания у человека. Аспергиллы передаются в результате ингаляции конидий, реже — контактным путем. Они могут попадать в легкие при работе с заплесневелыми бумагами, пылью («болезнь старьевщиков, мусорщиков»). Инфицированию способствуют инвазивные методы лечения и обследования больных (пункция, бронхоскопия, катетеризация).

Патогенез и клиника. При иммунодефиците отмечается диссеминированный аспергиллез с поражением кожи, ЦНС, эндокарда, носовой полости, придаточных пазух носа.

У больных развиваются:

1) *инвазивный аспергиллез легких* (обычно вызываемый *A. fumigatus*) с быстрым ростом аспергилл и тромбозом сосудов;

2) *аллергический бронхолегочный аспергиллез* в виде астмы с эозинофилией и аллергического альвеолита;

3) *аспергиллома (аспергиллезная мицетома)* — гранулема, обычно легких, в виде шарика из мицелия, окруженного плотной волонистой стенкой.

Факторами патогенности грибов являются кислая фосфатаза, коллагеназа, протеаза, эластаза.

Токсины аспергилл. например афлатоксины, обуславливают *афлатоксикозы* — отравления пищевой этиологии, связанные с накоплением в продуктах питания афлатоксинов *A. flavus* и *A. parasiticus*. Афлатоксины вызывают цирроз печени, оказывают канцерогенное действие.

Иммунитет. В защите участвуют гранулоциты и макрофаги, переваривающие конидии. Развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. Используют микроскопический метод — выявление септированного мицелия, цепочек конидий в окрашенных по Граму мазках гноя, пора-

женной ткани. Отдельные комочки мокроты можно перенести в каплю спирта с глицерином или в каплю 10% КОН и затем, после надавливания покровным стеклом, микроскопировать. Возможно культивирование возбудителя на питательных средах.

Можно ставить кожно-аллергическую пробу, серологические реакции (РП, ИФА и др.).

Лечение. Лечение аспергиллеза проводят 5-флюцитозином, амфотерицином В, миконазолом и хирургическим удалением пораженных участков.

Профилактика. Профилактика осуществляется на основе санитарно-гигиенических мероприятий. Внутрибольничное инфицирование предупреждается контролем стерильности медицинского оборудования и чистоты воздуха.

18.5.4. Возбудители пенициллиоза (род *Penicillium*)

Пенициллиоз вызывается пенициллами — септированными плесневыми грибами рода *Penicillium*.

Морфология и физиология. Пенициллы образуют мицелий из септированных ветвящихся гиф (см. рис. 2.11). На конце плодоносящей гифы (конидиеносца) образуются первичные и вторичные разветвления — метулы I и II порядка (многомутовчатые кисточки). От вершин метул отходят пучки бутылкообразных фиалид, несущих цепочки округлых конидий зеленого, желто-коричневого, розового или фиолетового цвета. Элементы грибов различны: у *P. crustaceum* кисточки двух-, трех- и многомутовчатые; у *P. notatum* — несимметричные, двух-, трехмутовчатые; у *P. glaucum* — одно- и многомутовчатые; у *P. mycetogenum* — одно- двух- и трехмутовчатые, а конидии более мелкие, чем у предыдущих, — до 2,2 мкм в диаметре.

Эпидемиология. Пенициллы широко распространены в почве, воздухе, в складах для овощей и фруктов, на гниющих растениях. Заражение происходит аэрогенным механизмом при вдыхании пыли, содержащей элементы гриба.

Патогенез и клиника. Патогенез и клиника сходны с аспергиллезом

Иммунитет. Основной иммунитет — клеточный. Развивается ГЗТ.

Микробиологическая диагностика. В препаратах патологического материала выявляют длинные ветвящиеся септированные гифы и крупные округлые конидии.

Лечение и профилактика. Сходны с лечением и профилактикой аспергиллеза.

18.5.5. Возбудители фузариоза (род *Fusarium*)

Фузариоз вызывается септированными плесневыми грибами рода *Fusarium*.

Морфология и физиология. Грибы рода *Fusarium* образуют хорошо развитый мицелий белого, розового или красного цвета. Имеются микроконидии, макроконидии, редко — хламидоспоры. Макроконидии — многоклеточные, веретеновидно-серповидные. Микроконидии — овальные, грушевидные. Растут на среде Чапека в виде пушистых колоний.

Эпидемиология. Грибы широко распространены, особенно на растениях.

Патогенез и клиника. У лиц с иммунодефицитами грибы могут поражать кожу, ногти, роговицу и другие ткани (*F. moniliforme*, *F. dimerum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. anthropi-lum*, *F. chlamydosporum*).

При пониженных температурах на злаках развивается психрофильный гриб *F. sporotrichiella*, продуцирующий микотоксин. Употребление в пищу таких злаков, перезимовавших под снегом, вызывало микотоксикоз (алиментарно-токсическую алейкию). Микотоксикозы вызывались также при употреблении изделий из зерна, пораженного *F. graminearum*: происходило отравление «пьяным хлебом» — поражение ЦНС с нарушением координации движений (см. разд. 18.6 «Возбудители микотоксикозов»).

Микробиологическая диагностика. Диагностика основана на выделении грибов и определении их токсинов. На питательных средах растут пушистые или ватообразные колонии белого цвета, которые по мере старения приобретают цветные оттенки (сиренево-синего, розово-красного, желтого или зеленого цвета). Грибы образуют мицелий, микро- и макроконидии. Старые культуры могут образовывать хламидоспоры.

18.5.6. Возбудитель пневмоцистоза (*Pneumocystis carinii*)

Пневмоцистоз (син. пневмоцистная пневмония) — болезнь, вызванная пневмоцистами; характеризуется развитием пневмонии у лиц с ослабленным иммунитетом (недоношенность, врожденный или приобретенный иммунодефицит, ВИЧ-инфекция).

Pneumocystis (carinii) jiroveci — у человека (и другие субгруппы пневмоцист у животных — мышей, крыс, кроликов, собак, коров, свиней), относят к условно-патогенным дрожжеподобным грибам. Однако по морфологическим и другим свойствам, чувствительности к антимикробным препаратам они — типичные простейшие.

Морфология и физиология. Цикл развития пневмоцист включает образование трофозоитов, предцист, цист и внутрицистных телец (рис. 18.5). Трофозоиты — клетки, покрытые пелликулой и капсулой. Они имеют овальную или амебоидную форму (размером 1,5–5 мкм). Наблюдаются скопления внеклеточных паразитов, вплотную прилежащих к эпителию альвеол. Трофозоиты с помощью выростов пелликулы прикрепляются к пневмоцитам I порядка (в отличие от эндогенных стадий *Cryptosporidium*, которые в легких обитают в пневмоцитах II порядка).

Трофозоиты округляются, образуют утолщенную клеточную стенку, превращаясь в предцисту и цисту. Предцисты и цисты находятся в пенистом экссудате альвеол. Циста (размер 4–8 мкм) имеет толстую, трехслойную стенку, которая интенсивно красится на полисахариды. Внутри цисты образуется розетка из 8 дочерних тел (спорозоитов). Эти внутрицистные тела имеют 1–2 мкм в диаметре, мелкое ядро и окружены двухслойной оболочкой. После выхода из цисты они превращаются во внеклеточные трофозоиты.

Эпидемиология. Пневмоцистная пневмония не зооноз. Источник инфекции — люди. Путь передачи — преимущественно воздушно-капельный. Инкубационный период — от 1 до 5 недель.

Клиника. Пневмоцистоз — оппортунистическая инфекция с поражением легких, ведущая СПИД-маркерная инфекция. Обычно это бес-

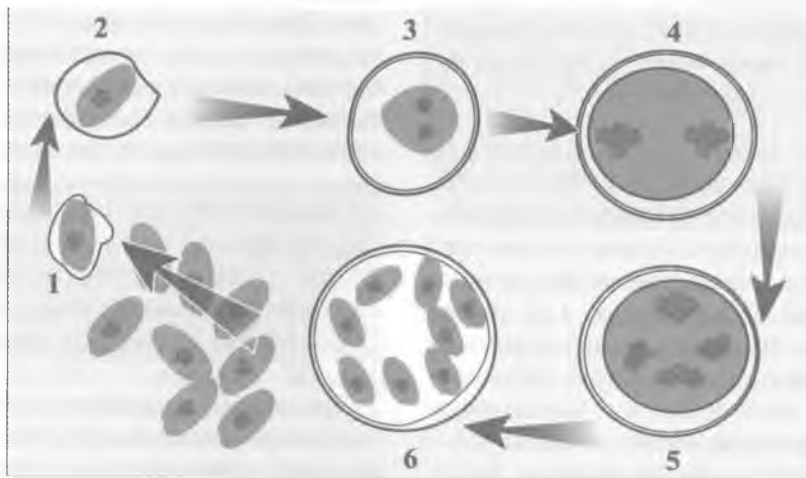


Рис. 18.5. Схема цикла развития пневмоцист:

1–2 — трофозоиты амебидной формы; 3–5 — стадии мейоза и митоза; 6 — циста, содержащая 8 внутрицистных тел

симптомная инфекция; свыше 70 % здоровых людей имеют антитела против пневмоцист.

Микробиологическая диагностика. Микроскопический метод включает микроскопию мазка из лаважной жидкости, биоптата, легочной ткани, мокроты, окрашенного по Романовскому—Гимзе: цитоплазма паразита голубого цвета, а ядро — красно-фиолетового. К специальным методам окраски, выявляющим клеточную стенку пневмоцист, относят окраску толуидиновым синим и серебрением по Гомори—Грокотту.

Для диагностики применяют также РИФ, ИФА. Обнаружение IgM или нарастание уровня антител IgG в парных сыворотках свидетельствует об острой пневмоцистной инфекции.

Лечение. Применяют ко-тримоксазол, пентамидин, триметрексат, атоваквон.

Профилактика. Профилактика пневмоцистоза сводится к предупреждению воздушно-капельного инфицирования пневмоцистами и повышению иммунного статуса организма.

18.6. Возбудители микотоксикозов

Микотоксикозы — пищевые отравления человека и животных, вызываемые микотоксинами — продуктами жизнедеятельности грибов, образующимися при их росте на пищевых продуктах и пищевом сырье.

Микотоксины продуцируются многими фитопатогенными и сапрофитными грибами, широко распространенными в почве. Продуцируемые ими микотоксины накапливаются в сельскохозяйственных культурах и продуктах питания при неблагоприятных условиях сбора, хранения и обработки.

Особое внимание следует уделять обнаружению микотоксинов в продуктах животного происхождения (мясомолочные продукты, яйца), которые загрязняются в результате скармливания сельскохозяйственным животным и домашним птицам кормов, содержащих микотоксины. При этом микотоксины могут присутствовать в корме без видимого роста плесени. Отравление животных возможно при пастбые по стерне осенью или на полях с травой ранней весной после заморозков. Микотоксины устойчивы к действию факторов окружающей среды, в том числе к замораживанию, высокой температуре, высушиванию, к воздействию ультрафиолетового и ионизирующего излучения.

Одним из распространенных алиментарных микотоксикозов людей и животных являются *фузариотоксикозы*: *споротрихиеллотоксикоз*, *фузариограминеротоксикоз*, *фузарионивалетоксикоз*. Возбудителями являются несовершенные грибы рода *Fusarium*, продуцирующие токсины группы трихоцетенов, и др.

Споротриеллотоксикоз (алиментарно-токсическая алейкия) — тяжелое заболевание, связанное с действием микотоксинов гриба *Fusarium sporotrichiella*.

Гриб развивается на зерновых культурах, перезимовавших под снегом, или при позднем сборе урожая зерновых. Отравление фузариозным зерном раньше называли септической ангиной из-за сходства заболевания с некротической ангиной. Обычно через 1–2 недели после употребления хлеба, выпеченного из пораженного зерна, в крови резко уменьшается количество гранулоцитов, а затем возникают выраженные поражения миелоидной и лимфоидной тканей, некроз костного мозга, что ведет к нарушению кроветворения.

В связи с характером патогенеза заболевание называют алиментарно-токсической алейкией. К токсину гриба чувствительны многие домашние животные. Определить присутствие в продукте питания токсина *F. sporotrichiella* можно путем введения экстрактов продукта птицам, кошкам, морским свинкам и мышам.

Считают, что поражение так называемой *уровской болезнью* (болезнь Кашина—Бека) связано с употреблением зерна, зараженного разновидностью гриба рода *Fusarium* (*F. tricinctum*, *F. poeae*, *F. sporotrichiella*). Болезнь встречается в Восточном Забайкалье и вдоль селений по берегу р. Урова (отсюда и название болезни). Заболевание сопровождается дистрофией костей скелета. Оказалось, что при переходе населения на употребление хлеба из зерна, привезенного из других районов страны, заболеваемость резко снижалась. Сходные заболевания были описаны и в других странах.

Фузариограминейротоксикоз (синдром «пьяного хлеба») — заболевание, возникающее в результате употребления изделий, выпеченных из зерна, пораженного *Fusarium graminearum*.

Этот гриб продуцирует токсические вещества, относящиеся к азотсодержащим глюкозидам, холинам и алкалоидам, которые воздействуют на ЦНС. При этом возникают слабость, скованность походки, резкие головные боли, головокружение, рвота, диарея, боли в животе.

Возможны анемия и психические расстройства. Другой микотоксин *F. graminearum* — эрараленон — при употреблении кормов (кукурузы, ячменя), загрязненных грибами, вызывает у свиней и крупного рогатого скота вильвовоагиниты, аборт, бесплодие.

Фузарионивалетоксикоз возникает при употреблении продуктов питания из пшеницы, ячменя и риса, зараженных «красной плесенью» — грибами рода *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. nivale*, *F. avenaceum*).

Эти грибы продуцируют микотоксины — ниваленон, фузаренон X, относящиеся к группе трихотеценов типа Б. Отравление вызывает рвоту, диарею, головные боли, конвульсии.

Сердечная форма синдрома бери-бери — заболевание, известное с 1700 г. в Японии, возникает в результате употребления в пищу желтоокрашенного («желтушного») риса, сорго, зараженных *Penicillium citreoviridae*, *P. islandicum*.

Микотоксин цитреовиридин поражает центральную нервную и сердечно-сосудистую системы; вызывает нисходящие параличи. Возможен смертельный исход. *P. islandicum* продуцирует исландитоксин, поражающий печень.

Другие грибы — *Penicillium patulum*, *P. expansum*, *P. urticae*, *Aspergillus elevatus*, *A. terreus* будучи распространены в ячменном солоде, проросшей пшенице и гнилых яблоках (сидр), вызывают нейротоксикоз, отек легких, рвоту, дерматит. Действующим началом при этом является микотоксин патулин. Заболевание известно с 1954 г., обнаружено в Германии, Франции, Японии, США.

Эрготизм (от франц. *ergoe* — рожки) — заболевание, известное давно, распространено во всем мире. Возникает при употреблении злаковых (чаще рожь), пораженных рожками спорыньи — *Claviceps purpurea* и *Claviceps paspali*.

Рожки спорыньи — это склероции грибов, похожие на семена злаков. Однако они крупнее и темнее зерен растений; имеют удлиненную и искривленную, в виде рожка, форму. Микотоксины спорыньи являются алкалоидами лизергиновой

кислоты, клавировыми алкалоидами (нейротоксическое действие). Поражаются люди и животные. Токсины грибов переходят в молоко животных.

Острая форма характеризуется высокой летальностью. У больных возникают симптомы острого гастроэнтерита и поражения ЦНС (парестезии, судороги). Хроническая форма характеризуется «ползанием мурашек» (особенно на конечностях), рвотой, желудочно-кишечными расстройствами. При поражении половой системы возможно бесплодие. Различают 3 формы эрготизма: конвульсивную (токсические судороги мышц, чаще сгибателей — срок около месяца); гангренозную (через 10–20 дней на фоне отравления появляются некротические изменения периферических частей конечностей с сильными болями); смешанную.

Афлатоксикозы — заболевания, возникающие при употреблении продуктов питания, которые содержат токсины-метаболиты, так называемые афлатоксины, продуцируемые *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus*.

Название «афлатоксины» образовано от слов *A (spergillus) fla (vus) toxins*. Они были открыты в 1960 г. как причина вспышки болезней неизвестного происхождения в Великобритании и других странах. Действующее начало — афлатоксины В1, В2, В2а, G1, G2, G2а, М1, М2, которые широко распространены в растительных продуктах питания, главным образом в зерновых. Они обнаружены также в арахисе, моркови, фасоли, какао, мясе, молоке, сыре; возможно накопление афлатоксинов в продуктах животного происхождения.

Афлатоксины не разрушаются при термической обработке. Они очень токсичны. Например, острое отравление животных, вызванное афлатоксином группы В, сопровождается быстрым течением заболевания и высокой летальностью. Острое отравление характеризуется вялостью движений, судорогами, парезами, геморрагиями, отеками, нарушением функции ЖКТ и поражением печени, в которой развиваются некрозы, цирроз, первичный рак.

Аспергиллы продуцируют также другие микотоксины — охратоксины А, В, С (*A. ochraceus*), патулин (*A. terreus*, *A. niveus*, *A. candidum*), глиотоксин (*A. giganteus*, *A. fumigatus*),

стеригматоцистин (*A. versicolor*, *A. nidulans*), треморген (*A. clavatus*, *A. flavus*, *A. candidum*) цитохалазины (*A. clavatus*), цитринин (*A. terreus*, *A. niveus*, *A. candidum*).

Стахиботриотоксикоз — тяжелое заболевание лошадей, реже — рогатого скота и домашней птицы.

Возникает вследствие скармливания животным кормов, содержащих токсин гриба *Stachybotrys alternans*. У людей контакт с зараженным кормом может приводить к развитию дерматитов или пневмокониозов.

Микробиологическая диагностика микотоксикозов. Основана на выявлении в исследуемом материале грибов или микотоксинов. Применяют хроматографию, спектрофотометрию и биопробы на куриных эмбрионах, культурах клеток, утятах, крысятах, голубях и некоторых микроорганизмах.

Лечение. Симптоматическое. Проводят промывание желудка, очищение кишечника и другие мероприятия, направленные на детоксикацию организма.

Профилактика. Включает в себя предупреждение заражения продуктов и кормов грибами и последующего их размножения, токсинообразования. Подозрительные продукты должны исследоваться на токсичность. В ряде стран разработаны нормы ПДК микотоксинов в продуктах питания. Конечной целью профилактики микотоксикозов является полное освобождение продуктов питания и кормов от микотоксинов.

18.7. Неклассифицированные патогенные грибы

Loboa lobi — возбудитель лобомикоза (болезнь Лобо, амазонского бластомикоза), характеризующегося кожными поражениями и развитием келоидоподобных рубцов, а также большого количества гистиоцитов и гигантских клеток. В 1999 г. было предложено новое название — *Locazia lobi*. Впервые заболевание описано Лобо в 1931 г. и является эндемичным для бассейна р. Амазонки (Бразилия). Источник инфекции — водоемы. Внедрению гриба способствует травма кожи. Отмечено несколько случаев в Европе у лиц, контактировавших с атлантическими дельфинами. От человека человеку возбудитель не передается.

L. lobi — диморфный гриб. Морфологически близок к *Blastomyces dermatitidis*. В ткани выявляются

овальные клетки диаметром 8–16 мкм, имеющие двухконтурную оболочку и 1–2 дочерние почки. Культуральная фаза гифальная. Она плохо изучена из-за трудности культивирования.

Rhinosporidium seeberi вызывает риноспоридиоз — хроническое гранулематозное поражение слизистых оболочек носа, рта, носоглотки, глаз, прямой кишки, наружных половых органов. Болеют люди, лошади, крупный рогатый скот, главным об-

разом, в странах с теплым климатом. В препаратах из комочков папилломатозных разрастаний обнаруживают крупные (диаметр 200–300 мкм) сферулы, наполненные многочисленными спорами (диаметр 6–10 мкм). Увеличенные сферулы лопаются с освобождением спор. На питательных средах возбудитель не растет.

Лечение. Применяют амфотерицин В. Разрастания прижигают или удаляют.

ГЛАВА 19. ЧАСТНАЯ ПРОТОЗООЛОГИЯ

Простейшие — одноклеточные животные (размер от 2 до 100 мкм), эукариоты. Относятся к подцарству *Protozoa* царству *Animalia* (животных). Различают 7 типов простейших, из которых 4 типа включают возбудителей болезней (инвазий) человека: *Sarcomastigophorae* (саркодовые и жгутиконосцы), *Apicomplexa* (споровики), *Ciliophora* (ресничные инфузории) и *Microspora* (табл. 19.1). Болезни, вызы-

ваемые простейшими, называются паразитарными, а дисциплина, изучающая эти болезни, называется протозоологией.

19.1. Саркодовые (амебы)

Амебы относятся к типу *Sarcomastigophorae*, подтипу *Sarcodina*. Большинство амеб обитает в окружающей среде, некоторые виды — в орга-

Таблица 19.1. Простейшие, имеющие медицинское значение

| Таксоны | Представители | Болезни |
|--|---|---|
| ТИП Sarcomastigophorae | | |
| Подтип Sarcodina (саркодовые) | АМЕБЫ: <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Acanthamoeba species</i> <i>Negleria fowleri</i> | Амебиаз Кератит, амебный энцефалит, менингоэнцефалит |
| Подтип Mastigophora (жгутиконосцы) | ЛЕЙШМАНИИ | Лейшманиозы |
| | ТРИПАНОСОМЫ <i>Trypanosoma gambiense</i> <i>Trypanosoma rhodesiense</i> <i>Trypanosoma cruzi</i> | Африканский трипаносомоз Африканский трипаносомоз Болезнь Шагаса |
| | ЛЯМБЛИИ <i>Giardia lamblia</i> | Диарея, мальабсорбция |
| | ТРИХОМОНАДЫ <i>Trichomonas vaginalis</i> | Вагинит, уретрит, простатит |
| ТИП Apicomplexa | | |
| Класс Sporozoa (споровики) | ПЛАЗМОДИИ МАЛЯРИИ: <i>Plasmodium vivax</i> <i>Plasmodium ovale</i> <i>Plasmodium malariae</i> <i>Plasmodium falciparum</i> | Трехдневная малярия Трехдневная малярия Четырехдневная малярия Тропическая малярия |
| | ТОКСОПЛАЗМЫ <i>Toxoplasma gondii</i> | Токсоплазмоз |
| | САРКОЦИСТЫ | Саркоцистоз |
| | ИЗОСПОРЫ | Диарея |
| | КРИПТОСПОРИДИИ | Диарея |
| | ЦИКЛОСПОРЫ <i>Cyclospora cayentanensis</i> | Диарея |
| | БАБЕЗИИ | Бабезиоз |
| ТИП Ciliophora (ресничные) | | |
| Класс Kinetofragminophorea | БАЛАНТИДИИ <i>Balantidium coli</i> | Балантидиазная дизентерия |
| ТИП Microspora | | |
| Класс Microsporea | МИКРОСПОРИДИИ | Микроспоридиоз |
| Неклассифицированные: БЛАСТОЦИСТЫ | | Бластоцистоз |

низме человека и животных. Форма клетки непостоянна; передвигаются, образуя изменяющиеся выросты — псевдоподии (отсюда название от греч. *amoibe* — изменение). Питаются бактериями, мелкими простейшими. Размножаются бесполом способом (делением надвое). В неблагоприятных условиях образуют цисты. Различают патогенные и непатогенные амёбы.

К патогенным амёбам относят дизентерийную амёбу (*Entamoeba histolytica*), свободноживущие патогенные амёбы — неглери (род *Naegleria*), акантамёбы (род *Acanthamoeba*), гартманеллы (род *Hartmanella*).

В толстой кишке человека обитают непатогенные амёбы — кишечная амёба (*Entamoeba coli*), амёба Гартмана (*Entamoeba hartmanni*) и др. Оказалось, что считающиеся ранее непатогенными амёбы родов *Endolimax*, *Iodamoeba* могут вызывать заболевания. Во рту часто обнаруживают ротовую амёбу (*Entamoeba gingivalis*), особенно при заболеваниях полости рта.

19.1.1. Возбудитель амёбиоза (*Entamoeba histolytica*)

Амёбиоз — антропонозная болезнь (инвазия), вызванная *Entamoeba histolytica*, сопровождающаяся язвенным поражением толстой кишки, частым жидким стулом, тенезмами и дегидратацией (амёбная дизентерия); возможно образование абсцессов в различных органах. Протекает хронически.

Таксономия. Возбудитель открыт в 1875 г. русским ученым Ф. А. Лешем; относится к типу *Sarcostigophorae*, подтипу *Sarcodina*, классу *Lobosia*, отряду *Amoebida*.

Морфология. Различают две стадии развития возбудителя: вегетативную и цистную (рис. 19.1). Вегетативная стадия имеет несколько форм: большая вегетативная (тканевая) — *forma magna*; малая вегетативная (просветная) — *forma minuta*; предцистная форма, сходная с просветной, образующая цисты.

• **Циста** (покоящаяся стадия) имеет овальную форму, диаметр 9–16 мкм. Зрелая циста содержит 4 ядра (у непатогенного обитателя кишечника *Entamoeba coli* 8 ядер в цисте).

• **Просветная форма** (размер 15–20 мкм) малоподвижна, обитает в просвете верхнего

отдела толстой кишки как безвредный комменсал, питаясь бактериями и детритом.

• **Большая вегетативная форма** образуется, при определенных условиях, из малой вегетативной формы. Она наиболее крупная (около 30 мкм), образует псевдоподии и обладает толчкообразным поступательным движением. Может фагоцитировать эритроциты. Обнаруживается в свежих испражнениях при амёбиозе.

Культивирование. Культивирование возбудителя возможно на питательных средах, богатых питательными веществами.

Резистентность. Вне организма быстро (за 30 мин) погибают вегетативные формы возбудителя. Цисты (цистоносители ежедневно выделяют около 8 млн цист) устойчивы в окружающей среде, сохраняются в фекалиях и воде при температуре 20 °С в течение 1 мес. В продуктах питания, на овощах и фруктах цисты сохраняются в течение нескольких дней. При кипячении погибают.

Эпидемиология. Амёбиоз — антропонозная болезнь; источником инвазии является человек. Механизм передачи — фекально-оральный. Заражение происходит при занесении цист с продуктами питания, особенно овощами и фруктами, реже — с водой, через предметы домашнего обихода. Распространению цист способствуют мухи и тараканы. Болеют преимущественно лица старше 5 лет. Наибольшая заболеваемость характерна для регионов тропического и субтропического климата.

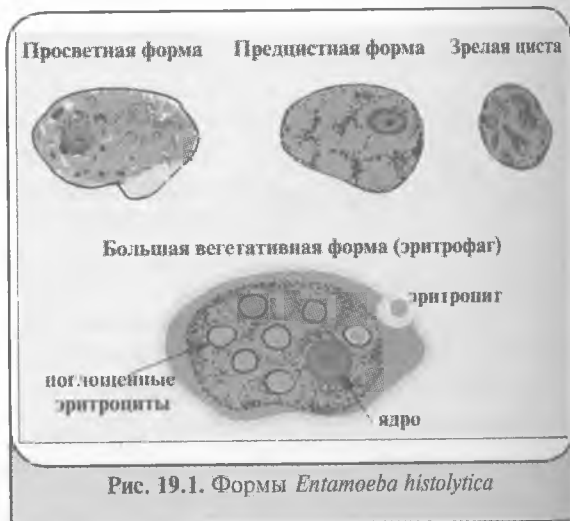


Рис. 19.1. Формы *Entamoeba histolytica*

Патогенез и клиника. Цисты, попавшие в кишечник, и образовавшиеся затем из них просветные формы амёб могут обитать в толстой кишке, не вызывая заболевания. При снижении резистентности организма амёбы (тканевые формы) внедряются в стенку кишки и размножаются. Развивается кишечный амёбиаз. Этому процессу способствуют и некоторые представители микрофлоры кишечника.

Трофозоиты тканевой формы подвижны за счет формирования псевдоподий. Они проникают в стенку толстой кишки, вызывая коагуляционный некроз; способны фагоцитировать эритроциты (эритрофаги); могут обнаруживаться в свежевыделенных фекалиях человека. При некрозе образуются кратерообразные язвы с подрытыми краями. Клинически кишечный амёбиаз проявляется в виде частого жидкого стула с кровью («малиновое желе»), сопровождающегося тенезмами, лихорадкой и дегидратацией. В испражнениях обнаруживают гной и слизь, иногда с кровью.

Амёбы с током крови могут попадать в печень, легкие, головной мозг, в результате чего развивается внекишечный амёбиаз. Возможно появление кожного амёбиаза: на коже перианальной области и промежности образуются эрозии и малоболлезненные язвы. Широко распространено бессимптомное носительство *E. histolytica*.

Иммунитет. Нестойкий, активируется преимущественно клеточное звено.

Микробиологическая диагностика. Основным методом является микроскопическое исследование испражнений больного, а также содержимого абсцессов внутренних органов. Мазки окрашивают раствором Люголя или гематоксилином. Серологические исследования (РНГА, ИФА, РСК и др.): наиболее высокий титр антител в сыворотке крови выявляют при внекишечном амёбиазе.

Лечение. Применяют метронидазол, мексаформ, осарсол, ятрен, дийодохин, делагил, фурамид, интестопан и др.

Профилактика. Связана с выявлением и лечением цистовыделителей и носителей амёб, проведением общесанитарных мероприятий.

19.1.2. Свободноживущие патогенные амёбы

Свободноживущие амёбы — неглерии (род *Naegleria*), акантамебы (род *Acanthamoeba*) и гартманеллы (род *Hart-*

manella) вызывают первичный амёбный менингоэнцефалит, гранулематозный амёбный энцефалит; акантамебы могут вызывать кератит.

Таксономия. Таксономическое положение сходно с таковым возбудителя амёбиаза.

Морфология. Форма трофозоитов амёбовидная. Размер неглерий — около 15 мкм. Неглерии образуют одну большую псевдоподию и иногда, вытягиваясь в овальную форму, приобретают два полярных жгутика («амёбофлагеллаты»). Акантамебы имеют мелкие шипообразные псевдоподии. Диаметр клеток 10 мкм. При движении они образуют 2–3 пальцевидные псевдоподии. Передвигаются медленнее, чем неглерии. Могут в норме обнаруживаться в полости рта и носоглотки.

В неблагоприятных условиях эти амёбы образуют одноядерные цисты овальной формы с морщинистой двухконтурной оболочкой (у неглерий она гладкая).

Резистентность. Цисты резистентны к дезинфицирующим веществам, высушиванию и замораживанию.

