

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**И.Ф. Зверева, М.Р. Карпова,
Л.С. Муштоватова, О.П. Бочкарева, И.В. Луцаева**

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

ОБЩИЙ КУРС

Под редакцией И.Ф. Зверевой

*Рекомендовано Координационным советом по области образования
«Здравоохранение и медицинской науки» ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени
И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации в каче-
стве учебного пособия для использования в образовательных учреждениях,
реализующих основные профессиональные программы высшего образования
по программам специалитета 31.05.03 «Стоматология»*

Регистрационный № 2744 ЭКУ от 20.06.20214 г.

Томск
Издательство СибГМУ
2024

УДК 579.61(075.8)
ББК 52.64я73
М 422

Авторы:

И.Ф. Зверева, М.Р. Карпова, Л.С. Муштоватова,
О.П. Бочкарева, И.В. Луцаева

Медицинская микробиология. Общий курс: учебное
М 422 пособие / И.Ф. Зверева [и др.]; под ред. И.Ф. Зверевой. –
Томск: Изд-во СибГМУ, 2024. – 257 с.

ISBN 978-5-98591-182-4

В учебном пособии приведены современные данные, касающиеся вопросов общей микробиологии: морфологии, физиологии и генетики микроорганизмов, значимых в инфекционной патологии, инфекции и иммунитета, иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных заболеваний.

Данное пособие составлено в соответствии с Федеральными Государственными образовательными стандартами высшего образования (ФГОС ВО) для студентов, обучающихся по направлению подготовки 31.05.03 – Стоматология.

УДК 579.61(075.8)
ББК 52.64я73

Рецензенты:

М.С. Коровин – канд. биол. наук, доцент кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии СибГМУ, г. Томск.

М.В. Чубик – канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии СибГМУ, г. Томск.

Н.Н. Терещенко – д-р биол. наук, профессор кафедры радиоэлектронных технологий и экологического мониторинга ФГБОУ ВО Томского государственного университета систем управления и радиоэлектроники, г. Томск.

Утверждено и рекомендовано к печати учебно-методической комиссией лечебного факультета (стоматология) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава (протокол № 6 от 05.10.2023.).

ISBN 978-5-98591-182-4

© Макет издательства СибГМУ, 2024

© И.Ф. Зверева, М.Р. Карпова, Л.С. Муштоватова,
О.П. Бочкарева, И.В. Луцаева, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
РАЗДЕЛ 1. МОРФОЛОГИЯ И СТРУКТУРА БАКТЕРИЙ	7
1.1. Основные принципы классификации бактерий	7
1.2. Микроскопическое исследование микроорганизмов	10
1.3. Морфология бактериальных клеток	14
1.4. Структура бактериальной клетки	17
1.5. Отдельные группы бактерий	37
РАЗДЕЛ 2. МИКРООРГАНИЗМЫ-ЭУКАРИОТЫ. ГРИБКИ	47
2.1. Классификация и строение грибов	47
2.2. Размножение грибов	50
2.3. Роль грибов в патологии человека	53
2.4. Методы исследования грибов	58
РАЗДЕЛ 3. ФИЗИОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ	59
3.1. Химический состав бактериальной клетки	59
3.2. Питание бактерий	60
3.3. Дыхание бактерий	63
3.4. Рост и размножение бактерий	65
3.5. Питательные среды	66
3.6. Культивирование бактерий	69
3.7. Культуральные свойства бактерий	72
3.8. Ферменты бактерий	75
3.9. Выделение чистых культур микроорганизмов	79
РАЗДЕЛ 4. ОСНОВЫ ВИРУСОЛОГИИ	83
4.1. Строение и классификация вирусов	83
4.2. Репродукция вирусов	87
4.3. Методы культивирования и индикации вирусов	90
4.4. Бактериофаги	96
РАЗДЕЛ 5. ДЕЙСТВИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МИКРООГРАНИЗМЫ	101
5.1. Физические факторы	101
5.2. Химические факторы	103
5.3. Дезинфекция	105
5.4. Стерилизация	107
5.5. Дезинфекция и стерилизация в стоматологическом кабинете	110

РАЗДЕЛ 6. АНТИМИКРОБНАЯ ТЕРАПИЯ	
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	113
6.1. Классификация антибиотиков	113
6.2. Механизм действия антибиотиков	115
6.3. Побочное действие антибиотиков	118
6.4. Механизмы антибиотикорезистентности бактерий и пути их преодоления	119
6.5. Принципы рациональной антибиотикотерапии	122
6.6. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам	123
РАЗДЕЛ 7. САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ	127
РАЗДЕЛ 8. МИКРОБИОТА ЧЕЛОВЕКА	129
8.1. Биоплёнка	131
8.2. Микробиота кожи	131
8.3. Микробиота дыхательных путей	132
8.4. Микробиота конъюнктивы глаз	134
8.5. Микробиота уха	134
8.6. Микробиота мочеполовой системы	134
8.7. Микробиота желудочно-кишечного тракта	136
8.8. Значение нормальной микробиоты организма человека	142
8.9. Дисбиоз	143
РАЗДЕЛ 9. ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ	145
9.1. Генетическая система бактерий	145
9.2. Репликация бактериальной ДНК	148
9.3. Реализация наследственной информации	149
9.4. Регуляция экспрессии генетической информации у бактерий	151
9.5. Перенос генетического материала бактерий	152
9.6. Генетическая изменчивость бактерий	157
9.7. Фенотическая изменчивость бактерий	160
9.8. Генетика вирусов	161
9.9. Применение генетических методов в диагностике инфекционных заболеваний	163
РАЗДЕЛ 10. ИНФЕКЦИЯ. ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС	167
10.1. Основные формы инфекции	167
10.2. Основные источники инфекции. Механизмы и пути заражения. Входные ворота инфекции	169
10.3. Периоды инфекционного процесса	170

10.4. Понятие о патогенности и вирулентности бактерий.	
Бактериальные токсины.....	172
РАЗДЕЛ 11. ИММУНОЛОГИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА....	175
11.1. Иммуитет. Виды иммунитета	175
11.2. Факторы врожденного иммунитета	177
11.3. Антигены.....	188
11.4. Антитела.....	193
11.5. Клеточная кооперация при иммунном ответе.....	202
11.6. Серологические реакции	210
11.7. Аллергия.....	220
РАЗДЕЛ 12. ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ	
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	229
12.1. Вакцины	230
12.2. Препараты для пассивной иммунизации	236
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ.....	239
ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ	254
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА.....	255

ВВЕДЕНИЕ

Микробиология – (греч. *micros* – малый, лат. *bios* – жизнь, *logos* - учение) – наука, предметом изучения которой являются микроорганизмы, их биологические признаки, систематика, экология, взаимоотношения с другими организмами, населяющими нашу планету.

Медицинская микробиология изучает строение способных вызвать у человека болезни микробов, их жизнедеятельность (физиологию), генетику, экологию, патогенез, основные клинические проявления инфекционных болезней, специфическую диагностику, профилактику и лечение инфекционных болезней, а также их эпидемиологические особенности.

Микроорганизмы полости рта, в целом, отличаются от представителей других биотопов организма человека. При определённых условиях эти микроорганизмы способны вызвать заболевания не только в полости рта. Тем не менее, несмотря на уникальность отдельных микроорганизмов, закономерности, определяющие их строение, существование, являются общими для микромира. С этой целью для студентов-стоматологов было разработано учебное пособие «Медицинская микробиология. Общий курс». Данное учебное пособие позволяет разобратся в физиологических и биохимических особенностях микроорганизмов, изучить основы генетики и экологии микроорганизмов, микробиологические и основы химиотерапии, иммунотерапии, иммунопрофилактики инфекционных болезней.

В учебном пособии представлены авторские схемы и рисунки. Для проверки знаний можно использовать тестовые задания.

Материал изложен в соответствии с утвержденной рабочей программой «Микробиология, вирусология» и соответствует темам лекций и практических занятий.

Раздел 1. МОРФОЛОГИЯ И СТРУКТУРА БАКТЕРИЙ

1.1. Основные принципы классификации бактерий

Систематика (греч. *systema* – целое, составленное из частей; *systematicos* – упорядоченный) – биологическая наука, которая занимается всесторонним описанием микроорганизмов, выяснением степени родства между ними и распределением на соподчиненные группы. Цель систематики – создать классификацию.

Классификация (лат. *classis* – разряд, группа) – это процесс разделения множества организмов на основании общих признаков на определенные таксономические группы.

Таксономия (греч. *taxis* – расположение по порядку, закон) – это раздел систематики, изучающий принципы и методы распределения (классификации) организмов в иерархическом порядке.

Таксон – группа микроорганизмов, объединенных по определенным свойствам в рамках той или иной таксономической категории.

Идентификация (лат. *identifico* – отождествление) – установление принадлежности изучаемого организма к тому или иному таксону.

Специальный раздел таксономии – **номенклатура** определяет правила присвоения наименований описанным организмам.

В систематике бактерий для наименования микроорганизма используют биномиальную номенклатуру К. Линнея, согласно которой биологическому виду присваивают название, состоящее из двух слов: первое, определяет принадлежность организма к определенному роду, второе – виду.

Названия бактериям присваивают в соответствии с правилами Международного кодекса номенклатуры бактерий – МКНБ (International Code of Nomenclature of Bacteria, ICNB): *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*. При повторном упоминании видового названия бактерий допускается сокращение названия рода до первой буквы, после чего ставится точка и далее пишется второе слово: *S. aureus*, *S. enterica*.

В 1923 г. американское общество бактериологов издало первый международный «Определитель бактерий» под редакцией Д. Берджи (David Henricks Bergey). В настоящее время сведения по систематике и идентификации бактерий публикуются отдельно: в виде определителя бактерий и классификатор бактерий. Определитель является справочным материалом для работников практических лабораторий и используется для идентификации бактерий по характерным для них фенотипическим признакам (окраска по Граму, форма и размер клетки,

химический состав клеточной стенки, подвижность, наличие капсулы, спор, тип дыхания, биохимическая активность и др.).

Определитель бактерий Берджи делит прокариот на четыре отдела и 35 групп:

I. *Gracilicutes* – тонкостенные, грамотрицательные (1–16 группы).

II. *Firmicutes* – толстостенные, грамположительные (бактерии 17–21 группы и актиномицеты 22–29 группы).

III. *Tenericutes* – лишённые клеточной стенки (30 группа).

IV. *Mendosicutes* – археобактерии, их клеточные стенки лишены пептидогликана, они имеют особенности строения рибосом, мембраны и РНК (31–35 группы).

Классификатор Берджи составлен на основании филогенетического родства микроорганизмов. Микроорганизмы классифицируются на основании стандартных признаков.

Фенотипические признаки:

- 1) морфологические признаки (размеры, форма, наличие жгутиков, капсул, спор и др.);
- 2) тинкториальные признаки (способность бактерий вступать в реакцию с красителями и окрашиваться определенным образом);
- 3) культуральные свойства (особенности роста на питательных средах);
- 4) биохимические свойства (ферментативная активность бактерий);
- 5) физиологические свойства (тип дыхания, питания);
- 6) антигенная структура;
- 7) чувствительность к бактериофагам.

Генотипические признаки:

- 1) соотношение G+C;
- 2) последовательность оснований в ДНК;
- 3) степень генетического родства с другими микроорганизмами;
- 4) степень гомологии.

Филогенетические признаки:

- 1) секвенирование 16S и 23S рибосомальной РНК (рРНК);
- 2) анализ рРНК-нуклеотидных последовательностей;
- 3) РНК-РНК гибридизация;
- 4) полиморфизм длины фрагментов рестрикции ДНК.

На основе комплекса фенотипических, генотипических и филогенетических признаков микроорганизмы подразделены на доклеточные формы (вирусы, царство или *Regnum Vira*) и клеточные формы, которые включают три домена:

I. *Archaea* – предковые прокариоты или предковые бактерии (патогенных для человека видов нет).

II. *Bacteria* – истинные бактерии (истинные прокариоты) или эубактерии.

III. *Eukarya* – эукариотические клетки. В домен «Eukarya» входят: царство грибов (Regnum Fungi); царство животных (Regnum Animalia) с подцарством простейших (Protozoa); царство растений (Regnum Plantae).

Среди микроорганизмов, входящих в состав 2 и 3 доменов, есть патогенные для человека виды.

Классификация Берджи касается только доменов 1 и 2. Остальные микроорганизмы (вирусы, грибки, простейшие) сведены в самостоятельные классификации. В настоящее время большинство бактериологов отказалось от использования термина «*regnum*» («царство») для обозначения таксона прокариотов. Он применяется в систематике эукариотов (микология, протозоология) и акариотов (вирусология). Термины «прокариоты», «эукариоты» и «акариоты» используются для обозначения соответствующих групп микроорганизмов по организации генома и также не используются для обозначения таксономических категорий. Прокариоты (греч. – «доядерные») и эукариоты (греч. – «владеющий ядром») отличаются ядерным аппаратом.

В классификации Берджи используются следующие группы или уровни (таксоны):

- домен – *Domen* (лат.);
- филум – *Phylum* (лат.); в классификации прокариотов для обозначения этого таксона используется термин «филум», а для эукариотов – «тип»;
- класс – *Class* (лат.);
- порядок – *Ordo* (лат.);
- семейство – *Familia* (лат.);
- род – *Genus* (лат.);
- вид – *Species* (лат).

Вид – это эволюционно сложившаяся совокупность особей, имеющих общее происхождение, единый генотип, который в стандартных условиях проявляется сходными фенотипическими признаками: морфологическими, физиологическими, биохимическими и др. Внутри вида выделяют варианты микроорганизмов, отличающихся от основного вида по какому-либо признаку: *морфовары* – популяция бактерий, отличающихся от основного вида по морфологическим свойствам; *хемовары* – по биохимическим свойствам; *серовары* – по антигенной структуре; *фаговары* – по чувствительности к бактериофагам и др.

Кроме этих таксонов широко используются и другие термины:

- *штамм* – популяция бактерий одного вида, выделенных из какого-либо определенного источника;
- *клон* – популяция бактерий, полученная из одной бактериальной клетки.

1.2. Микроскопическое исследование микроорганизмов

В связи с малыми размерами микроорганизмов изучение их морфологии возможно только с помощью микроскопов (от лат. *micros* – малый и *scopien* – рассматривать, наблюдать), обеспечивающих достаточное увеличение и обладающих высокой разрешающей способностью, т.е. минимальное расстояние, на котором находятся две точки, демонстрируемые микроскопом отдельно.

Современный микроскоп – это сложный оптический прибор, позволяющий изучать объекты в проходящем свете, темном поле, а также в отраженном свете. В настоящее время в практике микроскопических исследований наиболее часто применяются световая микроскопия, микроскопия в темном поле, фазово-контрастная и люминесцентная микроскопия. Для специальных исследований используется электронная микроскопия.

Световая микроскопия осуществляется с помощью обычного светового микроскопа, имеющего механическую и оптическую системы. Механическая система включает: штатив, тубус, предметный столик, макрометрический и микрометрический винты (рис. 1). Общее увеличение микроскопа определяется произведением увеличения объектива на увеличение окуляра. В микробиологии обычно используются увеличения в 600–1000 раз.

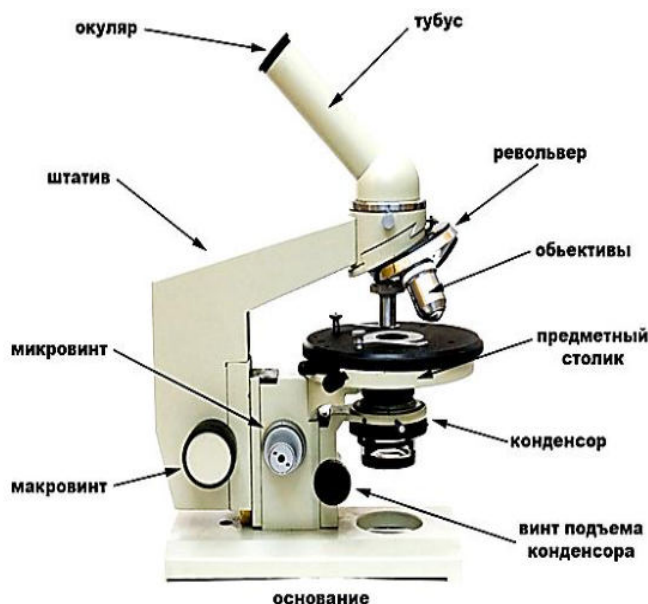


Рис. 1. Строение светового микроскопа

При исследовании микроорганизмов применяется специальный *иммерсионный объектив*. Иммерсионный объектив погружают в каплю иммерсионного масла, нанесенного на препарат. Иммерсионное масло имеет такой же коэффициент преломления лучей света, как и стекло, и этим достигается наименьшее рассеивание световых лучей (рис. 2).

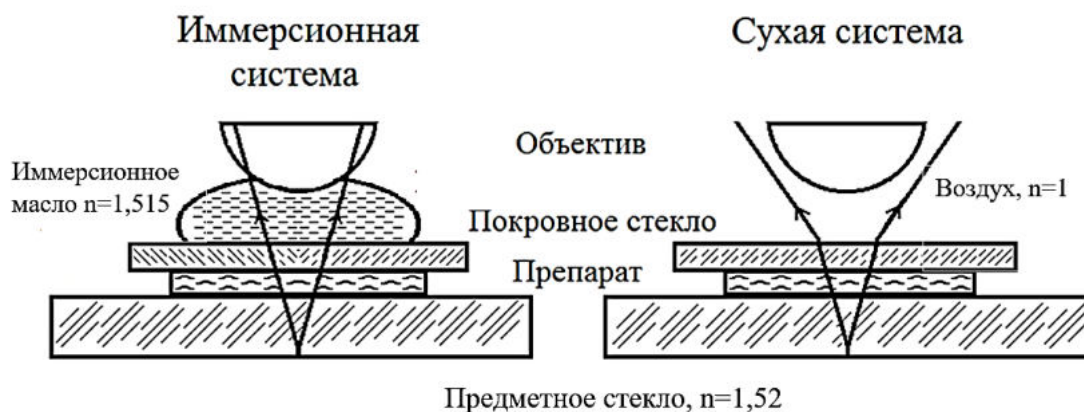


Рис. 2. Схема иммерсионной системы микроскопа

Фазово-контрастная микроскопия. Световые волны характеризуются длиной волны, амплитудой и фазой. Человек способен различать длину волны (цвет) и амплитуду (интенсивность, яркость света), но не может обнаружить различия в фазе. При прохождении пучка света через неокрашенные объекты изменяется лишь фаза световой волны, и объекты выглядят малоcontrastными, прозрачными. Чтобы изображение стало контрастным необходимо превратить фазовые изменения световой волны в видимые амплитудные. Это достигается с помощью *фазово-контрастного* конденсора и фазового объектива (рис. 3).

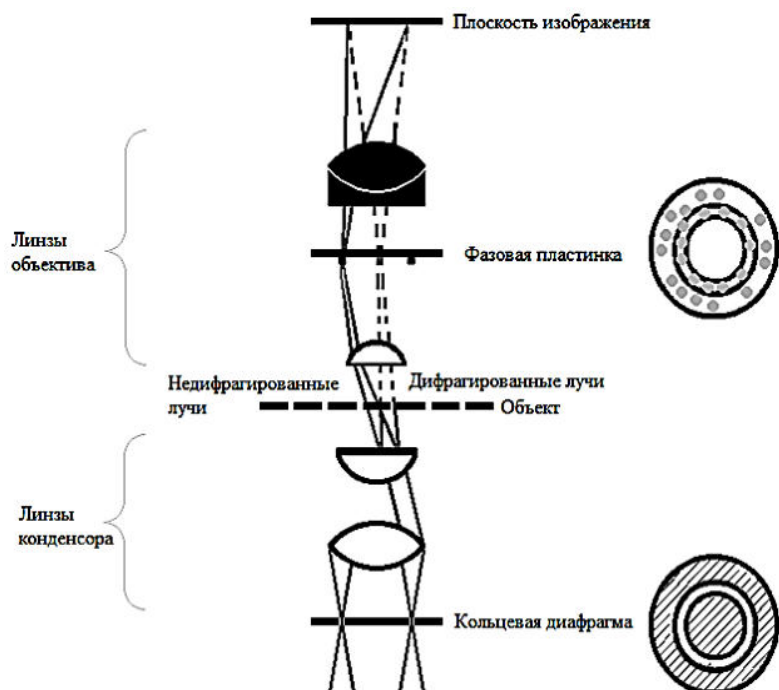


Рис. 3. Схема фазово-контрастного микроскопа

Фазовый объектив снабжен фазовой пластинкой, которую получают нанесением солей редкоземельных элементов на объектив. Конденсор состоит из поворачивающегося диска, в котором установлены кольцевые диафрагмы, соответствующие фазовым пластинкам в каждом из объективов. Изображение получают

совмещением кольцевой диафрагмы конденсора с кольцом фазовой пластинки соответствующего объектива.

Фазово-контрастная микроскопия значительно повышает контрастность объекта и используется для изучения нативных препаратов.

Темнопольная микроскопия основана на способности микроорганизмов сильно рассеивать свет (эффект Тиндаля). Примером такого эффекта служит обнаружение пылинок в воздухе при освещении их узким лучом солнечного света. При темнопольной микроскопии используют обычные объективы и специальные темнопольные конденсоры. Основная особенность таких конденсоров заключается в том, что центральная часть у них затемнена и прямые лучи света в объектив микроскопа не попадают. Исследуемые объекты освещаются косыми боковыми лучами, и в объектив микроскопа попадают только лучи, которые отражаются этими объектами (рис. 4).