Эпидемиология. Свободноживущие амёбы, питаясь бактериями, обитают в загрязнённых пресноводных водоёмах, сточных водах, иле, влажных почвах, воздушных фильтрах. Неглерии и акантамебы, как и легионеллы, могут обитать в увлажнителях кондиционеров и отсюда попадать в воздух помещений. Инфицирование чаще происходит летом после купания в озерах, прудах, бассейнах или в результате заноса из почвы грязными руками. Входными воротами являются носовая полость и носоглотка. Возможен и аэрогенный механизм заражения.

Патогенез и клиника. Возбудители проникают в ЦНС через слизистую оболочку носа (ринит), покрывающую решетчатую кость, по ходу обонятельного нерва. Возможно проникновение паразитов через кровоток. Развивается геморрагическое воспаление обонятельных луковиц, воспаление мозговых оболочек и тканей мозга (первичный амёбный менингоэнцефалит, вызванный акантамебами), гранулематозный процесс (гранулематозный энцефалит, вызванный *Naegleria fowleri*). У людей, носящих контактные линзы, могут поражаться глаза.

Клиническая симптоматика проявляется через 5 дней после инфицирования. Появляются головная боль, тошнота, ринит. Летальный исход — через 3–10 суток. Менее остро протекает болезнь, вызванная акантамебами. Акантамебы могут поражать носоглотку, легкие, кожу, роговицу, слизистую оболочку желудка, редко — ЦНС.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом исследовании готовят нативные и окрашенные мазки из цереброспинальной жидкости, мокроты, соскобов со слизистых носоглотки, биоптатов поражённых участков. В мазках выявляют единичные подвижные, увеличенные амёбы. Для идентификации применяют РИФ.

Лечение. Малоэффективно из-за низкой чувствительности неглерий к антимикробным препаратам. Акантамебы более чувствительны к препаратам (сульфаниламидам, клотримазолу, 5-фторцитозину).

Профилактика. Включает соблюдение общегигиенических правил; избежание контакта с загрязненной водой.

19.2. Жгутиконосцы

Жгутиконосцы (лейшмании, трипаносомы, лямблии и трихомонады) относятся к типу *Sarcomastigophorae*, подтипу *Mastigophora*. Имеют один или несколько жгутиков. У основания жгутика расположен блефаропласт; у некоторых простейших рядом имеется кинетопласт — ДНК-содержащий органоид митохондриального происхождения, энергетически способствующий движению жгутика. Трихомонады имеют жгутик, соединенный с клеткой волнообразной (ундулирующей) мембраной.

19.2.1. Лейшмании (род *Leishmania*)

Лейшманиозы — протозойные болезни (инвазии) человека и животных, вызываемые простейшими — лейшманиями и передающиеся москитами; характеризуются поражением внутренних органов (висцеральный лейшманиоз) или кожи и слизистых оболочек (кожный, кожно-слизистый лейшманиозы).

Возбудитель кожного лейшманиоза был открыт в 1897 г. русским врачом П. Ф. Боровским в Ташкенте, а возбудитель висцерального лейшманиоза — У. Лейшманом (1900) и Ш. Donovanом (1903) независимо друг от друга.

Инфекцию у людей вызывают 21 из 30 видов, инфицирующих млекопитающих. Они включают *L. donovani*-комплекс с 3 видами (*L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*); *L. mexicana*-комплекс с 3 главными видами (*L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. venesuelensis*); *L. tropica*; *L. major*; *L. aethiopica*; подрод *Viannia* с 4 главными видами [*L.(V.) braziliensis*, *L.(V.) guyanensis*, *L.(V.) panamensis*, *L.(V.) peruviana*]. Различные виды морфологически неразличимы, но они могут дифференцироваться моле-

кулярными методами или моноклональными антителами.

Таксономия. Возбудители лейшманиозов относятся к типу *Sarcomastigophorae*, подтипу *Mastigophora* — жгутиковые, классу *Zoomastigophora*, отряду *Kinetoplastida*, роду *Leishmania*.

Характеристика возбудителей. Лейшмании — внутриклеточные паразиты, развивающиеся в макрофагах или клетках ретикулоэндотелиальной системы. Размножаются простым делением, проходят два цикла бесполого развития: жгутиковый (промастиготный) и безжгутиковый (амастиготный).

В жгутиковом цикле паразиты развиваются на питательных средах или в кишечнике москита, зараженного при сосании крови больных людей или животных. Заглоченные москитом амастиготы превращаются в кишечнике в промастиготы, делятся и на 6–8-е сутки накапливаются в глотке москита. Возбудитель имеет удлиненную веретенообразную форму (длина 10–20 мкм, поперечник — около 5 мкм).



Рис. 19.2. Схема строения лейшманий: а — жгутиковая форма (промастигота); б — безжгутиковая форма; в макрофаге (амастигота)

Протоплазма содержит ядро, цитоплазму, зерна волютина и кинетопласт. Жгутик, отходящий от заостренного конца, способствует перемещению лейшманий (рис. 19.2, а).

Безжгутиковый цикл проходит в ретикулоэндотелиальных клетках печени, селезенки, лимфатических узлов, в макрофагах (рис. 19.2, б) инфицированного организма. Паразиты имеют округлую форму (2–5 мкм), без жгутиков; при окраске по Романовскому—Гимзе цитоплазма приобретает серовато-голубой цвет, а ядро и кинетопласт — красновато-фиолетовый.

Культивирование. Для культивирования используют питательную среду NNN (по первым буквам фамилий авторов — Николь, Нови, Нил), содержащую агар с дефибрированной кровью кролика. Лейшмании также растут на хорион-аллантаической оболочке куриного эмбриона и в культурах клеток.

К лабораторному заражению лейшманиями восприимчивы белые мыши, хомяки и обезьяны.

Эпидемиология. Заболевания распространены в странах теплого и тропического климата. Механизм передачи возбудителей — трансмиссивный, через укусы переносчиков — москитов.

Основные источники возбудителей: при кожном антропонозном лейшманиозе — люди; при кожном зоонозном лейшманиозе — песчанки и другие грызуны; при висцеральных лейшманиозах — люди (при индийском висцеральном лейшманиозе) или собаки, шакалы, лисы, грызуны (при средиземноморском висцеральном лейшманиозе); при кожно-слизистом лейшманиозе — грызуны, дикие и домашние животные.

Патогенез и клиника. Различают два возбудителя кожного лейшманиоза: *L. tropica* — возбудитель антропонозного лейшманиоза и *L. major* — возбудитель зоонозного кожного лейшманиоза.

Антропонозный кожный лейшманиоз (поздно изъязвляющийся лейшманиоз, городская форма) характеризуется длительным инкубационным периодом — несколько месяцев. На месте укуса москитом появляется бугорок, который увеличивается и через 3–4 месяца изъязвляется. Язвы чаще располагаются на лице и верхних конечностях, рубцуются к концу года («годовик»).

Зоонозный кожный лейшманиоз (рано изъязвляющийся лейшманиоз, пендинская язва, сельская форма) протекает более остро. Инкубационный период составляет 2–4 недели. Мокнущие язвы чаще локализуются на нижних конечностях.

Кожно-слизистый лейшманиоз (эспундия) вызывают лейшмании комплекса *L. braziliensis*; развивается гранулематозное и язвенное поражение кожи носа, слизистых оболочек рта и гортани. Встречается в основном в Центральной и Южной Америке, как и сходные болезни, вызываемые *L. mexicana* (мексиканский лейшманиоз), *L. peruviana* (перуанский лейшманиоз) и др. Инкубационный период — от 2 недель до 3 месяцев.

Антрапонозный висцеральный лейшманиоз (индийский кала-азар, черная болезнь) вызывается лейшманиями комплекса *L. donovani*; встречается в основном в Евразии и Южной Америке. Инкубационный период 6–8 месяцев. У больных поражаются печень, селезенка, лимфоузлы, костный мозг и пищеварительный тракт. Развиваются дистрофия и некроз органов. Кожа темнеет, на ней появляются высыпания — лейшманоиды.

Средиземноморский висцеральный лейшманиоз, или детский кала-азар (возбудитель *L. infantum*) имеет сходную клинику, кроме изменений со стороны кожи, которая бледнеет. Чаще болеют дети.

Иммунитет. У переболевших людей остается стойкий пожизненный иммунитет.

Микробиологическая диагностика. В мазках (из бугорков, содержимого язв, пунктатов из органов), окрашенных по Романовскому—Гимзе, обнаруживают внутриклеточно расположенные мелкие, овальной формы лейшмании (амастиготы). Для выделения чистой культуры возбудителя делают посев на среду NNN: инкубация 3 недели при комнатной температуре. Заражают также белых мышей, хомячков. Серологические методы недостаточно специфичны. Возможно применение РИФ, ИФА.

Кожно-аллергический тест (тест Монтенегро) на ГЗТ к лейшманину (препарат из убитых промастигот) применяют при эпидемиологических исследованиях лейшманиоза. Он положителен спустя 4–6 недель после заболевания.

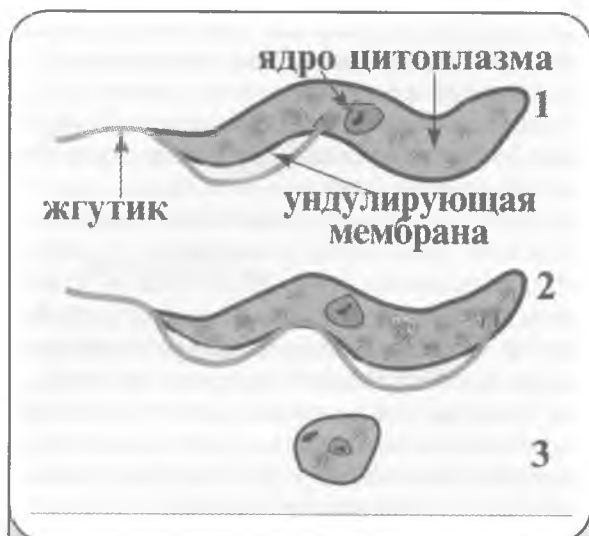


Рис. 19.3. Схема строения трипаносом:
1 — эпимастиготы (критидиальная стадия); 2 — трипомастиготы (трипаносомальная стадия); 3 — амастиготы (безжгутиковая стадия)

Лечение. При висцеральном лейшманиозе применяют препараты сурьмы (солюсурмин, неостибозан и др.) и ароматические диамидины (стильбамидин, пентамидин). При кожном лейшманиозе — акрихин, амфотерицин В и др.

Профилактика. С целью профилактики лейшманиозов уничтожают больных животных, проводят борьбу с грызунами и москитами. Иммунопрофилактику кожного лейшманиоза осуществляют прививкой живой культуры *L. major*, однако высокая частота осложнений ограничивает ее применение.

19.2.2. Трипаносомы (род *Trypanosoma*)

Для человека патогенны *Trypanosoma brucei gambiense* и *Trypanosoma brucei rhodesiense* (разновидности *Trypanosoma brucei*), вызывающие африканский трипаносомоз, или сонную болезнь, и *Trypanosoma cruzi* — возбудитель американского трипаносомоза (болезнь Шагаса).

Возбудители были открыты в 1902 г. Д. Даттоном (*T. gambiense*), в 1909 г. Ш. Шагасом (*T. cruzi*) и в 1910 г. Г. Фантенем (*T. rhodesiense*).

Таксономия. Таксономическое положение трипаносом на уровне высших таксонов такое же, как и у лейшманий.

Характеристика возбудителей. Трипаносомы по размерам (1,5÷3×15÷30 мкм) более крупные, чем лейшмании. Клетки имеют узкую продолговатую форму, жгутик и ундулирующую мембрану (рис. 19.3). Размножаются бесполом путем (продольное деление). Трипаносомозы — трансмиссивные болезни. Источником инфекции являются домашние и дикие животные, инфицированный человек. Переносчиком африканского трипаносомоза являются кровососущие мухи цеце, а болезни Шагаса — триатомовые клопы. Возбудители имеют различные стадии развития: эпимастиготы, трипомастиготы, амастиготы.

- **Эпимастиготы** (критидиальная стадия) растут в кишечнике переносчиков и на питательных средах. Жгутик отходит от середины удлиненной клетки (около ядра). Ундулирующая мембрана не выражена.

- **Трипомастиготы** (трипаносомальная стадия) находятся в крови животных и человека. Жгутик отходит от задней части удлиненной клетки. Ундулирующая мембрана резко выражена.

- **Амастиготы** не имеют жгутика, клетки овальные. Такая стадия характерна для *T. cruzi*, обитающей в мышцах и других тканевых клетках человека.

Патогенез и клиника. Африканский трипаносомоз, вызываемый *T. gambiense* (гамбийская форма), протекает хронически, а если возбудителем является *T. rhodesiense* (родезийская форма) — развивается острая, более тяжелая форма болезни. В месте укуса переносчиком — мухой цеце к концу недели развивается изъязвляющаяся папула — «трипаносомный» шанкр, откуда размножающиеся паразиты попадают в кровь (паразитемия), где продолжают размножение. Возбудитель обнаруживается также в лимфоузлах, цереброспинальной жидкости. Развиваются лихорадка, менингоэнцефалит, сонливость, утомляемость, истощение и другие нарушения, приводящие к летальному исходу. Возможно бессимптомное носительство возбудителя.

Американский трипаносомоз развивается в течение 1–3 недель после попадания *T. cruzi* в слизистые оболочки или ранку от укуса триатомовыми клопами: возбудитель попадает вместе с инфицированными фекалиями клопов. В участке внедрения паразита образуется плотный инфильтрат темно-красного цвета.

Попав в кровотоки, паразит циркулирует в виде трипомастиготы, не размножается. Внедрившись в тканевую клетку, трипомастигота превращается в безжгутиковую форму — амастиготу, размножающуюся бинарным делением. Клетки, содержащие большие количества амастигот, разрываются, освобождая многочисленные трипомастиготы, которые вторгаются в другие клетки.

У больных развиваются лимфаденит, миокардит, лихорадка. Поражаются ЖКТ, печень, селезенка, головной мозг. Характерен длительный латентный период, вплоть до нескольких десятилетий. Болезнь протекает остро или хронически.

Иммунитет. В ответ на инвазию образуются в большом количестве IgM: специфические протективные и неспецифические антитела. В хронической фазе проявляются IgG-антитела. Трипаносомы способны образовывать многочисленные новые антигенные варианты, изменяющие иммунный ответ. Развиваются аутоиммунные механизмы.

Микробиологическая диагностика. Применяется микроскопический метод диагностики трипаносомозов: мазки из крови, пунктата шейных лимфатических узлов, цереброспинальной жидкости красят по Романовскому—Гимзе или по Райту.

Для выделения возбудителя можно заражать белых мышей или крыс, а также делать посев на питательные среды с кровью.

При серологическом методе определяют антитела (IgM) с помощью ИФА, РСК, непрямой РИФ и др.

Лечение. Для лечения африканского трипаносомоза назначают сурамин или пентами-

дин, а при поражении ЦНС — меларсопрол. Лечение американского трипаносомоза неэффективно.

Профилактика. Проводят неспецифическую профилактику трипаносомоза путем ликвидации мест выплода переносчиков возбудителя и уничтожения инфицированных животных. В личной профилактике применяют репелленты и защитную одежду. Также выявляют и лечат инфицированных лиц.

19.2.3. Лямблии, или гиардии (род *Lambliа*, или *Giardia*)

Лямблиоз (гиардиоз) — болезнь (инвазия), протекающая в латентной или манифестной форме в виде дисфункции кишечника с явлениями энтерита.

Возбудитель открыт Д. Ф. Лямблем в 1859 г. В 1915 г. возбудитель отнесен к роду *Giardia* в честь Жиара.

Таксономия. Лямблии (вид *Lambliа intestinalis*, или *Giardia lamblia*) относятся к типу *Sarcomastigophorae*, подтипу *Mastigophora*, классу *Zoomastigophorea*, отряду *Diplomonadida*.

Характеристика возбудителя. Vegetативная клетка лямблий плоская, имеет грушевидную форму (9÷20×5÷10 мкм), два ядра (рис. 19.4). Четыре пары жгутиков обеспечивают вращательное движение клетки. Лямблии размножаются путем продольного деления. Vegetативные

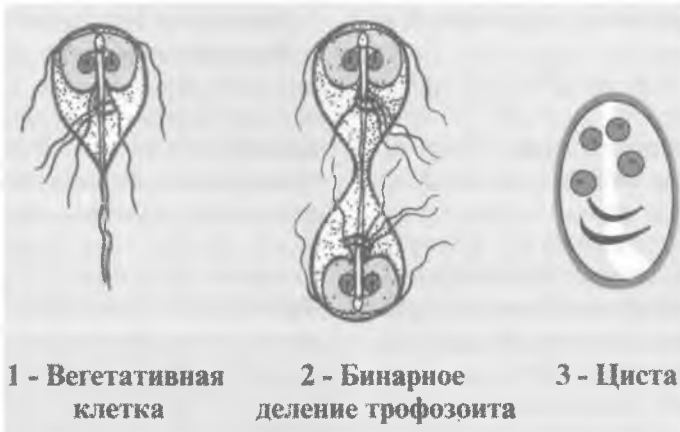


Рис. 19.4. Схема строения лямблий

клетки лямблий прикрепляются к эпителиоцитам кишечника с помощью присасывательного диска. Попадая из мест обитания — из верхних отделов кишечника в менее благоприятные — нижние отделы кишечника, образуют овальные четырехъядерные цисты (10÷14×6÷10 мкм), окруженные толстой двухконтурной оболочкой.

Резистентность. Цисты лямблий, попавшие с испражнениями в окружающую среду, устойчивы к низким температурам, сохраняются в почве и холодной воде более 2 месяцев. Цисты не погибают при хлорировании воды, но мгновенно погибают при кипячении.

Эпидемиология. Источником инфицирования цистами являются люди — больные и носители, реже — собаки, бобры, олени. Механизм заражения — фекально-оральный, через загрязненную воду, пищу, руки и предметы обихода. Возможны водные вспышки диарей. Имеется связь (до 40 % случаев) между мужским гомосексуализмом и инфицированностью лямблиями и (или) амебами.

Патогенез и клиника. Развитие лямблиоза зависит от степени резистентности организма. Лямблии обитают в двенадцатиперстной и тощей кишках. Размножаясь в большом количестве, они блокируют слизистую оболочку, нарушая пристеночное пищеварение и моторику кишечника. Возможно также иммунопатологическое воздействие Т-клеток на слизистую оболочку тощей кишки. Лямблии могут вызывать диарею, энтероколиты, нарушения обмена веществ, потерю аппетита, массы тела и др. Развиваются гастроэнтероколитический, холецистопанкреатический и астенический синдромы.

Иммунитет. Носит клеточный и гуморальный характер.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом методе в мазках из испражнений выявляют цисты; в случае диареи — вегетативные формы (трофозоиты), которые также обнаруживают и при дуоденальном зондировании. Серологический метод подтверждает наличие специфического процесса по нарастанию титра антител в РИФ.

Лечение. Применяют метронидазол, тинидазол, фуразолидон.

Профилактика. Сходна с профилактическими мерами при амебиазе.

19.2.4. Трихомонады (род *Trichomonas*)

Трихомоноз — антропонозная болезнь (инвазия), вызываемая мочеполовой трихомонадой (*Trichomonas vaginalis*); сопровождается поражениями мочеполовой системы.

Таксономия. Возбудитель относится к типу *Sarcostigophora*, подтипу *Mastigophora*, классу *Zoomastigophoreae*, отряду *Trichomonadida*. Различают также комменсалы — ротовую (*T. tenax*) и кишечную (*T. hominis*) трихомонады.

Характеристика возбудителя. *Trichomonas vaginalis* цист не образует. Существует только как трофозоит, размножается делением. Имеет грушевидную форму; размеры 8÷40×3÷14 мкм. Пять жгутиков расположены на переднем конце клетки. Один из них соединен с клеткой ундулирующей мембраной, доходящей до середины клетки. Через клетку проходит осевая нить (аксостиль), выходящая из заднего конца клетки в виде шипа (рис. 19.5).

Резистентность. В окружающей среде быстро погибает; на банных губках и мочалках сохраняется 10–15 мин, а в слизи, сперме и моче — 24 ч.

Эпидемиология. Заболевание передается половым путем, через родовые пути (младенцу), редко — через предметы личной гигиены.

Патогенез и клиника. *Trichomonas vaginalis* вызывает вагинит, уретрит, простатит. Воспалительный процесс сопровождается болью, зудом, гнойно-серозными выделениями. Часто болезнь протекает бессимптомно.

Иммунитет. Не изучен.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом методе выявляют трихомонады в нативных и окрашенных мазках из отделяемого мочеиспускательного канала, секрета предстательной железы или осадка мочи, окрашенных метиленовым синим или по Романовскому—Гимзе. При фазово-контрастной микроскопии нативных препаратов наблюдается подвижность трихомонад. Нативный препарат готовят на предметном стекле, смешивая отделяемое с каплей теплого изотонического раствора хлорида натрия. При приготовлении препарата «висячая капля» наносят каплю исследуемого материала на покровное стекло со смазанными вазелином краями, после чего его

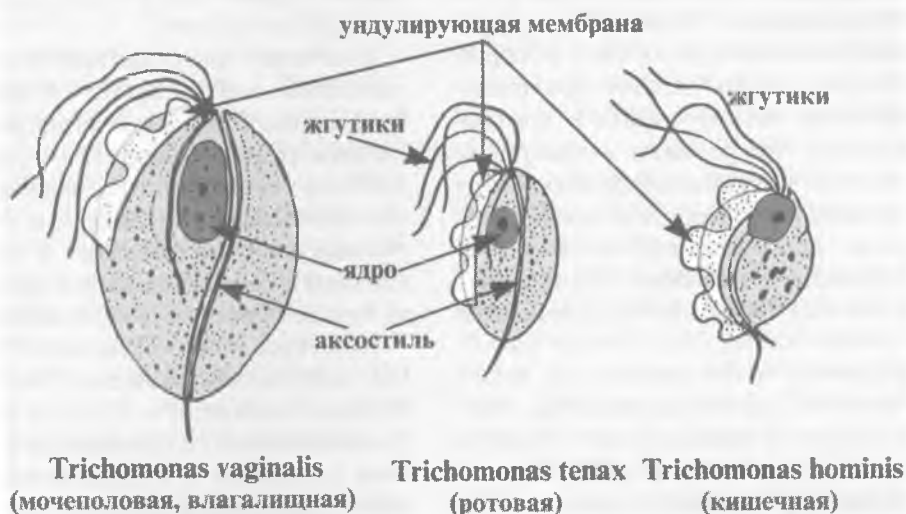


Рис. 19.5. Схема строения трихомонад

переворачивают каплей вниз и помещают на предметное стекло с лункой. Препараты исследуют с объективом $\times 40$ и окуляром $\times 10$. Трихомонады по размеру близки к лейкоцитам и имеют характерные толчкообразные движения ундулирующей мембраны и жгутиков.

При хронических формах трихомонады выращивают на питательных средах, например СКДС (солевой раствор с гидролизатами казеина, дрожжей и с мальтозой).

Лечение. Применяют метронидазол, тинидазол, осарсол, аминарсон, фуразолидон.

Профилактика. Аналогична проводимой при венерических заболеваниях.

19.3. Споровики

Споровики (класс *Sporozoa*, тип *Apicomplexa*) включают плазмодии малярии, токсоплазмы, саркоцисты, изоспоры, циклоспоры, криптоспоридии, бабезии.

19.3.1. Плазмодии малярии (род *Plasmodium*)

Малярия — антропонозная протозойная болезнь, вызываемая простейшими рода *Plasmodium*; сопровождается приступами лихорадки, анемией, увеличением печени и селезенки.

Таксономия. Возбудители малярии человека относятся к типу *Apicomplexa*, классу *Sporozoa*, отряду *Eucoccidiida* (собственно кокцидии), подотряду *Haemosporina* и видам: *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium falciparum*. Впервые возбудитель малярии — *P. malariae* был обнаружен французским врачом А. Лавраном в 1880 г.

Характеристика возбудителя. Жизненный цикл плазмодиев происходит со сменой хозяев: в комаре рода *Anopheles* (окончательном хозяине) осуществляется половое размножение, или спорогония (образование вытянутых клеток — спорозоитов), а в организме человека (промежуточном хозяине) происходит бесполое размножение — шизогония, точнее мерогония, при которой образуются мелкие клетки — мерозоиты.

После укуса спорозоиты из слюнных желез комара попадают в кровь и далее (в течение часа) — в клетки печени (гепатоциты), в которой совершается первый этап размножения — *тканевая (экзоэритроцитарная) шизогония*. При этом в гепатоцитах спорозоит превращается в тканевой трофозоит (растущая клетка), который переходит в стадию тканевого шизонта (делящаяся клетка). Тканевой шизонт делится (меруляция) с образованием тканевых мерозоитов, поступающих

в кровь. Из одного спорозоида образуется 2000–40 000 мерозоитов. Мерозоиты проникают эндоцитозом в эритроциты, в которых совершается несколько циклов *эритроцитарной шизогонии*. Из мерозоида в эритроците развиваются трофозоиты — растущие формы паразита: кольцевидный трофозоит юный, полувзрослый, взрослый трофозоит. Они содержат желтовато-коричневые гранулы, образующиеся из гемоглобина эритроцитов. Взрослый трофозоит превращается в многоядерный шизонт (рис. 19.6), из которого образуются 6–24 мерозоита, внедряющиеся затем в другие эритроциты. Этот процесс повторяется многократно. Продолжительность цикла развития в эритроцитах у *P. vivax*, *P. ovale*, *P. falciparum* составляет 48 ч, у *P. malariae* — 72 ч. В эритроцитах мерозоиты дают также начало образованию половых незрелых форм — мужских и женских гамет (гамонтов, гаметоцитов), которые способны инфицировать комаров при кровососании больного малярией. Гаметы имеют овальную

форму, кроме гамет *P. falciparum*, имеющих полулунную форму.

С началом эритроцитарной шизогонии размножение возбудителей в печени прекращается, кроме *P. vivax* и *P. ovale*, у которых часть спорозоитов (гипнозоитов, брэдизоитов) остается в гепатоцитах на недели или месяцы, что обуславливает появление поздних, отдаленных рецидивов болезни. Ранние рецидивы связаны с сохранившимися формами паразита при эритроцитарной шизогонии.

При укусе комаром незрелые половые формы возбудителя попадают вместе с кровью больного человека в желудок самки комара. В комаре гамонты приступают к гаметогонии. Они созревают и оплодотворяются, образуя зиготу, превращающуюся в удлиненную подвижную форму — оокинету. Оокинета проникает через стенку желудка и образует ооцисту, в которой завершается спорогония с образованием до 10 000 спорозоитов. Часть спорозоитов (2 %) затем попадает через гемолимфу в слюнные железы комара.

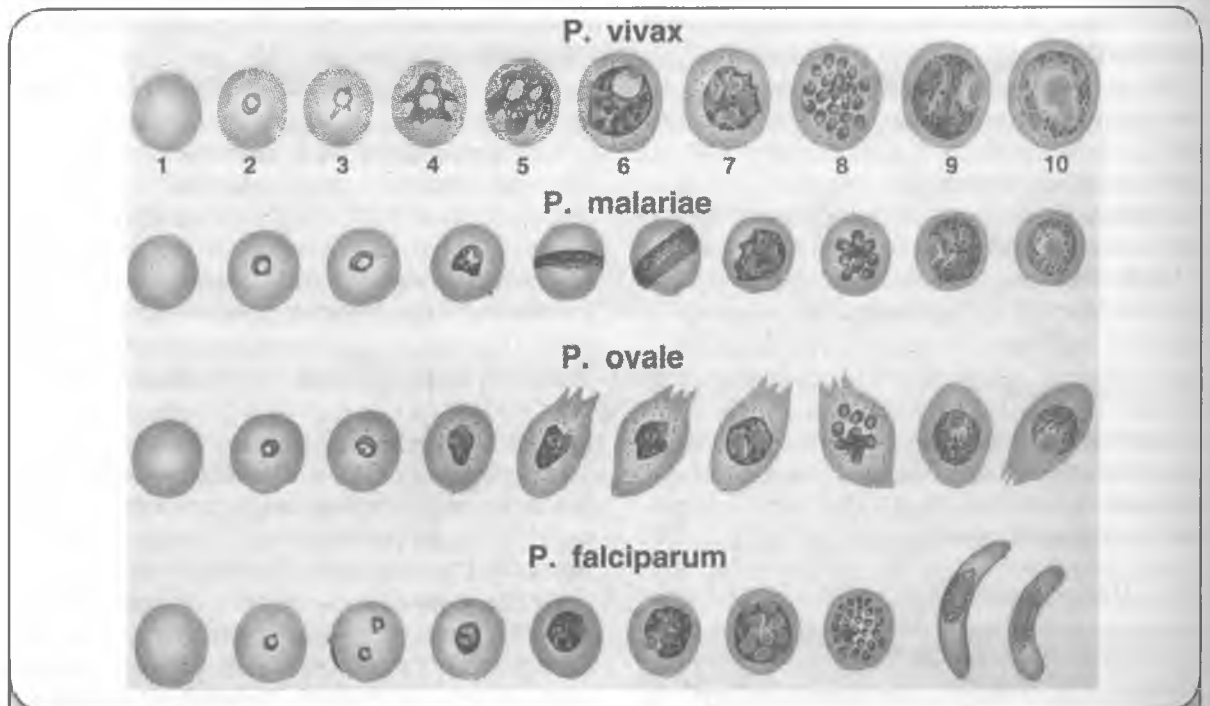


Рис. 19.6. Кровяные формы возбудителей малярии:

1 — нормальные эритроциты; 2 — кольцевидные трофозоиты; 3–6 — трофозоиты разного возраста; 7 — шизонты; 8 — морулы; 9 — гамонты женские; 10 — гамонты мужские (модифицировано по Е. А. Павловой)

P. vivax — возбудитель трехдневной малярии, открыт в 1890 г. В. Грасси и Р. Фелетти. В эритроците, при окраске мазка из крови по Романовскому—Гимзе, трофозоит имеет форму кольца — крупная вакуоль в центре, окаймленная голубой цитоплазмой с рубиново-красным ядром (кольцевидный трофозоит). Иногда в одном эритроците встречаются 2–3 кольца. Полувзрослый трофозоит имеет в эритроците форму амобы с псевдоподиями, подвижен (*vivax* — живой). Пораженные эритроциты увеличены, в них выявляется многочисленная мелкая кирпично-красная зернистость (зерна Шюффнера). В стадии деления паразита образуется 12–24 мерозоида.