Рис. 4. Схема темнопольной системы микроскопа

Микроорганизмы выглядят ярко светящимися на черном фоне (рис. 5).

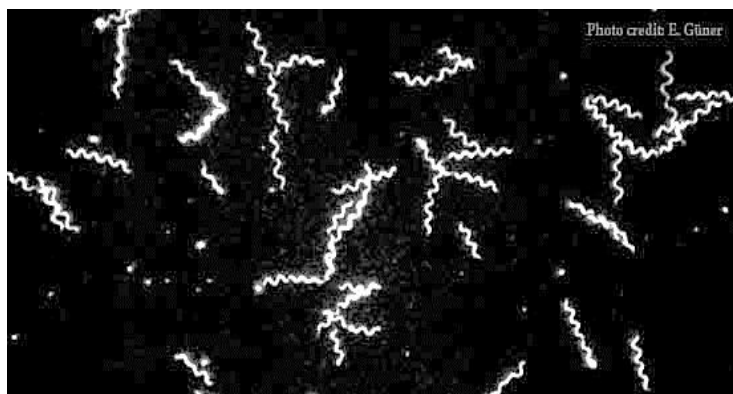


Рис. 5. Микроорганизмы при темнопольном микроскопировании (<https://3.bp.blogspot.com>)

Для темнопольной микроскопии используют нативные (живые) препараты и их готовят по типу «раздавленной» или «висячей» капли (рис. 6).

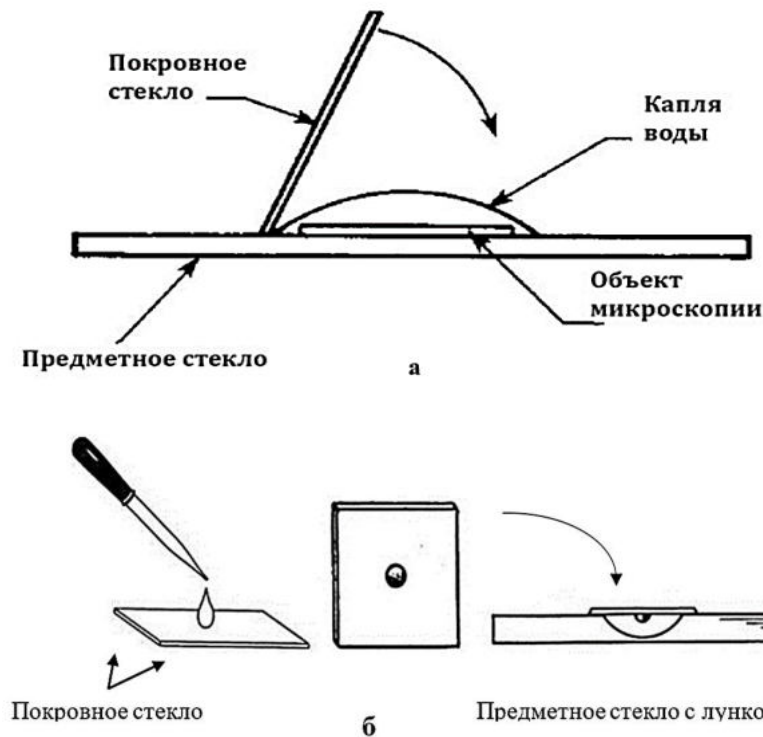


Рис. 6. Препараты:
а – «раздавленная»,
б – «висячая» капля

Люминесцентная микроскопия основана на способности некоторых веществ под влиянием падающего на них света испускать лучи с другой (обычно большей) длиной волны (флюоресцировать). Такие вещества называют *флюорохромами* (акридиновый желтый, ФИТЦ, родамин и др.). Объект, обработанный флюорохромом, при освещении ультрафиолетовыми лучами приобретает яркий цвет в темном поле зрения (рис. 7).

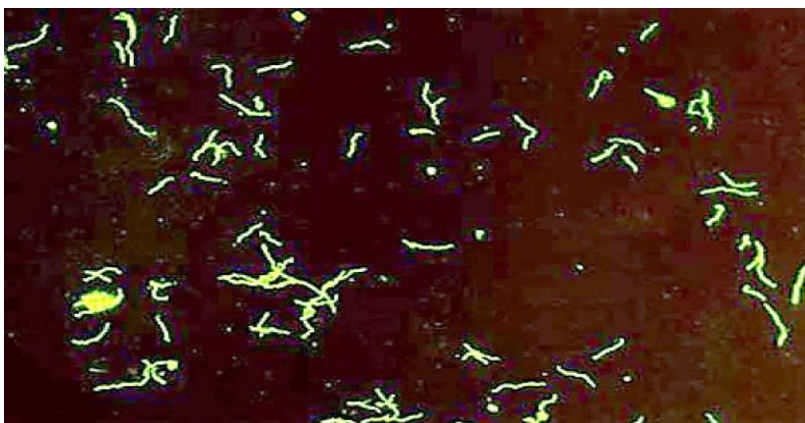


Рис. 7. Микроорганизмы при люминисцентной микроскопии
(<https://i1.wp.com/microbak.ru>)

Основной частью люминесцентного микроскопа является осветитель, имеющий лампу ультрафиолетового цвета и систему фильтров к нему (рис. 8). Очень важно использование нефлюоресцентного иммерсионного масла.

Люминесцентная микроскопия в практической микробиологии используется для индикации и идентификации возбудителей инфекционных заболеваний с помощью реакции иммунофлюоресценции.

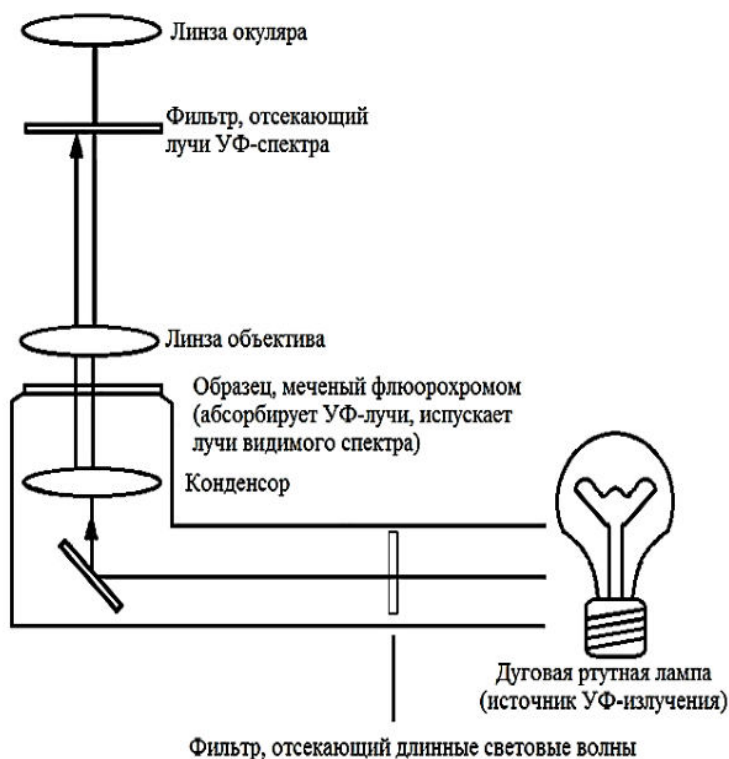


Рис. 8. Схема люминесцентной микроскопии

Электронная микроскопия. Возможности оптических микроскопов ограничены слишком большой длиной волны видимого света. Объекты, размеры которых меньше 0,2 мкм, находятся за пределами разрешающей способности светового микроскопа. В электронном микроскопе вместо световых волн для построения изображения используют поток электронов в глубоком вакууме. В качестве «линз», фокусирующих электроны, служит электромагнитное поле, создаваемое электромагнитными катушками. Объекты при электронной микроскопии находятся также в глубоком вакууме. Для этого они фиксируются и специально обрабатываются. Кроме того, они должны быть очень тонкими, так как поток электронов сильно поглощается. Современные электронные микроскопы позволяют получить полезное увеличение в миллионы раз.

1.3. Морфология бактериальных клеток

Всем бактериям присущи определенная форма и размеры, которые варьируют в широких пределах – от 0,1–0,15 до 10–15 мкм.

По морфологии различают кокки (шаровидные), палочковидные (цилиндрические), извитые (спиралевидные) и нитевидные формы бактерий (рис. 9–12).

Кокки (в зависимости от взаиморасположения в поле зрения или относительно друг друга) подразделяют на следующие группы:

- *микрококки* делятся в одной плоскости, имеют правильную округлую форму, располагаются одиночно и беспорядочно;
- *диплококки* делятся в одной плоскости с образованием пар клеток, имеющих бобовидную (гонококки, менингококки) или ланцетовидную форму (пневмококки);
- *стрептококки* (от греч. *streptos* – цепочка) делятся в одной плоскости и в мазке располагаются цепочками (гноеродные стрептококки);
- *тетракокки* имеют правильную округлую форму, делятся в двух взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием тетрад;
- *сарцины* делятся в трех взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием пакетов, количество клеток в которых может быть различным;
- *стафилококки* (от греч. *staphyle* – виноградная гроздь) делятся в нескольких плоскостях, имеют правильную округлую форму и располагаются неправильными скоплениями, которые напоминают гроздь винограда.

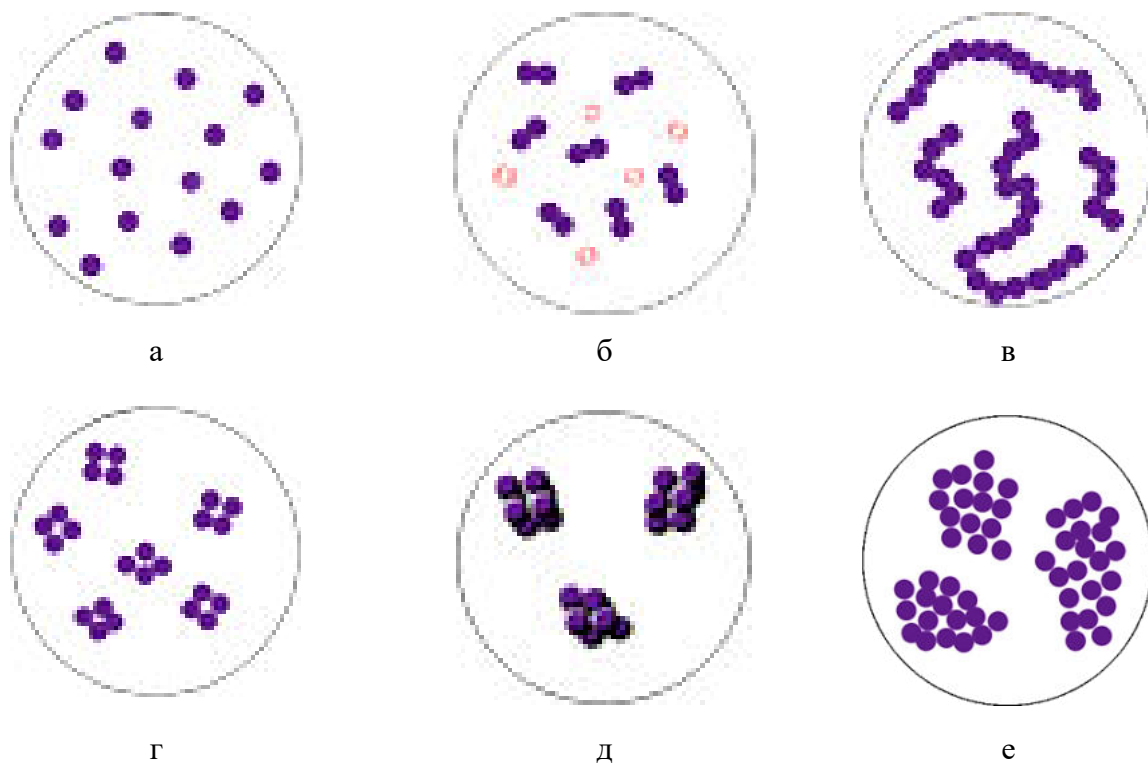


Рис. 9. Кокки: а – микрококки; б – диплококки; в – стрептококки; г – тетракокки; д – сарцины; е – стафилококки

Палочки (цилиндрические) микроорганизмы подразделяются на:

- палочки, не образующие споры;

- палочки, образующие споры: *бациллы* – диаметр споры не превышает ширину палочки (возбудитель сибирской язвы) и *клостридии* – спора крупная, превышает диаметр бактериальной клетки (возбудитель столбняка, газовой гангрены, ботулизма).

Извитые (спиралевидные) микроорганизмы различаются по количеству и характеру завитков и делятся на:

- *вибрионы* – имеют один изгиб, напоминают запятую (холерный вибрион);
- *спириллы* – имеют форму спиралей с двумя – тремя завитками (кампилобактерии);
- *спирохеты* – имеют более трех завитков (трепонемы, боррелии, лептоспиры).

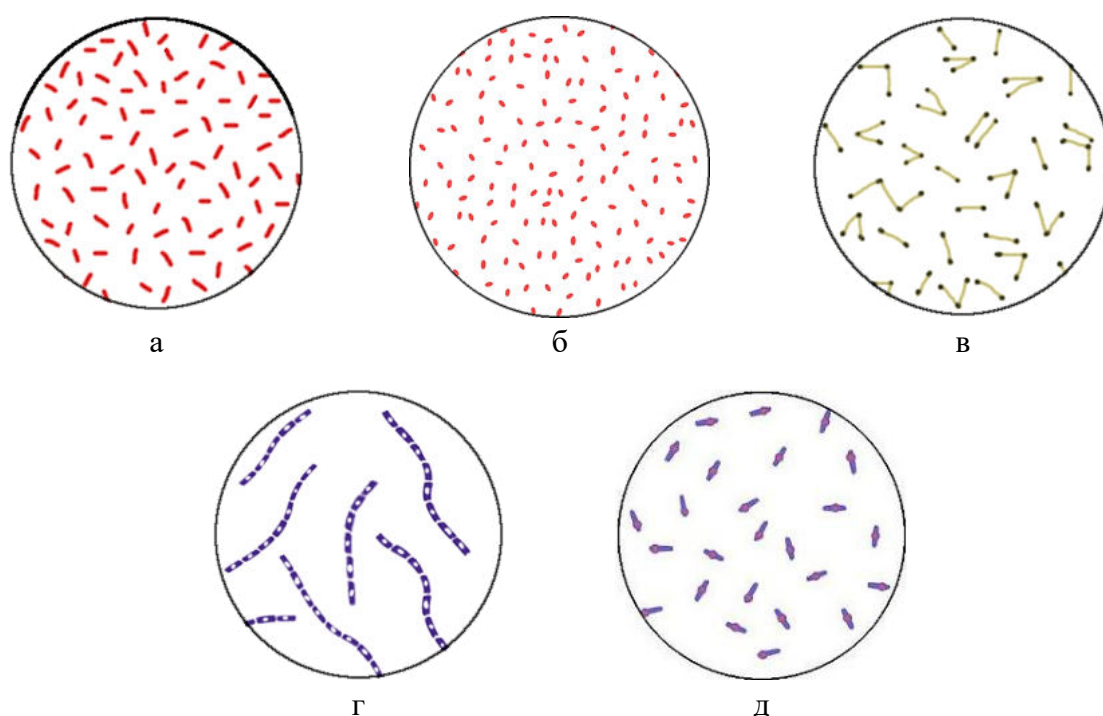


Рис. 10. Палочковидные микроорганизмы: а – кишечная палочка; б – возбудитель коклюша; в – возбудитель дифтерии; г – возбудитель сибирской язвы; д – возбудитель ботулизма

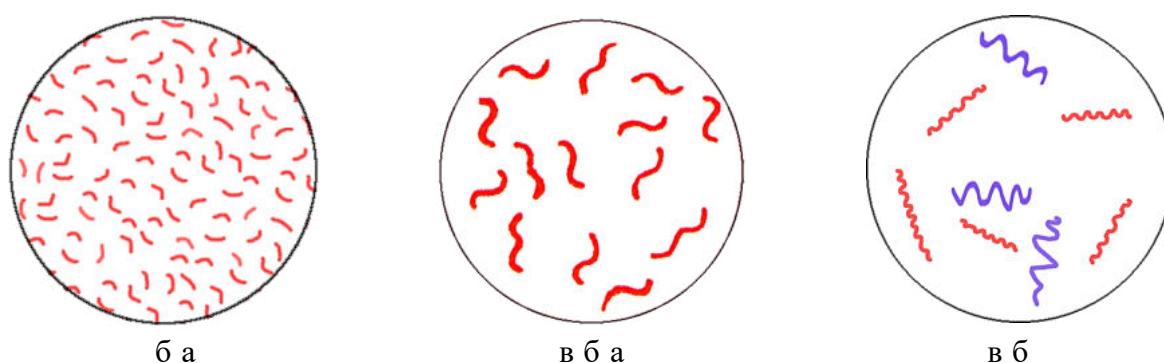


Рис. 11. Извитые микроорганизмы: а – вибрионы, б – спириллы, в – спирохеты

Палочковидные микроорганизмы имеют различные размеры; концы палочек могут быть закругленными (кишечная палочка), заостренными (фузобактерии), обрезанными или обрубленными (возбудитель сибирской язвы), с булабовидными утолщениями на концах (возбудитель дифтерии) некоторые палочки имеют овоидную форму (возбудитель коклюша).

Нитевидные микроорганизмы имеют формы нитей (*актиномицеты*).



Рис. 12. Нитевидные микроорганизмы – актиномицеты

1.4. Структура бактериальной клетки

Бактерии являются прокариотами и существенно отличаются от клеток растений и животных (эукариотов). Основные отличия клеток прокариот и эукариот представлены в таблице 1.

Таблица 1

Отличия прокариотических и эукариотических клеток

Признак	Прокариоты	Эукариоты
Оформленное ядро	—	+
Размеры клеток	0,2–2,0 мкм	>2,0 мкм
Мембранные цитоплазматические органеллы: митохондрии, ЭПР, лизосомы, хлоропласты, аппарат Гольджи	—	+
Оболочки клетки	Клеточная стенка состоит из муреина	Основной компонент клеточной стенки целлюлоза (у растений) или хитин (у грибов). У клеток животных клеточной стенки нет
Локализация рибосом	Рассеяны в цитоплазме	Прикреплены к ЭПР
Константа седиментации рибосом	70 S	80 S

Структура жгутика	Состоят из одной фибриллы, построенной из белка флагеллина	Состоят из микротрубочек, собранных в группы: 9+2
Деление клеток	Бинарное деление	Митоз или мейоз
Число хромосом	1	Обычно >1
Хромосома	Кольцевая	Линейная

Бактериальная клетка, несмотря на малые размеры, имеет все основные структурные компоненты, необходимые для осуществления обмена веществ (рис. 13). Структурные компоненты бактерий условно делятся на *обязательные* и *необязательные*.

К обязательным компонентам относятся те структуры, которые присутствуют у всех видов бактерий в течение всего жизненного цикла и обеспечивают важнейшие функции (клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, цитоплазма, нуклеоид, рибосомы и мезосомы).

Некоторые бактерии могут иметь жгутики, капсулу, спору, пили, включения, плазмиды – *необязательные* компоненты.

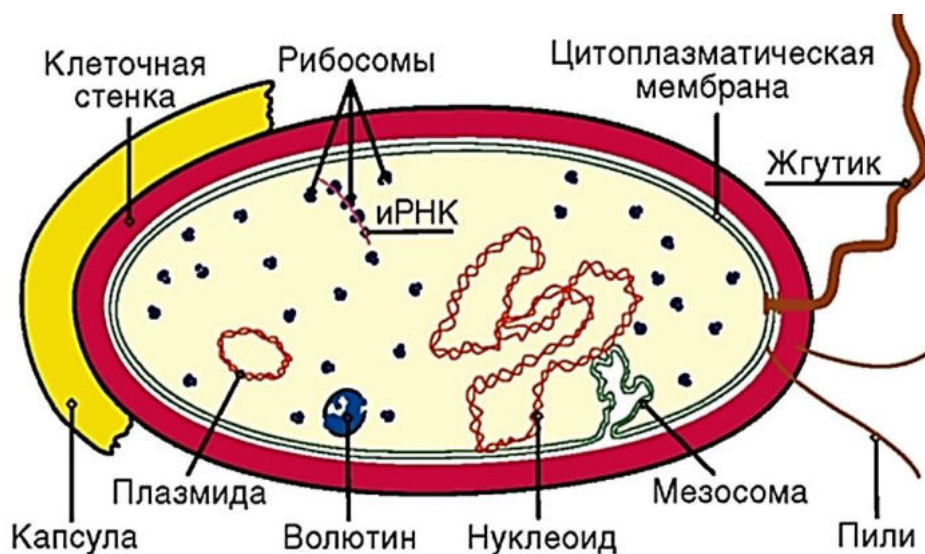


Рис. 13. Схематическое строение бактериальной клетки

Клеточная стенка представляет собой внешнюю структуру бактерий толщиной 30–35 нм. Клеточная стенка защищает бактерии от внешних воздействий, придает им характерную форму, поддерживает постоянство внутренней среды и участвует в делении. Через клеточную стенку бактерий осуществляется транспорт питательных веществ и выделение метаболитов. На поверхности клеточной стенки располагаются рецепторы для бактериофагов, бактериоцинов и различ-

ных химических веществ. Структура и состав элементов клеточной стенки определяет антигенную характеристику и *тинкториальные свойства* бактерий (способность воспринимать красители).

Основу клеточной стенки бактерий составляет *пептидогликан (муреин)* – гетерополимер, состоящий из повторяющихся дисахаридных групп (N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты). Между собой дисахариды соединяются β -1,4-гликозидными связями (рис. 14).