P. malariae — возбудитель четырехдневной малярии открыт в 1880 г. А. Лавраном. В эритроците выявляется один трофозоит в стадии кольца. Полувзрослый трофозоит внутри эритроцита, в отличие от других видов, имеет лентовидную форму. Паразит делится на 6–12 мерозоитов, располагающихся упорядоченно вокруг пигмента, обычно в виде розетки.

P. falciparum — возбудитель тропической малярии открыт в 1897 г. У. Уэлчем. Характерным для него является наличие юных форм паразита в виде мелких колец в эритроците, часто по 2–3 в одной клетке. В пораженных эритроцитах выявляются единичные крупные розово-фиолетовые пятна (Мауэра). В периферической крови кроме кольцевидных трофозоитов (другие формы трофозоитов находятся в эритроцитах капилляров) появляются гамонты в виде полулуний.

P. ovale — возбудитель трехдневной малярии открыт в 1922 г. Ж. Стивенсоном. Паразит в стадии кольца в эритроците имеет более крупное ядро, чем *P. vivax*. В эритроците выявляется крупная зернистость (зерна Джеймса). Инфицированные эритроциты увеличены, часть пораженных эритроцитов имеет овальную форму. Паразит делится на 6–12 мерозоитов.

Эпидемиология. Восприимчивость людей — высокая. Малярией болеют сотни миллионов людей, живущих в странах тропического и субтропического климата: в тропиках основной возбудитель — *P. falciparum*; спорадически — *P. ovale*; в регионах умеренного климата малярию чаще вызывает *P. vivax*, реже

— *P. malariae*. Поэтому острой является проблема завоза малярии в нашу страну. Очаги малярии имеются в южных регионах России.

Источник возбудителя — человек (больной или паразитоноситель). Основной механизм заражения — трансмиссивный, через укусы самки комара рода *Anopheles* (около 30 видов). Возможен парентеральный путь передачи при гемотрансфузии.

Патогенез и клиника. Инкубационный период при различных формах малярии колеблется от недели до года (при трехдневной малярии — до 14 мес.) и заканчивается с момента появления паразитов в крови. Клинические проявления обусловлены эритроцитарной шизогонией. Малярии свойственно приступообразное течение: озноб с сильной головной болью сменяется подъемом температуры до 39–40 °С и выше, после чего происходит быстрое снижение температуры с обильным потоотделением и выраженной слабостью. Малярийный приступ вызван выбросом пирогенных веществ из разрушенных эритроцитов, мерозоитов и продуктов их метаболизма. Приступы могут быть ежедневными или повторяться через 1–2 дня и приводить при длительном течении к поражению печени, селезенки и почек.

Наиболее тяжело протекает тропическая малярия. Плазмодии *P. falciparum* размножаются в эритроцитах (любого возраста) мелких сосудов внутренних органов, вызывая внутрисосудистый гемолиз, закупорку капилляров, гемоглобинурийную лихорадку. Этот процесс усиливается в результате иммунопатологического гемолиза неинфицированных эритроцитов. Нарушение микроциркуляции крови и гемолиз приводят к поражению мозга (малярийная кома), развитию острой почечной недостаточности. Летальность — около 1%.

Иммунитет. При заболевании формируется нестойкий видоспецифический, стадийноспецифический, нестерильный иммунитет. Возможны повторные заболевания. Антитела способствуют фагоцитозу пораженных эритроцитов и мерозоитов. Повышенный уровень противомаларийных антител класса G месяцами и годами сохраняется после заболевания.

Естественную резистентность отмечают у лиц, в эритроцитах которых нет антигенов

группы Duffy, а также у людей с врожденным дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, с гемоглинопатиями (например, при серповидно-клеточной анемии).

Микробиологическая диагностика. Диагностика основана на микроскопическом исследовании препаратов крови: «толстой капли» и мазков из крови, окрашенных по Романовскому—Гимзе или по Райту, и обнаружении различных форм возбудителя (красное ядро, голубая цитоплазма). Препарат «толстая капля» окрашивают не фиксируя, поэтому эритроциты и плазмодии деформируются; возможность обнаружения возбудителя значительно повышается. Если паразиты не обнаружены в крови, взятой на высоте лихорадки, то повторяют исследования мазков крови — через 12 часов и т. д.

В препаратах крови с неосложненной тропической малярией плазмодии *P. falciparum* не обнаруживаются, кроме кольцевидных трофозоитов и гамонтов полулунной формы.

Для обнаружения ДНК паразита в крови используют ДНК-гибридизацию и ПЦР. В серологическом методе применяют РИФ, РПГА, ИФА.

Лечение. Противомаларийные препараты оказывают различное действие на бесполое и половые стадии плазмодиев. Различают препараты шизонтоцидного (гисто- и гематошизонтотропного), гамонтотропного и спорозитотропного действия. К основным противомаларийным препаратам относят: хинин, мефлохин, хлорохин (хингамин), акрихин, примахин, бигумаль, пириметамин и др.

Профилактика. Профилактические мероприятия направлены на источник возбудителя (лечение больных малярией и паразитоносителей) и на уничтожение переносчиков возбудителя — комаров. Разрабатываются вакцины на основе антигенов, полученных генно-инженерным методом (антиспорозитная антимерозитная, антигамонтная).

19.3.2. Токсоплазмы (род *Toxoplasma*)

Токсоплазмоз — болезнь (инвазия), вызванная простейшими рода *Toxoplasma*, сопровождающаяся паразитемией и поражением различных органов. У человека клинические проявления полиморфны, заболевание протекает хронически, часто бессимптомно.

Таксономия. Возбудитель — *Toxoplasma gondii*, относится к типу *Apicomplexa*, классу *Sporozoa*, отряду *Eucoccidiiida* (собственно кокцидии); выделен в 1908 г. Ш. Николем и Л. Мансо в Тунисе от грызунов гонди.

Характеристика возбудителя. *Toxoplasma gondii* — облигатный внутриклеточный паразит. В жизненном цикле токсоплазм различают несколько морфологических форм (рис 19.7): ооцисты, псевдоцисты, цисты, тахизоиты.

Ооцисты формируются в результате полового размножения паразита в клетках слизистой оболочки кишечника кошки и представителей семейства кошачьих — окончательных хозяев токсоплазм: разнополюе гаметоциты сливаются с образованием ооцисты овальной формы (диаметр 10–12 мкм). Ооцисты содержат по 2 спороцисты, в которых заключено по 4 спорозоиота. Ооцисты выделяются с фекалиями кошки и через 3 дня созревают в окружающей среде. Попав в кишечник человека (например, с немытыми овощами и фруктами), они освобождают спорозоиоты, которые распространяются по лимфатическим сосудам, размножаются внутриклеточно бесполом путем (шизогония). Размножившиеся паразиты (тахизоиты) внедряются затем в другие клетки. Они обнаруживаются при острой стадии инфекции.

Тахизоиты (трофозоиты) имеют характерную форму апельсиновой дольки или полумесяца (размером 3×7 мкм). При окраске по Романовскому—Гимзе цитоплазма голубого цвета, а ядро — рубиново-красного.

Псевдоцисты не имеют оболочки; они образуются в пораженных клетках, макрофагах и содержат скопления трофозоитов (эндозоитов). Обнаруживаются, как и тахизоиты, при острой инфекции.

Цисты (размер 10–1000 мкм) также образуются внутри клеток хозяина. Они имеют плотную оболочку и содержат более сотни паразитов (цистозоиоты, или брадизоиты). Цисты сохраняются десятилетиями (хроническая инфекция).

Культивирование. Токсоплазмы культивируют в куриных эмбрионах и на культурах тканей, а также путем заражения белых мышей и других животных.

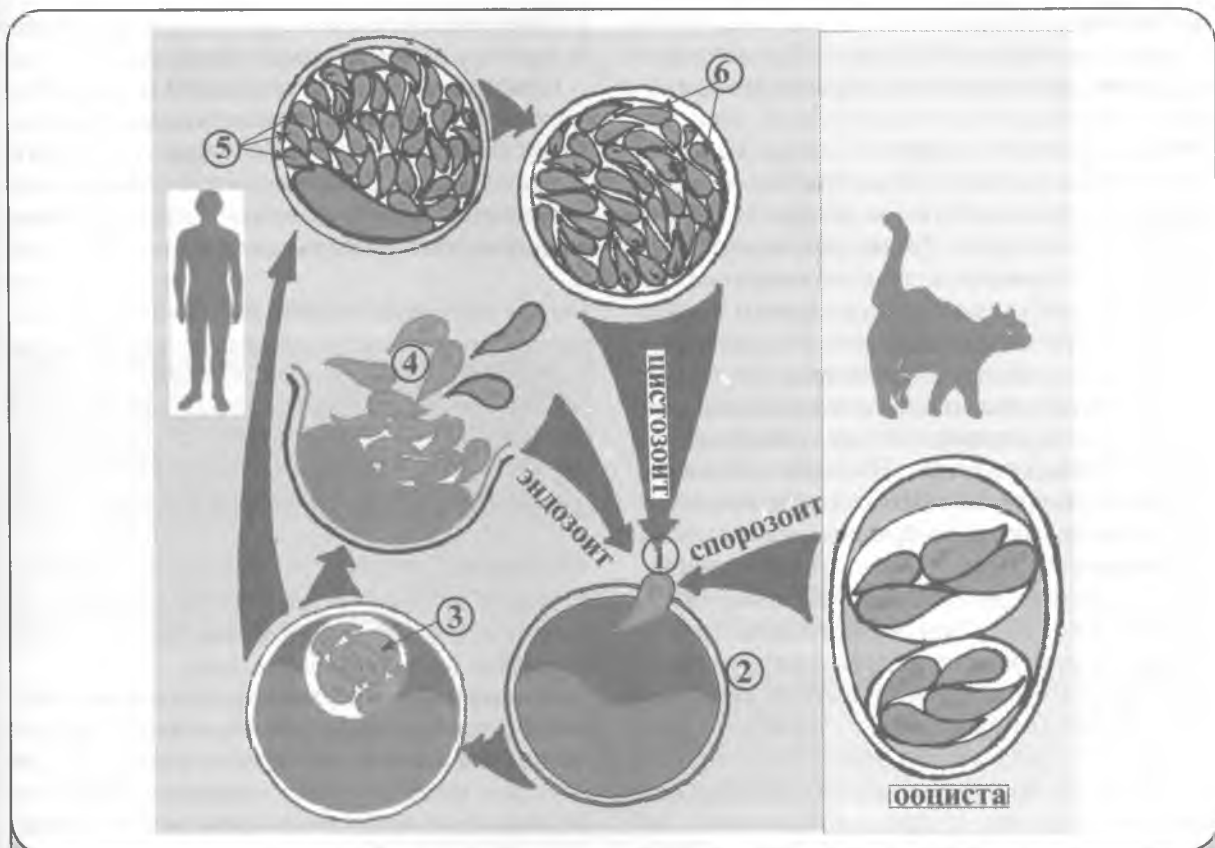


Рис. 19.7. Бесполое размножение токсоплазм в организме человека или другого промежуточного хозяина: 1 — проникновение в клетку хозяина (2) паразита в виде эндозоида, цистозоида или спорозоида (спорозоиты выходят из созревшей ооцисты, содержащей две спорозоиты со спорозоитами); 3 — скопление эндозоитов в паразитарной вакуоле; 4 — выход эндозоитов из клетки хозяина; 5 — цистозоиты во внутриклеточной цисте; 6 — цистозоиты во внеклеточной цисте

Резистентность. Ооцисты могут в течение года сохранять жизнеспособность в окружающей среде. Токсоплазмы быстро погибают при температуре 55 °С, высокочувствительны к 50% спирту, 5% раствору NH_4OH .

Эпидемиология. Токсоплазмы распространены повсеместно. Источниками инвазии служат многие виды домашних и диких млекопитающих, а также птицы. Заражение человека происходит алиментарным путем в результате употребления в пищу термически слабо обработанных продуктов (мясо, молоко, яйца), содержащих в псевдоцистах и цистах трофозоиты (эндозоиты и цистозоиты) паразита. Животные и человек также могут инфицироваться ооцистами, выделяемыми кошками.

Реже токсоплазмы попадают контактным (через поврежденную кожу и слизистые оболочки) или воздушно-пылевым путями. При врожденном токсоплазмозе возбудитель проникает в плод через плаценту. Иногда заражение происходит в результате гемотрансфузии, трансплантации органов.

Патогенез и клиника. Токсоплазмы, проникшие в организм, достигают с током лимфы регионарных лимфоузлов, размножаются в них (тахизоиты), проникают в кровь, разносятся по организму, попадая в клетки ретикулоэндотелиальной системы практически всех внутренних органов, где образуют псевдоцисты и цисты. Токсоплазмы поражают нервные клетки, печень, почки, легкие, сердце, мышцы, глаза. При острой инфекции наблю-

даются паразитемия и скопления токсоплазм в тканях в виде псевдоцист. Хроническая инфекция характеризуется образованием тканевых цист.

Инкубационный период — около 2 недель. Клиническая картина разнообразна: от умеренной лимфоаденопатии до лихорадки, сыпи, гепатоспленомегалии, фарингита, менингоэнцефалита, пневмонии и др. Она зависит от локализации возбудителя и поражаемого органа. При врожденном токсоплазмозе (инфицирование чаще происходит в I триместре беременности) возможны гибель плода, самопроизвольный выкидыш или мертворождение, рождение детей с дефектами развития. Поражаются печень, селезенка, лимфоузлы, ЦНС на фоне выраженной интоксикации и лихорадки.

Иммунитет. При заболевании развивается клеточный и гуморальный иммунитет. Развивается ГЗТ. При врожденном токсоплазмозе в крови матери и ребенка выявляется высокий уровень специфических антител.

Микробиологическая диагностика. Проводится *микроскопия* мазка (из биоптатов крови, ликвора, пунктатов лимфоузлов, плодных оболочек и др.), окрашенного по Романовскому—Гимзе или по Райту. Реже применяется *биологический метод*: мыши погибают через 7–10 дней после парентерального введения им инфицированного материала (крови, ликвора и др.) больных людей. Возможно культивирование токсоплазм на клетках HeLa, на куриных эмбрионах.

Основным в диагностике токсоплазмоза является *серологический метод*: выявление IgM-антител свидетельствует о ранних сроках заболевания. IgG-антитела достигают максимума на 4–8-й неделе болезни. Применяются РИФ, РНГА, РСК, а также реакция Себина—Фельдмана, или красящий тест (при этом методе возбудитель, в зависимости от свойств антител исследуемой сыворотки крови, по-разному окрашивается метиленовым синим). Используют также аллергический метод — внутрикожную пробу с токсоплазмином, которая положительна с 4-й недели заболевания и далее в течение многих лет.

Лечение. Наиболее эффективно применение комбинации пириметамина с сульфаниламидами. При беременности рекомендуется

вместо пириметамина применять спирамицин, который не проходит через плаценту.

Профилактика. Осуществляется неспецифическая профилактика токсоплазмоза, включающая гигиенические требования, в частности мытье рук перед едой; необходима тщательная термическая обработка мяса. Следует избегать общения с беспризорными кошками.

19.3.3. Саркоцисты (род *Sarcocystis*)

Саркоцистоз (син. саркоспоридиоз) — болезнь (инвазия), вызванная простейшими рода *Sarcocystis* (от греч. *sarc* — мясо), сопровождающаяся нарушениями со стороны желудочно-кишечного тракта.

Таксономия. Саркоцисты (*Sarcocystis hominis* и *Sarcocystis suihominis*) близки к токсоплазмам: относятся к типу *Apicomplexa*, классу *Sporozoa*, отряду *Eucoccidiida* (собственно кокцидиям).

Характеристика возбудителей. В ворсинках слизистой оболочки тонкой кишки человека происходит половое размножение паразита (гаметогония); в результате копуляции гамет образуются ооцисты, в которых затем образуются спороцисты (содержащие зрелые спорозоиты), выделяющиеся с калом.

Спороцисты имеют овальную форму (размер 10–16 мкм), содержат по 4 зрелых спорозоита. После заглатывания животными спороцист из них освобождаются спорозоиты, которые из кишечника проникают гематогенно в мышцы. В мышцах бесполом путем (шизогония, или мерогония) образуются саркоцисты. Саркоцисты — удлинённые до 5 см образования, покрытые тонкой оболочкой, содержащие многочисленные мерозоиты с заостренным передним концом. Из саркоцист, попавших в кишечник человека, освобождаются мерозоиты, которые внедряются в эпителиальные клетки, повторяя вышеописанный цикл полового размножения.

Эпидемиология. Саркоцисты (прежнее название — саркоспоридии) широко распространены, имеют основного хозяина — человека и промежуточных — крупный рогатый скот (*S. hominis*) и свиньи (*S. suihominis*). Заражение человека происходит алиментарным путем при употреблении термически недостаточно обработанных говядины или свинины, содержащих саркоцисты.

Клиника. Часто инфекция протекает бессимптомно или неспецифично. Различают: кишечный саркоцис-

тоз с развитием диспепсических расстройств; мышечный саркоцистоз, протекающий бессимптомно или в виде миозитов, появления сыпи.

Микробиологическая диагностика. При микроскопическом методе изучают мазки из свежевыделенных фекалий, окрашенные раствором Люголя: спороцисты выявляются через 9 суток после заражения. Возможно и гистологическое изучение биоптатов из очагов поражения.

Лечение. Обычно симптоматическое; при остром течении — фуразолидоном.

Профилактика. Профилактические мероприятия сходны с подходами к профилактике токсоплазмоза.

19.3.4. Изоспоры (род *Isospora*)

Изоспороз — болезнь (инвазия), вызванная кокцидиями (от лат. *coecus* — круглый) рода *Isospora*; поражаются слизистые оболочки тонкой кишки, развивается диарейный синдром.

Таксономия. Возбудители изоспороза человека — *Isospora belli* и *Isospora natalensis* относятся к типу *Apicomplexa*, классу *Sporozoa*, отряду *Eucoccidiida* (собственно кокцидии).

Характеристика возбудителей. Развитие в организме человека включает бесполое (мерогония), половое (гаметогенез) размножение и образование ооцист. Ооцисты выделяются с испражнениями инфицированного человека и месяцами сохраняются в окружающей среде. Попадая в кишечник, ооцисты освобождают спорозоиты серповидной формы. Спорозоиты проникают в эпителии тонкой кишки и превращаются в трофозоиты. Трофозоиты размножаются бесполом путем, образуя многочисленные мерозоиты. Мерозоиты проникают в другие эпителиальные клетки, продолжая цикл развития. В отдельных клетках образуются гамонты (половые клетки). После оплодотворения женской клетки формируются незрелые ооцисты, выделяемые с фекалиями. Они окружены двухконтурной оболочкой, имеют овальную форму (размер 20–35 мкм). Созревание ооцист завершается через 2–3 дня: в ооцисте образуются 2 спороцисты, содержащие по 4 серповидных спорозоита.

Эпидемиология. Возбудители наиболее распространены в странах тропического и субтропического климата. Заражение происходит от человека человеку *per os* с загрязненной водой и пищей.

Клиника. Инкубационный период 6–10 дней. Заболевание типа колита, энтероколита, сопровождается болями в животе и поносом. Возможно разви-

тие воспаления и эрозий слизистой оболочки тонкой кишки. Часто инфекция протекает бессимптомно.

Микробиологическая диагностика. При микроскопии мазка из испражнений обнаруживают ооцисты, которые выявляются после 10-го дня болезни. Проводится также дифференциация в случае обнаружения случайных, транзиторных ооцист животных и рыб, непатогенных для человека. Учитываются размеры ооцист, количество спороцист, спорозоитов и др. В неокрашенном мазке ооцисты овальные, прозрачные, с оболочкой. По Циллю—Нельсену они красятся в розовый цвет.

Лечение. Применяют сульфаниламидные препараты, пириметамин, бактрим, фансидар и др.

Профилактика. Особое внимание уделяется соблюдению санитарно-гигиенических требований, общих для других кишечных инфекций.

19.3.5. Криптоспоридии (род *Cryptosporidium*)

Криптоспоридиоз — болезнь (инвазия), вызванная простейшими рода *Cryptosporidium*, сопровождающаяся явлениями гастроэнтерита и диареи.

Таксономия. Криптоспоридии (*Cryptosporidium parvum* и др.) относятся к типу *Apicomplexa*, классу *Sporozoa*, отряду *Eucoccidiida*.

Характеристика возбудителя. Криптоспоридии встречаются у млекопитающих, птиц, рептилий и рыб. Паразит размножается половым (гаметогония) и бесполом (шизогония) путями в желудочно-кишечном тракте животных. В кишечнике хозяина образуются ооцисты (4–6 мкм в диаметре), которые выделяются с фекалиями. После заглатывания ооцист в тонкой кишке из них высвобождаются 4 червеобразных спорозоита, которые контактируют с эпителиоцитами, окружаясь мембранами клеток. Затем формируются внутриклеточные трофозоиты. Трофозоиты размножаются путем множественного деления (шизогония, или мерогония) с образованием 8 дочерних клеток (мерозоиты I типа). Затем цикл шизогонии повторяется вплоть до выхода из эпителиальной клетки 4 дочерних клеток (мерозоиты II типа), которые превращаются в половые формы. После оплодотворения образуется зигота, превращающаяся в ооцисту (рис. 19.8).

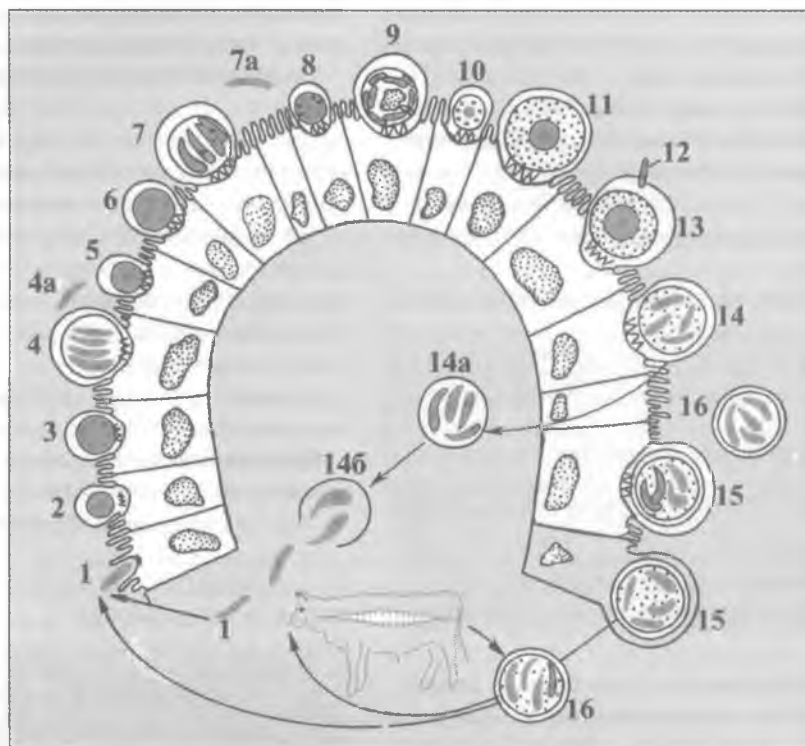


Рис. 19.8. Схема жизненного цикла *Cryptosporidium parvum* (по Т.В. Бейер):

1 — спорозоит; 2, 3 — меронгии первой генерации; 4 — сегментированный меронт; 4a — мерозоит первой генерации; 5, 6, 7 — меронгии второй генерации; 7a — мерозоит второй генерации; 8, 9 — микрогаметогенез; 10, 11 — макрогаметогенез; 12 — микрогамета; 13 — оплодотворение; 14 — спорулированная ооциста; 14a — тонкостенная ооциста, вызывающая аутоинвазию хозяина; 14b — выход спорозоитов (1) из ооцисты; 15 — толстостенные ооцисты; 16 — толстостенная ооциста в просвете кишки или вне организма

Ооцисты имеют толстую клеточную стенку; выживают в окружающей среде и способны заразить нового хозяина. Некоторые ооцисты (20%) имеют тонкую клеточную стенку: из них в просвете кишечника высвобождаются спорозоиты, дающие начало новому циклу развития в том же хозяине (аутоинвазия).

Резистентность. Ооцисты сохраняются в окружающей среде несколько месяцев и резистентны к дезинфицирующим веществам, хлорированию воды, озону. Они чувствительны к 10% формалину и 5% раствору аммиака.

Эпидемиология. Источником инфекции служат люди или животные (кошки, собаки, ягнята, поросята, телята). Криптоспоридии передаются фекально-оральным механизмом, при контакте, иногда аэрогенным механизмом. Заболевание развивается чаще на

фоне иммунодефицита (оппортунистическая инфекция). Человек и животные заглатывают ооцисты с пищей или водой. Криптоспоридиоз относится к группе диарей путешественников, так как туристы могут поражаться криптоспоридиями, находясь вне дома. Первый случай криптоспоридиоза у человека был описан в 1976 г. у американской девочки с симптомами рвоты и диареи. Это одна из основных причин диарей в детских учреждениях.

Клиника. Инкубационный период 2–7 дней. Клиника разнообразна: от острой диареи с тошнотой и болями в животе до хронических поражений ЖКТ. У гомосексуалистов при извращенных контактах возбудитель попадает не только в пищеварительный тракт, но и в дыхательную систему партнера.

Микробиологическая диагностика. Применяют микроскопический метод для выявления ооцист в фекалиях, иногда — в мокроте, биоптатах кишечника и др. Мазки красят в модификации по Цилю—Нельсену (кислотоустойчивые ооцисты красного цвета, а другая микрофлора — синего или зеленого цвета), Романовскому—Гимзе.

Лечение. При криптоспориidioзе проводят симптоматическое лечение. Эффективно применение спирамицина.

Профилактика. Проводят общегигиенические мероприятия. Целесообразна также обработка против ооцист в животноводческих фермах, больницах и детских учреждениях.

19.3.6. Циклоспоры (род *Cyclospora*)

Циклоспориоз, или циклоспороз, — болезнь (инвазия), вызванная простейшими *Cyclospora cayentanensis*, сопровождающаяся диареей. Эти кокцидии таксономически связаны с изоспорами (род *Iso spora*) и *Cryptosporidium parvum*.

Паразит поражает верхние отделы тонкой кишки, обнаруживаясь в вакуолях цитоплазмы эпителиоцитов, вызывая воспаление, атрофию ворсинок и гиперплазию крипт. Патогенность мало изучена. Ооцисты циклоспор имеют сферическую форму, размером 8–10 мкм, что больше ооцист *Cryptosporidium parvum* (4–6 мкм) и меньше ооцист изоспор (20–35 мкм). Ооцисты циклоспор окружены оболочкой и содержат две спорозисты, каждая из которых имеет два спорозоида.

Эпидемиология. Циклоспоры широко распространены, инфицируя рептилий, птиц и млекопитающих. Как и криптоспоридии, они резистентны к хлорированию воды. Инфицирование происходит фекально-оральным механизмом.

Клиника. Заболевание протекает в виде анорексии и диареи. Более длительно и тяжело заболевание протекает у людей с иммунодефицитами (ВИЧ-инфекция).

Микробиологическая диагностика. Диагноз основан на микроскопическом определении ооцист в фекалиях. Изучают нативные мазки или обработанные раствором Люголя. При модифицированной окраске мазка по Цилю—Нельсену ооцисты округлой формы окрашиваются в красный цвет. В люминесцентном микроскопе циклоспоры аутофлуоресцируют синим цветом.

Лечение. Возможно триметоприм-сульфаметоксазол, метронидазолом.

Профилактика. Проводят общегигиенические мероприятия.

19.3.7. Бабезии (род *Babesia*)

Бабезиоз (пироплазмоз) — маляриеподобная болезнь (инвазия) с ознобом, лихорадкой и гемолитической анемией, вызванная простейшими рода *Babesia*.

Таксономия. Возбудители бабезиоза (*B. divergens*, *B. microti* и др.) относятся к типу *Apicomplexa*, классу *Sporozoa*, отряду *Pyroplasmida*.

Характеристика возбудителей. Бабезии являются внутриклеточными паразитами эритроцитов. Внешне похожи на юные кольцевидные формы плазмодий (рис. 19.9). Чаще размножаются парами (несинхрон-

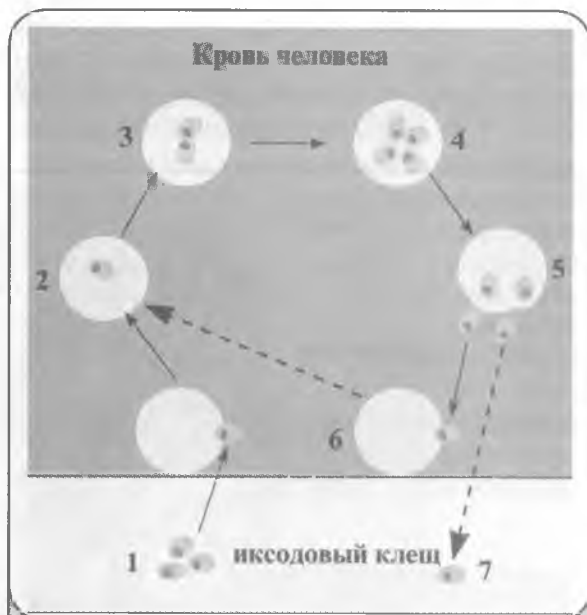


Рис. 19.9. Схема жизненного цикла бабезий: 1 — внедрение мерозоида в эритроцит после укуса клеща; 2 — мерозоит в эритроците; 3 — бинарные бесполовые деления паразита; 4 — образование в эритроците тетрады паразита; 5 — лизис эритроцитов и выход мерозоитов; 6 — внедрение мерозоида в эритроцит и повторение цикла развития; 7 — передача клещу мерозоитов из крови человека

ное почкование) по периферии эритроцита. Имеют округлую, грушевидную форму, размер 2–3 мкм; иногда принимают кольцевидную форму с двумя ядрами, напоминая *Plasmodium falciparum*.

Эпидемиология. Бабезии — паразиты домашних и диких животных, передаются иксодовыми и аргасовыми клещами.

Патогенез. Паразиты могут поражать до 10–15 % эритроцитов с развитием гемолинурии и летального исхода.

Клиника. Заболевание протекает бессимптомно. Наиболее тяжело развивается заболевание у людей с недостаточностью селезенки, спленэктомированных людей. Первый случай болезни у человека был описан в Югославии в 1957 г. У больных появляются озноб, лихорадка, головная и мышечные боли.