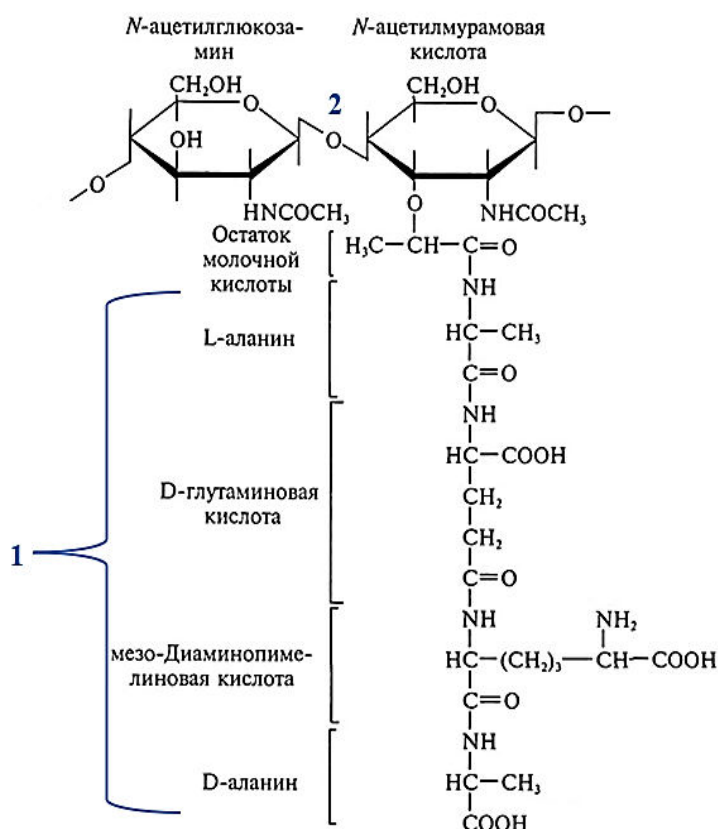


Рис. 14. Структура пептидогликана: тетрапептидный мостик (1), гликозидные связи (2)

В области N-ацетилмурамовой кислоты каждой полисахаридной цепи «отходят» тетрапептидные мостики, которые соединяются между собой пятью аминокислотами. Некоторые аминокислоты тетрапептидов присутствуют только у прокариот, например, диаминопимелиновая кислота (у большинства грамотрицательных бактерий) и D-изомеры глутаминовой кислоты и аланина (рис. 15).

Пептидогликан подвержен действию различных ферментов. В частности, лизоцим гидролизует пептидогликан, расщепляя гликозидные связи между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой, то есть лизоцим действует как N-ацетилмурамидаза. Пептидазы расщепляют межпептидные связи, β -лактамы антибиотики нарушают связывание боковых мостиков.

Количественное содержание пептидогликана влияет на способность бактерий окрашиваться по Граму. Метод окраски по Граму является важным дифференциальным методом. Все бактерии по отношению к окраске по Граму делятся

на грамположительные – темно-фиолетового цвета и грамотрицательные – красного. Способность окрашиваться в тот или иной цвет зависит от строения их клеточной стенки. У грамположительных бактерий, имеющих значительную толщину муреинового слоя (90–95%), образуется прочное соединение с комплексом генцианвиолет-йод, которое не разрушается при кратковременном действии спирта. Грамотрицательные бактерии с тонким слоем пептидогликана (5–10%) в клеточной стенке образуют с этим же фиолетовым комплексом (генцианвиолет-йод) легко разрушающееся под действием спирта соединение. Они легко обесцвечиваются под действием спирта. Фуксин затем докрашивает грамотрицательные микроорганизмы в красный цвет.

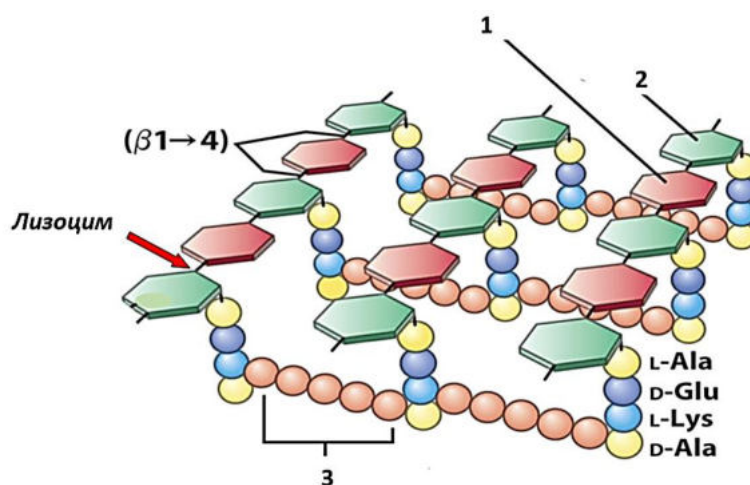


Рис. 15. Схема структуры пептидогликана: N-ацетилглюкозамин (1), N-ацетилмурамовая кислота (2), пентаглициновый мостик (3)

Метод Грама

1. На мазок кладут фильтровальную бумагу и наливают карболовый раствор генцианового фиолетового на 1–2 мин.
2. Снимают бумагу, сливают краситель и, не промывая мазок водой, наливают раствор Люголя на 1 мин.
3. Сливают раствор Люголя и обесцвечивают препарат в 96° спирте в течение 8–10 с.
4. Промывают водой.
5. Красят 1–2 мин водным раствором фуксина.
6. Промывают водой и высушивают.
7. Микроскопируют.

Клеточные стенки у грамположительных и грамотрицательных прокариот резко различаются как по химическому составу, так и по ультраструктуре.

Клеточная стенка грамположительных бактерий под электронным микроскопом выглядит как однородный плотный слой, толщина которого колеблется

от 20 до 80 нм. В клеточной стенке грамположительных бактерий кроме пептидогликана содержатся *тейхоевые кислоты*, в меньшем количестве липиды, полисахариды, белки (рис.16).

Тейхоевые кислоты (от греч. *teichos*, стенка) могут составлять до 50% сухого веса клеточной стенки. Различают *рибиттейхоевые* (состоят из остатков рибитфосфата и 10–50 остатков спирта) и *глицеринтейхоевые* (состоят из остатков глицерофосфата и 20 остатков спирта).

Тейхоевые кислоты делят на 2 класса:

- 1) стеночные, связанные с пептидогликаном клеточной стенки;
- 2) мембранные (липотейхоевые), соединенные с гликолипидом цитоплазматической мембраны.

Тейхоевые кислоты могут связываться с клеточными мембранами и осуществлять процесс адгезии, необходимый для бактериальной колонизации, являющейся первой стадией большинства инфекций. Особый интерес представляет изучение явления индукции тейхоевыми кислотами воспалительных процессов, цитотоксичности и иммуносупрессии.

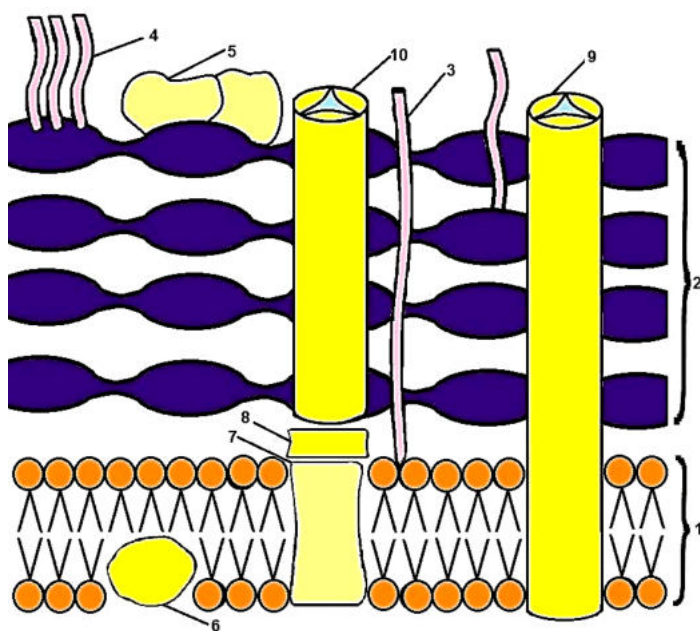


Рис. 16. Строение клеточной стенки грамположительных бактерий:

- 1 – цитоплазматическая мембрана;
- 2 – слой пептидогликана;
- 3 – липотейхоевые (мембранные) кислоты;
- 4 – тейхоевые (стеночные) кислоты;
- 5 – поверхностный белок;
- 6 – минорный белок;
- 7 – мажорный (интегральный) белок;
- 8 – вставочный белок;
- 9, 10 – порины

На поверхности клеточной стенки грамположительных бактерий могут присутствовать белковые молекулы – поверхностные минорные белки, не образующие структур определенной формы (белок А стафилококков, М-протеин стрептококков и др.). Они обладают высокой биологической активностью: угнетают фагоцитоз, обладают токсическими свойствами, способствуют адгезии бактерий на клетках. Мажорные белки образуют диффузные поры, через которые в клетку могут проникать мелкие гидрофильные молекулы.

Клеточная стенка грамотрицательных бактерий многослойна, толщина ее составляет 14–17 нм (рис. 17), состоит из пептидогликана, на долю которого

приходится 1–10% ее сухой массы, и *наружной мембраны*, располагающуюся над слоем пептидогликана.

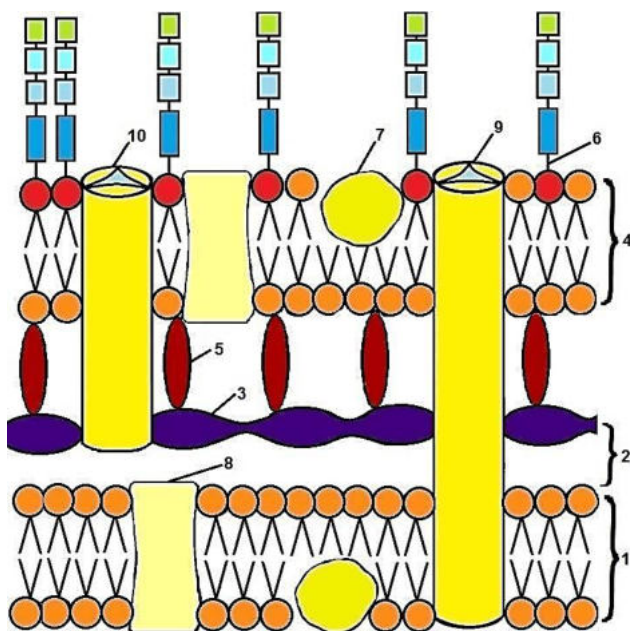
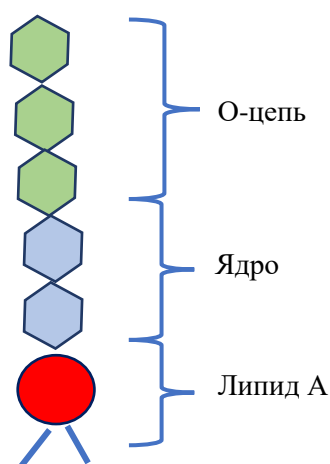


Рис. 17. Строение клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

- 1 – цитоплазматическая мембрана;
- 2 – периплазматическое пространство;
- 3 – слой пептидогликана;
- 4 – наружная мембрана; 5 – липопотеин;
- 6 – липополисахарид;
- 7 – минорный белок; 8 – мажорный (интегральный) белок;
- 9, 10 – порины

Основу наружной мембраны составляет билипидный слой, в котором находятся белки, полисахариды, липопотеиды. Наружная мембрана выполняет не только механические, но и физиологические функции. В ней находятся мажорные (трансмембранные) белки – *порины*.

В верхнем слое наружной мембраны расположены *липополисахариды (ЛПС)* – гетерополимеры с комплексной структурой, обладающие разнообразной биологической активностью. ЛПС наружной мембраны состоит из трех фрагментов:



- липида А – консервативной структуры, практически одинаковой у грамотрицательных бактерий;
- ядра, или стержневой 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. Разрушение бактерий антибиотиками приводит к освобождению липида А (эндотоксина), что может вызвать у больного инфекционно-токсичный (эндотоксиновый) шок. От липида А отходит ядро, или стержневая часть ЛПС.

О-специфическая цепь, отходящая от стержневой части молекулы ЛПС, обуславливает серогруппу, серовар определенного штамма бактерий. Таким образом, с понятием ЛПС связаны представления об О-антигене, по которому можно дифференцировать бактерии.

Особенности строения клеточной стенки кислотоустойчивых бактерий. Для некоторых бактерий (микобактерии, нокардии) характерна усложненная структура клеточной стенки. Основу у них, также, как и у грамположительных бактерий, составляет пептидогликан, однако последний связан с липидами, жирными кислотами (миколовая, фтиоидная и др.), восками и полисахаридами. Липидные компоненты придают клеточной поверхности гидрофобность.

Гидрофобность, с одной стороны делает клетку устойчивой к действию различных химических веществ (такие бактерии называются кислотоустойчивыми), с другой стороны тормозит обмен клетки с окружающей средой и замедляет ее рост. Кислотоустойчивость микобактерий является важным дифференциальным признаком, для ее определения используют окраску *по методу Циля–Нильсена*.

Метод Циля–Нильсена

1. На фиксированный мазок помещают фильтровальную бумагу и наливают карболовый фуксин Циля и осторожно нагревают на горелке до появления паров. Операцию повторяют 2–3 раза.
2. Когда препарат остынет, снимают фильтровальную бумагу, сливают краситель и промывают препарат водой.
3. Препарат погружают 2–3 раза в стакан с 5% серной кислотой на 1–2 с.
4. Тщательно промывают препарат водой и докрашивают щелочным метиленовым синим 3–5 мин.
5. Промывают водой и подсушивают.

Кислотоустойчивые бактерии не обесцвечиваются серной кислотой и сохраняют красный цвет, некислотоустойчивые теряют краситель и докрашиваются метиленовым синим в голубой цвет (рис. 18).

Бактерии, лишенные клеточной стенки. Под влиянием некоторых факторов (действие лизоцима, пенициллина, защитных факторов организма и др.) у некоторых бактерий нарушается синтез клеточной стенки. Образуются клетки с измененной (часто шаровидной) формой: *протопласты* – бактерии, полностью лишенные клеточной стенки; *сферопласты* – бактерии с частично сохранившейся клеточной стенкой. После удаления ингибитора клеточной стенки такие измененные бактерии могут реверсировать, т.е. приобретать полноценную клеточную стенку и восстанавливать исходную форму.

Бактерии, полностью или частично утратившие клеточную стенку, но сохранившие способность к размножению, получили название *L-форм* в честь ин-

ститута им. Д. Листера (Англия), в котором они были впервые выделены. Независимо от формы исходной клетки (кокки и палочки) L-формы этих бактерий морфологически неразличимы. Они представляют собой сферические образования разных размеров. L-формы могут возникать в естественных условиях в организме человека в результате длительного лечения некоторыми антибиотиками, чаще всего пенициллином. Они представляют собой осмотически чувствительные, шаровидные, колбовидные клетки различной величины, в том числе и проходящие через бактериальные фильтры.

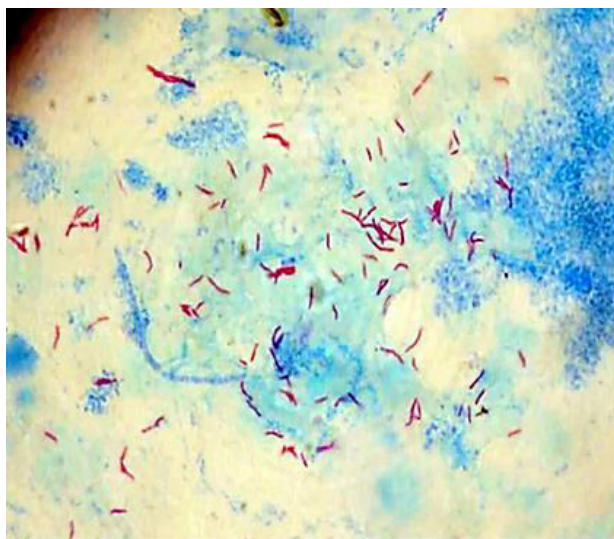


Рис. 18. *Micobacterium tuberculosis*
в мокроте. Окраска по Цилю–Нильсену
(<https://no-tuberculosis.ru>)

Различают *нестабильные* и *стабильные* L-формы бактерий. Первые способны к реверсии в исходный вид при устранении причины, вызвавшей их образование. Они восстанавливают способность синтезировать пептидогликан клеточной стенки. Вторые, как правило, не способны к реверсии. L-формы разных бактерий играют существенную роль в патогенезе многих инфекционных заболеваний.

Цитоплазматическая мембрана. Цитоплазма бактериальной клетки ограничена от клеточной стенки тонкой полупроницаемой структурой толщиной 5–10 нм, называемой *цитоплазматической мембраной* (ЦПМ). ЦПМ состоит из двойного слоя фосфолипидов, пронизанных белковыми молекулами (рис. 19).

С ЦПМ связаны многие ферменты и белки, участвующие в транспорте питательных веществ, а также ферменты и переносчики электронов конечных стадий биологического окисления (дегидрогеназы, цитохромная система, АТФ-аза). На ЦПМ локализуются ферменты, катализирующие синтез пептидогликана, белков клеточной стенки, собственных структур. Мембрана является также местом превращения энергии при фотосинтезе, окислительном фосфорилировании.

Цитоплазматическая мембрана выполняет жизненно важные функции, нарушение которых приводит бактериальную клетку к гибели. К ним относится,

прежде всего, регуляция поступления в клетку метаболитов и ионов, участие в метаболизме, репликации ДНК, а у ряда бактерий и в спорообразовании. ЦПМ связана с синтезом клеточной стенки и капсулы за счет наличия в ней специфических переносчиков для образующих их молекул. В цитоплазматической мембране закреплены жгутики. Энергетическое обеспечение работы жгутиков связано с цитоплазматической мембраной.

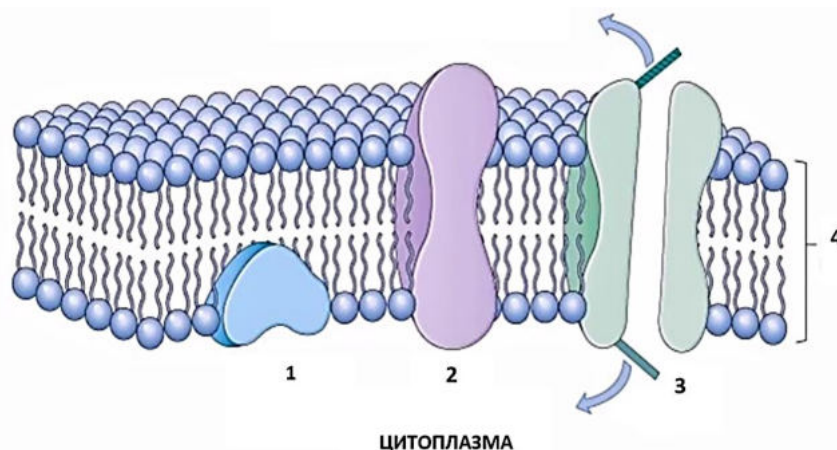


Рис. 19. Схема строения цитоплазматической мембраны:
1 – минорный периферический белок; 2 – мажорный интегральный белок;
3 – ионные каналы; 4 – бислой фосфолипидов

Между клеточной стенкой и ЦПМ располагается *периплазматическое пространство (периплазма)*. Толщина периплазмы составляет около 10 нм, объем зависит от условий среды и, прежде всего, от осмотических свойств раствора. Периплазма может включать до 20% всей находящейся в клетке воды, в ней локализуются некоторые ферменты (фосфатазы, пермеазы, нуклеазы и др.) и транспортные белки – переносчики соответствующих субстратов.

Цитоплазма бактерий представляет собой коллоидный матрикс. Цитоплазма большинства бактерий содержит ДНК, рибосомы и запасные гранулы; остальное пространство занимает коллоидная фаза. Гомогенная коллоидная часть содержит растворимые РНК, ферменты, субстраты и продукты обмена веществ, обозначается как цитозоль.

Рибосомы – субмикроскопические рибонуклеопротеидные гранулы диаметром 15–20 нм. Рибосомы прокариот имеют константу седиментации 70S. Рибосомы построены из двух частиц: 30S (малая субъединица) и 50S (большая субъединица) (рис. 20).

Структурно и функционально рибосома – это, прежде всего, рРНК. В рибосомах находится примерно 80–85% всей бактериальной РНК. Рибосомная РНК малой субъединицы рибосомы обозначается как 16S рРНК. Рибосомная РНК, со-

ставляющая структурную основу большой субъединицы рибосомы, обозначается как 23S рРНК. Изучение 16S рРНК является основой геносистематики, позволяя оценить степень родства организмов. Также рибосома на 30–50 % состоит из белка. Рибосома содержит около 50 различных белков.

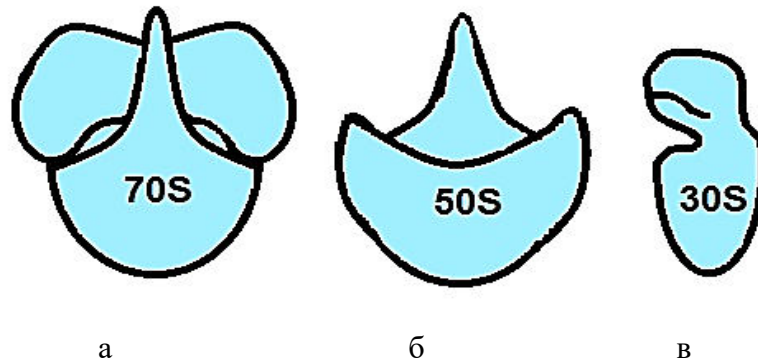


Рис. 20. Рибосомы прокариотической клетки: а – полноценная рибосома 70S; б – большая субъединица 50S; в – малая субъединица 30S

Рибосомы служат местом синтеза белка. Перед началом синтеза белка происходит объединение большой и малой субъединиц в одну – 70S. В зависимости от интенсивности роста бактериальная клетка может содержать от 5000 до 50000 рибосом, число их тем больше, чем больше скорость роста клетки. Бактериальные рибосомы могут стать «мишенью» для действия многих антибиотиков.