Микробиологическая диагностика. В диагностике бабезиоза используют микроскопический метод изучения мазков крови, окрашенных по Романовскому—Гимзе: цитоплазма бабезий окрашивается в голубой цвет, а ядро — в красный. Характерно расположение паразита в эритроците в виде тетрад из трофозоитов. В серологическом методе (непрямой метод РИФ, ИФА) антитела в диагностичес-

ких титрах выявляются через 3–8 недель от начала болезни.

Лечение. Применяют комбинацию хинина с клиндамицином.

Профилактика. В профилактику входят мероприятия по борьбе с переносчиками — клещами и защите от них.

19.4. Ресничные

Представители ресничных (тип *Ciliophora*) имеют реснички — органоиды движения, покрывающие клетку. Они имеют клеточный рот (цитостом), два ядра (макро- и микронуклеус). Для человека патогенен *Balantidium coli*.

19.4.1. Балантидии (род *Balantidium*)

Балантидиаз (дизентерия инфузорная) — болезнь (инвазия), характеризующаяся общей интоксикацией и язвенным поражением толстой кишки.

Таксономия. Возбудитель балантидиаза — *Balantidium coli*, относится к типу *Ciliophora*, классу *Ciliata* (*Kinetofragmino-*



Рис. 19.10. Схема строения вегетативной формы и цисты *Balantidium coli*

phorea). Открыт в 1856 г. шведским врачом П. Мальмстеном.

Характеристика возбудителя. Паразит распространен широко, являясь обитателем кишечника свиней, обезьян и грызунов, однако редко вызывает заболевание. Он имеет вегетативную и цистную стадии развития.

В вегетативной стадии клетка паразита (трофозоит) овальная, крупная (30÷100 × 30÷150 мкм), с ресничками (рис. 19.10); на переднем конце имеется щелевидное отверстие — перистом с ротовым отверстием — цитостомом. Задний конец имеет анальную пору — цитопрок. Клетка содержит макронуклеус, микронуклеус и 2 сократительные вакуоли. Размножение — поперечным делением. Клетка может заглатывать микробы и другие клетки, в том числе форменные элементы крови.

Цисты — округлые, с толстой оболочкой; диаметром 40–60 мкм, одноядерные. Они попадают в окружающую среду с фекалиями и длительно в ней сохраняются. Заражение цистами происходит фекально-оральным механизмом через рот с загрязненной водой и пищей. Патогенез сходен с таковым при амебиазе. Развиваются колит, язвы и абсцессы в толстой кишке.

Микробиологическая диагностика. Проводится микроскопия мазков из свежeweделенных фекалий: каплю фекалий помещают в изотонический раствор хлорида натрия и исследуют препарат «раздавленная капля» под малым увеличением микроскопа, наблюдая активное движение крупных балантидий.

Лечение. Применяют метронидазол и другие препараты, назначаемые при амебиазе.

Профилактика. Соблюдение правил личной гигиены, особенно для работников свиноводства.

19.5. Микроспоридии (тип *Microspora*)

Микроспоридии — возбудители микроспоридиоза; вызывают диарею, гнойно-воспалительные заболевания у иммунодефицитных лиц. Вызывают микроспоридиоз в виде хронической диареи, гнойно-воспалительных заболеваний, кератита, диссеминированной инфекции у иммунодефицитных лиц (табл. 19.2). Микроспоридии широко распространены среди животных, которые выделяют резистентные споры с калом и мочой.

Таксономия. Микроспоридии принадлежат к типу *Microspora*, отряду *Microsporidia*. Описано 143 рода и более 1200 видов микроспоридий. Патогенные для человека виды представлены 8 родами (*Enterocytozoon*, *Encephalitozoon*, *Nosema*, *Pleistophora*, *Vittaforma*, *Microspoidium*, *Brachiola*, *Trachipleistophora*) и неклассифицированными микроспоридиями.

Характеристика возбудителей. Микроспоридии — мелкие (0,5–2,5 мкм) округлые примитивные простейшие. Являются облигатными внутриклеточными паразитами. Обычно инфицирование происходит в результате заглатывания спор, которые проходят в двенадцатиперстную кишку. Спора содержит спороплазму с ядром и выталкивающим аппаратом, который состоит из трубчатой нити с ядерным диском. При контакте с клеткой нить выбрасывается и спороплазма попадает внутрь клет-

Таблица 19.2. Поражения, вызываемые микроспоридиями

| Виды микроспоридий | Клинические проявления |
|--|---|
| <i>Enterocytozoon bienersi</i> | Диарея, бескаменный холецистит |
| <i>Enterocytozoon intestinalis</i> (син. <i>Septata intestinalis</i>) | Диарея, диссеминированная инфекция глаз, урогенитального и респираторного трактов |
| <i>Enterocytozoon hellem</i> , <i>Enterocytozoon cuniculi</i> | Кератоконъюнктивит, инфекция респираторного и урогенитального трактов, диссеминированная инфекция |
| <i>Vittaforma corneae</i> (син. <i>Nosema corneum</i>), <i>Nosema</i> spp. (<i>N. connori</i> , <i>N. ocularum</i>) | Инфекция глаз |

ки. Внутриклеточное размножение паразита происходит путем повторных делений надвое (мерогония) и спорообразованием (спорогония). Паразиты размножаются при прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина (например, *E. bieneusi*) или внутри паразитоформной вакуоли (например, *E. intestinalis*). В обоих случаях в результате спорогонии созревают споры. Вокруг споры формируется плотная стенка, обеспечивающая устойчивость к окружающей среде. Споры, заполнившие клетки, разрушают клетку и выходят из нее. Созревшие споры вновь инфицируют новые клетки, повторяя цикл развития. Развивается локальное воспаление. После спорогонии зрелые споры (грамположительные, кислотоустойчивые), содержащие спороплазму, выделяются в окружающую среду. Споры имеют размеры: от 0,8 до 1,4 мкм у *E. bieneusi* и от 1,5 до 4 мкм у *Enterocytozoon spp.*

Эпидемиология. Микроспоридии широко распространены среди беспозвоночных и позвоночных животных, выделяясь в виде спор с калом и мочой. Возбудители передаются фекально-оральным механизмом. Возможно инфицирование через респираторный тракт и контактным путем (при конъюнктивитах).

Клиника. Микроспоридии *Enterocytozoon bieneusi* и *Enterocytozoon intestinalis* (ранее *Septata intestinalis*) вызывают хроническую диарею у больных СПИДом и гнойно-воспалительные процессы (синусит, бронхит, пневмонию, нефрит, уретрит, цистит и др.) у людей с иммунодефицитами. *Encephalitozoon hellem*, *Nosema ocularum* и *Vittaforma corneae* (ранее *Nosema corneum*) вызывают кератит, диссеминированные инфекции. Диссеминированные инфекции, вызванные *Encephalitozoon hellem*, *Nosema connori*, *Encephalitozoon cuniculi* и

Pleistophora species, а также миозит, вызванный *Nosema*-подобными и другими микроспоридиями, описаны у иммунодефицитных лиц.

Микробиологическая диагностика. Проводится путем микроскопического изучения биоптата кишечника, мочевого пузыря или мазка из цереброспинальной жидкости, бронхоальвеолярной жидкости, осадка мочи. Споры (диаметр 1–2 мкм) выявляют при окраске по Граму (грамположительные) или по Гудпасчеру — окраска карболфуксином с последующим обесцвечиванием 37% формальдегидом и докраской пикриновой кислотой.

Лечение. Проводят метронидазолом.

Профилактика. Неспецифическая, сходная с мероприятиями при криптоспоридиозе.

19.6. Бластисты (род *Blastocystis*)

Бластисты (*Blastocystis hominis*) характеризуются бессимптомным носительством или вызывают бластистоз. Их обнаруживают в фекалиях при диарее.

Бластисты относят к простейшим (ранее предполагали, что они являются дрожжами). Бластисты близки к амебам, могут образовывать псевдоподии; как и все простейшие, не имеют клеточной стенки. Питаются бактериями. Размножаются бинарным делением или споруляцией.

Патогенность не изучена. Бластисты отличаются полиморфизмом. В фекалиях имеют сферическую форму, размер 5–30 мкм. Цитоплазма и ядро клетки паразита оттеснены на периферию вакуолеподобным телом.

Диагностика. Основана на микроскопии мазка из фекалий.

Лечение. Проводят метронидазолом.

ГЛАВА 20. КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

По данным мировой литературы, внутрибольничные инфекции регистрируются у 4,5–18 % всех госпитализированных больных. В СНГ у 4–7 % умерших в стационарах основной причиной смерти являются внутрибольничные инфекции. При различных нозологических формах внутрибольничной инфекции летальность колеблется от 3,5 до 60 %.

20.1. Понятие о внутрибольничной инфекции

Внутрибольничная (госпитальная, нозокомиальная) инфекция — это инфекция, заражение которой происходит в больничных учреждениях; наслаиваясь на основное заболевание, она утяжеляет клиническое течение болезни, затрудняет диагностику и лечение, ухудшает прогноз и исход заболевания, нередко приводя к смерти больного.

Внутрибольничная инфекция (ВБИ) является одной из форм ятрогенных, т. е. связанных с медицинскими вмешательствами, заболеваний. Возбудителями ВБИ могут быть патогенные микробы, например, в случаях госпитализации инфекционного больного в соматические отделения, неправильной или несовершенной изоляции больных в инфекционных отделениях, заноса возбудителей в больницы посетителями во время эпидемий. Однако в настоящее время ВБИ, в основном, встречаются в соматических больницах, т. е. в неинфекционных клиниках, и называются УПМ.

Если учесть тот факт, что в СНГ ежегодно госпитализируется до 80 млн человек, то понятно, почему госпитальная инфекция становится важнейшей проблемой клинической медицины. Уровень заболеваемости, по данным разных авторов, колеблется от 5 до 500 на 10 тыс. госпитализированных.

Главной задачей коллективов больничных учреждений является более полное и

быстрое восстановление здоровья госпитализированных больных и создание для последних безопасных и комфортных условий пребывания. Эти задачи решаются клиницистами (терапевтами, хирургами и т. п.) совместно с гигиенистами, экологами, эпидемиологами, специалистами в области санитарной и клинической микробиологии.

Специфические микробиологические проблемы в неинфекционных клиниках существуют давно, но понятие о клинической микробиологии как самостоятельном разделе медицинской микробиологии (отличном от разделов инфекционной, санитарной микробиологии), ее задачах и методах формируется только в последние десятилетия. Выделение этого раздела обусловлено главным образом тем, что в результате эволюции микробов, темпы которой резко усилились во второй половине XX в., произошло резкое увеличение удельного веса и абсолютного количества ГВЗ, вызванных УПМ. Большинство таких больных госпитализируется в неинфекционные стационары. Биологические особенности УПМ, широкое и часто нерациональное применение антибиотиков, расширение спектра и утяжеление оперативных вмешательств, широкое внедрение в практику здравоохранения диагностических и лечебных процедур, ведущих к нарушению целостности покровов, и ряд других факторов привели к возникновению в больничных стационарах ряда сложных проблем практического и научного порядка, таких, как циркуляция множественно-устойчивых и больничных вариантов бактерий, нарастание внутрибольничных, хронических, смешанных, вторичных инфекций и сепсиса и др. Решение микробиологических аспектов ВБИ и является задачей клинической микробиологии.

20.2. Понятие о клинической микробиологии

Клиническая микробиология — это раздел медицинской микробиологии, изучающий взаимоотношения, складывающиеся между организмом и микробами в норме, при патологии, в динамике воспалительного процесса с учетом проводимой терапии до констатации клиническим состоянием клинического или полного выздоровления.

Задачи клинической микробиологии близки к тем задачам, которые стоят перед медицинской микробиологией. Их специфика определяется лишь тем, что клиническая микробиология исследует одну группу микробов — УПМ, одну группу заболеваний — оппортунистические инфекции и одну антропогенную экосистему — больничные учреждения.

Исходя из этого, задачами клинической микробиологии являются:

1. Изучение биологии и роли УПМ в этиологии и патогенезе ГВЗ человека.
2. Разработка и использование методов микробиологической диагностики, специфической терапии и профилактики микробных заболеваний, встречающихся в неинфекционных стационарах.
3. Исследование микробиологических аспектов проблем ВБИ, дисбактериоза, лекарственной устойчивости микробов.
4. Микробиологическое обоснование и контроль за антимикробными мероприятиями в больничных стационарах.

20.3. Этиология ВБИ

ВБИ вызываются УПМ. УПМ — это большая и разнородная в систематическом отношении группа микробов, которые вызывают у человека болезни при определенных условиях. Их представители встречаются среди бактерий, грибов, простейших. По многим признакам близки к УПМ некоторые виды вирусов (α -герпесвирусы 1 и 2, β -герпесвирус, паповавирусы, отдельные варианты аденовирусов, вирусов Коксаки и ЕСНО).

УПМ вступают с организмом человека в одних случаях в отношения симбиоза, комменса-

лизма и (или) нейтрализма, в других — в конкурентные отношения, нередко приводящие к развитию заболевания. Поэтому они получили название «условно-патогенные» микробы (син. «потенциально-патогенные»), т. е., обладая низкой степенью патогенности для человека, они проявляют свои патогенные свойства только при определенных условиях, например при снижении иммунного статуса организма. Грань между патогенными микробами и УПМ весьма относительна. Поскольку УПМ в литературе часто называют «микробами-оппортунистами» (от английского выражения «to take opportunity»), вызываемые ими заболевания получили название «оппортунистических инфекций».

ВБИ могут вызываться более чем сотней видов УПМ. Чаще всего в их этиологии играют роль представители следующих родов: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Hafnia*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Branhamella*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Eikenella*, *Mycoplasma*, *Actinomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Pneumocysta*.

В экологическом отношении УПМ неоднородны. Среди них имеется группа свободноживущих видов, главной средой обитания которых являются различные биоорганические субстраты (пищевые продукты, вода, почва, органические отходы деятельности человека, растворы и аэрозоли лекарственных препаратов). Большинство этих видов способны обитать также в организме человека и при определенных условиях вызывать у него болезни (сапронозы), но для сохранения и продолжения вида живая среда им необязательна. В больничных стационарах из этой группы микробов обитают ацинетобактерии, псевдомонады, сerratии, протеи, клебсиеллы. Некоторые виды паразитов животных, например сальмонеллы, также должны быть отнесены к УПМ.

Основная часть УПМ относится к постоянным, «нормальным» обитателям многих органов (биотопов) организма человека и находятся с ним обычно в симбиотических отношениях. При определенных условиях они могут вступать с хозяином в конкурентные отношения и вызывать у него болезни, но это явление не

дает им биологических преимуществ, и более того, иногда ведет к потере хозяина.

Факторы патогенности. В отличие от большинства патогенных микробов, которые имеют четко обозначенные «входные ворота» для проникновения во внутреннюю среду организма, УПМ способны вызывать инфекцию при попадании любым путем в любые органы и ткани, что является одной из причин многоорганности оппортунистических инфекций. Для развития инфекции необходим пассивный занос УПМ во внутреннюю среду организма и дефицит элиминирующих механизмов иммунной системы.

Повреждение клеток и тканей организма хозяина УПМ вызывают с помощью эндотоксина и ферментов агрессии. Эндотоксин грамотрицательных бактерий является универсальным фактором патогенности УПМ. Мишенью для него являются поверхности клеток почти всех органов человека, что определяет многогранность и идентичность или близость вызванных ими поражений. Поскольку активность эндотоксина относительно невелика, то только высокие концентрации его могут вызвать клинически выявляемые поражения, которые образуются при одновременной гибели и лизисе больших количеств бактерий. Ряд УПМ, помимо эндотоксина, содержит и выделяет во внешнюю среду пока плохо идентифицируемые вещества, оказывающие цитотоксическое и цитолитическое действие.

УПМ выделяют большое количество ферментов агрессии (гиалуронидаза, эластаза, коагулаза, фибринолизин, нейраминидаза, лецитиназа, нуклеазы, дезаминазы, декарбоксилазы и др.), оказывающие деполимеризующее или конформационное действие на свободные или входящие в состав клеток и волокон молекулы. Повреждающее действие ферментов агрессии обусловлено не только разрушением структур клеток, тканей и органов, но и токсическим действием продуктов ферментативного распада (мочевина, сероводород, амины и др.).

УПМ обладают почти тем же набором факторов патогенности, что и большинство патогенных микробов. Однако в отличие от патогенных микробов, у которых набор факторов патогенности специфичен и универсален для вида, у УПМ он в значительной степени вариабелен и малоспецифичен.

Популяции. У УПМ гетерогенность популяций выражена в большей степени, чем у патогенных микробов. Гетерогенность популяций УПМ проявляется почти по всем признакам, особенно она выражена в устойчивости к антибиотикам, антисептикам, дезинфектантам, физическим факторам, бактериофагам и бактериоцинам. Хорошо известна высокая гетерогенность антигенной структуры большинства УПМ, которая создает большие сложности в идентификации выделенных культур.

Микробиоценозы УПМ. Микробиоценозы здоровых (нормальных) биотопов людей, находящихся в больничных стационарах, отличаются от таковых людей вне стационара колонизацией госпитальными эковарами УПМ. Частота колонизации выше у категории иммунодефицитных лиц, в ряде отделений и специальностей она высока у медицинских работников. Микробиоценозы патологически измененных биотопов стационарных больных отличаются сниженной способностью к аутостабилизации, усилением конкурентных взаимоотношений между членами микробиоценоза и отдельными его представителями с организмом хозяина и к увеличенной частоте внутри- и межпопуляционного генетического обмена, которые ведут к появлению в биотопе нетипичных для него видов, особенно их госпитальных эковаров, исчезновению или резкому снижению численности аутохтонных видов.

20.4. Эпидемиология ВБИ

Эпидемиология ВБИ сложна и недостаточно изучена.

Источником инфекции чаще всего является человек — больной, особенно со стертой формой заболевания, или же носитель. Наибольшую опасность в эпидемиологическом плане представляет медперсонал больничных учреждений, который может быть носителем госпитальных штаммов УПМ, например стафилококков. В соответствии с Международной классификацией различают постоянных носителей, у которых при посеве из полости носа всегда обнаруживается стафилококк (возможно и различных фаготипов), и перемежающихся носителей — стафилококк (чаще тот же штамм) у них выделяется время

от времени. В литературе описано носительство коагулазонегативных стафилококков на слизистой влагалища у медперсонала отделений реанимации, трансплантологии и других и связанные с этим вспышки госпитальной стафилококковой инфекции. Источником инфекции могут служить и животные, например больные маститом коровы при стафилококковых токсикоинфекциях и энтероколитах. Иногда источником инфекции служат объекты окружающей больничной среды, обильно обсемененные свободноживущими видами УПМ, например псевдомонадами, ацинетобактериями (сапронозы). Таким образом, оппортунистические инфекции в большинстве случаев представляют собой антропонозы, редко антропозоонозы, иногда сапронозы.

Поскольку у УПМ отсутствует органнй тропизм и они способны поражать любые органы и ткани организма человека, то они могут передаваться различными механизмами и путями.

В связи с очень низкой патогенностью и вирулентностью УПМ, восприимчивость к ним крайне низка у лиц с нормальным иммунным статусом и повышена у иммунокомпромированных хозяев.

20.5. Патогенез ВБИ

На развитие и течение ВБИ влияет несколько факторов, зависящих от свойств микроба, состояния организма и условий их взаимодействия (величина инфицирующей дозы, наличие у микроба определенного набора факторов патогенности, гетерогенность и изменчивость популяций и микробиоценозов), способа проникновения микроба во внутреннюю среду организма, нарушения целостности покровов, снижения резистентности организма, недостаточная способность к развитию приобретенного противинфекционного иммунитета; наличия факторов эффективной передачи возбудителя от инфицированного человека неинфицированному и т. д.

Все оппортунистические инфекции развиваются на фоне снижения показателей иммунного статуса организма, что наблюдается у онкологических больных, больных хроническими инфекционными заболеваниями, у лиц, перенесших обширные оперативные вмешательства, у лиц преклонного возраста, недоношенных младенцев, больных сердечно-сосудистыми заболеваниями с регионарными нарушени-

ями кровообращения (ишемия и некрозы тканей), при ожирении и сахарном диабете, у больных, получающих иммунодепрессивную лекарственную терапию (кортикостероидные гормоны, цитостатики, ряд антибиотиков и многие другие препараты) и т. п.

Так как УПМ являются преобладающими представителями нормальной микрофлоры организма человека, то подавляющее большинство оппортунистических инфекций носит *эндогенный характер*. При целом ряде патологических состояний, ведущих к снижению иммунореактивности организма, УПМ нормофлоры приобретают способность преодолевать тканевые барьеры, в норме для них непреодолимые, и транслицироваться во внутреннюю стерильную среду организма. Попадание условно-патогенных микробов во внутреннюю среду организма влечет за собой колонизацию ими различных органов и систем организма, что клинически проявляется в виде гнойно-септического процесса различной локализации и степени тяжести.

20.6. Клиника ВБИ

Для оппортунистических инфекций характерны следующие особенности:

1. Возбудители не имеют строго выраженного органного тропизма: один и тот же вид может быть причиной развития различных нозологических форм (бронхитов, пневмоний, эмпием, синуситов, отитов, менингитов, остеомиелитов, холециститов, пиелонефритов, конъюнктивитов, инфекции травматических, послеоперационных и ожоговых ран и др.).

2. Полиэтиологичность нозологических форм, т. е. одна и та же нозологическая форма может быть обусловлена любым УПМ.

3. Клиническая картина в большей мере зависит от пораженного органа, чем от возбудителя заболевания. Например, пиелонефриты, вызванные псевдомонадами, кишечной палочкой, энтеробактером, энтерококком, клебсиеллами, стафилококками, неразличим по клинической картине, хотя антибактериальная терапия этих форм должна иметь особенности, в зависимости от свойств возбудителя.

4. Часто протекают как смешанные микстинфекции, т. е. вызываются несколькими видами УПМ.

5. Хроническое течение. У одних лиц болезнь с самого начала приобретает медленное, торпидное, хроническое течение, у других —

острая фаза болезни переходит в хроническую. Хронизации оппортунистических инфекций способствуют предшествующая заболеванию недостаточность иммунной системы, усугубление или вторичное развитие иммунодефицита в процессе болезни, пожилой или старческий возраст пациента; слабая иммуногенность антигенов УПМ, недостаточное количество возбудителя, чтобы вызвать активный иммунный процесс, например, в случаях поверхностной локализации патологического процесса или небольшого по территории очага поражения; неправильная терапия и неадекватное состоянию поведение больного.

6. Выраженная тенденция к генерализации, к осложнению септикопиемией.

7. С трудом поддаются терапевтическим мероприятиям, что обусловлено широким распространением множественно-устойчивых к антимикробным химиотерапевтическим препаратам штаммов, гетерогенностью и изменчивостью популяций и биоценозов возбудителей, недостаточной активностью факторов естественной резистентности и сниженной способностью к развитию эффективного иммунного ответа на антигены возбудителей.

8. Отличаются от инфекций, вызванных патогенными микробами, широким распространением в больничных стационарах, частой связью с оказанием медицинской помощи, частыми случаями эндогенной инфекции, множественностью источников инфекции, частой массивной контаминацией объектов внешней среды возбудителями, способностью ряда возбудителей размножаться в объектах внешней, в том числе больничной, среды, избирательностью поражения населения (группы риска — иммунокомпромиссные хозяева), низкой контагиозностью больных и носителей, низкой восприимчивостью здоровых людей.

9. Множественность механизмов, путей и факторов передачи, так как УПМ не имеют органного тропизма и способны поражать любые органы и ткани организма человека.

Таким образом, оппортунистические инфекции могут вызываться практически всеми УПМ и клинически протекают в форме гнойно-воспалительных процессов различной локализации и степени тяжести. Поскольку установить клинически этиологический диагноз

заболевания не представляется возможным, то основное значение в постановке такого диагноза приобретают методы лабораторной микробиологической диагностики.

20.7. Микробиологическая диагностика ВБИ

Микробиологические методы имеют решающее значение в постановке этиологического диагноза оппортунистических инфекций, в выработке рациональной схемы терапии и в предупреждении развития вторичных случаев заболевания.

Микробиологические исследования при заболеваниях, вызванных УПМ, направлены на выделение не одного, а нескольких основных микробов, находящихся в исследуемом материале, а не на индикацию одного специфического патогена, как это принято при заболеваниях, вызванных патогенными микробами.

Основным методом микробиологической диагностики оппортунистических инфекций является *культуральный метод*, заключающийся в посеве на искусственные питательные среды материала от больного для выделения и идентификации чистых культур возбудителей.

При использовании этого метода следует учитывать:

- в материале от больного, как правило, присутствует ассоциация микробов, в которую входят как возбудители заболевания, так и заносные из других органов и внешней среды виды, а также микробы, которые могут попасть в материал при его заборе и доставке;

- количественный и видовой состав микрофлоры варьирует у разных больных и меняется в процессе болезни, особенно при использовании антибактериальных препаратов.

Достоверность бактериологического исследования зависит от: правильного забора материала от больного; применения эффективного набора дифференциально-диагностических и селективных питательных сред; использования количественного посева материала; этапности идентификации выделенных чистых культур (семейство, род, вид и, в необходимых случаях, вариант); определения свойств, указывающих на патогенность культур и их принадлежность к госпитальным штаммам.

Обязательным должно быть определение чувствительности культур к антибиотикам и

другим антимикробным химиотерапевтическим препаратам, а также свойств культур, необходимых для эпидемиологического анализа (эпидемиологических меток) — фаговара, серовара, резистенсвара и др.

С целью определения смены возбудителей и изменения их свойств исследования материала следует проводить через каждые 5–7 дней.

Микроскопический метод позволяет выявлять в мазках патологического материала бактерии только в случае их массивного содержания (10^5 и более КОЕ/мл) и из-за близости морфологии бактерий дает возможность только ориентировочно судить о возбудителе, относя его к крупным таксонам (палочки, кокки, спирохеты, грамположительные или грамотрицательные и т. п.). Результаты микроскопии могут быть использованы при выборе питательных сред для дальнейшего выделения возбудителя. В редких случаях микроскопически удается определить род или даже вид возбудителя, если он имеет характерную морфологию (клостридии, фузобактерии). В идентификации грибов и простейших возможности микроскопического метода несколько шире. Введение в практику иммунофлюоресцентного метода расширяет возможности микроскопического метода, но и в этом случае он не может заменить бактериологический метод, поскольку не позволяет определить чувствительность возбудителя к химиотерапевтическим препаратам и ряд других, необходимых для практики свойств.

Серологический метод имеет вспомогательное значение. С помощью его не удается установить спектр и уровень активности антимикробных препаратов по отношению к возбудителю болезни и провести внутривидовое типирование. Возможности серологического метода ограничивает выраженная мозаичность антигенной структуры многих УПМ, наличие к ним антител у здоровых людей и слабая выраженность иммунного ответа на антигены УПМ. Тем не менее при затяжных и хронических формах болезни серологический метод иногда позволяет установить этиологию болезни. Серологические реакции ставятся с парными сыворотками крови больного и аутокультурой; результат оценивается по сероконверсии в 4 раза и более. Перспективны серологические методы количественного выявления видовых и

типовых антигенов возбудителя в очаге поражения, а также в биологических жидкостях — крови, слюне, моче. Однако техника постановки таких реакций и критерии этиологического диагноза пока не отработаны. На сегодняшний день слабо разработаны диагностические препараты, основанные на иммунных реакциях (иммуноферментный анализ, иммунофлюоресцентные диагностикумы, моноклональные антитела) к микробам-оппортунистам.

Биологический метод обычно не используется из-за неспецифичности клинической картины, вызываемой УПМ у лабораторных животных, и содержания в патологическом материале микробных ассоциаций, которые при заражении животных претерпевают изменения.

Аллергологический метод, в связи с отсутствием сенсибилизации или ее малой специфичностью, не используется.

20.7.1. Правила забора, хранения и транспортировки материала

Результаты микробиологической диагностики зависят от правильного выбора материала и соблюдения условий его забора, доставки, хранения и обработки.

1. Вид материала определяется клинической картиной заболевания, т. е. он должен соответствовать локализации предполагаемого возбудителя с учетом патогенеза болезни. Например, при бронхолегочных заболеваниях для исследования берут мокроту, при заболеваниях мочевыделительной системы — мочу, в случае отсутствия или неясности локальных очагов — кровь.

2. Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования и его повторения в случае необходимости. Например, при исследовании крови берут 5–10 мл крови.

3. Материал берут, по возможности, в начальном периоде болезни, так как именно в этот период возбудители выделяются чаще, их больше, они имеют более типичную локализацию. Ранний этиологический диагноз предполагает более раннее и, следовательно, более эффективное лечение и профилактику новых случаев болезни.

4. Забор материала должен осуществляться до начала антибактериальной терапии или через

определенный промежуток времени после ее назначения, необходимый для выведения препарата из организма (большинство антибиотиков практически через 8—10 ч после введения уже выводится из организма). Если антибактериальная химиотерапия начата, то ее при необходимости и без ущерба для больного надо прервать на 1—2 дня, а потом производить забор материала. Так же поступают при повторных исследованиях.

5. Материал необходимо брать непосредственно из очага инфекции или исследовать соответствующее отделяемое (гной из фистулы, мочу, желчь и пр.).

6. Забор материала проводить во время наибольшего содержания в нем возбудителей болезни: например, кровь для выделения гемокультуры в начале озноба, при повышении температуры и т. п.

7. Необходимо предупредить возможную контаминацию материала нормальной микрофлорой больного и микробами окружающей среды. Для этого забор материала должен проводиться в асептических условиях, в процедурном кабинете, в перевязочной или малой операционной стерильным инструментарием в стерильную посуду. Пути, через которые выделяется или берется материал, должны быть максимально освобождены от нормальной микрофлоры. Для избежания контаминации материала нормофлорой при взятии материала на исследование из полостей тела и полых органов адекватный для забора материала доступ к этим органам осуществляется путем пункции их через кожные покровы.

8. Следует предупредить возможность попадания в материал антимикробных препаратов (дезинфектантов, асептиков, антибиотиков), исключить контакт с металлами, обладающими олигодинамическим действием, с ватой, содержащей свободные жирные кислоты.

9. Любой клинический материал должен рассматриваться как потенциально опасный для человека. Поэтому при его заборе, хранении, доставке, обработке во избежание заражения должны соблюдаться такие же меры техники безопасности, как в бактериологической лаборатории.

10. Транспортировку клинического образца в лабораторию следует производить в максимально короткие сроки.

При длительном хранении материала происходит гибель наиболее требовательных к питательным веществам видов микробов, начинают размножаться менее требовательные и быстрорастущие виды, что приводит к нарушению количественного соотношения видов и дезориентирует врача-микробиолога при интерпретации полученных результатов. Если материал нельзя немедленно отправить в лабораторию, хранить его следует в холодильнике или использовать специальные транспортные среды. Клинические образцы для культивирования облигатных анаэробов следует транспортировать в лабораторию, максимально защищая их от воздействия кислорода воздуха.

11. К клиническому образцу, направляемому в лабораторию, прилагают сопроводительный документ, содержащий основные сведения, необходимые для проведения микробиологического исследования (характер материала, Ф.И.О. больного, название учреждения или отделения, номер истории болезни, предположительный диагноз заболевания, предшествующая антимикробная терапия, дата и время взятия материала, подпись врача, направляющего материал на исследование).

12. В процессе транспортировки материал следует оберегать от действия света, тепла, холода, механических повреждений. Лучше всего материал доставлять в специальных металлических контейнерах, которые удобно очищать и обеззараживать. Нельзя отправлять материал в лабораторию с больными или случайными людьми.

13. После исследования остатки материала подлежат уничтожению (автоклавированию или сжиганию), а посуда, контейнеры, инструменты — обеззараживанию.

20.7.2. Обобщенная (типовая) схема выделения возбудителей оппортунистических инфекций

1-й день

1. Забор и доставка материала в лабораторию (см. разд. 20.7.1 «Правила забора, хранения и транспортировки материала»).

2. Обработка материала с целью его гомогенизации и концентрации (в необходимых случаях).

3. Приготовление и окраска мазка по Граму. В необходимых случаях, например при подозрении на присутствие в материале простейших, грибов, хламидий, микобактерий и т. п., дополнительно применяются специальные методы окраски.

4. Приготовление разведений патологического материала от 10^{-1} до 10^{-6} в теплом растворе хлорида натрия 0,5% с 0,01% желатина (для предупреждения осмотического шока бактерий)

5. Высев 0,1 мл материала из разведений на чашки Петри с питательной средой газоном (на три чашки из каждого разведения). В стандартный набор питательных сред желательно включить желточно-солевой агар (для стафилококков), среду Эндо или эозинметиловый агар (для энтеробактерий), кровяной агар (для стрептококков и ряда других требовательных к питательным средам видов), среду Сабуро (для грибов), среду для контроля стерильности или другие среды для анаэробов. В случаях, когда имеются указания на вероятный возбудитель (клиническая симптоматика, вид патологического материала, результаты микроскопии), должны быть использованы более селективные среды.

2-й день

1. Определение характера роста на питательных средах.

2. Подсчет количества колоний каждого типа на чашках с посевом разведений патологического материала и расчет бактериальной обсемененности материала по формуле

$$X \text{ КОЕ} = N \times \text{ПД} \times \text{СР},$$

где N — число колоний; ПД — посевная доза; СР — степень разведения. Микроскопия мазков по Граму из всех выросших типов колоний.

3. Отсев на среду накопления с колоний различных типов. Для повышения достоверности исследования желательно отсеивать 2–3 колонии одного типа. Эта мера вызвана гетерогенностью популяции: она удорожает исследование, но зато резко повышает его достоверность.

4. Ускоренная идентификация (при наличии методов и возможностей).

3-й день

1. Установление «чистоты» культуры на средах накопления путем просмотра характера роста под бинокулярной лупой и микроскопией мазка.

2. Идентификация чистых культур. Тесты идентификации зависят от предполагаемого вида или рода выделенной культуры. Она проводится с помощью общепринятых методик или автоматизированных систем.

3. Определение чувствительности выделенных культур к антибиотикам и, в необходимых случаях, к антисептикам.

4–5-й день

1. Учет результатов тестов, использованных для идентификации.

2. Оформление заключения (семейство, род, вид выделенных культур; обсемененность материала КОЕ/мл или КОЕ/г; антибиотикограмма; этиологическая значимость выделенных культур и состав их популяций).

3. По клиническим и эпидемиологическим показателям определяют факторы патогенности и эпидемиологические маркеры (фаго-, серо-, резистенс-, бактериоциновары и др.) у этиологически значимых культур.

20.7.3. Критерии этиологической значимости выделенной чистой культуры

Для установления этиологической роли патогенных микробов достаточно выделения микроба из материала от больного (независимо от количества), обнаружения в сыворотке крови специфических антител в диагностическом титре или сероконверсии в ходе болезни в 4 раза и более, наличия корреляции между выделенным микробом и клинической картиной болезни. Вспомогательное значение имеют результаты биопробы и аллергологического метода диагностики.

Критерии этиологической роли УПМ более сложны и менее надежны. К ним относятся:

1. Выделение возбудителя из исследуемого материала. Этот критерий имеет решающее значение при выделении микроба из крови и спинномозговой жидкости. При остальных нозологических формах он самостоятельного значения не имеет, если даже выделена монокультура. Отрицательный результат исследования не является основанием для отрицания инфекционной природы болезни, так как он может быть обусловлен методическими причинами. В этом случае инфекционная природа болезни устанавливается на основании клинических данных с повторным микробиологическим исследованием.

2. Численность популяции обнаруженного микроба в пораженном органе, так называемое критическое число, которое рассчитывают на 1 мл исследуемого материала. Обычно за такое «критическое число» для бактерий принимают дозу 10^5 КОЕ/мл, для грибов и простейших она меньше — 10^3 – 10^4 . Этому критерию придают решающее значение. Следует иметь в виду, что

инфицирующая доза является производной от степени патогенности микроба и уровня восприимчивости организма. Она может быть и значительно меньше, и значительно больше этой величины, так как численность популяции возбудителя в процессе болезни меняется: при переходе в хроническую форму, в период выздоровления и ремиссии, в процессе химиотерапии, в присутствии конкурента она существенно снижается. В случае выделения из патологического материала нескольких видов или вариантов микробов в оценке этиологической роли важное значение имеет установление количественных соотношений ассоциантов: за ведущего возбудителя в этом случае принимают доминирующую популяцию.

3. В сомнительных случаях, например, при подозрении на микробную контаминацию исследуемого материала, внести ясность может повторное, в течение 12–24 ч, исследование этого же материала: выделение того же вида и варианта и в этот раз подтверждает вывод о его этиологической роли.

4. Принадлежность выделенной культуры к больничному штамму или экovarу.

5. Обнаружение у выделенной культуры факторов патогенности. Ценность этого критерия повышается при выявлении нескольких факторов патогенности и, особенно, в достаточно высокой дозе или активности. К сожалению, методы выявления факторов патогенности и оценки их активности отсутствуют или сложны и долговременны, что снижает возможность использования этого важного критерия. Кроме того, отсутствие специальных факторов патогенности не является основанием для отрицания этиологической роли выделенной культуры, поскольку патогенное действие может быть обусловлено эндотоксином, который содержится у большинства УПМ.

6. Сероконверсия в сыворотке больного к аутокультуре в 4 раза и более.

7. Выявление прямой корреляции между чувствительностью культуры к антимикробным химиотерапевтическим препаратам и эффективностью терапии.

8. Выделение идентичных культур от группы больных в случае вспышки заболевания.

9. Наличие прямой корреляции между клиническим улучшением и уменьшением мас-

сивности или полной элиминацией микробной популяции.

Основное значение в установлении этиологии заболевания имеют первые два критерия, остальные — только дополнительное; их наличие указывает на этиологическую роль культуры, отсутствие — не позволяет исключить ее роль в возникновении болезни.

20.8. Лечение

Лечение оппортунистических инфекций представляет собой сложную задачу и должно проводиться комплексно. Комплексное лечение включает в себя адекватное хирургическое вмешательство, проведение рациональной антимикробной химиотерапии и иммунотерапии.

Поскольку при оппортунистической инфекции нередко образуются гнойные очаги (абсцессы, флегмоны и т. п.), необходима санация этих гнойных очагов.

Учитывая широкое распространение среди УПМ множественной лекарственной устойчивости к антибиотикам, назначать эти препараты больным необходимо с учетом результатов определения антибиотикограммы выделенных от больного возбудителей.

Так как результаты антибиотикограммы приходят в стационар из микробиологической лаборатории через 3–5, а иногда и более суток с момента госпитализации больного, то начинать антибиотикотерапию пациента врачу приходится эмпирически. При невозможности направленной антибиотикотерапии следует отдать предпочтение препаратам широкого спектра действия. Поскольку многие виды УПМ продуцируют фермент β -лактамазу, разрушающую β -лактамное кольцо пенициллинов и цефалоспоринов, то хороший терапевтический эффект может быть получен при применении комбинированных препаратов, содержащих блокаторы β -лактамазы, например, аугментин (амоксиклав) — амоксациллин в комбинации с клавулановой кислотой (блокатор β -лактамазы). Весьма эффективны при лечении гнойно-воспалительных заболеваний фторхинолоны, обладающие широким спектром действия. При получении результатов определения чувствительности микрофлоры к антибиотикам проводимая больному химиотерапия должна быть скорректирована в соответствии с этими результатами.

Комплексное лечение оппортунистических инфекций включает в себя и иммунотерапию, если против УПМ, вызвавшего данное заболевание, разработаны соответствующие лечебные иммунобиологические препараты направленного действия. К подавляющему большинству УПМ лечебные иммунобиологические препараты пока не созданы. Так как оппортунистические инфекции развиваются у лиц с пониженным иммунным статусом; при наличии соответствующих клинических показаний и при обязательном контроле параметров иммунного статуса таким больным показано проведение иммунокоррекции с применением иммуномодуляторов.

20.9. Профилактика

Профилактика оппортунистических инфекций проводится в трех направлениях: выявление источника инфекции; разрыв механизмов, путей и факторов передачи; состояние восприимчивого коллектива.

Мероприятия первой группы предусматривают изоляцию и лечение больных, а также выявление и санацию носителей.

С этой целью в хирургических стационарах различного профиля соблюдается принцип разобщения «чистых» и «гнойных» больных, которые не должны контактировать друг с другом. В больничных учреждениях имеются «чистые» и «гнойные» хирургические отделения и операционные. Если стационар располагает только одной операционной, то операционный день начинается с выполнения «чистых» плановых операций, а по их завершении начинают оперировать плановых «гнойных» больных. После их окончания операционная тщательно дезинфицируется.

Так как распространение госпитальных штаммов часто связано с носителями, особенно из числа медперсонала больничных учреждений, необходимо выявлять и санировать этих носителей. Для этого требуется проводить ежедневный осмотр медперсонала (особенно хирургических и родильных отделений) перед началом работы с целью выявления и отстранения от работы лиц с гнойно-воспалительными процессами (гнойничковые поражения кожи рук, катаральные явления в носоглотке и т. п.), а также периодически проводить бактериологическое обследование медперсонала на

носителем. Выявленных носителей отстраняют от работы и подвергают санации.

Мероприятия второй группы направлены на разрыв механизмов и путей передачи инфекции, предусматривают организацию и строгое соблюдение санитарно-гигиенического режима в больничных учреждениях, неукоснительное соблюдение медперсоналом правил асептики, антисептики, дезинфекции и стерилизации.

Мероприятия третьей группы направлены на повышение коллективной резистентности людей путем улучшения социально-бытовых условий, применение иммуномодуляторов, адаптогенов или других иммунобиологических препаратов. При наличии дисбиозов целесообразно назначать пробиотики.

20.10. Диагностика бактериемии и сепсиса

Микробиологическое исследование крови производят при заболеваниях, связанных с проникновением микробов в ток крови. В норме кровь человека стерильна. В ток крови микробы попадают в результате осложнения при различных манипуляциях, когда развиваются *сепсис*, *бактериемия*, *бактериальный шок*. Исследование крови на содержание микробов следует проводить у больных с длительной неясной лихорадкой, особенно у людей с пониженной иммунореактивностью.

Септицемия и бактериемия могут быть вызваны практически всеми видами микробов — патогенными и УПМ. Наиболее значимые в возникновении бактериемии и фунгиемии бактерии и грибы представлены в табл. 20.1.

Кровь для исследования следует брать до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени (8–10 ч) после введения лекарственного препарата, необходимый для выведения последнего из организма. Если посев крови производят во время антибактериальной терапии, рекомендуется добавлять в питательную среду вещества, нейтрализующие действие лекарственных препаратов. При пенициллинотерапии с этой целью можно использовать пенициллиназу, при применении цефалоспоринов — цефалоспориназу, тетрациклинов — ионы магния, являющиеся антагонистами тетрациклина.

Таблица 20.1. Наиболее значимые в возникновении бактериемии и фунгемии бактерии и грибы

| Грамотрицательные | Грамположительные |
|--|--|
| Escherichia coli | Staphylococcus aureus |
| Klebsiella spp. | Staphylococcus epidermidis |
| Enterobacter spp. | Streptococcus pneumoniae |
| Proteus spp. | Enterococcus spp. (группа D) |
| Salmonella typhi | Streptococcus pyogenes (группа А) |
| Salmonella spp., отличные от S. typhi | Streptococcus agalactiae (группа В) |
| Pseudomonas aeruginosa | Listeria monocytogenes |
| Neisseria meningitidis | Clostridium perfringens |
| Haemophilus influenzae | Peptococcus niger |
| Bacteroides fragilis | Peptostreptococcus spp. |
| Brucella spp. | Candida albicans и другие дрожжеподобные грибы |
| Pseudomonas pseudomallei (в отдельных районах) | |

Кровь берут в начале озноба при подъеме температуры.

Кровь для посева берут из вены, строго соблюдая правила асептики, и непосредственно у постели больного засевают в питательную среду либо помещают в стерильную посуду, содержащую вещества, препятствующие свертыванию крови (0,3% раствор цитрата натрия, 0,1% раствор оксалата натрия, 1 мл гепарина и др.). Материал быстро транспортируют в лабораторию, где производят дальнейшее исследование. Хранить кровь в холодильнике можно не более 1–2 ч, при более длительном хранении возможен лизис бактерий. Наиболее рациональным является посев крови непосредственно у постели больного в специальные флаконы для выделения гемокультуры возбудителя. Для этой цели обычно используют одноразовую систему для забора крови и два флакона с питательной средой (один для выделения аэробов, другой — анаэробов). Такой флакон содержит жидкую питательную среду с добавлением антикоагулянтов и веществ, подавляющих бактерицидные свойства крови (может использоваться двухфазная среда) и бескислородную газовую атмосферу (для выделения анаэробов).

Клиническая картина разных этиологических форм сепсиса идентична или близка. Поэтому в диагностике сепсиса и особенно в определении тактики химиотерапии решающая роль принадлежит микробиологическому исследованию.

Бактериоскопический метод не применяется. Лишь в отдельных случаях используется микроскопия толстой капли крови, например при менингококковом сепсисе.

Бактериологический метод является основным методом диагностики. Он проводится путем выделения возбудителя из крови (ге-

мокультура), а при септикопиемии вспомогательное значение для постановки диагноза имеет выделение культуры из первичных и вторичных локальных инфекционных очагов.

Производят посев 5–10 мл крови на 50–100 мл жидкой питательной среды: 1% сахарный бульон, двухфазную среду, а также жидкие и полужидкие среды для культивирования анаэробов. При подозрении на брюшной тиф и другие инфекционные заболевания применяют специальные питательные среды. Для количественного определения массивности обсеменения крови делают посев нескольких капель крови из шприца на поверхность чашки Петри с 5% кровяным агаром. Посевы инкубируют в термостате в течение 10 дней. Просмотр посевов производят ежедневно. При наличии роста на питательных средах делают высевы на чашки с 5% кровяным агаром, которые инкубируют в аэробных и анаэробных условиях. Из колоний, выросших на чашках с кровяным агаром, выделяют чистую культуру, идентифицируют и определяют чувствительность к антибиотикам. Посевы крови на двухфазной среде просматривают, наклоняя флакон и таким образом увлажняя поверхность скошенного агара бульоном с кровью. При этом исключается необходимость в высевах на плотные среды и снижается возможность загрязнения посевов.

Однократный посев крови не всегда приводит к выделению гемокультуры. Более информативным является трехкратный посев крови с интервалами между посевами в одни сутки. У леченных больных кровь для посева следует брать 5–6 раз.

Выделение из крови как патогенных микробов, так и УПМ, независимо от их количества, расценивается как бактериемия или сепсис. Заключение становится более надежным в случаях повторного выделения аналогичной

культуры, а также изоляции ее из локальных очагов воспаления. Выделенные культуры обязательно испытывают на чувствительность к антибактериальным препаратам.

Серодиагностика может быть использована как вспомогательный метод и проводится путем постановки реакции агглютинации с аутогемокультурой. При отдельных этиологических формах сепсиса с помощью серологических реакций могут быть обнаружены циркулирующие в крови видовые антигены.

При постановке диагноза сепсис, а также дифференциации бактериемии и сепсиса при отрицательных данных лабораторного исследования необходимо опираться на клинические данные и результаты других анализов.

Наряду с установлением возбудителя сепсиса следует обязательно исследовать иммунный статус больного, так как исход сепсиса зависит не только от рациональной химиотерапии, но и от применения средств, нормализующих функцию иммунной системы организма.

20.11. Диагностика инфекций мочевыводящих путей

Микробиологическое исследование мочи производят при воспалительных заболеваниях мочевыводящих путей.

Оппортунистические инфекции мочевыводящих путей различной этиологии протекают в виде гломерулонефрита, пиелонефрита, пиелита, околопочечных абсцессов, осложненной инфекцией почечнокаменной болезни, цистита, простатита, уретрита, послеоперационных инфекций, в том числе связанных с пересадкой почек. Течение перечисленных локальных инфекций нередко осложняется уретральной лихорадкой, уросепсисом и иногда бактериальным шоком. Длительное выделение с мочой больших количеств бактерий при отсутствии клинических проявлений обозначается как бессимптомная бактериурия.

В моче наиболее часто встречаются *Escherichia coli*, другие грамотрицательные палочки, энтерококки, *Staphylococcus saprophyticus*; часто — *Pseudomonas aeruginosa* и другие неферментирующие грамотрицательные бактерии, а также стафилококки; реже — *Candida albicans*.

В норме микрофлора колонизирует дистальные отделы уретры. В вышерасположенные участки мочеполового тракта УПМ проникают гематогенным путем, при травмах органов мочеполовой системы, при их контакте с инфицированными органами малого таза и восходящим путем через уретру. Последний путь является главным. Он может быть результатом медицинских вмешательств (катетеризация, цистоскопия, бужирование, лобковая пункция и промывание мочевого пузыря) или происходит самопроизвольно, например, при поражении спинного мозга. Судьба проникших в мочеполовую систему УПМ зависит от их инфицирующей дозы и состояния иммунитета. Категориями риска развития инфекции мочевыводящих путей являются больные с врожденными пороками развития мочеполовой системы, почечнокаменной болезнью, нарушениями проводимости спинного мозга, гнойно-воспалительными заболеваниями органов малого таза, хирургическими вмешательствами на мочеполовой системе, в том числе с пересаженной почкой, при инструментальных исследованиях мочеполовой системы, диабете и других общих заболеваниях, сопровождающихся иммунодефицитом или иммунодепрессивной терапией.

Микробиологический диагноз инфекции мочевыводящих путей, так же как бессимптомной бактериурии, устанавливают выделением культуры возбудителя (урокультуры). Ориентировочные данные о возбудителе могут быть получены микроскопией осадка мочи, дополнительные данные — с помощью серодиагностики с аутокультурами этиологически значимых видов. Микробиологическое исследование мочи нужно проводить до начала антибактериальной терапии.

После тщательного туалета наружных половых органов в стерильную посуду собирают среднюю порцию свободно выпущенной мочи в количестве 3—5 мл.

Взятие мочи с помощью катетера связано с риском инфицирования мочевых путей, поэтому его желательно избегать. Катетеризацию проводят только в случаях необходимости, если больной не способен мочиться, для разграничения воспалительного процесса в почках и мочевом пузыре. С этой целью мочевой пузырь опорожняют и вводят в него 50 мл раствора, содержащего 40 мг неомицина и 20 мг полимикси-

Таблица 20.2. Определение степени бактериурии методом секторных посевов

| Сектор А | Количество колоний в секторах | | | Количество бактерий в 1 мл мочи |
|------------------|-------------------------------|---------|-------------------|---------------------------------|
| | I | II | III | |
| 1–6 | — | — | — | >1 тыс. |
| 8–20 | — | — | — | 3 тыс. |
| 20–30 | — | — | — | 5 тыс. |
| 30–60 | — | — | — | 10 тыс. |
| 70–80 | — | — | — | 50 тыс. |
| 100–150 | 5–10 | — | — | 100 тыс. |
| Не сосчитывается | 20–30 | — | — | 500 тыс. |
| То же | 40–60 | — | — | 1 млн |
| • | 40–60 | 100–140 | 10–20 | 5 млн |
| • | Не сосчитывается | 30–40 | — | 10 млн |
| • | То же | 60–80 | Единичные колонии | 100 млн |

на. Через 10 мин берут пробы мочи для исследования. При локализации процесса в мочевом пузыре моча остается стерильной, при инфекции в почках отмечается бактериурия. Мочу можно получить от больного путем наглобковой пункции мочевого пузыря. Этот метод взятия мочи дает наиболее достоверные результаты исследования, однако имеется опасность инфицирования больного.

Микробиологическое исследование мочи надо проводить как можно быстрее после ее получения от больного, с тем чтобы избежать размножения находящихся в ней микробов. Размножение микробов в моче до начала анализа приводит к ложным результатам при количественном определении бактериурии и может дезориентировать в отношении возбудителя заболевания. Если немедленное исследование мочи невозможно, то ее следует хранить в холодильнике при 4 °С не более суток.

Для *микроскопического исследования* 5 мл мочи центрифугируют при 8–10 тыс. об/мин 10–15 мин, надосадочную жидкость сливают, из осадка делают мазки и окрашивают водным фуксином и по Граму; при подозрении на туберкулез — по Цилю—Нельсену, на кандидоз — раствором Люголя. При микроскопии получают ориентировочное представление о присутствующих микробах и их приблизительном количестве в 1 мл (число бактерий в поле зрения умножают на разрешающий фактор — 100 тыс. и делят на объем взятой для исследования мочи).

При *бактериологическом исследовании* определяют степень бактериурии, т. е. количество

колониеобразующих единиц в 1 мл мочи (КОЕ/мл), методом секторных посевов мочи.

Платиновой петлей диаметром 2 мм (емкость 0,005 мл) производят посев мочи — 40 штрихов на сектор чашки Петри с простым агаром (рис. 20.1). После этого петлю прожигают и производят 4 штриховых посева из сектора А в сектор I и аналогичным образом из сектора I в сектор II и из сектора II в сектор III (каждый раз прожигая петлю). Чашки инкубируют при 37 °С 18–24 ч, после чего подсчитывают число колоний, выросших на разных секторах. Определение степени бактериурии по количеству выделенных колоний проводят согласно табл. 20.2.

Колонии, выросшие на плотной питательной среде, отсеивают на чашки Петри или в пробирки со скошенным агаром, выделенную чистую культуру идентифицируют и определяют ее чувствительность к антибактериальным препаратам.

Ускоренные методы определения степени бактериурии основаны на определении продуктов метаболизма, образующихся при размножении микробов в моче. Они дают менее точные результаты, чем метод секторных посевов, и используются преимущественно при массовых профилактических обследованиях больших контингентов людей или для экспресс-диагностики. При положительном результате, полученном ускоренными методами, необходимо дальнейшее исследование с помощью более точного бактериологического метода. Для ускоренной диагностики используются нитратный и ТТХ-тест.

Ускоренные методы позволяют получить немедленный ответ. При использовании бакте-

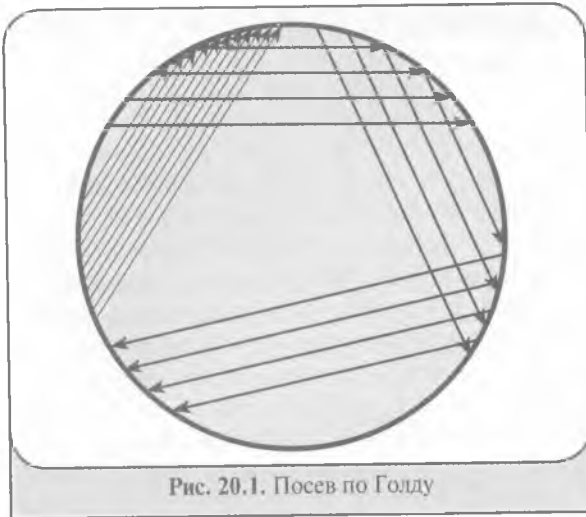


Рис. 20.1. Посев по Голду

песса и эффективностью терапии. Уменьшение степени бактериурии свидетельствует о благоприятном течении заболевания и эффективности использования лекарственных препаратов. В некоторых случаях у больных, получающих антибактериальную терапию при плохом оттоке мочи, при ее низкой относительной плотности, рН ниже 5,0, может наблюдаться низкая степень бактериурии при имеющемся заболевании. Поэтому помимо степени бактериурии следует учитывать вид выделенных из мочи микробов. Повторное выделение из мочи культуры одного вида, типа, варианта свидетельствует об инфекционном процессе. Монокультура чаще выделяется при острых воспалительных процессах и коррелирует с высокой степенью бактериурии. Ассоциации микробов чаще встречаются при хронических процессах.

При окончательной оценке результатов микробиологического исследования мочи необходимо учитывать данные клиники и другие лабораторные анализы.

Диагноз бессимптомной бактериурии ставится в тех случаях, когда при отсутствии симптомов поражения мочеполовых путей из мочи повторно выделяют большое число бактерий (10^6 и более).

20.12. Диагностика инфекций нижних дыхательных путей

Оппортунистические инфекции бронхов и легких протекают в виде бронхита, пневмонии, абсцесса и гангрены легкого, эмпиемы плевры. Ведущее место в этой группе заболеваний занимают хронический и острый бронхит.

Заражение возбудителями оппортунистических инфекций происходит главным образом воздушно-капельным путем из внешней среды или верхних дыхательных путей самого больного. Но возбудители нередко проникают также из крови (при сепсисе), при оперативных вмешательствах, эндоскопических процедурах, при интратрахеальном введении контаминированных микробами аэрозолей и растворов.

Занос УПМ в дыхательные пути не обязательно влечет за собой развитие инфекции. У здоровых людей бронхи обладают выраженной способностью к самоочищению от микробов и чужеродных частиц, которое осуществляется кооперативным действием системы мукоциллиарного клиренса, альвеолярными и бронхиальными макрофагами, лизоцимом, секреторным IgA, комплементом, лимфоидным

риологических методов лаборатория дает предварительный ответ через день после получения результатов определения степени бактериурии и окончательный — через 3–4 дня после выделения микробов, их идентификации и определения чувствительности к антибактериальным препаратам. В окончательном ответе указывают степень бактериурии, вид выделенных культур, их антибиотикограмму.

Основная задача при интерпретации полученных данных заключается в доказательстве этиологической роли микробов, выделенных из мочи. Учитывают комплекс тестов: степень бактериурии, вид выделенных культур, повторность их выделения в процессе заболевания, присутствие в моче монокультуры или ассоциации микробов. Степень бактериурии позволяет дифференцировать инфекционный процесс в мочевых путях от контаминации мочи нормальной микрофлорой.

Оценку производят на основании следующих критериев:

1. Степень бактериурии, не превышающая 10^3 КОЕ/мл мочи, свидетельствует об отсутствии воспалительного процесса и обычно является результатом контаминации мочи.

2. Степень бактериурии, равная 10^4 КОЕ/мл, расценивается как сомнительный результат. Исследование следует повторить.

3. Степень бактериурии, равная и выше 10^5 КОЕ/мл мочи, указывает на наличие воспалительного процесса.

Изменение степени бактериурии в процессе заболевания можно использовать для контроля за течением про-

аппаратом слизистых оболочек и перибронхиальных лимфатических узлов. Кроме того, слизистая оболочка дыхательных путей обладает выраженными барьерными свойствами против УПМ. Поэтому для возникновения инфекции необходимо попадание тем или иным путем высокой инфицирующей дозы возбудителя, нарушение целостности слизистой оболочки и снижение самоочищающей функции дыхательных путей. Повышают риск развития инфекций иммунодефицитные состояния.

Возбудителями воспалительных процессов нижних дыхательных путей могут быть бактерии, микоплазмы, вирусы, грибы и простейшие. Среди патогенов высокого уровня приоритетности наиболее часто при заболеваниях нижних дыхательных путей встречаются — *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*; к патогенам среднего уровня приоритетности следует отнести энтеробактерии, *Candida albicans*, *Branchamella catarrhalis*. Аспирационные пневмонии часто вызываются неспорообразующими анаэробами.

Материалом для исследования служат мокрота, содержимое бронхов, полученное при бронхоскопии, плевральная жидкость, аспираты и пунктаты из трахеи, легочная ткань, полученная при пункции и биопсии легкого. Наиболее информативно исследование пунктатов из легких и трахеи. Однако применение методов связано с определенным риском, в связи с чем их следует использовать лишь при тяжелых заболеваниях и при отсутствии мокроты или отрицательном результате ее исследования. Мокроту для микробиологического исследования следует брать до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени после введения препарата, необходимый для выведения последнего из организма больного. Исследуют утреннюю порцию мокроты.

Перед сбором мокроты больной должен прополоскать рот кипяченой водой или слабым раствором антисептика, почистить зубы. Мокроту собирают в стерильную посуду — плевательницу, чашки Петри и пр. Наиболее информативно исследование мокроты, полученной при бронхоскопии, так как она практически не загрязнена микрофлорой верхних дыхательных путей и полости носа, полости рта. Хранить мокроту до исследования следует в холодильнике при

4 °С не более 2–3 ч. При более длительном хранении погибают требовательные виды микробов, развиваются процессы брожения и гниения, искажающие результаты исследования.

Для лабораторной диагностики используют *микроскопический, бактериологический и серологический методы*.

Микроскопический метод применяют для ориентировочной экспресс-диагностики, а также для выбора основного направления бактериологического исследования. Чувствительность и специфичность этого метода повышается при использовании РИФ и ИФА.

Исследуют гнойные комочки мокроты, которые максимально освобождают от микрофлоры верхних дыхательных путей путем промывания их в чашке Петри, содержащей изотонический раствор хлорида натрия. Готовят мазки, растирая комочек мокроты между стеклами, окрашивают их по Граму и Цилю–Нельсену (для обнаружения в мокроте микобактерий). При бактериоскопии мазков можно ориентировочно судить о характере и количестве микрофлоры в мокроте. Микроскопия мазка позволяет также выявить труднокультивируемые микробы.