Мезосомы – складчатые структуры, представляющие собой впячивания цитоплазматической мембраны клетки (рис. 21). По расположению в клетке различают: мезосомы, образующиеся в зоне клеточного деления и формирования клеточной перегородки (септальные мезосомы) и мезосомы, сформированные в результате инвагинации периферических участков ЦПМ (латеральные мезосомы).

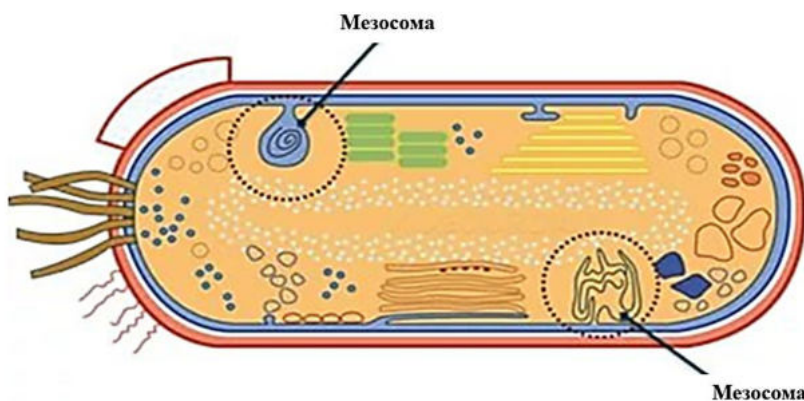


Рис. 21. Мезосомы бактерий

Предполагается, что мезосомы полифункциональны, содержат различные ферментные системы и играют определенную роль в энергетическом метаболизме. Они являются сайтом для формирования клеточной стенки бактерий и

прикрепления нуклеоида в процессе репликации ДНК, участвуют в делении клетки, обеспечивая энергией синтез клеточной стенки, принимают участие в секреции веществ, спорообразовании, т.е. в процессах с высокой затратой энергии.

Нуклеоид (генофор). В генофоре бактерий содержится основная наследственная информация, которая реализуется в синтезе специфических белковых молекул. Нуклеоид является эквивалентом ядра эукариот, представлен одной двунитевой молекулой ДНК кольцевой формы (рис. 22).

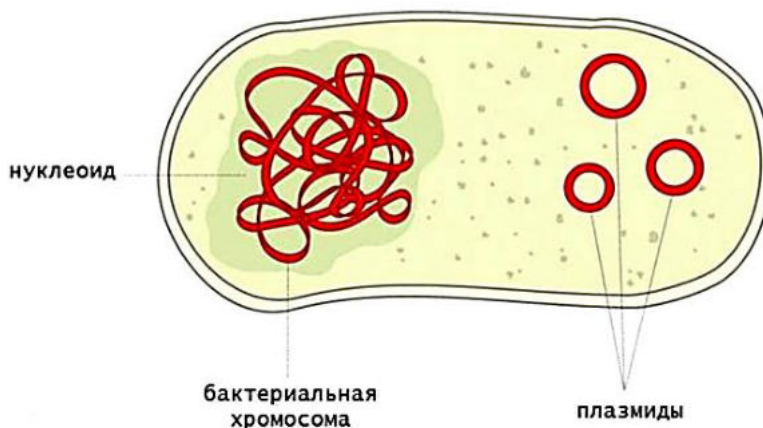


Рис. 22. Нуклеоид и плазмиды бактерий

В составе нуклеоида отсутствуют основные белки – гистоны. По аналогии с хромосомами эукариот бактериальная ДНК часто обозначается как хромосома. С ДНК связано небольшое количество РНК и РНК-полимеразы. ДНК свернуто вокруг центрального стержня, состоящего из РНК, и представляет собой высокоупорядоченную компактную структуру. Хромосомы большинства прокариот имеют молекулярную массу в пределах $1-3 \times 10^9$, константу седиментации 1300–2000 S. Молекула ДНК включает $1,6 \times 10^7$ нуклеотидных пар.

Нуклеоид в бактериальной клетке может быть выявлен в окрашенных препаратах с помощью светового или фазово-контрастного микроскопа. Нуклеоид выявляется после окраски специфическими для ДНК методами: по Фельгену или по Романовскому–Гимзе.

Плазмиды. Кроме нуклеоида в бактериальной клетке имеются внехромосомные факторы наследственности – *плазмиды*. Они представляют собой замкнутые в кольца двухцепочечные ДНК, состоящие из 1500–40 000 пар нуклеотидов и содержащие до 100 генов. В них также закодирована наследственная информация. Однако она не является жизненно необходимой для бактериальной клетки. Плазмиды могут существовать в клетке в интегрированном состоянии с бактериальной хромосомой, сохраняя при этом способность переходить к автономии.

Плазмиды выполняют регуляторные и кодирующие функции. Первые направлены на компенсацию метаболических дефектов, вторые вносят в бактерию информацию о новых признаках. Как составляющая часть генетического материала бактерии плазмиды играют важную роль в ее жизнедеятельности, детерминируя такие характеристики, как способность продуцировать экзотоксины, ферменты или бактериоцины, устойчивость к лекарственным препаратам и т.д.

Удвоение ДНК некоторых плазмид индуцирует деление бактерий, т.е. увеличивает их «плодовитость». Такие плазмиды обозначают как *F-плазмиды* или F-факторы (от англ. *fertility* – плодовитость). Плазмиды, детерминирующие устойчивость к лекарственным препаратам, называются *R-плазмидами* или R-факторами (от англ. *resistance* – устойчивость). Плазмиды патогенности контролируют вирулентные свойства микроорганизмов, детерминируя синтез факторов патогенности. Так, например, *Ent-плазида* определяет синтез энтеротоксина.

Конъюгативные (трансмиссивные) плазмиды переносятся от бактерии к бактерии внутри вида или между представителями близкородственных видов в процессе конъюгации. Чаще всего конъюгативными плазмидами являются F- или R-плазмиды. Подобные плазмиды относительно крупные (25–150 млн Д) и часто выявляются у грамотрицательных палочек.

Неконъюгативные плазмиды обычно имеют небольшие размеры и характерны для грамположительных кокков, но встречаются также у некоторых грамотрицательных микроорганизмов (например, у *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*). Мелкие плазмиды могут присутствовать в больших количествах (более 30 на клетку), поскольку только наличие такого количества обеспечивает их распределение в потомстве во время клеточного деления.

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

Некоторые бактерии способны накапливать фосфорную кислоту в виде гранул полифосфата (*зерна волютина*, метакроматические зерна, зерна Бабеша–Эрнста). Наличие зерен волютина у бактерий выявляется окраской методом Нейссера.

Метод Нейссера

1. Фиксированный мазок окрашивают уксуснокислой синей 4 мин. Краску сливают.
2. Мазок промывают водой. Наливают раствор Люголя на 20–30 сек.
3. Не промывая мазок, окрашивают везувином 1–3 мин.

4. Промывают водой. Высушивают.

Клетка бактерий окрашивается в светло-коричневый цвет, зёрна волютина – в тёмно-синий, почти чёрный цвет.

Зерна волютина играют роль фосфатных депо. Выявляются у коринебактерий, спирилл и дрожжей в виде плотных, хорошо контурированных образований в форме шара или эллипса, располагающихся, в основном, у полюсов клетки. Обычно на полюсах бывает по одной грануле. У некоторых бактерий, например, дифтерийной палочки, включения волютина в виде интенсивно прокрашивающихся полюсов клетки имеют дифференциально-диагностическое значение (рис. 23).



Рис. 23. Мазок из чистой культуры *Corynebacterium diphtheriae*.
Окраска по Нейссеру
(<https://present5.com>)

Споры – покоящиеся формы жизненного цикла бактерий, образуются внутри цитоплазмы вегетативных клеток в неблагоприятных условиях существования и обеспечивают сохранение вида. Одна бактериальная клетка образует одну спору, – локализация которых может быть различна (центральная, терминальная, субтерминальная) (рис. 24).



Рис. 24. Расположение спор у бактерий

Если размеры спор не превышают поперечного размера палочковидной бактерии, то последняя называется *бациллой* (возбудитель сибирской язвы, рис. 25). Когда диаметр споры больше – бактерии имеют форму веретена и носят название *кловстридий* (возбудители анаэробной инфекции).



Рис. 25. *Bacillus anthracis* (а), *Clostridium botulinum* (б)
(<https://veterinaryone.blogspot.com>, <https://images.slideplayer.com>)

По химическому составу различие спор от вегетативных клеток состоит лишь в количественном содержании химических соединений. Споры содержат меньше воды и больше липидов.

В процессе спорообразования (споруляции) можно выделить три стадии или этапа (рис. 26).

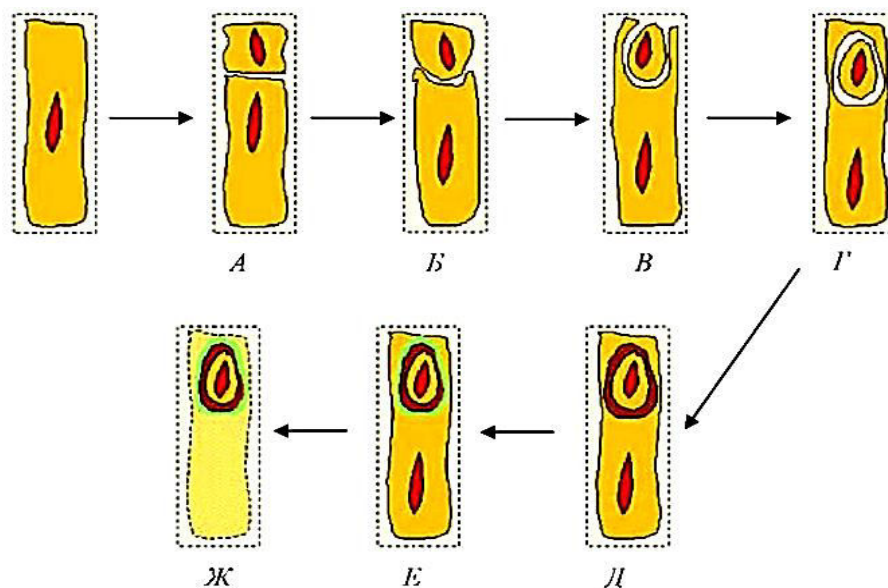


Рис. 26. Схема процесса спорообразования: А – отделение протопласта споры; Б, В, Г – образование протоспоры; Д, Е, Ж – формирование споры (Лысак В.В., 2008)

Первый этап – подготовительный. В вегетативной клетке бактерий, переходящей к спорообразованию, прекращаются ростовые процессы, удваивается нуклеоид (ДНК) и изменяется метаболизм, а именно распадается значительная часть белков материнской клетки, образуется специфическое для спор вещество – *ди-тиколиновая кислота*, которая не встречается в вегетативных клетках.

Второй этап – формирование споры. Часть цитоплазмы и хромосома бактериальной вегетативной клетки отделяются, окружаясь растущей цитоплазматической мембраной, – образуется проспора (предспора). 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. По мере формирования многослойных покровов проспора превращается в спору.

Споры некоторых бактерий имеют дополнительный покров – *экзоспориум*, в состав которого входят белки, липиды, углеводы. Таким образом, формируется многослойная плохо проницаемая оболочка. Спорообразование сопровождается интенсивным потреблением проспорой дипиколиновой кислоты и ионов кальция. Спора приобретает термоустойчивость, которую связывают с наличием в ней дипиколината кальция.

Третий этап – созревание споры. Спора приобретает характерную форму и занимает определенное положение в клетке. Форма, размер и расположение спор – видовое свойство бактерий.

Таким образом, спора состоит из следующих структурных элементов: нуклеоида; уплотненной цитоплазмы (за счет дегидратации, перехода белков в связанное состояние, снижения активности некоторых ферментов и синтеза дипиколината кальция); покровных слоев, представленных цитоплазматической мембраной, клеточной стенкой зародыша, кортексом, внутренней оболочкой, наружной оболочкой, экзоспориумом (рис. 27).

После полного созревания споры вегетативная часть клетки может лизироваться. В состоянии споры микроорганизмы метаболически неактивны, выдерживают высокую температуру (140–150 °C), воздействие химических дезинфицирующих веществ и длительно сохраняются в окружающей среде. В почве, например, возбудители сибирской язвы и столбняка могут сохраняться десятки лет. Попадая в организм человека и животных, споры прорастают в вегетативные клетки. Процесс прорастания спор включает три стадии: *активации, начальной стадии и стадии роста*. К активирующим агентам, нарушающим состояние покоя, относят повышенную температуру, кислую реакцию среды, механические повреждения и др. Спора начинает поглощать воду, освобождается от дипиколата кальция, с помощью гидролитических ферментов разрушает многие собственные структурные компоненты. После разрушения наружных слоев наступает период формирования вегетативной клетки с активацией биосинтеза, заканчивающейся делением клетки. Прорастание споры происходит в течение 4–5 ч, в то время как образование спор продолжается до 18–20 ч.

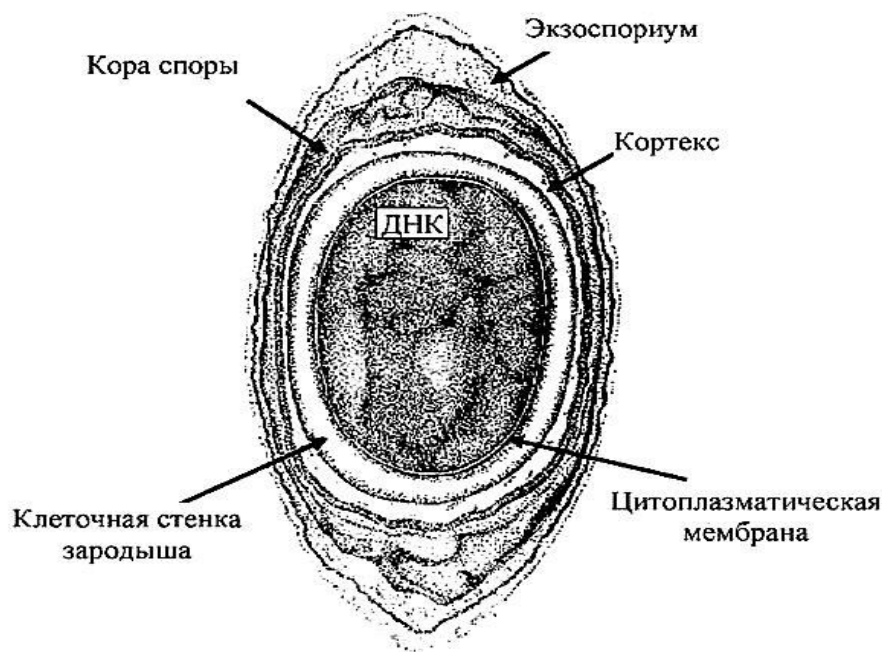


Рис. 27. Схема строения зрелой споры (по С. Халею, 2001)

Окраску спор производят специальным методом Ожешко.

Метод Ожешко

1. На высушенный нефиксированный мазок наливают 0,5%-раствор соляной кислоты. Подгревают 1–2 мин над пламенем спиртовки. Остатки кислоты сливают.
2. Остывший препарат промывают водой и фиксируют на пламени спиртовки.
3. Окрашивают мазок по методу Циля–Нильсена.

Споры прочно удерживают карболовый фуксин и окрашиваются в красный цвет, цитоплазма бактерий обесцвечивается 5% серной кислотой и после докраски метиленовым синим приобретает синий цвет (рис. 28).



Рис. 28. Мазок из чистой культуры *Bacillus anthracis*.
Окраска по Ожешко

Капсула – слизистый слой клеточной стенки бактерий, состоящий из полисахаридов (пневмококк) или полипептидов (бацилла сибирской язвы). Микрокапсулу (толщиной менее 0,2 мкм) способны формировать большинство бактерий. Четко выраженную макрокапсулу (толщиной более 0,2 мкм) формируют пневмококк, клебсиеллы, возбудитель сибирской язвы и некоторые другие. У патогенных бактерий капсула образуется в макроорганизме. Капсула различима в мазках-отпечатках из патологического материала. На искусственных питательных средах она обычно утрачивается (за исключением клебсиелл).

Капсула гидрофильна, включает большое количество воды. От капсулы следует отличать слизь – мукоидные экзополисахариды, не имеющие четких внешних границ. Слизь растворима в воде.

Капсула выполняет разнообразные функции: защитную, предохраняя клетку от неблагоприятных условий среды обитания; адгезивную, способствуя прикреплению (прилипанию) к поверхности клетки хозяина. В организме человека и животных капсула защищает патогенные бактерии от бактериофага, фагоцитоза и гуморальных факторов иммунитета, определяет антигенную специфичность микроорганизмов. Капсульные Аг (К-АГ) многих патогенных бактерий проявляют выраженные иммуногенные свойства используются для приготовления иммунобиологических препаратов (например, вакцины против пневмококковых и менингококковых инфекций).

Капсулы, имея консистенцию геля, плохо удерживают краситель, и для их выявления чаще всего применяют метод негативного контрастирования Бурри–Гинса (рис. 29).

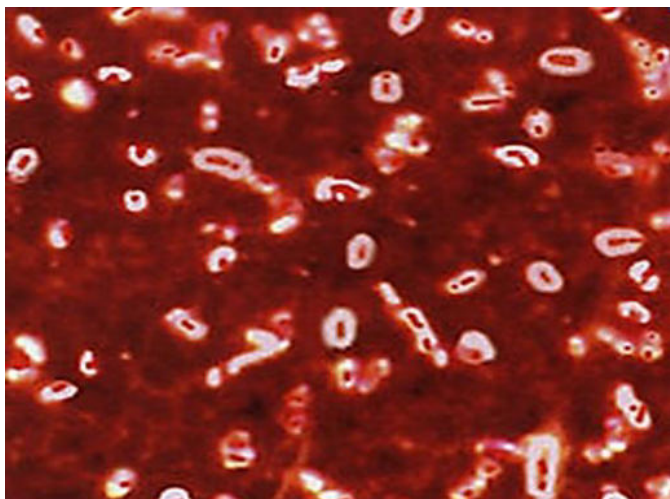


Рис. 29. Выявление капсулы у *Klebsiella pneumoniae* методом негативного контрастирования по Бурри–Гинсу

Жгутики. Жгутики выполняют роль органа движения, позволяющего бактериям передвигаться со скоростью 20–60 мкм/с. На подвижность бактерий очень сильное влияние оказывают условия внешней среды: свет (фототаксис), температура (термотаксис), химические вещества (хемотаксис).

Жгутики представляют собой тонкие нити, берущие начало от цитоплазматической мембраны, имеют большую длину, чем сама клетка. Толщина жгутиков 12–20 нм, длина 3–15 мкм. Жгутики состоят из белка – *флагеллина*, являющегося антигеном — так называемый *H-антиген*.

По расположению и числу жгутиков на поверхности клетки бактерии подразделяются на:

- а) *монотрихи* – имеют один жгутик (например, бактерии родов *Vibrio*);
- б) *лофотрихи* – имеют на одном или на обоих полюсах клетки пучок жгутиков (например, бактерии родов *Pseudomonas*);
- в) *амфитрихи* – имеют по жгутику на обоих полюсах клетки (например, бактерии рода *Spirillum*);
- г) *перитрихи* – большое количество жгутиков, располагающихся по всей поверхности клетки (например, бактерии вида *E. coli*) (рис. 30).

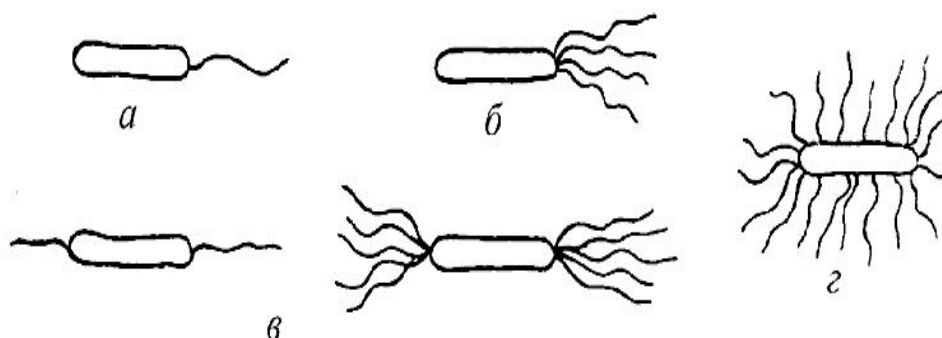


Рис. 30. Расположение жгутиков у бактерий

Жгутик состоит из трех компонентов – спиральной жгутиковой нити (филамента) постоянной толщины, крючка (колена) и базального тельца (рис. 31). Крючок, к которому присоединена жгутиковая нить, состоит из отличающегося от флагеллина белка. Он соединен с базальным тельцем, которое располагается в клеточной стенке и ЦПМ. Базальное тельце состоит из центрального стержня, заключенного в систему особых колец. Кольца выполняют роль «приводного диска» и «подшипника» на внутренней поверхности пептидогликанового слоя. Вся конструкция выполняет функцию хемомеханического преобразователя. Удаление пептидогликанового слоя клеточной стенки ведет к потере способности бактерий к движению, хотя жгутики при этом остаются неповрежденными.