Серологический метод используют чаще при затяжных и хронических формах. В связи с полиэтиологичностью заболевания и выраженной мозаичностью возбудителей, в качестве диагностикума используют количественно доминирующие аутокультуры. Поскольку последние нередко являются представителями нормальной микрофлоры, к которым в организме обычно имеются антитела, реакции ставят в динамике.

Ведущий метод диагностики — *бактериологический*. Главной его особенностью является определение количества микробов в материале.

Посев отмытых гнойных комочков мокроты производят на ряд питательных сред: 5% кровяной агар, среду Эндо, среду Левинталя, среду для анаэробов. Посев производят шпателем, равномерно растирая комочек мокроты по поверхности питательной среды. На поверхность питательной среды, засеянную исследуемым материалом, можно положить диски с сапонином, чтобы создать селективные условия для роста *H. influenzae*. Среды с посевами инкубируют 18–24 ч. Из выросших колоний выделяют чистые культуры, идентифицируют и определяют антибиотикограмму. При обнаружении в микроскопическом препарате грибов делают посев на среду Сабуро

или другие среды для выращивания грибов. При подозрении на туберкулез или микоплазменную инфекцию делают посевы на соответствующие среды. Чтобы различить контаминацию мокроты микрофлорой верхних дыхательных путей и полости рта, используют количественные методы исследования.

Мокроту для количественного исследования собирают в стерильную банку с бусами для гомогенизации материала или в обычную посуду, но перед посевом растирают тщательно в ступках. В стерильную банку с бусами помещают 1 мл мокроты, добавляют туда 9 мл 2% пептонной воды или бульона. Смесь встряхивают в течение нескольких минут, из полученной гомогенизированной мокроты готовят десятикратные разведения, добавляя к 0,1 мл мокроты 0,9 мл изотонического раствора хлорида натрия. Затем по 0,1 мл полученных разведений засевают на чашки с 5% кровяным агаром, растирая материал шпателем по поверхности среды. Через сутки инкубации при температуре 37 °С учитывают результаты: подсчитывают однотипные по внешнему виду колонии, их число умножают на 10, так как производят посев 0,1 мл мокроты, и на степень разведения материала. Из колоний готовят мазки, выделяют чистые культуры, идентифицируют, определяют чувствительность к антибактериальным препаратам.

Для выделения пневмококка можно внутрибрюшинно заразить белых мышей 0,5 мл взвеси первичного материала в бульоне или частью осадка после центрифугирования материала. Через 6–8 ч у зараженной мыши берут экссудат из брюшной полости, делают посев на чашки с 5% кровяным агаром, из остатка экссудата готовят мазки, которые окрашивают по Граму. Можно также забить зараженное животное и сделать посев крови из сердца на сыровоточный бульон и чашки с кровяным агаром и мазки-отпечатки из селезенки на предметном стекле для окраски по Граму. При наличии пневмококка в исследуемом материале на питательных средах вырастет чистая культура.

Наиболее сложно определить этиологическую роль содержащихся в мокроте микробов, контаминирующих ее при прохождении через верхние дыхательные пути и ротовую полость. Для дифференциации этой микрофлоры от микрофлоры нижних дыхательных путей используют ряд тестов. С помощью количественного метода определяют содержание в мокроте определенного вида микробов, исходя из того, что возбу-

дитель находится в мокроте в значительно большем количестве, чем микробы-контаминанты. Критическое число составляет 10^6 – 10^7 КОЕ/мл. Рост микробов в меньших разведениях расценивают как контаминацию мокроты микрофлорой верхних дыхательных путей. Следует учитывать, что при проведении антибактериальной терапии количественное обсеменение мокроты возбудителем может уменьшиться.

Определенное значение имеет вид выделенных микробов. Представителей нормальной микрофлоры носоглотки как возбудителей заболевания следует учитывать только в случаях, когда их количество превышает обычное. Другие виды микробов, находящихся в мокроте в разведениях, превышающих 10^6 КОЕ/мл, следует учитывать и изучать их чувствительность к антибиотикам.

20.13. Диагностика инфекций верхних дыхательных путей

Микрофлору верхних дыхательных путей изучают при заболеваниях носа и зева, а также у больных пневмонией, не отделяющих мокроту, и при обследовании на бактерионосительство.

Отделяемое из носа берут стерильным ватным тампоном, который вводят в глубь полости носа. Материал из носоглотки берут стерильным заднеглоточным тампоном, из зева — увлажненным ватным тампоном. Тампоны помещают в стерильные пробирки и доставляют в лабораторию в максимально короткие сроки. Хранить тампоны с материалом следует в холодильнике не более 2–3 ч. Посев тампоном производят на чашки Петри с 5% кровяным агаром, которые инкубируют 18–24 ч при температуре 37 °С. Просматривают выросшие колонии, выделяют чистые культуры, идентифицируют их, определяют чувствительность к антибиотикам. Из материала, оставшегося на тампоне, делают мазки, которые окрашивают по Граму и Нейссеру.

При оценке результатов исследования следует учитывать видовой и количественный состав нормальной микрофлоры, содержащейся в клиническом образце: обнаружение микробов, не относящихся к нормальной микрофлоре верхних дыхательных путей, или необычно большое количество микробов какого-либо вида указывает на их этиологическую значимость в заболевании.

20.14. Диагностика менингитов

Микробиологическое исследование ликвора необходимо в случаях, подозрительных на менингит, а также при коматозных состояниях и неврологических симптомах неясного генеза.

Гнойный менингит — гнойное воспаление мозговых оболочек. Встречаются первичный менингит, вызванный менингококками, и вторичный, возбудителями которого являются все прочие УПМ. Возбудители заносятся в субарахноидальное пространство при воспалительных процессах в других органах гематогенным, лимфогенным, контактными путями, а также при травмах.

Ликвор в норме стерилен, поэтому положительный результат микробиологического исследования — это всегда расшифровка этиологического диагноза, своевременность постановки которого может в ряде случаев предотвратить смертельный исход заболевания.

Этиология менингитов очень разнообразна. Наиболее часто из ликвора выделяют следующие микробы:

- при гнойных менингитах — *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* групп А, В, D; *Haemophilus influenzae*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Listeria monocytogenes*;

- при асептических менингитах — *Mycobacterium tuberculosis*, *Leptospira*, *Cryptococcus neoformans*, *Toxoplasma gondii*, вирусы.

Взятие проб ликвора должно проводиться при строжайшем соблюдении правил асептики, исключающих его контаминацию.

Первые капли ликвора (до 1 мл) собирают в пробирку и направляют на цитологическое исследование. Для посева используют следующую порцию жидкости, которую собирают в стерильную пробирку в количестве 2–5 мл. При подозрении на туберкулезную или грибковую этиологию менингита следует брать не менее 10 мл ликвора. Учитывая, что один из ведущих возбудителей менингита — *Neisseria meningitidis* — чрезвычайно чувствителен к охлаждению, взятые пробы должны быть доставлены в лабораторию как можно скорее, а до этого сохраняться строго при 37 °С.

Во всех случаях, подозрительных на менингит, для микробиологического исследования кроме ликвора берут материал из предполага-

емого первичного очага инфекции: мазки из носоглотки, среднего уха, ран после нейрохирургических и других оперативных вмешательств, кровь.

В лаборатории ликвор центрифугируют при 2500–3000 об/мин 10 мин. Надосадочную жидкость отсасывают стерильной пипеткой в пробирку и используют для биохимического и серологического исследований. Оставшийся осадок и около 0,5 мл жидкости используют для приготовления мазков и посева. Гнойный ликвор можно использовать для исследования без предварительного центрифугирования. До конца подготовительных операций ликвор хранят при 37 °С. Из осадка делают два тонких мазка на стекле, окрашивая по Граму и метиленовым синим, и немедленно микроскопируют. Нередко, особенно при нелеченых случаях менингита, по типичной морфологии могут быть выявлены такие возбудители как *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*. Обнаружение в мазках неспоровых четко грамположительных коротких толстых палочек заставляет заподозрить *Listeria monocytogenes* в качестве возбудителя менингита. Результаты первичной микроскопии служат основанием для предварительной диагностики, которая немедленно сообщается лечащему врачу и определяет ход дальнейшего исследования.

Посев ликвора производят на следующие питательные среды: сывороточный агар (инкубация в нормальной атмосфере), 5% кровяной агар (инкубация в анаэробных условиях и в атмосфере, обогащенной 10% CO₂), шоколадный агар, среды для анаэробов.

Проверку роста проводят после ночной инкубации и в дальнейшем ежедневно до появления роста. При отсутствии роста в течение 7 дней выдается отрицательный результат. При появлении роста на какой-либо из сред делают мазки, окрашивают по Граму, проводят посева на плотные питательные среды для выделения культур и их идентификации.

В большинстве случаев выделение микробов из ликвора свидетельствует об их этиологической роли. В редких случаях выделение УПМ может быть связано с контаминацией ликвора при его взятии. В таких случаях, чтобы избежать диагностической ошибки, следует повторить исследование. В случаях менингита, вызванного УПМ, лечебные мероприятия не оказывают столь быстрого стерилизующего эффекта, как при патогенных возбу-

телях. Кроме того, должны быть проведены количественные исследования микрофлоры. Отсутствие микрофлоры в первичных мазках ликвора и отсутствие роста (или рост единичных колоний) на плотных питательных средах или наличие роста в жидких питательных средах могут свидетельствовать о нарушении правил асептики при взятии ликвора.

20.15. Диагностика воспалительных заболеваний женских половых органов

Воспалительные заболевания половых органов могут быть вызваны микрофлорой, присутствующей в норме в этих органах, а также при восходящем, гематогенном, лимфогенном распространении микробов из других органов и тканей.

Взятие материала на исследование проводит врач акушер-гинеколог из различных отделов женского полового тракта.

Вульва, преддверие влагалища. Отделяемое берут стерильным ватным тампоном. При воспалении большой железы преддверия (бартолиновой железы) производят ее пункцию или при вскрытии абсцесса железы гной берут стерильным ватным тампоном.

Влагалище. После введения зеркала и подъемника материал для исследования берут стерильным ватным тампоном из заднего свода или с патологически измененных участков слизистой. Материал для исследования должен быть взят до проведения мануального исследования.

Шейка матки. После обнажения шейки матки в зеркалах влагалищную часть ее тщательно обрабатывают ватным тампоном, смоченным стерильным изотоническим раствором натрия хлорида или водой. После этого тонкий ватный тампон вводят в шейный канал (не касаясь стенок влагалища) и берут материал для исследования.

Матка. Правильное взятие материала из матки может быть выполнено только при использовании специальных инструментов типа шприца-аспиратора, имеющего на зонде наружное покрытие. После прохождения зондом цервикального канала в полости матки раскрывают его наружную оболочку и аспирируют содержимое. После этого закрывают наружную оболочку и выводят зонд из матки.

Придатки матки. При воспалительном процессе в придатках матки получение материала из очага инфекции возможно только при оперативном вме-

шательстве (гной, экссудат, кусочки органов) или при проведении диагностической пункции опухолевидных образований в малом тазу, проводимой через влагалищные своды (при этом следует учитывать возможность контаминации пробы вагинальной микрофлорой). В некоторых случаях, если очаг инфекции в придатках матки сообщается с полостью матки, могут оказаться полезными повторные исследования отделяемого цервикального канала при однотипных результатах исследования.

Материал должен быть доставлен в лабораторию в ближайшие 1–2 ч. При подозрении на анаэробную инфекцию посев должен быть выполнен сразу же после взятия материала.

Готовят мазки для *микроскопии*.

Материал равномерно распределяют на стекле мягкими движениями, не применяя грубого втирания и резких штриховых движений инструментом. Такая техника выполнения мазков позволяет клеткам распределяться слоями, не повреждает их, сохраняет истинное распределение и количественное соотношение компонентов исследуемого материала. После высушивания при комнатной температуре мазки покрывают чистым предметным стеклом (или помещают в чашку Петри) и отправляют в лабораторию. Хранение влажного мазка, сдавленного между двумя стеклами, недопустимо.

В лаборатории микроскопируют первичные мазки после окраски их по Граму, метиленовым синим, по Романовскому—Гимзе (влажные мазки).

Материал, взятый на тампон, засевают штрихами на кровяной и шоколадный агар. Материал, доставленный в пробирках (гной, содержимое тубоовариальных образований), засевают по 0,1 мл, растирая шпателем по поверхности кровяного и шоколадного агара. Производят также посевы в сахарный бульон и среды для выделения анаэробов. Из оставшегося материала готовят мазки для микроскопии. Кусочки тканей размельчают, соблюдая стерильность, в микроизмельчителе тканей или в ступке с песком и засевают полученную взвесь на несколько чашек с плотными средами (кровяной агар, молочнокисло-солевой агар, среда Эндо), а также в сахарный бульон и среды для выделения анаэробов. Посевы инкубируют при температуре 37 °С аэробно и в анаэробостате. При появлении роста на плотных питательных средах проводят подсчет числа колоний, ко-

личественно оценивая соотношение видов в данной микробной ассоциации. При помутнении сахарного бульона делают мазок на стекле и окрашивают по Граму высеvy на плотные питательные среды (кровяной агар, молочно-солевой агар, среда Эндо).

Оценка результатов микробиологического исследования половой системы представляет определенные трудности, так как чаще всего регистрируют рост нескольких УПМ. В каждом конкретном случае следует учитывать совокупность признаков: данные микроскопии первичных мазков исследуемого материала, результаты посева на плотные среды (количественная оценка роста различных видов), а также клинические проявления заболевания и анамнез больной. Исследование материала из закрытых полостей (пунктаты опухолевидных образований в малом тазу, околоплодные воды), а также органов в норме стерильных (содержимое полости матки, кусочки органов и тканей, удаляемых при полостных операциях) рост микробов сходной морфологии в первичных мазках с определенностью свидетельствует об их этиологической роли в воспалительном процессе.

При исследовании материала из мест, в норме имеющих разнообразную микрофлору, большое значение придается количественной оценке различных видов бактерий, выросших при первичном посеве на плотные среды, однотипности результатов при повторных исследованиях, а также клиническим данным. Для ориентировочной оценки количественного соотношения в микробных ассоциациях можно использовать следующие критерии при штриховом посеве тампоном на половину чашки Петри с кровяным агаром:

- I — очень скудный рост — на плотных средах роста нет, он имеется в жидкой питательной среде;
- II — небольшое количество — на агаре до 10 колоний микробов определенного вида;
- III — умеренное количество — на агаре от 11 до 100 колоний;
- IV — большое количество — на агаре более 100 колоний.

Рост I–II степени чаще всего свидетельствует о контаминации, III–IV степени — об этиологической роли данного микроба.

20.16. Диагностика острых кишечных инфекций и пищевых отравлений

Острые кишечные инфекции (ОКИ) вызываются: *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Hafnia oivei*, *Arizona*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morgani*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*, *Plesiomonas shigelloides*, *Vibrio hemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Clostridium perfringens*, *C. difficile*, *Bacillus cereus*.

Заболевания, вызванные указанными видами, чаще протекают по типу пищевой токсикоинфекции, реже — микробной интоксикации (стафилококковая, клостридиальная) и инфекционного заболевания (эшерихиозы, кампилобактериозы). Холецистит, панкреатит, аппендицит, перитонит, паропроктит относят к другой группе оппортунистических инфекций — гнойно-воспалительным.

Заражение ОКИ происходит в результате приема контаминированной микробами пищи, в которую они попадают от людей — больных и носителей, реже — от животных. В пищевых продуктах указанные виды бактерий способны к размножению в условиях комнатной температуры, а псевдомонады и клебсиеллы — при температуре бытового холодильника. При размножении стафилококка и клостридий в пищевых продуктах накапливается экзотоксин.

Кроме алиментарного, возможна передача возбудителей контактно-бытовым и водным путями, хотя эти пути в большинстве случаев не могут обеспечить попадание в организм достаточной инфицирующей дозы.

Инкубационный период — короткий. Прием пищи, содержащей стафилококковый энтеротоксин и клостридиальные экзотоксины, приводит к развитию заболевания уже через 2–3 ч и даже полчаса. При заражении протеем, клебсиеллами, энтерококком инкубационный период составляет 5–24 ч. При попадании малой дозы возбудителя инкубационный период может удлиниться до 2–3 дней. При кампилобактериозе и эшерихиозе он может доходить до 5–7 дней.

В развитии заболевания, кроме попадания высокой инфицирующей дозы, патогенности возбудителя, большое значение имеют условия, способствующие быстрому и мас-

совому размножению возбудителя в тонком кишечнике или желудке. У стафилококка и клостридий главным фактором патогенности является экзотоксин, у остальных микробов — эндотоксин, который выделяется в больших количествах при массовом распаде попавших в кишечник бактерий и оказывает местное цитотоксическое действие, действие на интрамуральный нервный аппарат кишечника, периферические сосуды и клетки других органов. Некоторые варианты эшерихий, клебсиелл, псевдомонад дополнительно продуцируют экзотоксин, капсульную субстанцию, ферменты-токсины, которые также оказывают прямое или косвенное повреждающее действие.

Начало болезни, как правило, острое, а нередко и бурное. В клиническом течении выделяют три синдрома: общетоксический, энтеральный и более редкий — септический. В одних случаях заболевание начинается с общетоксического синдрома (озноб, лихорадка, головная и мышечная боли, слабость, головокружение и др.), в других — с энтерального (тошнота, рвота, понос, боли в животе), к которым присоединяется энтеральный или общетоксический синдром. Эти синдромы могут проявляться и одновременно.

Клиника заболевания проявляется в виде гастрита, энтерита, гастроэнтерита, колита, энтероколита и гастроэнтероколита. Любой из названных выше микробов может вызвать любую форму заболеваний, но при обобщенном анализе выявляется некоторая специфика. ОКИ стафилококковой этиологии чаще протекают как гастрит и гастроэнтерит. По типу гастрита и гастроэнтерита протекают также ОКИ, вызванные цитробактером, протеем, клебсиеллами. Кишечная палочка вызывает колит, энтерит или энтероколит. Большинство возбудителей вызывает легкие или средней тяжести заболевания. Кишечная палочка может вызывать тяжелые формы, сопровождающиеся обезвоживанием организма или осложниться сепсисом. Клостридиальная инфекция может протекать по типу выраженной интоксикации, сепсиса, некротического энтерита, обезвоживающего организм энтерита.

ОКИ обычно заканчиваются клиническим выздоровлением через 5–6 дней или даже раньше, воспалительные явления в кишечнике могут наблюдаться 7–10 дней, период освобождения организма от возбудителя может затягиваться на длительное время.

Переход в затяжное или хроническое течение наблюдается при клостридиальной и псевдомонадной инфекциях. Септические формы болезни могут иметь летальный исход.

Для постановки этиологического диагноза ОКИ используют *бактериологический метод*. При хронических и затяжных формах в сыворотке крови больного нередко выявляют нарастание антител к доминирующей аутокультуре.

Материалом для исследования служат испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, пищевые продукты и сырье, с которыми связывают развитие болезни. Материал должен быть исследован в первые часы после его забора; при отсутствии такой возможности материал помещают в консервант (фосфатно-глиценировую смесь или другие).

Исследование на УПМ часто производят после того, как из материала не удается выделить патогенных возбудителей. Однако целесообразно, а при остром токсико-энтеральном начале обязательно, провести параллельное исследование на УПМ. Для этого материал засевают на дифференциально-диагностические среды, позволяющие наряду с патогенными микробами выделить УПМ.

Испражнения, рвотные массы, продукты в количестве около 1 г суспендируют в 10 мл 0,5% раствора хлорида натрия, встряхивают, отстаивают 15 мин и надосадочную жидкость засевают на дифференциально-диагностические среды. Материал засевают на чашки со средами Левина (Эндо) — для выделения энтеробактерий, желточно-солевой — для стафилококков, МПА с фурагином — для выделения псевдомонад, щелочной агар — для вибрионов, МПА — для бацилл, среду Китта-Тароцци — для клостридий. Выделяют чистые культуры, проводят их идентификацию, определяют чувствительность к антибиотикам, определяют факторы патогенности.

Оценка этиологической роли выделенных культур проводится на основании соответствия перечисленным выше критериям. Главным из них является количественный. Этиологически значимой для отсутствующих или присутствующих в небольшом количестве в кишечнике здоровых людей видов является величина 10^6 КОЕ/г (мл) материала и больше.

При выделении кишечной палочки, которая в кишечнике у здоровых людей находится в очень больших количествах, нужны дополнительные критерии. При заболеваниях, протекающих по типу пищевого отравления, диагноз становится более достоверным при обнаружении такой же культуры в пищевом продукте и у группы лиц, его принимавших. В случаях выделения УПМ в этиологически значимых количествах наряду с патогенными следует думать о сопутствующем дисбактериозе или вторичной оппортунистической инфекции, осложнившей течение основного заболевания.

20.17. Диагностика раневой инфекции

Все УПМ могут вести к развитию раневой инфекции, особенно на фоне иммунокомпromиссного организма. В настоящее время ведущая роль в этиологии раневой инфекции принадлежит стафилококкам, энтеробактериям и неферментирующим грамотрицательным палочкам (псевдомонады и др.), увеличивает значение неспорообразующих анаэробных бактерий, грибов.

Раневое отделяемое берут стерильными ватными тампонами из глубины раны до обработки ее антисептическими растворами. Тампоны срочно направляют в бактериологическую лабораторию. При наличии в ране дренажа отделяемое берут стерильным шприцем, из которого оно переносится с соблюдением правил асептики в стерильную пробирку или анаэробный транспортный флакон. Удаляемые при обработке раны кусочки тканей отправляют в лабораторию в стерильных чашках Петри.

Посев раневого отделяемого с тампона производят на питательные среды в следующем порядке: кровяной агар; сахарный бульон; среда для анаэробов.

Жидкие пробы засевают на плотную среду петлей. Предпочтительнее производить посев по 0,1 мл разведенной до 10^{-1} и неразведенной пробы, растирая материал по поверхности питательной среды шпателем. В жидкие питательные среды посев производят пастеровской пипеткой. При посеве на анаэробы пипетку с исследуемым материалом опускают на дно пробирки, не допуская попадания пузырьков воздуха в среду.

Кусочки тканей режут стерильными ножницами, взвешивают в стерильной чашке Петри и измельчают в стерильной ступке с бульоном из расчета 1 мл бульона на 1 г ткани. Затем готовят десятикратные разведения взвеси до 10^{-3} . По 0,1 мл каждого разведения засевают на кровяной агар.

Подсчет КОЕ/г ткани производят с учетом числа выросших колоний и сделанных разведений.

Посевы инкубируют аэробно и анаэробно при температуре 37°C и ежедневно просматривают. При появлении роста на плотной среде изучают культуральные свойства. Делается количественная оценка роста. В случае выявления колоний различного вида подсчитывают число колоний каждого вида. При этом выявляют ведущий вид в ассоциации. По 2–3 колонии каждого типа отсевают на соответствующие питательные среды для дальнейшей идентификации.

При проявлении роста в жидких питательных средах готовят мазки для окраски по Граму; с сахарного бульона производят высев на кровяной агар, среду Эндо, молочно-солевой агар. Отрицательный результат исследования выдают через 7 суток при отсутствии роста на всех питательных средах.

Для приготовления мазков отделяемого ран используют тампоны, которыми забирают и переносят материал на стекло. Мазки окрашивают по Граму. При микроскопии мазков отмечают морфологию и количество микробов. Выделяемые при это особенности могут внести коррекцию в ход исследования — использование дополнительных питательных сред.

Экссудат берут, соблюдая правила асептики, пункцией полостей и отсасывают содержимое с помощью шприца. Из шприца материал переносят у пламени газовой горелки в стерильный анаэробный транспортный флакон и отправляют в лабораторию.

В лаборатории прозрачную жидкость центрифугируют 15–20 мин при 3000 об/мин и осадок используют для посева и приготовления мазков. При гнойном характере экссудата готовят тонкие мазки для микроскопии без предварительного центрифугирования. Посев проб производят на кровяной агар, сахарный бульон, среду для анаэробов. Кроме того, используют специальные питательные среды в зависимости от особенностей источника выпота. Плевральный выпот чаще всего наблюдается у больных с туберкулезом легких, поэтому после центрифугирования

осадок дополнительно засевают на среды для культивирования туберкулезной палочки или заражают патологическим материалом морскую свинку. При эмпиемах частым возбудителем может быть пневмококк, стрептококк группы А, стафилококк, анаэробы, а следовательно, необходимо сделать посев на соответствующие селективные питательные среды. При исследовании синовиальной жидкости следует использовать питательные среды для выделения гонококков.

Интерпретация полученных данных обычно не представляет трудности, так как при условии соблюдения правил асептики во время взятия материала из закрытых полостей и из глубины гнойных ран выделенные микробы являются возбудителями данного гнойно-воспалительного процесса.

При выделении ассоциаций микробов из раневого отделяемого ведущее значение в течении раневого процесса следует отдавать видам, количественно преобладающим в данном микробиоценозе. Уровень обсемененности тканей в ране, равный 10^5 КОЕ/г, является критическим. Превышение этого уровня указывает на большую вероятность развития гнойной инфекции и возможность генерализации процесса. При обсемененности менее 10^5 КОЕ/г ткани раны заживают без явлений нагноения.

20.18. Диагностика воспалений глаз и ушей

Воспалительные заболевания глаза чаще всего локализуются на конъюнктиве, слизистой оболочке век, слезном мешке, реже затрагивают роговицу. Воспаление внутренних сред глазного яблока может развиваться в результате гематогенного заноса при сепсисе или после операций на глазном яблоке, особенно у ослабленных больных после длительных курсов антибиотико- и гормонотерапии.

Взятие материала для микробиологического исследования производят до местного применения антибиотиков и других лекарственных средств. Его выполняет врач-окулист в присутствии лаборанта-микробиолога, который сразу производит посев взятого материала на питательные среды. При наличии гнойного отделяемого используют стерильные ватные тампоны, которыми забирают гной с внут-

ренней поверхности нижнего века к внутреннему углу глазной щели. Необходимо следить, чтобы ресницы при моргании не касались тампона. При отсутствии видимого гноя следует пользоваться тампонами, смоченными стерильным изотоническим раствором хлорида натрия, чтобы собрать на тампон как можно больше скудного отделяемого. Секрет из слезного мешка берут стерильным ватным тампоном после осторожного массажа. Материал с роговицы берут платиновой петлей после местного обезболивания. Соскобы с конъюнктивы и роговицы для выявления эозинофилов и телец включения производят инструментом, с которого материал переносят на предметные стекла.

При скудном отделяемом используют только жидкие питательные среды, такие как среды накопления — сахарный бульон и среда для анаэробов. При обильном отделяемом необходимо использовать кровяной агар, сывороточный агар, шоколадный агар. При подозрении на гонококковую или дифтерийную этиологию конъюнктивита используют соответствующие среды.

При выявлении в первичных мазках толстых коротких грамположительных диплобацилл, особенно в случаях хронического или катарального конъюнктивита, наиболее выраженного в наружных углах глаз, следует использовать среду Леффлера для выделения моракселл.

Все питательные среды после посева на них отделяемого инкубируют при температуре 37°C 24–28 ч. Часто рост появляется только через 48 ч. При появлении роста делают мазки на предметных стеклах, которые окрашивают по Граму, и производят высевы с жидких питательных сред на плотные среды: кровяной агар, среду Эндо, молочно-солевой агар, агар Сабуро. Другие питательные среды используют при соответствующих показаниях.

Выделение из исследуемого материала патогенных микробов свидетельствует об их этиологической роли в развитии воспалительного процесса. Обнаружение УПМ при условии соблюдения правил асептики в момент взятия материала свидетельствует об их участии в воспалительном процессе тканей глаза или является показателем высокого риска разви-

тия воспалительного процесса в ближайшем будущем, особенно в случаях, когда больным предстоят оперативные вмешательства на органе зрения.

Взятие материала для микробиологического исследования при среднем гнойном отите проводит врач-отоларинголог, используя стерильные инструменты. Отделяемое берут стерильным ватным тампоном. Наиболее достоверные результаты исследования получают при пункции среднего уха через не прорвавшую барабанную перепонку. При наружном отите следует обработать кожу прилегающих областей раствором антисептика, чтобы при взятии материала не было контаминации тампона.

Материал засевают на кровяной агар, шоколадный агар, а также сахарный бульон и среду для анаэробов. Готовят мазки из отделяемого для окраски по Граму. Инкубацию посевов на жидких средах проводят в аэробных условиях при температуре 37 °С, чашки с кровяным агаром инкубируют в атмосфере, обогащенной 5% CO₂. Посевы просматривают ежедневно. Отрицательный результат исследования выдается при отсутствии роста в течение 7 суток. При появлении роста на плотных средах проводят его количественную оценку и отсеивают 2–3 колонии каждого типа для последующей идентификации. С жидких сред готовят мазки для окраски по Граму и производят высевы на кровяной агар, молочно-солевой агар, среду Эндо.

20.19. Микрофлора полости рта и ее роль в патологии человека

Микрофлора полости рта. Полость рта является благоприятной средой обитания для многих видов микроорганизмов. В ней имеется достаточное количество питательных веществ, стабильная оптимальная температура, слабощелочная реакция, постоянная влажность, что создает условия для адгезии, колонизации и размножения микроорганизмов. Микрофлора полости рта — это сложный динамичный биоценоз постоянных и изменяющихся популяций, который сложился эволюционно в результате взаимодействия множества эндогенных и экзогенных факторов,

обусловленных влиянием внешней среды и состоянием макроорганизма.

У новорожденного в полости рта встречаются микроорганизмы, которые попали туда из родовых путей матери. В первые недели жизни рот у детей заселяют разные микробы, поступающие из окружающей среды и пищевых продуктов; среди них преобладают лактобактерии, грибы рода *Candida*, нейссерии, стрептококки. Появление зубов, создавая условия для размножения анаэробов в промежутках между зубами и у шейки зубов, приводит к смене качественного и количественного состава микрофлоры полости рта. Далее этот состав меняется по мере развития организма, изменений в эндокринной, иммунной системах, особенностях питания. В полости рта взрослого человека обнаруживают примерно 160 видов микроорганизмов. В основном они находятся на зубах, слизистой оболочке, в межзубных промежутках, в слюне, кариозных полостях, у шейки зубов, на спинке языка и в других участках полости рта, малодоступных обмыванию слюной (в слюне — до 10⁹ микроорганизмов в 1 мл, в десневых карманах — в 100 раз больше). Среди них различают *аутохтонные* (*индигенные*), специфические для полости рта постоянные виды, и *аллохтонные*, которые попадают из других частей организма и окружающей среды вместе с пищей, водой и воздухом.

Существенное влияние на состав микрофлоры полости рта оказывают: состояние защитных сил организма, взаимодействия внутри микробиоценозов, действие ряда факторов внешней и внутренней среды (антибиотиков, гормонов, токсических веществ и пр.). Многие микроорганизмы погибают под действием неспецифических и специфических факторов антиинфекционной защиты — лизоцима, секреторных иммуноглобулинов А, содержащихся в слюне и мокроте, фагоцитоза и др. Нередко сочетание неблагоприятных факторов приводит к развитию дисбактериоза (дисмикробиоза). При ослаблении защитных сил организма представители нормальной микрофлоры (особенно факультативной) способны вызывать эндогенную инфекцию, которая в случае глубокого иммунодефицита может иметь летальный исход. Многие пред-

ставители аутохтонной микрофлоры полости рта имеют морфологическое сходство с возбудителями сифилиса, дифтерии, менингококковой инфекции, пневмоний и др., что затрудняет микробиологическую диагностику соответствующих заболеваний.

Видовой состав микрофлоры полости рта представлен аэробными и анаэробными микроорганизмами.

Основную массу микроорганизмов ротовой полости составляют грамположительные и грамотрицательные бактерии, анаэробные и аэробные, кокки и аспорогенные палочки, актиномицеты, спирохеты, микоплазмы. Большую часть грамположительных кокков составляют *стрептококки*, грамположительных палочек — *лактобактерии*, грамотрицательных палочек — строгие анаэробы (*бактероиды*, *превотеллы*, *порфиромонады*), нитевидные *лептотрихии* и веретенообразные *фузобактерии* (из факультативных анаэробов — *гемофилы*). Отмечается наличие актиномицетов, спирохет (непатогенные *трепонемы*, *лептоспиры* и *боррелии*), а также простейших. Многие из них обладают патогенным потенциалом и могут принимать участие в развитии заболеваний полости рта.

Кокки в ротовой полости, в основном, представлены зелеными стрептококками (*Streptococcus salivarius*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. milleri*, *S. mitis*). Это группа условно-патогенных и непатогенных кокков, которые расщепляют разные углеводы с образованием молочной и других органических кислот. Стрептококки вида *S. salivarius*, которые постоянно присутствуют в полости рта, вырабатывают из глюкозы нерастворимый в воде биополимер (декстрин), который способствует прикреплению бактерий к поверхности зуба и образованию зубных бляшек. *S. mitis* преимущественно накапливается в щелях между деснами и поверхностью зуба.

В полости рта находятся также пептострептококки (*Peptostreptococcus asaccharolyticus* и др.), которые обнаруживаются преимущественно при разных местных патологических процессах, в ассоциациях с фузобактериями и спирохетами; особенно много их в десневых бороздках. Эти бактерии активно разлагают пептоны и аминокислоты и слабо действуют на углеводы.

Грамотрицательные анаэробные кокки из рода *Veillonella* постоянно обитают в полости рта. Они принимают участие в образовании зубного налета, но могут оказывать и противокариозное действие. Это обусловлено способностью вейлонелл расщеплять лактат, пируват, ацетат и другие продукты обмена углеводов до углекислого газа и воды, что уменьшает закисленность среды и, следовательно, препятствует деминерализации тканей зуба.

Палочковидные грамположительные и грамотрицательные бактерии, в основном, представлены родами *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*.

Лактобактерии (*L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. fermentum* и др.) участвуют в обеспечении колонизационной резистентности, оказывают антагонистическое действие на различные патогенные микроорганизмы, блокируя рецепторы эпителиоцитов. Однако при расщеплении углеводов лактобактерии образуют большое количество молочной кислоты, которая способствует развитию кариеса зубов.

Бактероиды (*B. fragilis*), превотеллы (*P. melaninogenica*), порфиромонады (*P. gingivalis*) — строгие анаэробы, они расщепляют глюкозу с образованием смеси кислот, продуцируют коллагеназу, фибролизин, гиалуронидазу и другие протеолитические ферменты. *P. melaninogenica* постоянно присутствует в десневых карманах у взрослых, вызывает заболевания пародонта.

Фузобактерии (*F. periodonticum*, *F. nucleatum*) являются представителями аутохтонной (постоянной) микрофлоры полости рта. Они могут образовывать из пептона и глюкозы молочную кислоту. Часто ассоциированы вместе со спирохетами.

Из спирохет в полости рта больше всего трепонем (*T. denticola*, *T. vincentii* и др.), они обнаруживаются в десневых карманах. В ассоциации с фузобактериями и некоторыми бактероидами они могут вызывать язвенно-некротический гингивостоматит Венсана.

Актиномицеты (*Actinomyces viscosus*, *Actinomyces israelii*) и актинобациллы (*Actinobacillus spp.*) постоянно присутствуют на слизистой оболочке полости рта, принимают участие в образовании зубного налета и зубного камня. Вместе с другими микроорга-

низмами могут обуславливать развитие кариеса зубов и заболевания пародонта.

В составе микрофлоры полости рта также обнаруживаются лептотрихии, пропионибактерии, коринебактерии, микоплазмы, простейшие и другие микроорганизмы, количество которых увеличивается при различных заболеваниях зубов и пародонта.

Зубной налет. В биохимических процессах, которые происходят в эмали, особенно важное значение имеет структура мягкого зубного налета — пелликулы. В норме зубной налет имеет около 80% воды, связанной с белком, 20% гликопротеидов, 1–2% декстрина, кальция, фосфор, калий, натрий, фтор. Ферменты бактериального происхождения — фосфатазы, протеазы, коллагеназы, гиалуронидаза и другие. Колонии разных видов микроорганизмов, которые составляют основную массу пелликулы, заключены в органический матрикс, состоящий из гликопротеидов слюны, белков, и из внеклеточных микробных полисахаридов. В первые часы образования налета в нем обнаруживаются преимущественно аэробные виды микроорганизмов, затем — аэробные и анаэробные виды: различные виды стрептококков, лактобактерии, стафилококки, грибы, дифтероиды, пептострептококки, вейлонеллы, нейссерии. Самое большое число микробных видов регистрируется спустя сутки после образования налета.

Зубные бляшки — это органический матрикс, состоящий из скопления бактерий, полисахаридов и белков, который прочно прикреплен к поверхности зуба. Первой стадией образования зубной бляшки считают формирование пелликулы. Процесс адгезии разных микроорганизмов (кокки, палочковидные, спирохеты) происходит в течение нескольких часов, количество бактериальных клеток быстро увеличивается, они образуют скопления — «кукурузные початки». В первой стадии образования зубной бляшки преобладают аэробные микроорганизмы (стрептококки, коринебактерии, актиномицеты), которые создают условия для развития строгих анаэробов.

При минерализации зубной бляшки образуется зубной камень. При этом уменьшается число аэробных представителей, исчезают лактобактерии.

Таким образом, образование зубного налета и зубных бляшек — сложный динамичный процесс, в котором микроорганизмы играют ведущую роль.

20.19.1. Роль микроорганизмов при заболеваниях челюстно-лицевой области

Этиологическое и патогенетическое значение микробов ротовой полости достаточно велико. Их участие в развитии ряда заболеваний челюстно-лицевой области подтверждено многочисленными фактами, оно может быть прямым или косвенным. Как правило, в развитии этих заболеваний принимают участие ассоциации из трех и более микробных видов (табл. 20.3).

Помимо указанных заболеваний имеют место также специфические (классические) инфекции с клиническими проявлениями в челюстно-лицевой области. К ним относят дифтерию, туберкулез, сифилис, актиномикоз, гонококковую инфекцию и др. В полости рта проявляются и различные вирусные инфекции — везикулярный стоматит и другие герпетические инфекции, герпангина, ящур, ВИЧ-инфекция.

Кариес зубов — патологический процесс деминерализации и размягчения твердых тканей зуба, который приводит к образованию дефекта в виде полости, и на поздних стадиях сопровождается воспалительными явлениями. Этиология этого заболевания окончательно не выяснена. Наиболее вероятной причиной кариеса является сочетание трех факторов: кариесогенной диеты (с высоким содержанием углеводов), предрасположенности организма и деятельности микроорганизмов полости рта. Избыточное содержание в пище углеводов (сахарозы) сопровождается образованием большого количества молочной, масляной и уксусной кислот, которые приводят к деминерализации зуба. Бактериальные полисахариды препятствуют реминерализации тканей зуба, когда рН среды сдвигается в щелочную сторону. Кроме того, протеазы микробов расщепляют органический субстрат тканей зуба. Наибольшее значение в патогенезе кариеса имеют бактерии двух групп: кислотообразователи — стрептококки (ведущая роль принадлежит *S. mutans*), лактобактерии;

Таблица 20.3. Роль микроорганизмов в возникновении и развитии заболеваний челюстно-лицевой области

| Характер заболевания | Поражаемая ткань | Заболевание |
|--|----------------------------|---|
| Невоспалительные одонтогенные инфекции | Кариес | Твердые ткани зуба |
| | Пульпа зуба | Пульпит |
| Воспалительные одонтогенные инфекции | Периодонт | Периодонтит |
| | Надкостница | Периостит |
| | Костная ткань | Остеомиелит |
| | Мягкие ткани лица и шеи | Абсцесс, флегмона |
| | Верхнечелюстная пазуха | Синусит |
| | Лимфоузлы | Лимфаденит |
| | Генерализованная инфекция | Сепсис |
| Воспалительные пародонтальные инфекции | Пародонт | Пародонтопатии |
| | Ткани десны | Гингивит, перикоронарит |
| Воспалительные неодонтогенные инфекции | Слизистая оболочка | Стоматит |
| | Большие слюнные железы | Паротит |
| | Кожа и подкожная клетчатка | Фурункул, карбункул, лимфаденит, рожистое воспаление, абсцесс, флегмона |

протеолитические бактерии (пептострептококки, бактероиды и другие аспорогенные анаэробы).

При несоблюдении правил гигиены полости рта зубной налет утолщается за счет размножения постоянно обитающих в полости рта микробов и присоединения новых бактерий. Представители нормофлоры размножаются в пелликуле, которая растворяется, и бактерии по эмалевым ходам проникают в дентин. Поврежденная эмаль рарушается ферментами бактерий, и образуется кариозная полость.

Кариозный процесс в дентине распространяется быстрее, чем в эмали. Это объясняется тем, что в дентине меньше неорганических веществ (солей кальция). В канальцах дентина заложены отростки одонтобластов, содержащие малообызвествленное основное вещество дентина, служащее благоприятной средой для размножения микробов, которые проникают по ходу дентинных канальцев в направлении пульпы. В результате действия кислот происходит декальцинация основного вещества дентина, появляются трещины (шелли), которые заполняются микробной массой и детритом.

Микробы, проникшие к пульпе, повреждают клетки одонтобластов, способствуя их атрофии. Медленное формирование кариеса

корней зуба объясняется тем, что в омертвевшей пульпе замедляется размножение и продвижение микроорганизмов ввиду нарастания гнилостных процессов, сопровождающихся сдвигом рН в щелочную сторону.

В возникновении и развитии кариеса основную роль отводят стрептококкам (виды *S. mutans*, *S. sanguis*). Их активность зависит от состава среды, в которой они живут. Если в пище мало сахарозы, в зубном налете стрептококков, соответственно, меньше, а при увеличении концентрации сахарозы они быстро размножаются и накапливаются. По мере углубления кариозной полости в процесс постепенно вовлекаются почти все представители микрофлоры полости рта. При этом наиболее многочисленны группы строгих анаэробов, энтерококков и лактобактерий. По количеству лактобактерий принято судить о степени развития кариеса и прогнозировать его течение.

Профилактика состоит из мероприятий общей и местной направленности. Она включает рациональное (сбалансированное) питание, т. е. потребление с пищей достаточного количества белков, жиров, минеральных солей и витаминов. Большое значение имеют соли кальция, фосфора, витамины (ретинол, аскорбиновая кислота, тиамин, эргокальци-

ферол), УФ-облучение, особенно для женщин в период беременности (для нормального развития и формирования организма ребенка и его зубочелюстной системы). В качестве профилактического мероприятия рекомендуют использование препаратов фтора при его низком содержании в питьевой воде (пасты, лак). Применяют жевательные резинки с ферментами (лактатдегидрогеназа и инвертаза), которые растворяют зубной налет гладкой поверхности зубов. Чистка зубов щеткой со специальными пастами в сочетании с другими механическими способами (полоскание) обеспечивает освобождение зубов от бактерий.

Ведутся исследования по созданию вакцины против кариеса, которая будет обеспечивать специфическую защиту. Образующиеся при этом антитела предотвращают прикрепление микроорганизмов к поверхности зубов и формирование налета.

Пульпит — воспаление мягких тканей (пульпы) зуба, как правило, вследствие кариозного процесса. Микрофлора обычно соответствует характеру пульпита: при *серозном* воспалении чаще обнаруживают стрептококки, лактобациллы, бактероиды, при *гнойном* — гемолитический стрептококк и *Staphylococcus aureus*; при *гнилостном* — пептострептококки, бактерии, вейлонеллы, протеи, клостридии.

Периодонтит — воспаление мягких и твердых тканей, окружающих зуб, которое вызывает нарушение прикрепления к нему коллагеновых волокон. Основная роль в этом процессе принадлежит микроорганизмам, которые попадают в периодонт по каналу зуба из воспаленной пульпы. Реже они проникают между стенкой альвеолы и корнем зуба (при пародонтопатиях) или в результате гематогенного заноса инфекции.

Микроорганизмы, вызывающие это заболевание, продуцируют ферменты, разрушающие отдельные компоненты соединительной ткани (гиалуронидаза, нейраминидаза, коллагеназа) и индуцируют воспалительный процесс. Микроорганизмы выделяются, как правило, в ассоциациях — преобладают стрептококки и стафилококки, лактобактерии, коринебактерии, дрожжеподобные грибы, а также вейлонеллы, бактероиды с ярко выраженными

признаками в очагах воспаления соединительной ткани, что ведет к повреждению ткани периодонта.

При остром периодонтите часто выделяются стрептококки и спирохеты, по мере хронизации ведущее значение приобретают анаэробы. У взрослых при периодонтите преобладают грамотрицательные анаэробы (*Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella melaninogenica*), факультативные анаэробы (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) и трепонема (*T. denticola*). У подростков чаще причиной являются грамотрицательные факультативно-анаэробные палочки (*A. actinomycetemcomitans* и *Capnocytophaga spp.*). При прогрессирующем течении часто обнаруживают *B. forsythus* и *Campylobacter rectus*. В случае заболевания на фоне болезни крови (лейкопения, нейтропения) помимо указанных микроорганизмов могут обнаруживаться и другие, например коринебактерии (*C. micros*) или фузобактерии. Особенно тяжелое течение (иногда с летальным исходом) приобретает периодонтит у людей преклонного возраста, имеющих хронические и соматические заболевания. При снижении защитных сил организма периодонтит может осложняться периоститом и остеомиелитом челюсти.

Периостит и остеомиелит челюсти — воспаление, соответственно, надкостницы и костной ткани; может быть одонтогенным или неодонтогенным (травматическим, гематогенным). Этиологическим моментом данного заболевания являются *S. aureus*, часто — стрептококки, однако превалирует анаэробная микрофлора: пептококки (*P. niger*), пептострептококки, бактероиды. При травматическом остеомиелите чаще обнаруживают энтеробактерии, *S. aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Флегмона лица — воспаление мягких тканей челюстно-лицевой области, не имеющее четких границ в пределах фасциального пространства. Может иметь одонтогенное или неодонтогенное (травматическое и др.) происхождение. Причиной неодонтогенных абсцессов и флегмон (после мелких ранений, например) чаще являются *S. aureus* и *Streptococcus pyogenes*. При одонтогенных абсцессах и флегмонах микрофлора более разнообразна: пептострептококки, бактероиды,

актиномицеты, стрептококки, фузобактерии. При гнилостно-некротической флегмоне дна полости рта обнаруживают микробные ассоциации, включающие *Fusobacterium nucleatum*, бактероиды, актиномицеты, стрептококки и пептострептококки, а у ослабленных больных, при сахарном диабете или алкоголизме — также энтеробактерии и *S. aureus*.

Лечение, в первую очередь, включает антимикробную терапию (применяют пенициллины, цефалоспорины, метронидазол, ванкомицин, линкомицин, аминогликозиды).

Одонтогенный гайморит — воспаление мягких тканей верхнечелюстной пазухи вследствие распространения микроорганизмов из тканей, окружающих пораженные зубы верхней челюсти. Возбудителями этого синусита являются грамотрицательные анаэробы (пептострептококки, бактероиды), а также гемофильная палочка, пневмококк, реже — пиогенный стрептококк, *Staphylococcus epidermidis*, *Branchamella catarrhalis*.

Лечение проводят чаще амоксициллином в сочетании с клавулановой кислотой (ингибитором микробных β -лактамаз), а в качестве альтернативы применяют ципрофлоксацин, клорамфеникол и др.

Заболевания пародонта — воспалительно-дистрофические процессы, происходящие в тканях, окружающих зуб, сопровождающиеся разрушением коллагена, рассасыванием костной ткани лунок альвеолярного отростка, гингивитом, выпадением зубов. Основными проявлениями пародонтопатий являются гингивит и альвеолярное гноетечение. Образование зубных бляшек служит пусковым моментом воспаления тканей, окружающих зубы. Большая роль отводится иммунопатологическим процессам. При пародонтальной инфекции наиболее часто обнаруживают пять возбудителей: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum* и *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Велика роль стрептококков, стафилококков, бактероидов. Микроорганизмы, выделяемые при заболеваниях пародонта, обладают ярко выраженными признаками патогенности, а также антибиотикорезистентностью.

Усилению пародонтопатий может способствовать хронический одонтогенный воспалительный процесс, который обуславливает постоянное всасывание продуктов жизнедеятельности бактерий, локализующихся в десневых карманах, развитие воспаления регионарных лимфатических узлов, состояние аллергии. Хронический перицементит и пародонтит представляют собой скрытые очаги инфекционного процесса, источники постоянного инфицирования и интоксикации организма больного. Они обуславливают состояние хронического сепсиса и поддерживают течение ревматизма, септического эндокардита, заболеваний почек и других органов.

Гингивит — воспаление слизистой оболочки и подлежащей ткани десен; может быть травматическим, инфекционным, аллергическим. Инфекционный гингивит часто вызывают микроорганизмы из состава зубного налета, в том числе спирохеты, *Prevotella intermedia*, *Prevotella oralis*. В возникновении язвенно-некротического гингивостоматита Венсана принимают участие фузобактерии, спирохеты (*Fusobacterium nucleatum*, *Treponema vinsentii*), а также превотеллы *P. intermedia*, *P. melaninogenica* и *Porphyromonas gingivalis*, которые обуславливают острый воспалительный процесс, сопровождающийся резкой гиперемией десен и образованием участков некроза. В этиологии гингивитов определенную роль могут играть стафилококки, стрептококки, пептококки, вейлонеллы, актиномицеты, бактероиды.

Стоматит — воспаление слизистой оболочки ротовой полости. Различают катаральный (поверхностный) и язвенно-гангренозный (глубокий) стоматит. В развитии катарального стоматита как вторичные этиологические факторы принимают участие и микроорганизмы. В очаге воспаления при поверхностном стоматите выявляются стафилококки, нейссерии, гемофильные бактерии, условно-патогенные коринебактерии, а при глубоком — фузобактерии и трепонемы Венсана, бактероиды, пептострептококки, вейлонеллы, актиномицеты (преобладает анаэробная микрофлора).

ГЛАВА 21. КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

21.1. Понятие о клинической иммунологии

Клиническая иммунология изучает систему иммунитета на протяжении всей жизни человека как при различных физиологических состояниях, так и при заболеваниях. Клиническая иммунология изучает иммунную систему в тесной связи с другими регуляторными системами человека, исследует ее изменения в зависимости от возраста, пола, при физиологических нагрузках (стрессе и беременности) и при различных формах иммунопатологии (первичные и вторичные иммунодефициты, аллергические, аутоиммунные и лимфопролиферативные заболевания и инфекции иммунной системы). Частная клиническая иммунология выявляет иммунные расстройства при заболеваниях и обосновывает иммунозависимые методы лечения, включая трансплантацию органов и тканей, применение лекарственных и иммунобиологических препаратов для профилактики, лечения и реабилитации инфекционных и соматических заболеваний. Достижения клинической иммунологии позволили раскрыть роль иммунной системы в физиологических и патофизиологических процессах в организме человека, что привело к созданию методов направленной регуляции иммунных реакций или иммунокоррекции. В зависимости от целей и время проведения иммунокоррекция подразделяется на иммунопрофилактику, иммунотерапию и иммунореабилитацию и осуществляется с помощью иммунобиологических препаратов и немедикаментозных методов воздействия, оказывающих влияние на функцию иммунной системы. Результатом применения этих методов является формирование специфического иммунитета (вакцинация), модуляция активности иммунной системы, которая может выражаться в усилении (иммуностимуляция), либо подавлении активности отдельных звеньев иммунитета (иммуносупрессия). Современные методы воздействия позволяют подавить или активировать

различные клетки иммунной системы, изменить их дифференцировку, заблокировать либо восстановить активность ключевых цитокинов. При восстановлении функции иммунной системы, в случае исходного ее нарушения, можно говорить об иммунореабилитации. Любое воздействие может быть специфическим или неспецифическим, активным или пассивным, с использованием иммунобиологических препаратов (вакцин, специфических антител), иммуномодуляторов (экзогенных или эндогенных) либо немедикаментозных методов (плазмаферез, гемосорбция и т. д.).

21.2. Цели и задачи иммунокоррекции

Целью любого воздействия на систему иммунитета является направленное изменение его исходного состояния, то есть иммунокоррекция, которая проводится на протяжении всей жизни и часто является единственным или ведущим способом предупреждения и лечения многих болезней. События, разворачивающиеся в системе иммунитета при различных заболеваниях, существенно различаются, что определяет различия в тактике и лечении этих заболеваний, основанных на направленной регуляции измененных иммунных реакций. Наиболее разработанными являются методы иммунокоррекции при инфекционных воспалительных заболеваниях, при которых наблюдается комбинированный дисбаланс иммунных реакций с активацией одних и угнетением других звеньев иммунной системы уже на ранних этапах воспалительного процесса. Развитию методов иммунокоррекции способствовало также недостаточная эффективность современных химиотерапевтических препаратов, многие из которых обладают побочными эффектами, приводящими к возникновению разнообразных иммунопатологических нарушений.

Активация воспалительного каскада с расширением зоны альтеративных изменений

в пораженных тканях, нарушение баланса между процессами активации и ингибиции, а также нарушение основных биохимических механизмов защиты обуславливают повышенный риск генерализации или хронизации воспалительного процесса. Эти изменения происходят как на уровне организма (снижение степени стресс-лимитирующих систем, прежде всего глюкокортикоидов и минералокортикоидов), так и на уровне клетки (преобладание прооксидантных систем с увеличением показателя свободнорадикального окисления мембранных фосфолипидов). В условиях окислительного стресса, вызванного несбалансированным увеличением продукции активных форм кислорода и недостаточностью системы их инактивации, данный процесс приобретает патологический характер и требует назначения сочетанной иммунотерапии, обладающей детоксицирующими и антиоксидантными эффектами.

Эпидемиологические исследования показывают, что в основе хронического воспалительного процесса лежит не только генетическая предрасположенность организма, но и неадекватная терапия, с недооценкой агрессивности патогенного фактора и переоценкой возможностей защитных сил организма. Отсутствие эффективной иммунной защиты приводит к персистенции микроорганизмов и развитию хронического воспаления, эффекторные клетки которого, посредством протеаз и активных форм кислорода, вызывают дальнейшее повреждение тканей организма, в том числе и иммунокомпетентных клеток. Эти изменения поддерживают инфекционный процесс, который проявляется частыми обострениями, и приводят к развитию хронических, рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессов, вызываемых оппортунистическими и условно-патогенными микроорганизмами, резистентными к традиционной терапии.

21.3. Основные классы иммуномодуляторов и их эффективность

В результате системных исследований была доказана терапевтическая эффективность бактериальных лизатов, мембранных фрак-

ций и синтетических аналогов компонентов бактерий (мурамилпептидов), регуляторных пептидов тимуса и костного мозга, и синтетических препаратов (производных аминокислот, гидрозида, полиэтиленпиперазина). Получены также убедительные данные по ряду немедикаментозных методов иммунотерапии, главным образом обладающих антиоксидантным и детоксицирующим эффектом. В настоящее время окончательно победили представления, согласно которым без адекватной иммунокоррекции невозможно достичь успеха, как в профилактике, так и в лечении и реабилитации воспалительных заболеваний. Наиболее убедительны данные по воспалительным заболеваниям органов дыхания, при которых задача восстановления эффективной работы иммунной системы решена на всех этапах ведения таких больных, от профилактики до реабилитации. Вакцины оказались эффективными на этапах терапии и реабилитации, а синтетические иммуномодуляторы успешно использовались для профилактики. Была показана также эффективность комбинированной иммунокоррекции с использованием иммуномодуляторов с различным механизмом действия, например индукторов интерферонов и регуляторных пептидов, а также иммуномодуляторов, способных к индукции как специфического (вакцинирующее действие) иммунитета, так и стимуляции неспецифической резистентности. При назначении иммуномодуляторов следует руководствоваться данными клинического обследования больных, объективно оценивая возможные последствия действия иммунотерапии. Очевидное преимущество безопасных препаратов, применяемых местно с учетом этиологии и локализации инфекций, не исключает использования противовоспалительных и антиоксидантных препаратов других групп. Если все же врачом принимается решение о проведении антибиотикотерапии, то иммунотерапия необходима во избежание возникновения иммунопатологии ятрогенной природы. Проведение такой терапии должно быть принято на самых ранних этапах лечения, что не исключает ее использования и на этапе реабилитации. Клинический опыт убеждает нас в том, что только иммунокоррекция приводит

к восстановлению эффективного иммунного ответа и достижения в короткие сроки выздоровления при остром заболевании и полной и стойкой ремиссии при хроническом.

21.4. Принципы использования иммуномодуляторов

Применение иммуномодуляторов целесообразно на фоне иммунологического мониторинга, который следует осуществлять вне зависимости от наличия или отсутствия исходных изменений в иммунной системе. Основанием для применения иммуномодуляторов является клиническая картина заболевания, т.е. их можно назначать и при неизмененных показателях иммунного статуса, если имеются данные о наличии вторичной иммунной недостаточности, проявляющейся повышенной инфекционной заболеваемостью. Клинические наблюдения указывают на целесообразность более раннего применения иммуномодуляторов одновременно с этиотропной химиотерапией. При этом зачастую более углубленные иммунологические исследования указывают на корригирующую роль комплексной терапии, что невозможно выявить в условиях обычного иммунологического мониторинга.

Имуномодуляторы могут использоваться и в целях иммунопрофилактики и иммунореабилитации. На этих этапах их применения они чаще назначаются в виде монотерапии, при этом данные иммунного статуса не должны быть единственным критерием для их применения. Так, у практически здоровых лиц, могут выявляться различные изменения при иммунодиагностическом обследовании, что не должно рассматриваться в качестве основания для применения иммуномодуляторов. Напротив, после перенесенной тяжелой инфекции, операции и различных стрессовых воздействий, каждый человек нуждается в проведении иммунореабилитации вне зависимости от результатов иммунологического обследования, чаще всего проводимого в ограниченном объеме.

Восстановление эффективного иммунного ответа может осуществляться и при местной иммунизации. Эффект заключается в том, что

сорбированные антигены стимулируют в слизистой оболочке синтез антител всех классов и мало влияют на системный иммунитет. В силу особенностей иммунной системы слизистых, большая часть антител в виде sIgA выделяется слизистой в просвет соответствующего тракта человека и образует на поверхности барьер в виде пленки, которая специфически защищает слизистую оболочку от проникновения патогенных микроорганизмов. Таким образом, можно предупредить развитие тех инфекций, антигены возбудителей которых содержатся в данном вакцинальном препарате. В период уже начавшегося воспалительного процесса применение этой группы препаратов приводит к увеличению концентрации sIgA, которые связываются с бактериальными и вирусными патогенами, блокируют их адгезины и процессы эффективной адгезии к клеткам эпителия, тем самым препятствуя развитию системного воспаления и предотвращая развитие различных форм иммунных дисбалансов. У atopических больных такие вакцины способны повышать активность CD4+ TH1-лимфоцитов, тем самым способствовать снижению продукции иммуноглобулинов класса E и клинических проявлений аллергического процесса. В стадии реконвалесценции, при естественном снижении антигенной нагрузки и угрозе перехода острой формы в хроническую форму, топические вакцины, не содержащие иммуносупрессивных компонентов бактериальных антигенов, способны модулировать иммунный ответ, хорошо сочетаясь с антибактериальной и противовоспалительной терапией, направленной на ограничение возможных разрушительных компонентов воспаления. И, наконец, на этапе реабилитации такие вакцины, способные осуществить эффективный тренинг иммунной системы с формированием иммунной памяти и местной защиты эпителия слизистых, относятся к препаратам выбора.

21.5. Оценка различных методов мониторинга при иммунокоррекции

Рациональное использование различных иммуномодуляторов для восстановления функции иммунной системы является одной из

основных задач врача-иммунолога. Общеизвестно, что многие иммуномодуляторы оказывают влияние не только на систему иммунитета, но и осуществляют общебиологическое действие. Поэтому, в реальной клинической практике достаточно трудно оценить действие того или иного иммуномодулятора, ориентируясь только на изменения достаточно ограниченного числа изучаемых иммунологических показателей. Отсутствие селективности действия с одновременной способностью повышать или понижать соответствующие пониженные или повышенные показатели иммунитета (по определению) также создает определенные трудности при анализе результатов действия иммуномодуляторов. Тем более что иммуномодуляторы используются в сочетании с другими препаратами, обладающими иммуностропным действием. Изложенное выше делает понятным тенденции к оценке действия иммуномодуляторов, основанные на принципе «клинического приоритета» с ориентировкой на конечный результат по его клинической эффективности. На протяжении многих десятилетий идет дискуссия о понятии нормы и осуществляется поиск новых методологических подходов и критериев, которые могли бы обеспечить более адекватную оценку иммунного статуса как здорового, так и больного человека.