Жгутики грамположительных бактерий содержат только одну пару колец (кольца S и M).

У грамотрицательных бактерий в базальном тельце две пары колец (рис. 32): внешняя (кольца L и P) и внутренняя (кольца S и M). Кольца L и P расположены внутри клеточной стенки (кольцо L в ЛПС, а кольцо P в слое пептидогликана). Они выполняют, очевидно, роль втулки для стержня. Внутренняя пара (кольца S

и М) фиксирована на ЦПМ, причем кольцо S располагается в периплазматическом пространстве, а кольцо М – на ЦПМ или в ней.

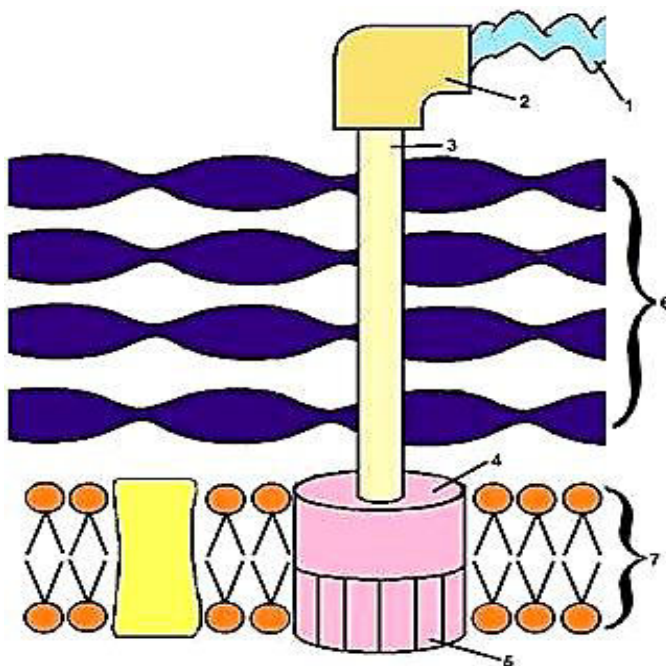


Рис. 31. Строение жгутика грамположительной бактерии:
1 – филамент; 2 – крючок;
3 – стержень; 4 – S-диск;
5 – М-диск; 6 – пептидогликан;
7 – цитоплазматическая мембрана

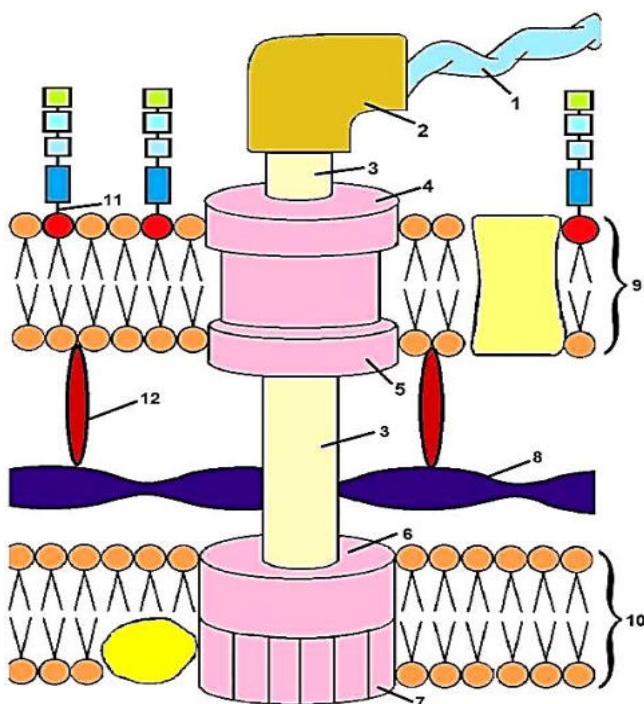


Рис. 32. Строение жгутика грамотрицательной бактерии:
1 – филамент; 2 – крючок;
3 – стержень; 4 – L-диск;
5 – Р-диск; 6 – S-диск;
7 – М-диск; 8 – пептидогликан;
9 – наружная мембрана; 10 – цитоплазматическая мембрана;
11 – липополисахарид;
12 – липопротеин

Вращение жгутика в клеточной стенке происходит из-за вращательного движения колец S и М относительно друг друга и обеспечивается за счет энергии трансмембранного градиента ионов водорода или натрия. Благодаря такому вращению происходит движение бактерий в наиболее благоприятном для них направлении. Жгутиковый аппарат обладает особым бинарным переключателем,

который позволяет менять направление вращения жгутиков против часовой стрелки на противоположное. Таким образом, бактерии, получив химический сигнал из окружающей среды, изменяют направление движения и выбирают оптимальные условия обитания.

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.

Под микроскопом жгутики можно увидеть лишь после специальных методов протравливания и импрегнации солями серебра и ртути с последующей окраской анилиновыми красителями (метод Леффлера). О наличии жгутиков можно косвенно судить по направленному характеру движения в «висячей» и «раздавленной» капле в темнопольном и фазово-контрастном микроскопах, либо при светлопольной микроскопии при опущенном конденсоре и частично прикрытой диафрагме микроскопа.

Пили (ворсинки, фимбрии) – тонкие полые нити белковой природы, покрывающие поверхность бактериальных клеток. В отличие от жгутиков не выполняют двигательную функцию. По размерам они короче и тоньше жгутиков, длиной 0,3–10 мкм, толщиной 10 нм (рис. 33).

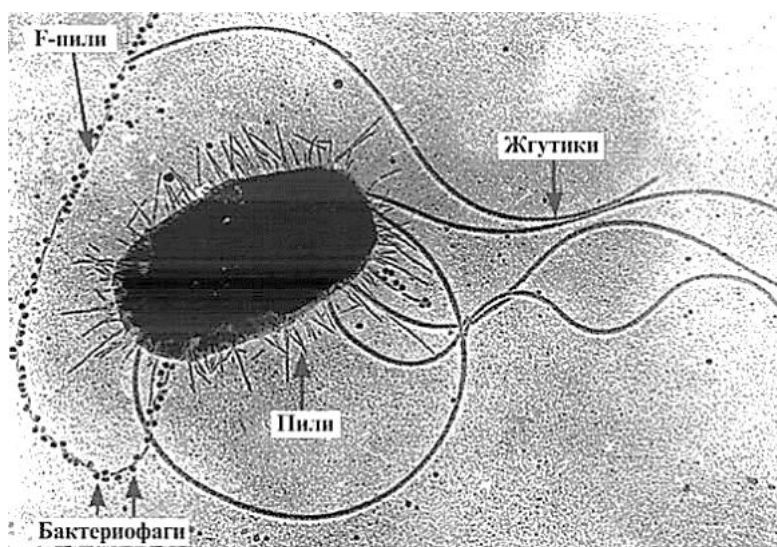


Рис. 33. Жгутики и пили бактерий. Электронная микроскопия. (Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова – М.: Медицинское информационное агентство, 2003)

Пили построены из одного вида белка – *пилина*, субъединицы которого организованны в виде полых внутри нити и берут начало от ЦПМ. Пили обладают антигенной активностью.

По своему функциональному назначению подразделяются на несколько типов. Различают пили *общего типа* и *половые пили*.

Пили общего типа обуславливают прикрепление или адгезию бактерий к определенным клеткам организма хозяина. Их количество велико – от нескольких сотен до нескольких тысяч на одну бактериальную клетку. Адгезия является первоначальной стадией любого инфекционного процесса.

Половые пили (конъюгативные пили) участвуют в обмене генетическим материалом (конъюгации) между бактериями, обеспечивая перенос части генетического материала от донорной клетки к реципиентной. Они имеются в ограниченном количестве (1–4 на клетку) только у бактерий-доноров т.е. у клеток, содержащих половой фактор (F-плазмиду) или другие донорспецифические плазмиды.

1.5. Отдельные группы бактерий

Актиномицеты

Актиномицеты (*actinomycetes* – от греч. *aktis* – луч, *mykes* – гриб) представляют группу неподвижных бактерий, по уровню организации занимающую промежуточное положение между бактериями и грибами. Имеют вид небольших или длинных несептированных ветвящихся нитей, названных *гифами*. Скопление гифов называют *мицелием*. Сходство с грибами чисто внешнее, так как актиномицеты имеют прокариотический тип клетки с наличием клеточной стенки, не содержащей хитина и целлюлозы. В состав пептидогликана могут входить галактоза, арабиноза, ксилоза и другие сахара не характерные для остальных бактерий и позволяющие дифференцировать актиномицеты. Актиномицеты грамположительны, неподвижны, многие формы кислотоустойчивы, некоторые актиномицеты вокруг нитей имеют капсулу.

При культивировании на питательных средах (культуральная форма) актиномицеты формирует *субстратный* мицелий, образующийся в результате врастания мицелия в питательную среду и *воздушный*, растущий на поверхности среды. В пораженных тканях (тканевая форма) актиномицеты могут образовывать *друзы-гранулы* (рис. 34), скопление плотно переплетенных гиф в виде лучей, отходящих от центра и заканчивающихся колбовидными утолщениями.

Актиномицеты размножаются бинарным делением, бесполоыми спорами, фрагментацией мицелия.

Актиномицеты широко распространены в природе, обитают в воде, почве богатой перегноем. Они участвуют в круговороте веществ в природе. Отдельные виды актиномицетов используются как продуценты антибиотиков, витаминов, липидов, протеаз, аминокислот, стероидов.

Актиномицеты, являясь симбионтами человека и животных, присутствуют в полости рта, в строме зубного камня, криптах миндалин, в камнях мочевых и желчевыводящих путей.

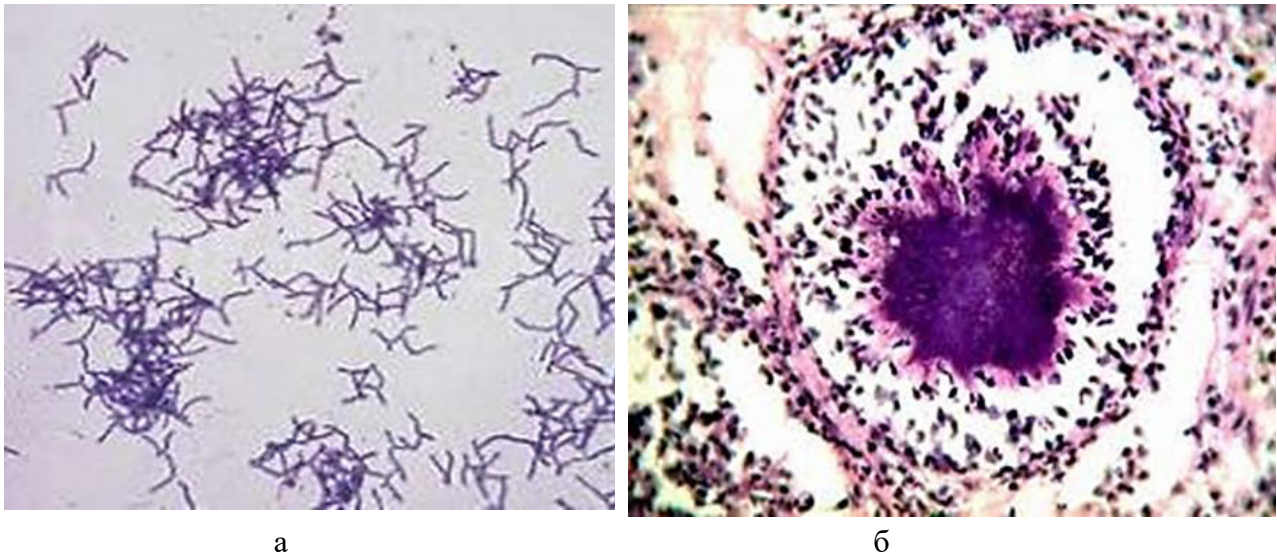


Рис. 34. Чистая культура актиномицет (а), тканевая форма актиномицет – друзы (б).
Окраска по Граму

Актиномицеты относятся к порядку *Actinomycetales*, включающего семейства:

- *Actinomycetaceae*, род *Actinomyces*
- *Nocardiaceae*, род *Nocardia*
- *Streptomycetaceae*, род *Streptomyces*
- *Mycobacteriaceae*, род *Mycobacterium*
- *Corynebacteriaceae*, род *Corynebacterium*

Представители рода *Actinomyces* имеют вид длинных или коротких разветвленных палочек, не образующих воздушного мицелия. Актиномицеты почти всегда присутствуют в полости рта здорового человека (*Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. odontolyticus*). Актиномицеты принимают участие в развитии кариеса, заболеваний пародонта. При понижении сопротивляемости макроорганизма актиномицеты могут вызвать эндогенную инфекцию актиномикоз – заболевание, протекающее в виде хронического гнойного воспаления с развитием гранулем, абсцессов и свищей.

Нокардии имеют нитевидную форму клеток и образуют на питательных средах воздушный и субстратный мицелий. Размножаются фрагментацией и делением пополам. Патогенные нокардии (*Nocardia asteroides*, *N. farcinica*) вызывают нокардиоз.

Streptomyces образуют разветвленный мицелий, подразделяется на субстратный и воздушный. Нити мицелия на фрагменты не распадаются, размножение происходит спорами. Основными средами обитания стрептомицетов являются почва и слои морской воды. Представители этого рода продуцируют большое количество антибиотиков, активных против грибов, бактерий и опухолевых клеток. (стрептомицин, нистатин, тетрациклины и др.). Некоторые представители семейства *Streptomycetaceae* вызывают у человека кожные мицетомы.

Семейство *Mycobacteriaceae* отличается рядом особенностей от истинных актиномицет. Обычно это тонкие, искривленные палочки, не образующие мицелия и ветвящиеся при длительном культивировании. Микобактерии кислотоустойчивы в связи с присутствием в клеточной стенке большого количества липидов, миколовых кислот и др. *Mycobacterium tuberculosis* вызывают у человека туберкулез, *M. leprae* – лепру (проказу).

Бактерии рода *Corynebacterium* представляют собой грамположительные палочки с зёрнами волютина, не образуют мицелий. Непатогенные представители почти всегда и в больших количествах встречаются в полости рта здорового человека. *Corynebacterium diphtheriae* является возбудителем дифтерии. Актиномицеты окрашивают по Граму, некоторые – по Цилю–Нильсену, по Нейссеру.

Спирохеты

Спирохеты (*spira* – изгиб, *chaite* – волосы) спирально извитые, обладающие активной подвижностью бактерии. Размеры спирохет колеблются в толщину от 0,1–0,3 мкм, в длину от 7–500 мкм. Движения разнообразные – от винтообразных до сгибательных. Электронно-микроскопическое исследование позволило выявить у спирохет протоплазматический цилиндр (тело клетки), аксиальную нить (*аксостиль*) и оболочки: клеточную стенку, построенную по типу грамотрицательных бактерий и цитоплазматическую мембрану. Аксиальная нить находится в периплазматическом пространстве между клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной и состоит из отдельных фибрилл (эндофлагелл), число которых у разных видов различно: у трепонем и лептоспир – 3–4; у борелий – до 30. Каждая из фибрилл крепится к прикрепительным дискам (блефаробластам), расположенным на концах протоплазматического цилиндра и тянется к противоположному его концу, обвивая его и заканчиваясь свободно. Химический состав фибрилл аналогичен составу жгутиков (белок – *флагеллин*) (рис. 35).

В протоплазматическом цилиндре содержатся: нуклеоид, рибосомы, мезосомы, включения. Клеточная стенка содержит тонкий слой пептидогликана, эластична и не обладает ригидностью. Эндоспор, капсул и экзожгутиков эти бактерии не образуют, грамотрицательны.

Спирохеты относятся к порядку *Spirochaetales*, состоящего из двух семейств *Spirochaetaceae* и *Leptospiraceae*. Семейство *Spirochaetaceae* включает в себя два рода: *Borrelia* *Treponema*, семейство *Leptospiraceae* – род *Leptospira*.

1. *Под Borrelia* – представители имеют 3–10 неравномерных отлогих завитков, концы заострены, длиной 10–30 мкм (рис. 36). Движение толчкообразное. По Романовскому–Гимзе окрашиваются в сине-фиолетовый цвет. Патогенные виды – *Borrelia burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii* – вызывают иксодовый клещевой

боррелиоз – болезнь Лайма). *B. buccalis* является представителем микрофлоры полости рта.

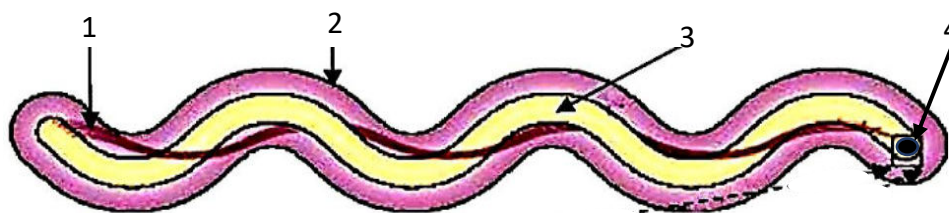


Рис. 35. Строение спирохеты: 1 – аксостиль, состоящий из осевых фибрил, 2 – клеточная стенка, 3 – протоплазматический цилиндр, 4 – блефаробласт

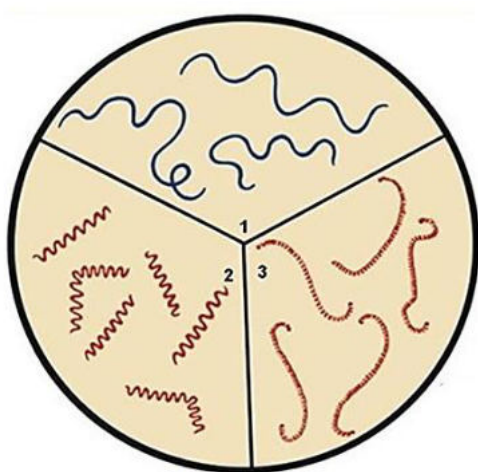


Рис. 36. Морфология спирохет:
1 – боррелия; 2 – трепонема;
3 – лептоспира

2. *Под Treponema* – спирохеты имеют 8–14 туго закрученных, одинаковых по амплитуде завитков, длиной 5–15 мкм. Движение плавное, медленное с вращением вокруг продольной оси. По Романовскому–Гимзе окрашиваются в бледно розовый цвет (рис.36). Вид *Treponema pallidum* – является возбудителем сифилиса. *T. orale*, *T. macrodentium*, *T. denticola* обнаруживаются в ротовой полости.

3. *Под Leptospira* – представители длиной 5–15 мкм, имеют до двух десятков мелких частых завитков, заканчивающихся крючком с пуговчатым утолщением (рис. 36). Движение очень активное, поступательное перемещение вперед, сгибание и вращение вокруг оси. По Романовскому–Гимзе окрашиваются слабо в розовато-сиреневый цвет. Представитель *Leptospira interrogans* – возбудитель лептоспироза.

В живом состоянии спирохеты изучают в фазово-контрастном микроскопе и темнопольном микроскопе, наблюдая за активным характерным движением спирохет, особенностями их формы.

Для изучения особенностей морфологии спирохет препараты окрашивают по Бурри (на темном фоне препарата становятся видимыми светлые извитые нити спирохет), по Романовскому–Гимзе, по методу Морозова.

Микоплазмы

Микоплазмы – самые мелкие прокариоты, способные самостоятельно размножаться. Микоплазмы обладают самым малым геномом. У большинства микоплазм геном в четыре раза меньше, чем у *E. coli*. Вследствие малого генома микоплазмы обладают ограниченными биосинтетическими способностями. Главная особенность микоплазм – отсутствие клеточной стенки. Они окружены капсулоподобным слоем, под которым находится лишь тонкая трехслойная мембрана толщиной 7,5–10 нм, содержащая в значительном количестве холестерин. Вследствие особенностей строения, микоплазмы к тenericутам, классу *Mollicutes* («нежная кожа»), порядку *Mycoplasmatales*. Семейство *Mycoplasmataceae* включает в себя 2 рода – *Mycoplasma* и *Ureaplasma*.

Из-за отсутствия клеточной стенки микоплазмы осмотически чувствительны и имеют разнообразную форму – мелкие сферические или овоидные клетки, более крупные шаровидные, нитевидные, ветвящиеся клетки. Микоплазмы грамотрицательны, не образуют спор, жгутиков, некоторые виды обладают скользящей подвижностью. Они размножаются путем бинарного деления шаровидных и нитевидных клеток, почкования.

Для микоплазм характерна уникальная для прокариотов потребность в стеролах (холестерине). Холестерин стабилизирует мембрану микоплазм. В инфицированных тканях микоплазмы являются паразитами мембран эукариотических клеток и способны персистировать на них долгое время.

Из-за ограниченных биосинтетических возможностей микоплазмы приходится культивировать на питательных средах, обогащенных липидами, белками, предшественниками нуклеиновых кислот. Растут они на питательных средах медленно, образуют мелкие колонии с плотным врастающим в среду центром, напоминающие «яичницу-глазунью» (рис. 37) (темный центр и более светлая ажурная периферия).

Большинство микоплазм являются безвредными комменсалами слизистых оболочек глаз, дыхательных, пищеварительных и мочеполовых путей человека.