Клинический опыт убеждает нас в том, что иммунотерапия требует комплексной оценки, основанной как на особенностях механизма действия конкретного иммуномодулятора, так и на общепринятых тестах, используемых для иммунологического мониторинга. К последним, можно отнести изучение уровня функциональной активности клетки с возможным мониторингом от активации до апоптоза и исследованием продукции цитокинов, часто используемых для изучения альтернативных направлений дифференцировки Т-хелперов. Не менее важен учет ключевых молекулярно-биохимических механизмов, лежащих в основе развития иммунопатологии и действия данного класса соединений.

Задача прогнозирования действия иммуномодуляторов в условиях неизвестной синтетической активности клетки при различных нозологиях может решаться различными

путями в зависимости от типа применяемого иммуномодулятора. Для иммуномодуляторов с антиоксидантным механизмом действия (имунофан и др.) важно исследование антиоксидантной системы — продукции активных форм кислорода и синтеза ферментов антиоксидантной защиты, для микробных иммуномодуляторов локального действия (ИРС-19, имудон и др.) достаточна динамика местного иммунитета респираторного тракта — возрастание sIgA, для мурамилпептидов (ликопид) и аминоксидринов (галавит, тамерит) — анализ активности макрофагов.

Оценка комбинированной иммунокоррекции может осуществляться и по клиническим параметрам, например по изменению параметров качества жизни, как это делается в других областях клинической медицины. Разработка более полных клинических критериев при назначении иммунокорректирующей терапии, направленность и эффективность которой может значительно меняться в различных условиях ее применения остается наиболее динамичной областью развития клинической иммунологии.

В практической медицине патогенетический подход к оценке действия иммуномодуляторов должен сочетаться с простотой осуществления мониторинга. Это особенно важно с учетом кратковременного эффекта действия большинства иммуномодуляторов и необходимостью проведения повторных курсов иммунокоррекции. Наряду со стандартным иммунным статусом, внедряется исследование концентрации отдельных цитокинов и изучаются растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы, которые играют важную роль в регуляции иммунного ответа. Они образуются за счет шеддинга или альтернативного сплайсинга матричной РНК. Информация о наличии и функциональной роли растворимых форм известна лишь для немногих из более 240 идентифицированных в настоящее время дифференцировочных антигенов. Получены данные о том, что они могут выполнять функции ограничителей иммунных реакций или же выступать в роли активаторов иммунологических процессов, а их уровень может быть полезным мониторинговым показателем при проведении иммунокоррекции многих заболеваний.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

- Абзимы 241, 306
Авидность 242
Агар 53
Агглютинация 283
Адаптогены 307
Аденовирусы 585
Адиаспиромикоз 633
Альюванты 298, 306
Активный транспорт 54
Актиномицеты 34, 469
Алейкия алиментарно-токсическая 640
Аллергены 207, 318
Аллергические болезни 275
Аллергия 251
Аллергология 251
Альфа-фетопроtein 212
Амебиаз 644
Амебы 643
Амфиболиты 54
Анаэробное дыхание 61
Анаэробные кокки 338
Анаэробы облигатные 62, 67
Анаэробы строгие 62, 67
Анаэробы факультативные 62, 66
Анаэротолерантные бактерии 62, 67
Антагонизм 94
Антибиотики 124
Антигена специфичность 205
Антигенная мимикрия 203
Антигенность 201
Антигенпрезентирующие клетки 210
Антигенсвязывающий центр 237, 241
Антигены 201
– CD-антигены 212
– Т-независимые 207
– аллогенные 207
– антигенность 201
– бактерий 213
– вирусов 214
– гистосовместимости 209
– групп крови человека 208
– жгутиковые 213
– забарьерные 206
– изогенные 207
– иммуногенность 203
– капсидные 214
– капсульные 214
– классификация 205
– ксеногенные 206
– неполноценные 206
– опухолюассоциированные антигены 212
– органоспецифические 207
– полноценные 206
– свойства 201
– соматические 213
– специфичность 205
– суперантигены 153
– эмбриональные 212
– ядерные 214
Антисептика 98, 94
Антисептические и дезинфицирующие вещества 134
Антитела 235
– аллотипические 241
– антигенность антител 241
– бифункциональные 241
– видовые 241
– идиотипические 241
– изотипические 241
– комплементсвязывающие 241
– моноклональные 240
– неполные 240
– одноцепочечные 241
– полные 240
– свойства антител 242
– теории разнообразия антител 247
– холодовые 241
Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность 249
Антителонезависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность 250
Арбовирусы 529, 538, 547
Аренавирусы 581
Архебактерии 29, 30
Асептика 98
Аскомицеты 43, 44
Аскоспоры 44
Аспергиллез 44, 636
Ассоциированные вакцины 299
Ауксотрофы 54

- Аутоантигены 205, 272–275
Аутоантитела 272–275
Аутоиммунные болезни 272
Аутотрофы 51
Афлатоксины 641
Аффинность 242
Ацинетобактерии 409
Аэробы облигатные 61, 66
Аэрококки 340
Аэротолерантные бактерии 62, 67

Б

- Бабезии 45, 659
Базидиомицеты 44
Базидиоспоры 44
Базофилы 227
Бактериальная хромосома 39, 104
Бактерии 30
Бактериозы 85
Бактериоурия 674
Бактериофаги 78, 302
– вирулентные 79
– индукция профага 81
– лизогения 80
– лизогенные бактерии 80
– негативные колонии 81
– профаг 80
– умеренные 80
– фаговая конверсия 81
– фаготипирование 81
Бактероиды 410
Балантидии 660
Бартонеллы 399
Белая пьедра 617
Белки Бенс-Джонса 235
Белки острой фазы 200
Белки теплового шока 505, 508
Бета-лизины 200
Бешенство 571
Бинарная номенклатура 30
Биотехнология 116
Биотоп 82, 92
Биоценоз 82
Бифидобактерии 473
Бластомикоз 627
Бластоцисты 662
Болезнь Брилля-Цинсера 492
Бюркмана щель 210
– Карриона 401

- кошачьих царапин 400
 - содоку 486
 - Бордетеллы 387
 - Боррелии 33, 480
 - Бранхамеллы 408
 - Бродильный метаболизм 56
 - Брожение 53
 - маслянокислое 61
 - молочнокислое 60
 - муравьинокислое 60
 - спиртовое 60
 - Бруцеллы 391
 - Брюшной тиф 364
 - Буньявирусы 528
 - Буркхольдерии 406
- В**
- Вагинит 680
 - Вакцины 295, 308
 - АКДС 460
 - анатоксины 298
 - ассоциированные 299
 - живые 296
 - инактивированные 297
 - молекулярные 297
 - синтетические 298
 - Вейлонеллы 354
 - Венерическая лимфогранулема 503
 - Ветряная оспа 596
 - Взаимодействие вирусов с клеткой 68–74
 - Вибрионы 374
 - параземолитические 377
 - холеры 374
 - Вид 29
 - Виды иммунитета 191
 - Вилочковая железа 216
 - Вирионы 46
 - Вирогения 77
 - Вироиды 48
 - Вирулентность 143
 - Вирусы 47, 68
 - бешенства 571
 - болезни леса Киассанур 555
 - БЦЖ 460
 - вакцины 602
 - везикулярного стоматита 574
 - ветряной оспы 596
 - геморрагической лихорадки Крым-Конго 534
 - гепатита А 524
 - гепатита В 610
 - гепатита С 610
 - гепатита D 610
 - гепатита G 610
 - гепатита Е 583
 - ГЛПС 535
 - гриппа 560
 - Гуанорито 582
 - ЕСНО 524
 - желтой лихорадки 549
 - иммунодефицита человека 577
 - клещевого энцефалита 550
 - Коксаки А и В 523
 - комплекса калифорнийского энцефалита 530
 - контагиозного моллюска 602
 - кори 568
 - краснухи 543
 - Ласса 581, 582
 - лимфоцитарного хориоменингита 582
 - лихорадки Денге 555
 - лихорадки Западного Нила 559
 - лихорадки леса Семлики 540
 - лихорадки О Ньонг-Ньонг 541
 - лихорадки Рифт-валли 532
 - лихорадки Синдбис 540
 - лихорадки Чикунгунья 541
 - Марбург 574
 - Мачупо 582
 - натуральной оспы 599
 - омской геморрагической лихорадки 553
 - ортопоксвирусы 600
 - Орф 602
 - оспы обезьян 602
 - парагриппа 566
 - паротита 567
 - полиомиелита 522
 - простого герпеса 593
 - ПСПЭ 569
 - респираторно-синциальный 569
 - Сабиа 582
 - синдрома хантавирусной пневмонии 535
 - строение и классификация 47
 - Хунин 582
 - цитомегалии 598
 - Эбола 574
 - энцефаломиелитов лошадей 541
 - Эпштейна-Барр 597
 - японского энцефалита 558
 - ящура 524

- Влияние факторов окружающей среды на микробы 92
 - биологических факторов 94
 - физических факторов 92
 - химических факторов 92
- Внутрибольничные инфекции 404, 663
- Возвратные тифы 481
- Вставочные последовательности 105
- Вторичный иммунный ответ 246
- Высшие грибы 44

- Г**
- Газовая гангрена 429
 - Галофилы 53
 - Гаптенy 206
 - Гарднереллы 474
 - Гемагглютинация 75
 - Гемофильные бактерии 380
 - Генетика вирусов 112
 - микробов 104
 - Генетическая инженерия 120
 - Гепаднавирусы 588
 - Гепатит А 524
 - Гепатит В 588
 - Гепатит С 610
 - Гепатит D610
 - Гепатит Е 583
 - Гепатит G 610
 - Герпесвирусы 591
 - Герпесвирусы человека 6, 7, 8 типов 599
 - Геротрофы 52
 - Гетерохемотротрофы 52
 - Гиардиаз 649
 - Гибридома 240
 - Гиперчувствительность 251, 276
 - Гистоплазмоз 625
 - Главный комплекс гистосовместимости 209
 - Гликолитический путь 56
 - Гниение 59
 - Гонококки 349
 - Гонорея 349
 - Гранзимы 225
 - Гранулизин 225
 - Грибы 41
 - Грипп 560

- Д**
- Дезинфекция 97
 - Дезинфицирующие вещества 134
 - Дейтеромицеты 43

Предметный указатель

- Деление бактерий 63
Дендритные клетки 227
Дерматомикоз 616
Дерматофиты 617
Диагностика бактериемии и сепсиса 672
– воспалений глаз и ушей
– заболеваний женских половых органов 680
– инфекций верхних дыхательных путей 678
– инфекций мочевыводящих путей 674
– инфекций нижних дыхательных путей 676
– менингитов 679
– раневой инфекции 683
Дизентерия 360
Дисбактериоз 92
Дифтерия 440
Донованоз 386
Дрожжи 42
Дыхание 56, 58
- Е**
Естественные киллеры 225
- Ж**
Жгутики 40
Жгутиконосцы 45, 646
Желтая лихорадка 549
- З**
Защитные белки сыворотки крови 200
Зигомикоз 636
Зонд молекулярный 113
Зооантропонозы
Зоонозные инфекции 517
Зуб 685
– гингивит 690
– кариес 687
– микрофлора 685
– периодонтит 689
– пульпит 689
- И**
Иерсинеоз кишечный 373
Иерсинии 368
Изоспоры 657
Иммунитет 184, 191
– активный 193
– видовой 192, 193
– врожденный 192
– кожи 258
– местный 258
– пассивный 193
– при бактериальных инфекциях 261
– при протозойных инвазиях 262
– противовирусный 261
– противоглистный 263
– противогрибковый 262
– ротивоопухолевый 264
– ротовой полости 260
– слизистых 259
– трансплантационный 263
Иммунная система 215
Иммунные сыворотки 304
Иммунный статус и его оценка 256
Иммунный фагоцитоз 248
Иммуноадгезины 305
Иммуноадгезины 305
Иммунобиологические препараты 303
Иммуноблоттинг 293
Иммуногенетика 209
Иммуногены 207
Иммуноглобулины 237, 304
Иммунодепрессанты
Иммунодефициты 269
Иммунодоминантность 204
Иммунокоррекция 279, 280
Иммунологическая память 253
Иммунологическая толерантность 254
Иммунология 183
Иммунология беременности 265
Иммуномодуляторы 306
Иммунопролиферативные заболевания 278
Иммунопрофилактика 294
Иммунорецепторы 220
Иммунотерапия 294
Иммунотоксины 305
Иммунотоксины 305
Иммуноферментный анализ 290
Иммунофлюоресценция 289
Интерферон 199
Инфекционный процесс 137
Инфекция 136–182
- К**
Калифорнийский энцефалит 530
Калицивирусы 583
Кампилобактерии 484
Кандидоз 44, 634
Капсид 47
Капсула 39
Кариес 687
Каталаза 62
КДФГ путь 57
Киллеры естественные 225
Кингеллы 407
Классификация бактерий 30, 31
– грибов 41., 43, 616
– вирусов 46
– простейших 45, 643
Клебсиеллы 359
Клетки Гренштейна 258
Клетки Лангерганса 258
Клетки мутантные 264
Клещевой энцефалит 550
Клиническая микробиология 664
Клон 29
Клонально-селекционная теория 248
Клостридии 422
– ботулизма 426
– газовой гангрены 429
– дифициле 437
– столбняка 423
Кокки 327
– анаэробные 353, 354
– аэробные 328, 341
– грамтрицательные 341
– грамположительные 328
Коклюш 387
Коксиеллы 501
Кокцидиоидоз 628
Колиформные бактерии 100
Колонизационная резистентность 91
Комменсализм 94
Комменсалы 87, 94
Комплемент 197
Конидии 42
Конструктивный метаболизм 54
Конъюгация 110
Коринебактерии 440
Коринеформные бактерии 449
Коронавирусы 575
Корь 568
Костный мозг 216
Краснуха 543
Кривая роста бактерий 64
Криз отторжения 254
Криптококкоз 631
Криптоспоридии 657
Крым-Конго геморрагическая лихорадка 534

Ку-лихорадка 501
Культивирование бактерий 66
– вирусов 75
Куру 604

Л

Лаборатория 310
Лайма болезнь 480
Лактамазы 131
Лактобациллы 437
Лактококки 340
Легионеллы 398
Лейконостоки 340
Лейшмании 646
Лекарственная устойчивость бактерий 130
Лепра 461
Лепромин 465
Лептоспиры 33, 482
Лептотрихии 413
Лиазы 53
Лигазы 53
Лизогения 80
Лизоцим 199
Лимфома Беркитта 592, 598
Лимфопоз 216
Лимфоцитарный хориоменингит 582
Лимфоциты 220
– γ T-лимфоциты 226
– В-лимфоциты 216, 222
– Естественные киллеры 225
– Т-киллеры 224
– Т-лимфоциты 222
– Т-хелперы 223
Липополисахарид 37
Листерии 438
Литотрофы 52
Лихорадка Денге 555
– жёлтая 549
– Кемерово
– клещевая колорадская
– леса Семлики 540
– марсельская 495
– москитная
– О Ньонг-Ньонг 541
– понтиакская
– пятнистая Скалистых гор 497
– Рифт-валли 532
– траншейная
– цуцугамуши 497
– Чикунгунья 541
– Эбола 574
– энцефаломиелитов лошадей 541

Лямблии 649

М

Макрофаги 195–197
– активированные 249
Маллеин 406
Малярия 651
Маннозосвязывающий белок 200
Медленные вирусные инфекции 603
Мезофиллы 93
Мелиоидоз 407
Менингококки 342
Метабиоз 94
Метод Прайса 453
– Шепарда 462
Микобактерии 450
Микобактериоз 466
Микозы 616–642
Микоплазмы 35, 512
Микориза 85
Микотоксикоз 639
Микроаэрофилы 61, 67
Микробиологическая диагностика 310
Микробиологический контроль воды 100
– воздуха 101
– лекарственных средств 102
– продуктов питания 101
Микробиоценоз 87
Микробы 17, 140
– патогенные 18, 140
– санитарно-показательные 99
– сапрофитные 18, 140
– условно-патогенные 99, 140
Микрококки 32
Микроорганизмы 29
– классификация 29
– систематика 29
Микроспоридии 661
Микроспория 621
Микрофлора
– воды 83
– воздуха 83
– организма человека 87
– полости рта 686
– почвы 82
– продуктов питания 83
– производственных, бытовых и медицинских объектов 86
– растительного лекарственного сырья 84
Мицелий 41
Мицетомы 625

Мобилункусы 476
Молекулярная гибридизация 113
Моноклональные антитела 305
Моракселлы 408
Мутации у бактерий 106
Мутуализм 94

Н

Нейссерии 341
Некультивируемые формы 66
Неоантигены 206
Неспорообразующие анаэробы 410
Неферментирующие бактерии 401
Низшие грибы 42
Нокардии 470
Номенклатура 29
Нуклеоид 39
Нуклеокапсид 47

О

Опс-гены 612
Облегченная диффузия 54
Окраска по Граму 32
Оксидоредуктазы 53
Онкогенные вирусы 611
Опоясывающий герпес 596
Опportunистические инфекции
Опportunистические микозы 634
ОРВИ 606
Органотрофы 52
Ориенции 497
Орнитоз 510
Ортомиксовирусы 560
Особо опасные инфекции 181
Острые кишечные инфекции 609
Отторжение сверхострое 264
– острое 264
– отсроченное 264

П

Папилломавирусы 585
Паповавирусы 585
Парагрипп 566
Паракоклюш 387
Паракокцидиоз 630
Парамиксовирусы 565
Паратиф 364
Паратоп 241
Парвовирусы 583
Пародонтит
Паротит эпидемический 567
Пастереллы 385
Патогенность 140
Педиококки 340

Предметный указатель

- Пенициллез 44, 637
Пентозофосфатный путь 57
Пептидогликан 35, 37
Пептон 52
Первичный иммунный ответ 246
Пероксидаза 62
Пертусис-токсин 389
Перфорин 224
Пигменты бактерий 65
Пикорнавирусы 520
Пили 40
Пинта 480
Питание бактерий 50
Питательные среды 53
Плазмиды O157 358
Плазмиды 104
Плазмодии малярии 651
Пневмококк 32
Пневмоцисты 638
Пневмоцисты 638
Подвижные генетические элементы 105
Поксвирусы 599
Полимеразная цепная реакция 113
Полиомавирусы 586
Полиомиелит 522
Порфириномонады 411
Превотеллы 413
Прионные болезни 603
Прионы 603
Проба Фрея 509
Пробиотики 303
Провирус 74
Проказа 461
Прокариоты 29
Пропердин 200
Пропионибактерии 474
Простая диффузия 54
Простейшие 45
Простой герпес 593
Протеи 368
Протеи 368
Протеосома 210
Противовирусные средства 133, 134
Противомикробные химиопрепараты 123–132
– антибиотики 124
– – аминокликозиды 125
– – бета-лактамы 125, 127
– – гликопептиды 125, 127
– – линкозамиды 126, 128
– – макролиды 126, 128
– – полиены 126, 128
– – полипептиды 126, 128
– – рифампицины 126, 128
– – тетрациклины 126, 128
– – хлорамфеникол 126, 128
– механизм действия 127
– противовирусные 133, 134
– резистентность 130
– синтетические 124, 126
– – имидазолы 127, 129
– – нитроимидазолы 127, 128
– – сульфаниламиды 126, 128
– – хинолоны / фторхинолоны 127, 128
– спектр действия 123
Протопласты 38
Прототрофы 54
Прототрофы 54
Профаг 80
Псевдомонады 401
Псевдотуберкулез 372
Психрофилы 93
Пьедра 617
- Р**
Рабдовирусы 570
Радиоиммунологический метод 292
Размножение бактерий 62
Разноцветный лишай 616
Реагин 239
Реакция агглютинации 283
– гемагглютинации 75
– гемадсорбции 77
– двойной иммунодиффузии 287
– иммунофлюоресценции 289
– коагглютинации 285
– Кумбса 285
– Манту 459
– Мицуды 465
– нейтрализации 289
– непрямого гемагглютинации 285
– ориентировочной агглютинации 284
– преципитации 286
– радиального гемолиза 289
– радиальной иммунодиффузии 287
– связывания комплемента 288
– торможения гемагглютинации 285
– Фернандеса 465
– флоккуляции 288
– Фрея 509
- Реакции гиперчувствительности 251
– I типа (анафилактические) 252, 276
– II типа (гуморальные цитотоксические) 252, 276
– III типа (иммунокомплексные) 252, 277
– IV типа (опосредованные Т-лимфоцитами) 252, 278
Рекомбинации у бактерий 107
– гомологичная 108
– незаконная 110
– сайт-специфическая 108
Ремантадин 134, 565
Реовирусы 526
Репродукция вирусов 68
Ресничные 45, 660
Респираторно-синцитиальный вирус 569
Рестрикционный анализ 112
Ретровирусы 576
Риботипирование 114
Ризосфера 85
Риккетсии 33, 486
– группы клещевых риккетсиозов 494
– группы сыпного тифа 491
Риновирусы 524
Робовирусы 530, 536
Ротавирусы 527
Руброфития 622
- С**
Споротрихоз 623
Сальмонеллез 366
Сальмонеллы 362
Санитарная микробиология 99
Сап 406
Сапронозы 180, 181
Сапрофиты 52
Саркодовые 45, 643
Саркоцисты 656
Сарцины 32
Сателлитизм 94
Секреторный IgA 239
Секреторный компонент 237
Селективная деконтаминация 91
Селекция «отрицательная» 217
Селекция «положительная» 217
Селеномонады 414
Серовар 29
Сибиреязвенные бациллы 419
Сидерохромы 51

Симбиоз 94
Синдбис 540
Синдром ДВС 405, 490
– Рейтера 506, 508
– хантавирусной пневмонии 535
Синегнойная палочка 401
Систематика и номенклатура микробов 29
Сифилис 477
Скрепи 605
Спириллы 33, 486
Спирохеты 33, 476
Сплайсинг 245
Споровики 651
Спорообразующие бактерии 40, 419
Споротрихоз 623
Споры 40
Стафилококки 32, 328
Стерилизация 95
Стрептококки 334
Строение генома 104
Структура бактериальной клетки 35
Сульфатное дыхание 61
Суперантигены 208
Супероксиддисмутаза 62
Супрессия иммунного ответа 230
Сферопласты 38

Т

Таксономия 29
Таксоны 29
Тельца Бабеша-Негри 572, 573
– Гварниери 600
– Пашена 600
Т-хелперы 223
Термофилы 93, 101
Тетаноспазмин 424
Тимус 216
Тогавирусы 537
Токсины бактерий 149
Токсоплазмы 654
Толерантность 254
Толероген 207
Трансдукция 111
Транслокация радикалов 54
Транспозаза 105
Транспозоны 106
Трансферазы 53
Трансформация 111
Трахома 506
Трепонемы 33, 477
Трипаносомы 648
Трихомонады 650

Трихофития 621
Туберкулез 451
Туберкулин 459
Туляремия 395
Тучные клетки 227

У

Уравнение антигенности 204
Уретро-окуло-синовиальный синдром (см. синдром Рейтера)
Урогенитальный хламидиоз 506
Устойчивость к антимикробным средствам 130

Ф

Фавус 622
Фаги 78
Фаговар 29
Фаготипирование 81
Фагоцитоз 195
– заверченный 196
– иммунный 248
– незавершенный 197
Факторы неспецифической резистентности 194
Факторы роста 54
Фамцикловир 596
Фатальная семейная бессонница 605
ФДФ-путь 56
Феогифомикоз 624
Ферменты бактерий 53
Фибронектин 200
Физиология бактерий 50
Физиология вирусов 68
Фикомикозы 634
Филовирусы 574
Фитонциды 124
Фитопатогенные микробы 84–86
Флавивирусы 547
Формы бактерий 32
Фототрофы 52
Фрамбезия 479
Франциселлы 395
Фузариоз 638
Фузарионевалетоксикоз 639
Фузобактерии 413

Х

Хантавирусы 535
Хеликобактерии 485
Хемоаттрактанты 196
Хемовар 29
Хемотаксис 195

Хемотрофы 52
Хемотрофы 52
Химиотерапевтические препараты 123
Хинолоны 127
Хламидии 34, 503
Хламидиоз урогенитальный 506
Холера 374
Хромобластомикоз 624

Ц

Цефалоспорины 125
Циклоспоры 659
Цирциновирусы 602
Цитокины 233
Цитомегалия 598
Цитохромоксидаза 61

Ч

Черная пьедра 617
Черный лишай 617
Чистая культура 29
Чума 368

Ш

Шаперон 210
Шанкр 478
– мягкий 384
– твердый 478
Шанкроид 384
Шига-подобные токсины 361, 358
Шига-токсин 361, 358
Шигеллы 360
Шлеппер 206
Штамм 29

Э

Эйкенеллы 386
Экзоферменты 53
Экология микробов 82
Экспансия клона 228
Эндоферменты 53
Энергетический метаболизм 56
Энтеробактерии 354
Энтеровирусы 521
Энтерококки 338
Эозинофилы 226
Эпидемический процесс 177
Эпидермофития 622
Эпитоп 202
Эпифитная микрофлора 84
Эрготизм 640
Эритроцитарная мозаика 254

Предметный указатель

Эрлихии 498
Эшерихии 356
– диареогенные 357
– ЭТКП 357
– ЭИКП 358
– ЭГКП 358
Эубактерии 30, 474
Эубиоз 87

Я

Язва сибирская 419
Ящур 524

А

Acinetobacter 409
Actinomyces 469
Adenoviridae 586
Adenovirus 586
Aerococcus 340
Aeromonas 378
Alphaproteobacteria 31, 486
Apicomplexa 45
Arenaviridae 581
Arenavirus 581
Ascomycetes 43, 44
Aspergillus 44, 636, 641

В

Babesia 45, 659
Bacillaceae 419
Bacillus 419
Bacteroides 410
Balantidium 660
Bartonella 31, 399
Bartonellaceae 487
Basidiomycetes 44
Bifidumbacterium 473
Blastocystis 662
Blastomyces dermatidis 627
Bordetella 387
Borrelia 33, 480, 481
Branhamella 408
Brucella 391
Bunyaviridae 528
Burkholderia 406

С

Caliciviridae 583
Calymmatobacterium 386
Campylobacter 484

Candida 44, 634
Chlamydiae 503, 509
Chlamydia trachomatis 503–509
Chlamydomyces pneumoniae 503, 509
Chlamydomyces psittaci 503, 510
Ciliophora 45, 660
Circinoviridae 602
Clostridium 422
– bifermentans 435
– botulinum 426
– chavoei 433
– difficile 437
– fallax 429
– histolyticum 429
– novyi 429
– perfringens 429
– septicum 429
– sordellii 429
– sporogenus 429
– tetani 423
Coccidioides immitis 628
Coronaviridae 575
Corynebacterium 440
Coxiella burnetii 501
Cryptococcus neoformans 631
Cryptosporidium 657
Cyclospora 659

Е

Eikenella 386
Emmonsia creascens 633
– parva 633
Entamoeba 643
Enterobacteriaceae 354
Enterococcus 338
Enterovirus 520
Epidermophyton floccosum 622
Escherichia 356
Eubacterium 474
Exophiala werneckii 617

Ф

Filoviridae 574
Firmicutes 30, 31
Flaviviridae 547
Francisella 395
Fungi 29, 41
Fusarium 638
Fusobacterium 413

Г

Gardnerella 474
Giardia 649
Gracilicutes 30

Н

Helicobacter 485
Hemophilus 380
Hepadnaviridae 588
Herpesviridae 591
Herpesvirus 591
Histoplasma capsulatum 625
– duboisii 625

И

Ig (иммуноглобулин) 235
Isospora 657

К

Kingella 407
Klebsiella 359

Л

Lactobacillus 437
Lactococcus 340
Lambliа 649
Legionella 398
Leishmania 646
Leptospira 33, 482
Leptotrichia 413
Leuconostoc 340
Listeria 438

М

Malassezia furfur 616
Micrococcaceae 328
Microspora 45, 661
Microsporium 621
Mobiluncus 476
Mollicutes 30
Moraxella 408
Mucor 42, 636
Mycobacteriaceae 450
Mycobacterium 430
Mycobacterium leprae 461
Mycobacterium tuberculosis 430, 451
Mycoplasma 35
Mycoplasmataceae 512

О

Neisseria 341
Nocardia 470

Р

Papillomaviridae 585
Paracoccidioides brasiliensis 630

Parvoviridae 583
Pasteurella 385
Pasteurellaceae 385
Pediococcus 340
Penicillium 44, 637, 640
Picornaviridae 520
Piedraia hortae 617
Plasmodium 651
Plesiomonas 378
Pneumocystis carinii 638
Porphyromonas 411
Poxviridae 599
Prevotella 413
Propionibacterium 474
Proteobacteria 31
Proteus 368
Pseudomonas 401

R

Reoviridae 526
Retroviridae 576
Rhabdoviridae 570
Rickettsiaceae 486
Rotavirus 527

S

Salmonella 362
Sarcocystis 656
Sarcomastigophora 45
Selenomonas 414
Shigella 360
Spirillum 486
Sporothrix schenckii 623
Staphylococcus 328
Streptococcaceae 334
Streptococcus 334

T

Tenericutes 30
Togaviridae 537
Toxoplasma 654
Tra-оперон 105
Treponema 33, 477
Trichomonas 650
Trichophyton 621
– beigelii 617
– interdigitale 620, 622
– mentagraphytes 621

– rubrum 620, 622
– schoenleinii 622
– tosurans 621
– violaceum 621

Tripanosoma 648
TTV 602

V

VCV (varicella – zoster virus) 596
Veillonella 354
Vibrio 374

Y

Yersinia

Z

Zygomycetes 42, 636

Учебное издание

Медицинская микробиология, вирусология и иммунология

Учебник для студентов медицинских вузов

Под редакцией **Воробьева** Анатолия Андреевича

Санитарно-эпидемиологическое заключение
№ 77.99.60.953.Д.008014.07.09 от 08.07.2009 г.
Подписано в печать 16.02.11. Формат 84×108/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура Newton.
Объем 44 печ. л. Тираж 1500 экз. Заказ № 216.

ООО «Медицинское информационное агентство»
119048, Москва, ул. Усачева, д. 62, стр. 1, оф. 6
Тел./факс: (499) 245-45-55
E-mail: miarubl@mail.ru <http://www.medagency.ru>
Интернет-магазин: www.medkniga.ru

Книга почтой на Украине: а/я 4539, г. Винница, 21037
E-mail: maxbooks@svitonline.com
Телефоны: +380688347389, 8 (0432) 660510

Отпечатано в ОАО «Типография «Новости»
105005, г. Москва, ул. Ф. Энгельса, 46

ISBN 978-5-8948-1895-5



9 785894 818955