В патологии человека наибольшую роль играют несколько представителей рода *Mycoplasma*: *M. pneumoniae*, *M. fermentans*, *M. hominis*, *M. Genitalium*, *M. arthritidis* и рода *Ureaplasma* – *U. parvum* и *U. urealyticum* (названный так из-за уреазной активности). Патогенные микоплазмы вызывают заболевания (микоплазмозы) дыхательных, мочеполовых путей и суставов с разнообразными клиническими проявлениями. При лечении этих заболеваний следует помнить, что микоплазмы не чувствительны к бета-лактамным антибиотикам и другим лекарственным препаратам, угнетающим синтез клеточной стенки (из-за ее отсутствия у возбудителя).

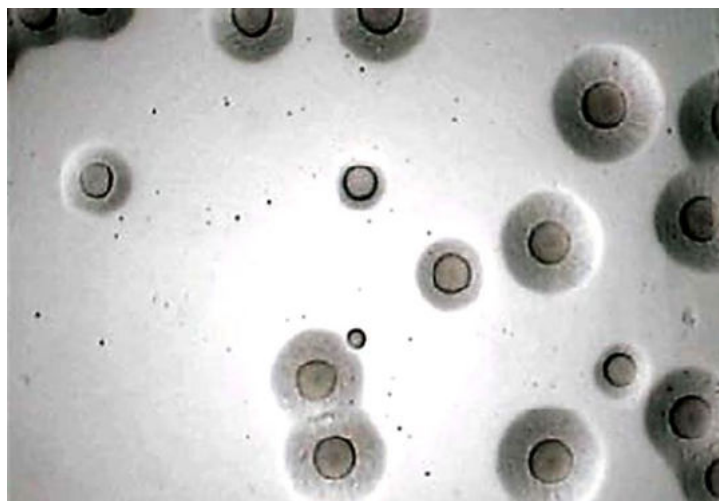


Рис. 37. Колонии *Mycoplasma bovis*. (Development of a Second-Generation Vaccine against Mycoplasmosis: Preparation of a Fraction Candidate from *Mycoplasma bovis* and its Evaluation as a Vaccine; Global Veterinaria 16 (2): 137-144, 2016)

Методы выявления. В световом микроскопе обнаруживаются лишь самые крупные формы микоплазм. В живом состоянии их изучают в темнопольном и фазово-контрастном микроскопе, ультраструктурные компоненты выявляют при помощи электронной микроскопии. Окраску по Граму воспринимают плохо. Микоплазмы лучше окрашиваются по Романовскому–Гимзе.

Риккетсии

Риккетсии – мелкие (0,35–1,0 мкм) грамотрицательные, полиморфные бактерии, являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами. Занимают промежуточное положение между бактериями и вирусами.

Риккетсии разнообразны по форме (рис. 38), выделяют следующие типы:

- 1) кокковидные однозернистые (до 0,5 мкм);
- 2) палочковидные двухзернистые (1–1,5 мкм);
- 3) бациллярные трех-четырёхзернистые (3–4 мкм);
- 4) нитевидные многозернистые (10–40 мкм).

Зерна (нуклеопротеиды) обнаруживаются при окраске по Романовскому–Гимзе. Все формы взаимнообратимы. Структурно имеют все компоненты бактериальной клетки: клеточную стенку, ЦПМ, липоидную капсулу, цитоплазму, нуклеоид, рибосомы, пили, ДНК и РНК.

Жизненный цикл риккетсий зависит от жизнедеятельности клетки-хозяина и складывается из двух стадий: покоящейся (элементарные тельца) и вегетативной (рис. 39). Риккетсии, находящиеся в вегетативной стадии, активно размножаются путем бинарного деления и обладают активной подвижностью, по-видимому, обусловленной жгутиковыми структурами. Риккетсии покоящейся стадии (элементарные тельца) имеют сферическую форму, и они не активны.

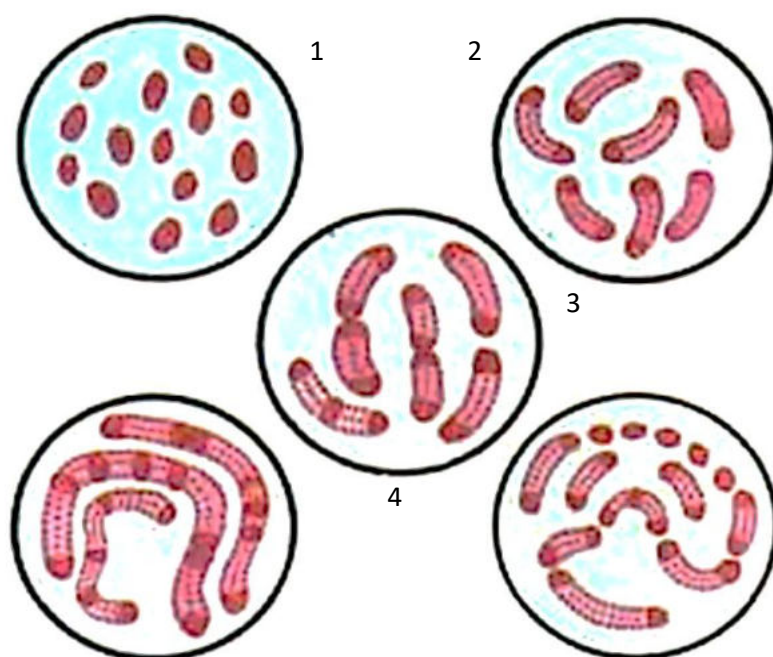


Рис. 38. Морфология риккетсий: 1 – кокковидные; 2 – палочковидные; 3 – бациллярные; 4 – нитевидные

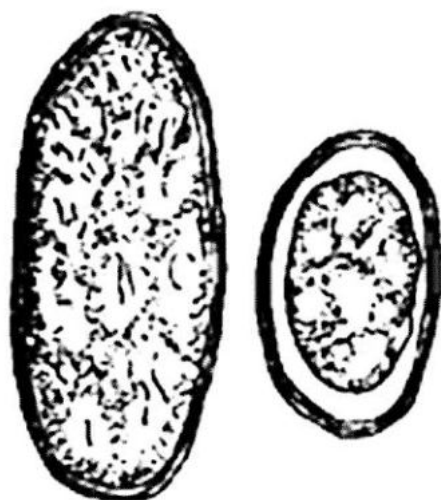


Рис. 39. Продольный срез вегетативной (слева) и покоящейся (справа) форм риккетсий Провачека (по Здродовскому П.Ф. и Голиневич Е.М., 1972)

Риккетсии способны к биосинтезу белка, но не могут самостоятельно получать макроэргические соединения, поэтому их можно назвать «энергетическими паразитами» клеток-эукариотов. В связи с этим, для культивирования риккетсий обычно заражают куриные эмбрионы в желточный мешок (метод Кокса), культуры клеток. Реже заражают чувствительных лабораторных животных: морских свинок, белых мышей.

Риккетсии относятся к порядку *Rickettsiales*. Наиболее значимые возбудители относятся к семействам *Rickettsiaceae*, *Anaplasmataceae*, *Ehrlichiaeae*. Переносчиками возбудителей являются вши, блохи, клещи. Большинство болезнетворных для человека видов риккетсий входит в состав семейства *Rickettsiaceae*,

роды *Rickettsia*, вызывая лихорадку скалистых гор (*Rickettsia rickettsii*), клещевой риккетсиоз (*Rickettsia sibirica*) и другие.

Риккетсии хорошо окрашиваются по Романовскому–Гимзе в сиреневый цвет, по Морозову (методом серебрения) в черный цвет. Специфическим методом выявления риккетсий является окраска по Здродовскому (рис. 40). Риккетсии окрашиваются в рубиново-красный цвет и легко обнаруживаются на фоне голубой цитоплазмы и синего ядра клеток.

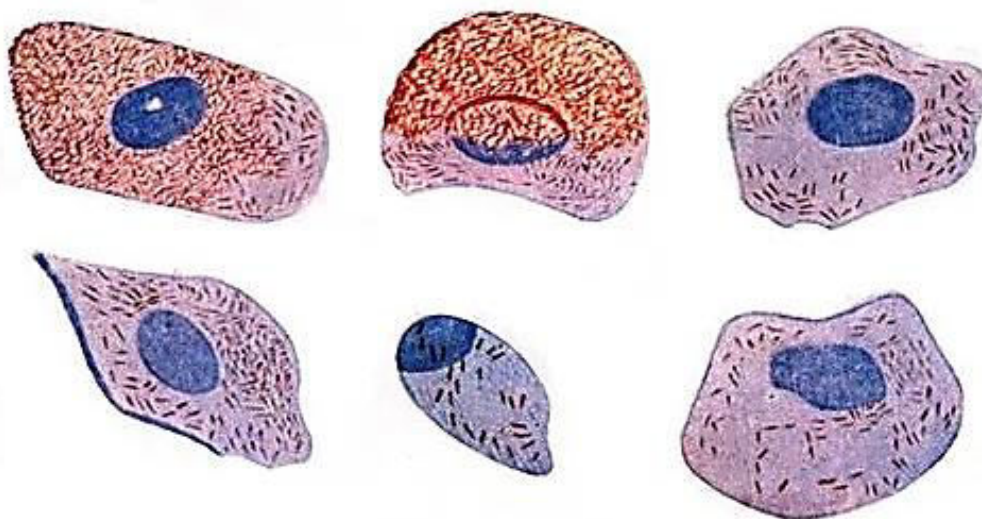


Рис. 40. Риккетсии (по П.Ф. Здродовскому)

Хламидии

Хламидии – неподвижные, облигатно паразитические, кокковидные бактерии. Размножаются только внутри связанных с мембраной вакуолей в цитоплазме клеток человека, млекопитающих, птиц. Размножение происходит в ходе уникального цикла развития. Основными стадиями жизненного цикла хламидий являются:

1. *Элементарные тельца* – мелкие (0,2–0,5 мкм) электронно-плотные шаровидные структуры, лишенные метаболической активности, имеющие компактный нуклеоид и ригидную клеточную стенку, которые фильтруются через бактериальные фильтры. Они являются инфекционным началом хламидий и обеспечивают выживание хламидий во внеклеточной среде и заражение новых клеток.

2. *Ретикулярные тельца* – более крупные (0,8–1,5 мкм), сферические образования, имеющие сетчатую структуру с тонкой клеточной стенкой и фибриллярным нуклеоидом. Они образуются из элементарных телец внутри клеток и, подвергаясь делению, обеспечивают репродукцию хламидий. Ретикулярные тельца являются вегетативной формой хламидий.

3. *Промежуточные тельца* – промежуточная стадия между элементарными и ретикулярными тельцами.

Жизненный цикл хламидий начинается с того, что элементарные тельца проникают в клетку-хозяина (эндоцитозм), а затем в течение нескольких часов реорганизуются, увеличиваются в размерах и превращаются в ретикулярные тельца, которые размножаются путем поперечного деления.

Жизненный цикл заканчивается, когда возникающие промежуточные формы уплотняются, уменьшаются в размерах и превращаются в элементарные тельца. Размножаясь внутри цитоплазматических вакуолей, хламидии образуют *микроколонии (хламидийные включения)*, окруженные мембраной. В составе микроколоний обнаруживаются все три стадии развития хламидий. После разрыва стенки вакуоли и мембраны клетки-хозяина, вновь образовавшиеся хламидии высвобождаются, и элементарные тельца, инфицируя другие клетки, повторяют цикл развития (рис. 41). В оптимальных условиях роста в эукариотических клетках жизненный цикл хламидий составляет 17–40 ч.

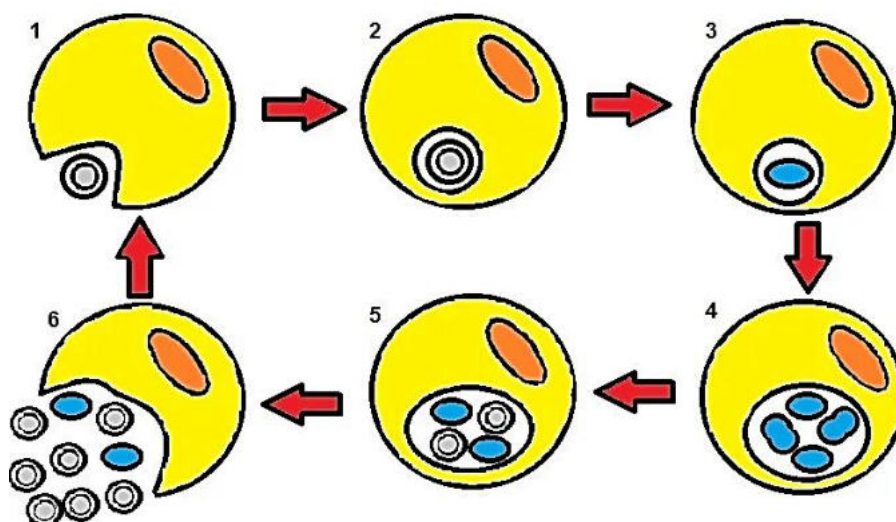


Рис. 41. Жизненный цикл хламидий: 1 – проникновение элементарного тельца в клетку-хозяина; 2 – образование эндосомы; 3 – реорганизация элементарного тельца в ретикулярное; 4 – бинарное деление, образование микроколоний; 5 – превращение промежуточных телец в элементарные; 6 – выход элементарных телец из разрушенной клетки

Хламидии хорошо размножаются в желточном мешке куриного эмбриона, а также в культурах клеток различных позвоночных. Зависимость хламидий от клеток-эукариотов объясняется их неспособностью аккумулировать и использовать энергию, так как они не могут синтезировать АТФ. В этом отношении хламидии похожи на риккетсий, в связи с чем, эти микроорганизмы также называют «энергетическими паразитами».

Своеобразие хламидий проявляется и в строении их клеточной стенки. Она лишена пептидогликана и представляет собой двухслойную мембрану, ригид-

ность которой определяют пептиды, перекрестно сшитые дисульфидными мостиками. В остальном хламидии напоминают грамотрицательные бактерии, так как содержат гликолипиды, сходные с липополисахаридами.

Порядок *Chlamydiales* включает одно семейство *Chlamydiaceae* с двумя родами *Chlamydia* и *Chlamydophila*. Для человека патогенны виды *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila psittaci*, *Chlamydophila pneumoniae*. Хламидии вызывают у людей заболевания глаз, дыхательной и мочеполовой систем и объединяются под общим названием «хламидиозы».

Для микроскопического обнаружения хламидийных включений (микроколоний) в инфицированных клетках (тканях) применяют различные методы окрашивания: Романовского–Гимзы и др. При окрашивании по Романовскому–Гимзе хламидии приобретают голубой или фиолетовый цвет (рис. 41).

Кроме того, хламидии хорошо видны и в неокрашенном состоянии при микроскопии влажных препаратов под стеклом с помощью фазово-контрастной микроскопии. В настоящее время для выявления хламидий можно применять иммунофлюоресценцию.

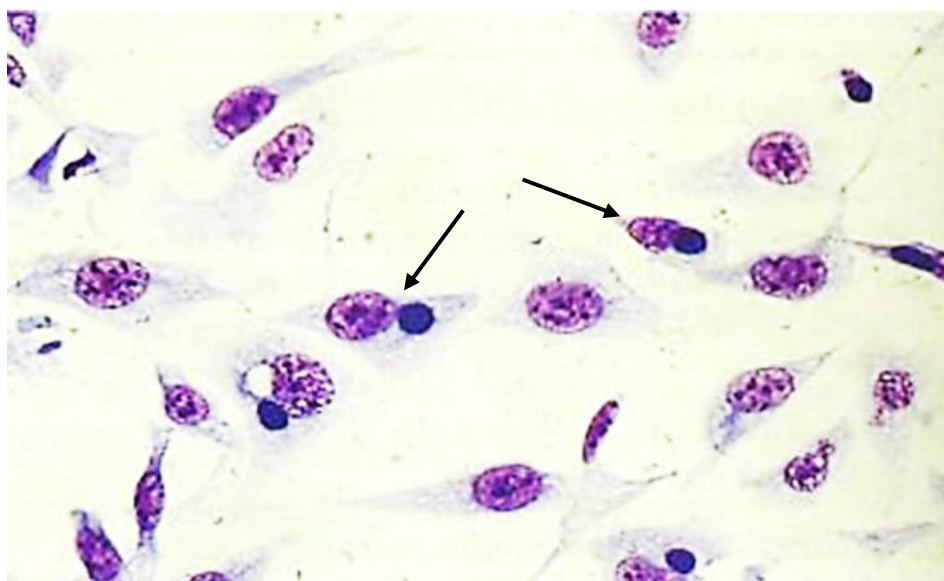


Рис. 41. Хламидийные включения

Раздел 2. МИКРООРГАНИЗМЫ-ЭУКАРИОТЫ. ГРИБКИ

Грибки – это одноклеточные или многоклеточные эукариотические организмы, которые занимают промежуточное положение между растениями и животными (табл. 2).

Таблица 2

Сходство у грибов с растениями и животными

Растения	Животные
Питание путем всасывания (абсорбция)	Гетеротрофный тип питания
Неподвижность	Образование мочевины
Неограниченный верхушечный рост	Запас углеводов в форме гликогена
Способность к синтезу витаминов	Структура цитохромов
Наличие клеточной стенки	Наличие хитина в клеточной стенке
Размножение спорами	Отсутствие хлорофилла

2.1. Классификация и строение грибов

Из ныне известных свыше 250 тысяч видов грибов для человека патогенны не более 500. Заболевания, которые они вызывают, называются микозами. Единой общепринятой классификации грибов нет, а существующие классификация грибов преследует в основном практические цели, в основе их лежит морфоструктурная организация и способ размножения.

Грибки отнесены к царству *Fungi (Mycota)*, подразделяемому на отделы *Мухомycota* (грибы слизевики) и *Еumycota* (истинные грибы).

Истинные грибы, клетки которых не имеют перегородок, известны как *низшие* грибки. К ним относят классы *Chytridiomycetes*, *Hyphochry-tidiomycetes*, *Oomycetes*, *Zygomycetes*. Представители классов *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* и *Deuteromycetes* – это *высшие* грибки, так как их нитевидные клетки имеют перегородки-септы. Некоторые представители этих классов, вызывающих заболевания у человека.

Строение грибной клетки типичное для эукариотов. Клетка грибов в большинстве покрыта твердой оболочкой – клеточной стенкой, которая на 80–90% состоит из полисахаридов. У большинства грибов основным полисахаридом является хитин, маркер грибов, полимер N-ацетилглюкозамина. Кроме того, в составе стенки в небольшом количестве имеются белки, липиды и полифосфаты. Под клеточной стенкой расположена цитоплазматическая мембрана, окружающая внутреннюю часть клетки – протопласт.

В цитоплазме грибка содержатся белки, аминокислоты, углеводы, липиды. Митохондрии грибов сходны в основном с митохондриями высших растений,

Лизосомы содержат протеолитические ферменты. В клетках грибов есть *сегресомы* и *хитосомы*, которые присущи только грибкам. Сегресомы – вакуолеподобные структуры, ограничивающие поступление в клетку гидрофобных веществ, например, углеводов. Хитосомы представляют собой органеллы, содержащие фермент хитинсинтазу, необходимый для синтеза хитина. Так же в цитоплазме клетки содержатся вакуоли, наполненные запасными веществами, такими как волютин, липиды, гликоген, а также жирные кислоты.

Ядро содержит ядрышко и хроматиновую сеть, клетки могут быть многоядерными.

У грибов существует 2 типа роста: *гифальный рост* (*гифомицеты*, *плесневые грибки*) и *дрожжевой рост* (*бластомицеты*). Разница между дрожжевыми и плесневыми грибами скорее кажущаяся, чем действительная. Метаболизм этих форм практически одинаков, и тип роста скорее связан с механизмами клеточного деления.

Вегетативное тело гифомицетов (плесеней) состоит из клеток – нитей, сильно разветвленных и называемых *гифами*. Низшие грибки являются одноклеточными, так как не имеют поперечных перегородок-септ в гифах. Высшие грибки многоклеточные, их гифы разделены септами на отдельные клетки, с общей оболочкой. Септы имеют в центре пору, через которую цитоплазма может перетекать из одной клетки в другую (рис. 42).

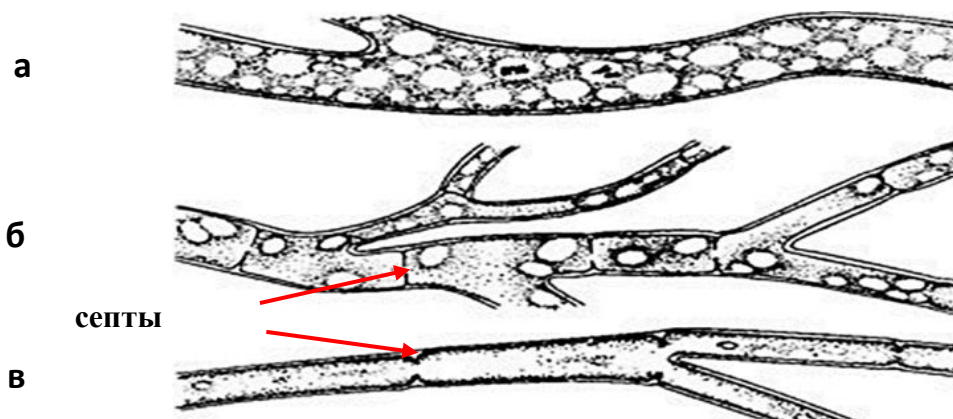


Рис. 42. Мицелий грибов: несептированный (а); септированный (б, в)

Совокупность гифов образует *мицелий* (грибницу). Мицелий может быть субстратный (вегетативный), он врастает в питательную среду. Такой мицелий обычно бывает весьма обильным, с большой общей поверхностью, через него осмотическим путем происходит всасывание воды и питательных веществ. Мицелий, растущий на поверхности среды, называют воздушным или репродуктивным, так как содержит особые структуры – споры, обеспечивающие размножение грибов. Мицелий называется истинным, если все септированные гифы

имеют общую клеточную стенку; если мицелий состоит из изолированных удлиненных клеток, образующихся в результате почкования одноклеточных грибов без отхождения дочерних клеток, то это *псевдомицелий*. Общую оболочку псевдомицелий, в отличие от истинного, не имеет.

Бластомицеты (дрожжи) – представляют собой одноклеточные грибки. Они могут быть различной формы: эллиптической, овальной, шаровидной и палочковидной. Форма и размеры дрожжевых клеток непостоянны и зависят от рода и вида, а также от условий культивирования, состава питательной среды и других факторов. При выращивании бластомицетов в лабораторных условиях на плотных питательных средах колония дрожжей представляет скопление огромного числа клеток разной величины (результат почкования), они похожи на бактериальные – гладкие, пастообразные, вырастают через 24–48 ч.

Для некоторых грибов характерен *диморфизм* – способность грибов к гифальному или дрожжеподобному росту (рис.43). Способность к диморфизму у таких грибов обусловлена стадией жизненного цикла или условиями культивирования.

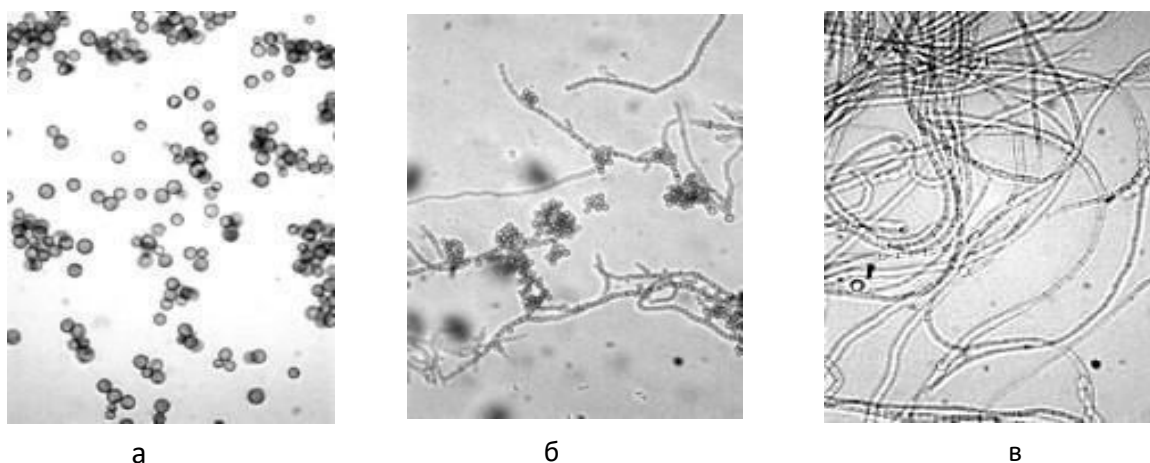


Рис. 43. Три состояния культуры диморфного гриба *Phaeococcomyces chersonesos*: дрожжевая (а), смешанная (б), мицелиальная (в) (<https://studfile.net>)

Диморфизм характерен для возбудителей системных (глубоких) микозов человека – бластомикоза (*Blastomyces dermatitidis*), гистоплазмоза (*Histoplasma capsulatum*) и кокцидиоидомикоза (*Coccidioides immitis*). В организме хозяина они образуют дрожжеподобные клетки, а на питательных средах растут в виде мицелиальных форм.

У грибов рода *Candida*, который является возбудителем одного из самых распространенных микозов человека (кандидоза), оба морфологических варианта сосуществуют в зараженном организме. Обычно *C. albicans* представлены дрожжеподобными клетками, которые могут формировать цепи из удлиненных клеток – псевдогифы.

2.2. Размножение грибов

Особенностью грибов является большое разнообразие способов и органов размножения. Грибы размножаются половым и бесполом размножением. Грибы, имеющие только бесполое размножения, относятся к *несовершенным грибкам*. Грибы, которые размножаются бесполом и половым способом, являются *совершенными грибами*.

Бесполое размножение осуществляется вегетативным путём (фрагментацией мицелия; почкованием; хламидоспорами; артростпорами) и бесполоыми спорами (зооспорами, эндоспорами, конидиями).

При фрагментации мицелия отдельные клетки могут давать начало новому мицелию. Почкование заключается в формировании дочернего организма из материнской особи в виде выпячивания тела клетки. Начинается этот процесс бесполого размножения с деления ядра. Образовавшийся центр клетки перемещается в вырост, который появляется на материнском теле. Затем происходит образование перетяжки (рис. 44).

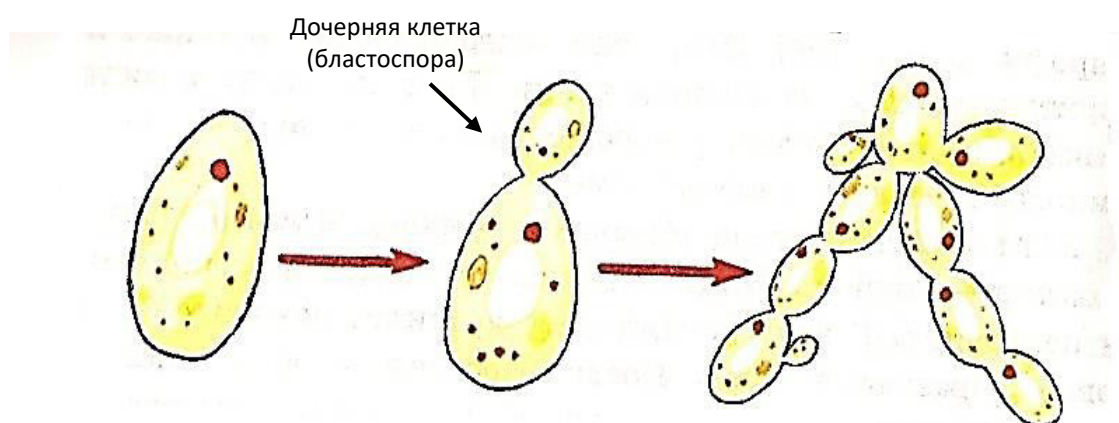


Рис. 44. Почкование у дрожжей

Данный вариант деления присущ для дрожжей – это одноклеточные грибы, которые бывают круглой или овальной формы.

Другой способ вегетативного размножения – образование *хламидоспор* и *артростпор* (рис. 45). Хламидоспоры образуются в результате увеличения гифальных клеток с образованием толстой оболочки. Они имеют более твердую оболочку и предназначены для перенесения неблагоприятных условий. Артростпоры образуются путём фрагментации гиф на отдельные клетки, дающие новый мицелий.

У некоторых грибов для размножения служат *склероции* – твердые образования из уплотненных гиф.

При размножении бесполыми спорами образуются специальные плодоносящие гифы воздушного мицелия. У высших грибов на кончике плодоносящей гифы образуются специальные вытянутые клетки, на которых формируются цепочки из экзоспор – *конидий*, расположенных снаружи гифы. Такая гифа, на которой образуются конидии называется *конидиеносцем*. Конидиеносцы имеют разную форму. Верхушка может быть разветвлена в виде кисточек (*Penicillium glaucum*, рис. 46) или булавовидно утолщена (*Aspergillus niger*, рис. 47). Форма и расположение конидий характерны для различных видов грибов и используются в качестве признака их идентификации.

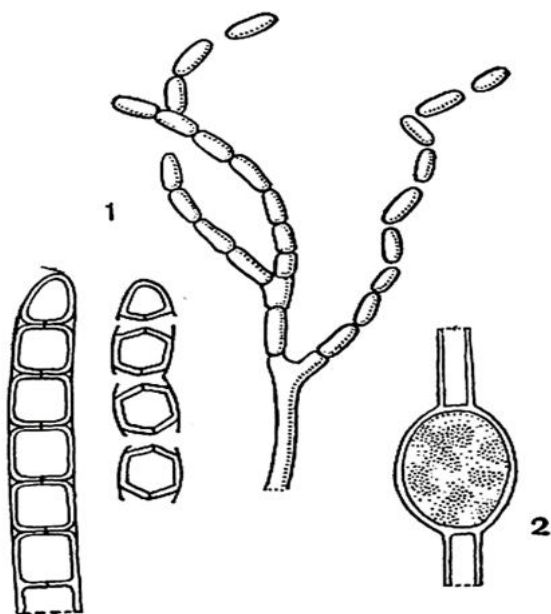


Рис. 45. Вегетативное размножение грибов: 1 – артроспоры; 2 – хламидоспора (<https://sites.google.com>)

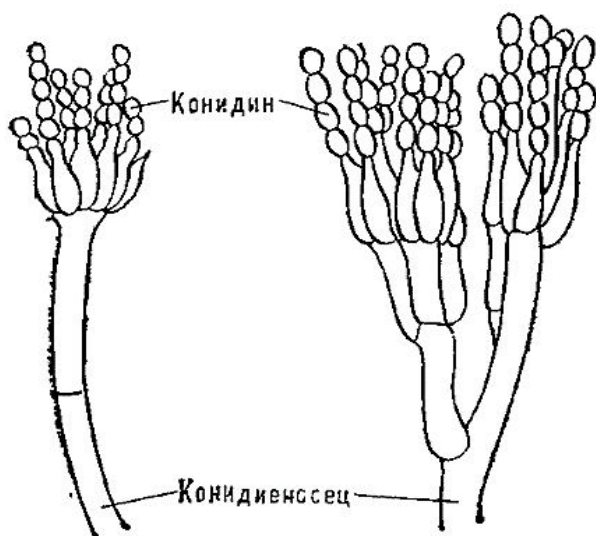


Рис. 46. Бесполое размножение грибов: конидиеносцы, конидии *Penicillium glaucum* (<https://cf.ppt-online.org>)

У низших грибов (*Mucor mucedo*, рис. 48) споры формируются внутри шаровидных мешочков – *спорангиев*, внутри которых формируются внутренние споры – *эндоспоры* (*спорангиоспоры*). Плодоносящая гифа, на которой образуются спорангии называется *спорангиеносцем*. У многих низших грибов бесполое

размножение происходит при помощи подвижных зооспор, которые снабжены жгутиками и способных к самостоятельному движению в воде. Развитие зооспоры происходит в зооспорангиях.

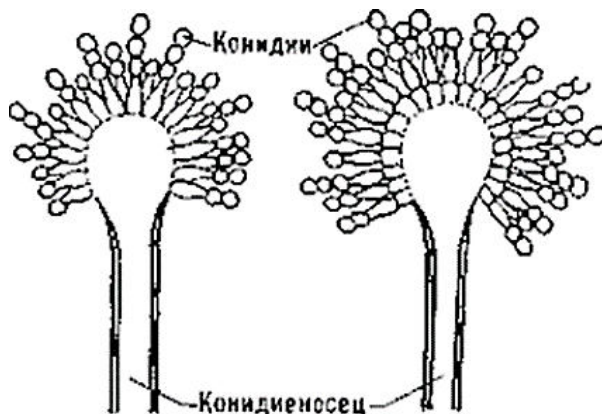


Рис. 47. Бесполое размножение грибов: конидиеносцы, конидии *Aspergillus niger* (<https://thepresentation.ru>)

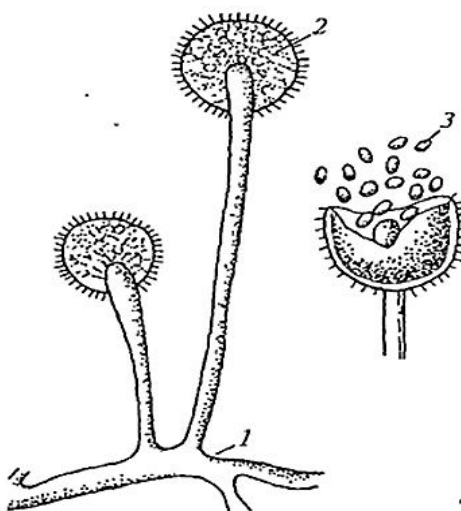


Рис. 48. Бесполое размножение *Mucor mucedo*: 1 – гифы; 2 – спорангий; 3 – эндоспоры (<https://konspekta.net>)

Половое размножение предназначено для рекомбинации генов, сохранения грибка в неблагоприятных условиях, оно также способствует генетической стабилизации видов. Половое размножение происходит у всех групп грибов, кроме *дейтеромицетов* (*Deutoromycetes*).

Половые споры образуются в результате слияния двух клеток: специальных половых клеток – гамет или обычных вегетативных клеток мицелия (у базидиомицетов).

В результате слияния (оплодотворения) образуется зигота. На развивающихся из зиготы гифах образуются органы полового размножения – *сумки* (*аски*) у аскомицетов и *базидии* у базидиомицетов.

Сумки представляют собой округлые, булабовидные или цилиндрические клетки, внутри которых образуются аскоспоры. Базидиями называются структуры, состоящие из 2, 4-х клеток. У некоторых низших грибов (зигомицетов) верхушки расположенных близко друг к другу гифов сливаются, происходит мейоз, и образуются крупные *зигоспоры* с толстыми стенками (рис. 49).

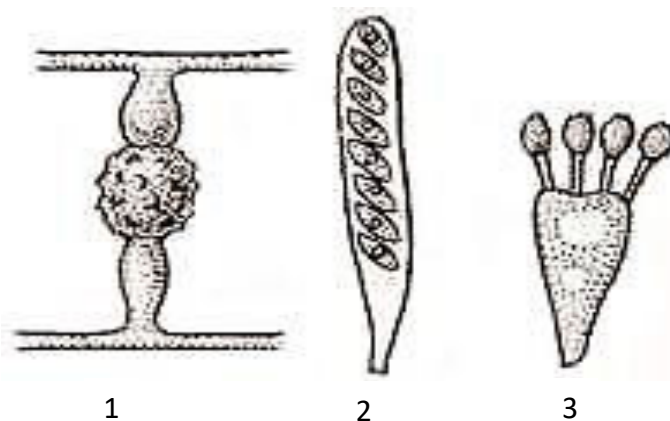


Рис. 49. Виды половых спор: 1 – зигоспора; 2 – сумка (аск) с аскоспорами; 3 – базидии с базидиоспорами (<https://spravochnick.ru>)

2.3. Роль грибов в патологии человека

Многие грибы являются патогенными грибами. Различают три основных типа прямого поражения человека грибами:

- инфекционное (микозы кожи и других органов);
- токсическое (мицетизм, микотоксикоз);
- сенсibiliзирующее (микогенная аллергия).

В настоящее время насчитывается около 500 истинно патогенных видов грибов, способных вызывать микозы у здорового человека: одни виды являются причиной системных инфекций, другие – поражают кожу и подкожную клетчатку, некоторые – только кожу. Большое количество грибов относится к условно-патогенным возбудителям, вызывающим заболевания только при снижении колонизационной резистентности кожи, слизистых оболочек и общей резистентности организма (чаще всего при иммунодефицитных состояниях).

По характеру первичной локализации патогенных грибов, патогенезу и клиническим проявлениям выделяют четыре группы микозов:

- 1) кератомикозы, поверхностные микозы (лишай, трихоспория) – поражаются волосы и роговой слой эпидермиса;
- 2) дерматофитию, эпидермомикозы (эпидермофития стоп, трихофития, микроспория) – поражаются эпидермис, волосы, ногти;
- 3) подкожные микозы – поражается кожа, подкожная клетчатка, фасции, кости;

4) глубокие, системные микозы (бластомикозы, гистоплазмоз, кокцидиоз, споротрихоз) – характеризуются поражением внутренних органов, частой диссеминацией.

Грибки, наиболее часто вызывающие микозы, относятся к следующим классам:

- *Zygomycetes* – зигомицеты. Представители этого класса характеризуются хорошо развитым неклеточным многоядерным мицелием. Зигомицеты развиваются в почве, на пищевых продуктах, в навозе, в растениях и могут паразитировать в организме животных и человека.

Бесполое размножение осуществляется неподвижными спорангиоспорами, реже конидиями; половой процесс (зигогамия) – зигоспорами. Медицинское значение имеют грибки рода *Mucor* (*Mucor mucedo*).

Мукоровые грибки образуют разветвленный мицелий, напоминающий паутину, обычно стелющийся по субстрату. Он состоит из бесцветных гиф, сильно ветвится и обычно не имеет перегородок. На довольно толстых гифах образуются органы бесполого размножения – спорангиеносцы со спорангиями (рис. 50).



Рис. 50. *Mucor spp.* Нативный препарат (<https://4.bp.blogspot.com>)

Спорангии мукоровых имеют вид темных, хорошо видимых головок, благодаря чему эти грибки получили название головчатых плесеней. При созревании спорангия в нем образуется огромное количество спорангиоспор, которые после освобождения из спорангиев прорастают и дают начало новому мицелию. Головчатая плесень может вызывать у человека *мукорозы* – поражение легких, кератиты, отиты, вульвовагиниты, поражение печени, почек и других органов.

- *Ascomycetes* – аскомицеты. Аскомицеты или сумчатые грибки – один из крупнейших классов, включает около 30% всех известных видов грибов. Аско-

мицеты обитают как сапрофиты в почве, на разнообразных растительных субстратах (древесина, отмершие растения), в морях или пресных водоемах на погруженной в воду древесине. Большинство видов аскомицетов паразитируют на различных организмах – на растениях (водорослях, лишайниках и высших растениях), на животных и человеке, нередко вызывают серьезные заболевания.

Сумчатые грибки имеют многоклеточный септированный мицелий. При половом процессе размножаются аскоспорами (споры развиваются в особых сумках – асках). Бесполое размножение осуществляется конидиями. Входящие в этот класс грибы чрезвычайно разнообразны по строению. Патогенные грибки относятся к родам *Aspergillus*, *Penicillium*, *Saccharomyces*. Представители рода *Aspergillus* (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*) имеют прямостоящие конидиеносцы, на концах имеется шаровидных вздутий, несущих стеригмы, расположенные радиально на поверхности всего вздутия (рис. 51).



Рис. 51. *Aspergillus* spp. Нативный препарат (<https://4.bp.blogspot.com>)

При малом увеличении микроскопа верхушка конидиеносца аспергилла, несущая цепочки конидий, внешне очень похожа на наконечник лейки, из отверстий которого льются струйки воды. Поэтому русское название аспергилла – лечный грибок. Однако точный перевод аспергилла будет «косматая голова». «Лечная» плесень у человека вызывает *аспергилез* – поражения легких, бронхов, роговицы глаз, ушей, мочеполовых и других органов.

Род *Penicillium* («кистевик») имеет многоклеточные конидиеносцы, которые разветвляются в верхней части и заканчиваются стеригмами, расположенными в виде кисточек (рис. 52). От стеригм отшнуровываются конидии, одноклеточные, круглые или овальные, в массе часто зеленоватого цвета. Строение кисточки у различных видов пенициллов различно, оно положено в основу систематики рода.

Более 30 видов рода *Penicillium* вызывают заболевания у людей, например, такие как *Penicillium glaucum*, *P. minutum*, *P. album* и др. Заболевания называются пенициллиозы, поражаются кожа, ногти, уши, верхние дыхательные пути и легкие, а также возникает генерализованная инфекция с образованием внутренних очагов во внутренних органах. К роду *Saccharomyces* относятся дрожжи. Дрожжевые клетки имеют округлую, овальную или вытянутую форму, размером 8–10 мкм, двухконтурную оболочку. В цитоплазме включения в виде гранул гликогена, волютина, липидов. Размножение почкованием и аскоспорами. Дрожжи вызывают многочисленные дрожжевые микозы.

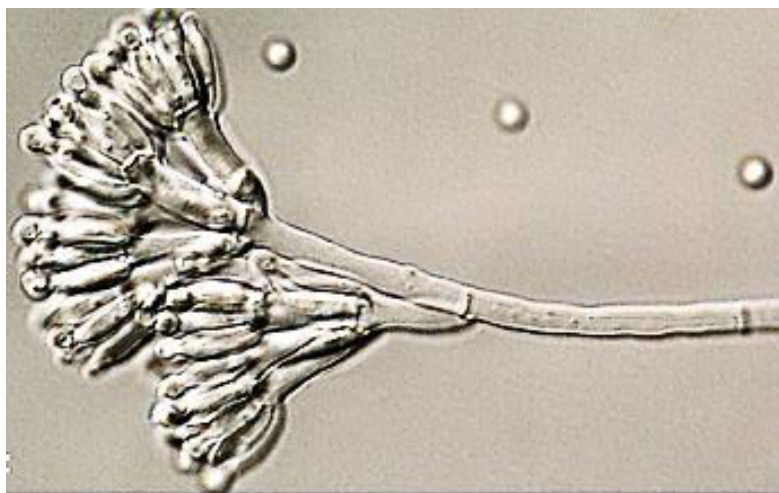


Рис. 52. *Penicillium* spp. Нативный препарат <https://www.bcrc.firdi.org.tw/fungi>

• ***Deuteromycetes (Fungi imperfecti)*** – несовершенные грибки. Вегетативное тело дейтеромицетов – хорошо развитый, ветвящийся, гаплоидный мицелий, состоящий обычно из многоядерных клеток, сходный по строению с мицелием сумчатых грибов. В мицелии всегда присутствуют септы (перегородки), обычно с простыми порами, как у аскомицетов. Они размножаются только бесполым путем – конидиями, а половые (совершенные) стадии у них отсутствуют. Конидии дейтеромицетов разнообразны по строению. Они могут быть одноклеточными или с различным числом перегородок. По форме они шаровидные или эллипсоидные, но у некоторых видов известны нитевидные, звездчатые или спирально закрученные конидии. Окраска конидий светлая или темная, буро-коричневая. Ряд представителей несовершенных грибков являются возбудителями дерматомикозов (рис. 53): фавуса (*Achorion schonleinii*), трихофитии (*Trichophyton violaceum*, *T. mentagrophytes*), микроспории (*Microsporum lanosum*, *M. canis*), эпидермофитии (*Epidermophyion inguinale*).

Так же заболевания вызывают представители рода *Candida* (рис. 54.). Они очень широко распространены в природе. Наиболее патогенными и чаще встре-

чаемыми являются *Candida albicans* и *C. tropicalis*. У людей эти грибки выявляются на коже, слизистых ротовой полости, желудочно-кишечного тракта, мочеполовых органов. Они часто встречаются на фруктах, овощах и других пищевых продуктах, в сточных водах бань, в промывных водах столовых, буфетов, ресторанов и пр. Заражение людей может происходить экзогенно, из окружающей среды и эндогенно – грибками из полости рта, желудочно-кишечного тракта.



а



б

Рис. 53. *Trichophyton violaceum* (а); *Microsporum canis* (б).

Нативные препараты (<https://farm8.staticflickr.com/>; <https://cf2.ppt-online.org>)

Кандиды поражают кожу межпальцевых участки рук и ног, паховые складки, ногти, ногтевые валики, слизистые оболочки губ, язык, слизистые зева, пищевода, внутренние органы. Развитию кандидоза способствуют разнообразные факторы: поражение слизистой оболочки, хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, нарушение витаминного баланса, дисбиоз, иммунодепрессия, длительное лечение антибиотиками и кортикостероидами, радиоактивное облучение и пр.

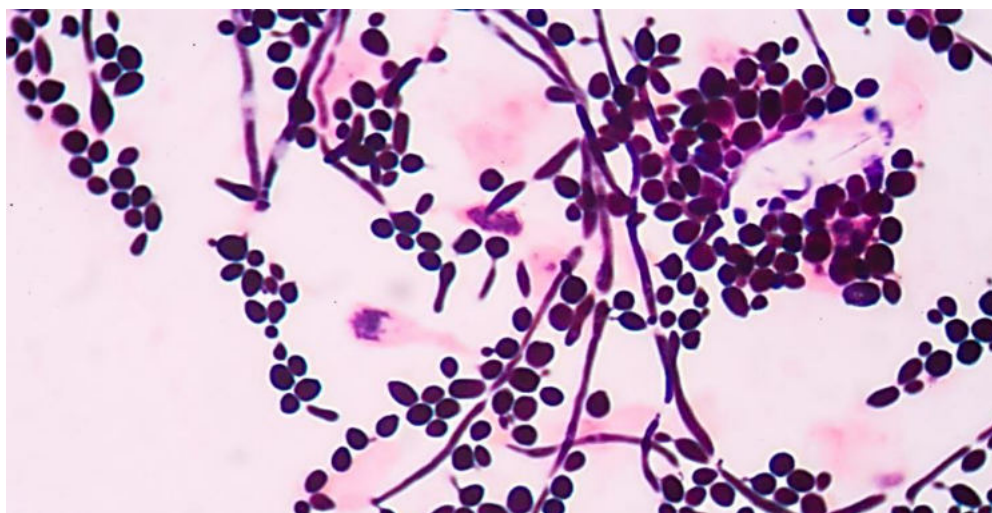


Рис. 54. *Candida albicans*. Окраска по Граму (<https://blog.microbiologics.com>)

В последнее время патогенные дейтеромицеты нередко вызывают генерализованные поражения. Тяжелые генерализованные микозы с летальным исходом у людей вызывают *Coccidioides immitis* (кокцидиомикоз), *Histoplasma capsulatum* (гистоплазмоз) и *Cryptococcus neoformans* (криптококкоз).

Так как грибки способны синтезировать токсины, то при попадании их в организм человека они оказывают токсическое действие, вызывая *мицетизм* либо *микотоксикоз*. *Мицетизм* – это отравление либо первично ядовитыми грибами при их случайном употреблении в пищу, либо съедобными грибами при нарушении технологий приготовления или хранения. Мицетизм возникает при действии токсических пептидов грибов на пищеварительную, нервную системы или менее специфичным поражением клеток и тканей тела. *Микотоксикозы* – это отравление ядовитыми веществами токсинообразующих грибов, паразитирующих на растениях (например, злаковые), которые используют для приготовления продуктов питания. Токсины этих грибов, сохраняют свои ядовитые свойства в период хранения урожая, а также при переработке растений. Употребление таких продуктов вызывает отравления у человека.

Многие грибки вызывают специфическую сенсibilизацию организма человека, проявляющуюся своеобразными аллергическими заболеваниями. Проявляться *микогенная сенсibilизация* может общими симптомами (например, типа сенной лихорадки) или кожными сыпями (микидами).

2.5. Методы исследования грибов

Для микроскопического исследования готовят как нативные (неокрашенные), так и окрашенные препараты. Нативные препараты готовят по типу «раздавленная капля» и микроскопируют в фазово-контрастном или световом микроскопе. Для исследования грибов в окрашенном виде используют простые окраски (лактофуксин или лактофенол) или сложные методы (по Романовскому–Гимзе, по Граму, Цилю–Нильсену).

Раздел 3. ФИЗИОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ

Физиология микроорганизмов – это раздел общей микробиологии, изучающий особенности развития, питания, энергетического обмена и других процессов жизнедеятельности микроорганизмов. Изучение физиологии патогенных и условно-патогенных микроорганизмов важно для постановки микробиологического диагноза, понимания патогенеза, назначения лечения и проведения профилактики инфекционных заболеваний, а также для регуляции взаимоотношений человека с окружающей средой и т.д.

Микроорганизмы, как и все другие организмы, для существования и воспроизводства себе подобных нуждаются в постоянном обмене веществ с окружающей средой. Включение тех или иных соединений внешней среды в клеточные реакции любого характера обуславливает питание бактерий.

Превращения веществ в клетке (*метаболизм*) представлены противоположными, но взаимосвязанными процессами *катаболизма*, или энергетического метаболизма, и *анаболизма*, или пластического (конструктивного) метаболизма. В ходе ферментативных катаболических реакций происходит выделение энергии, которая аккумулируется в молекулах АТФ. В процессе анаболических реакций эта энергия расходуется на синтез органических соединений.

3.1. Химический состав бактериальной клетки

Для понимания процессов обмена веществ необходимо знать химический состав микроорганизмов. Микроорганизмы содержат те же химические вещества, что и клетки всех живых организмов.

В основном бактериальная клетка состоит из воды (80–90 % общей массы). Вода находится в свободном и связанном состоянии. Свободно содержащаяся в клетке вода необходима бактериям как растворитель органических и минеральных соединений; дисперсионная среда – для коллоидов, является источником водородных и гидроксильных ионов; фактором осмотического давления.

Сухой остаток (10–20 % массы бактерий) представляет собой смесь органических и минеральных соединений, основу которых составляют четыре элемента (так называемые органогены) – азот, углерод, водород и кислород, присутствующие в различных сочетаниях в молекулах и свободном состоянии.

Минеральный состав бактерий характеризуют фосфор, сера, натрий, магний, калий, кальций и др. Среди минеральных веществ есть элементы, содержащиеся в клетке в очень малых количествах. Они участвуют в синтезе некоторых ферментов и активируют их. К так называемым микроэлементам относятся кобальт, марганец, медь, хром, цинк, молибден и др.

Органические компоненты химического состава бактерий представляют белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды, витамины и др.

3.2. Питание бактерий

Одним из самых необходимым химическим элементом для бактерий является углерод, так как он составляет основу белков, углеводов, жирных кислот и т.д. По источнику углерода бактерии делятся на две большие группы: автотрофы и гетеротрофы (рис. 55).



Рис. 55. Классификация бактерий по источнику углерода

Автотрофы (от греч. *autos* – сам и *trophe* – пища, питание) – бактерии, которые синтезируют все необходимые для жизни органические вещества из неорганических веществ (в основном, двуокиси углерода, карбонатов). *Гетеротрофы* (греч. *heteros* – другой, разный и *trophe* – питание) – организмы, использующие для своего питания готовые органические соединения. В зависимости от индивидуальных особенностей микроорганизмов источником углерода могут быть спирты, углеводы, ароматические соединения, органические кислоты. Гетеротрофы, в свою очередь, разделяются на *сапрофиты*, живущие за счет органических соединений, поступающих в бактериальную клетку из внешней среды (продукты гниения), и *паразиты*, способные утилизировать только продукты метаболизма внутри живой клетки. Паразитизм может быть *факультативным* и *абсолютным* или *облигатным*.

Для роста микроорганизмов так же необходим азот, который входит в состав органических соединений или солей в разной степени восстановления. Это

могут быть соли аммония, нитраты или отдельные аминокислоты. Для удовлетворения потребности бактерий в азоте используют также продукты неполного расщепления белков животного происхождения – гидролизаты, пептоны и сложные белковые смеси – нативную сыворотку животных, асцитическую жидкость и др.

Кроме углерода, азота и других химических элементов, многие бактерии нуждаются в факторах роста, к которым относятся витамины, основания нуклеиновых кислот и другие биологически активные вещества. Поэтому признаку микроорганизмы можно разделить на две группы: *ауксотрофы*, для которых в среде необходимо наличие одного или нескольких факторов роста и *прототрофы*, они могут сами синтезировать факторы роста и не нуждаются в добавлении их в питательные среды.

Для осуществления процессов метаболизма питательные вещества проникают в бактериальную клетку извне через цитоплазматическую мембрану, при этом, клеточная стенка не служит препятствием для прохождения ионов и мелких молекул. Высокомолекулярные соединения сначала расщепляются ферментами микробных клеток, а затем поглощаются ею.

Различают следующие механизмы транспорта:

- 1) простая или пассивная диффузия;
- 2) облегченная диффузия;
- 3) активный транспорт;
- 4) транслокация радикалов.

Простая (пассивная) диффузия идет по градиенту концентрации (рис. 56), затрат энергии при этом не происходит. Путем простой диффузии в клетку проникают вода, чужеродные для нее вещества – яды, ингибиторы, лекарственные препараты. Простая диффузия не специфична, для нее имеет значение только величина молекул.

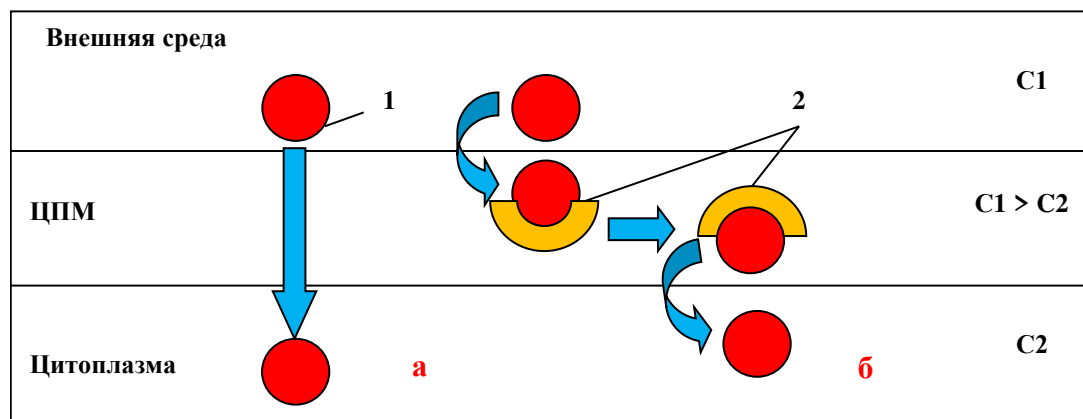


Рис. 56. Простая (а) и облегченная (б) диффузия: ЦПМ – цитоплазматическая мембрана, С – концентрация веществ/ионов, транспортируемые вещества (1), белки – пермеазы (2)

Облегченная диффузия осуществляется по градиенту концентрации, без затрат энергии, с участием мембранных белков-переносчиков *пермеаз*. Пермеазы на внешней стороне клетки соединяются с субстратом, переносят его в клетку, где комплекс расщепляется с высвобождением субстрата (рис. 56). При облегченной диффузии в клетку проникают те молекулы, концентрация которых в цитоплазме ниже, чем в окружающей среде.

Активный транспорт идет против градиента концентрации. Он тоже происходит с участием субстратных белков ферментов, но при этом затрачивается энергия, а проникшие в клетку вещества накапливаются в ней (рис. 57).

Транслокация радикалов. При транслокации радикалов происходит химическая модификация переносимых молекул, тогда как при пассивной диффузии, облегченной диффузии и активном транспорте они поступают в клетку в химически неизменном виде (рис. 57).

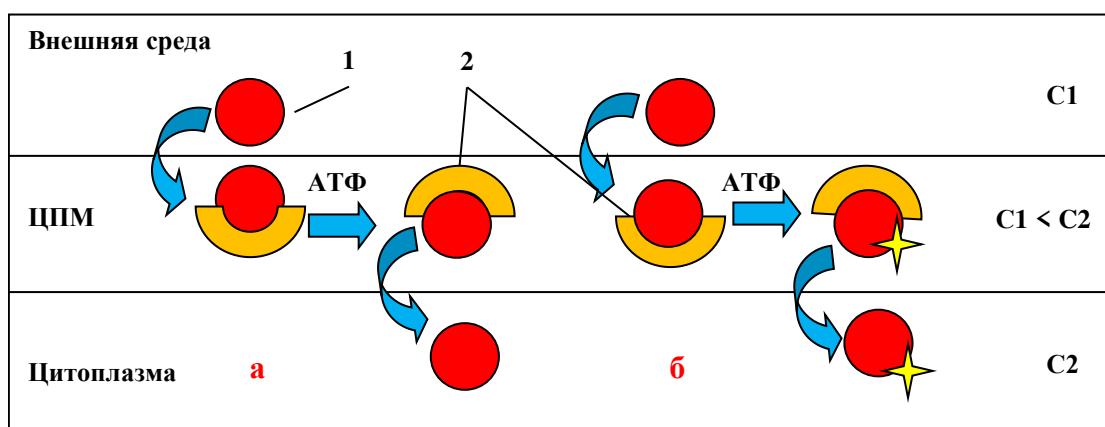


Рис. 57. Активный транспорт (а) и транслокация радикалов (б): ЦПМ – цитоплазматическая мембрана, С – концентрация веществ/ионов, транспортируемые вещества (1), белки – пермеазы (2)

Бактериальная клетка выделяет продукты метаболизма, ферменты, токсины. Синтезируемые в бактериальных клетках соединения выходят из них тремя путями:

1. **Фосфотрансферазная реакция.** Происходит при фосфорилировании переносимой молекулы.

2. **Котрансляционная секреция** (сигнальный транспорт). В этом случае синтезируемые молекулы должны иметь особую лидирующую последовательность аминокислот, чтобы прикрепиться к мембране и сформировать канал, через который молекулы белка смогут выйти в окружающую среду. Таким образом выходят из клетки соответствующих бактерий токсины столбняка, дифтерии и др.

3. **Почкование мембраны.** Молекулы, образующиеся в клетке, окружаются мембранным пузырьком, который «отшнуровывается» в окружающую среду.

Для осуществления биохимических процессов бактерии нуждаются в энергии. По способу получения энергии бактерии принято делить на: *хемотрофы* и *фототрофы*. Фототрофы для удовлетворения энергетических потребностей используют энергию света. Хемотрофы используют энергию окисления различных соединений. В зависимости от окисляемого субстрата среди хемотрофных организмов выделяют *литотрофы* и *органотрофы*. Хемолитотрофы в качестве доноров электронов используют неорганические вещества, а хемоорганотрофы в качестве доноров электронов используют органические соединения (рис. 58).

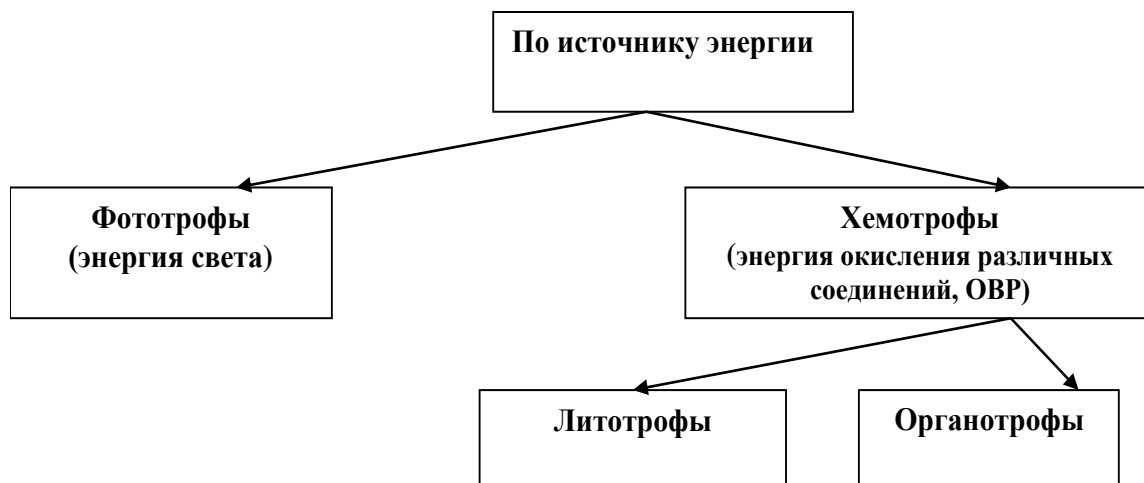


Рис. 58. Классификация бактерий по источнику энергии

Энергия у бактерий аккумулируется в виде аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Синтез АТФ у бактерий может происходить в результате:

- дыхания (окислительного метаболизма);
- брожения (ферментативного или бродильного метаболизма);
- смешанного метаболизма.

3.3. Дыхание бактерий

Дыхание бактерий (энергетический метаболизм) – это цепь последовательных окислительно-восстановительных реакций, сопровождающиеся переносом электронов от окисляемого вещества к восстанавливаемому при участии ферментов. Субстратами для окисления служат углеводы, жиры, белки.

Дыхание является самой совершенной формой окислительного процесса и наиболее эффективным способом получения энергии (АТФ). Дыхание предполагает функционирование *дыхательной цепи* – системы переносчиков электронов, протонов от окисляемого вещества (донора) к восстанавливаемому (акцептору). В зависимости от конечного акцептора электронов различают *анаэробное* и

аэробное дыхание. Если конечным акцептором электронов выступает молекулярный кислород (O_2), тогда осуществляется аэробное дыхание. Если в качестве акцептора электронов выступают неорганические соединения (NO_2 , SO_4 , SO_3), возникает анаэробное дыхание. В том случае, когда органические вещества служат одновременно и донорами, и акцепторами водорода, метаболический процесс называется брожением (ферментацией). В результате брожения образуются органические кислоты, спирты, газы. В зависимости от конечных продуктов различают *спиртовое, молочнокислое, уксуснокислое, маслянокислое брожение*.

По потребности в кислороде микроорганизмы можно разделить на 5 групп (рис. 59):

1. *Строгие (облигатные) аэробы* – рост и размножение этих микроорганизмов прекращается в отсутствие O_2 . К ним относятся, например, менингококки.

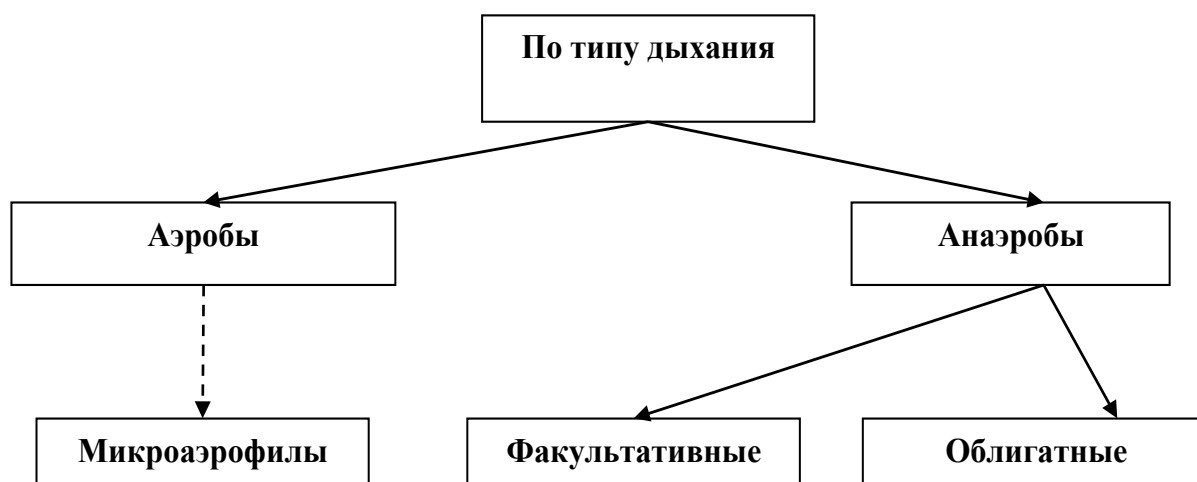


Рис. 59. Разделение бактерий по типу дыхания

2. *Строгие (облигатные) анаэробы* не переносят присутствия кислорода, так как образующиеся токсические производные кислорода (перекись водорода, супероксидный и гидроксильный радикалы, синглетный кислород) губительны для самих же бактерий из-за отсутствия у них ферментов, разрушающих эти токсические продукты (каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы). К строгим анаэробам относятся клостридии столбняка, ботулизма, газовой гангрены, некоторые бактериоиды. Среди множества патогенных бактерий их количество невелико.

3. *Факультативные анаэробы* наиболее обширная группа патогенных микроорганизмов, которые способны использовать в качестве акцепторов электронов как молекулярный кислород, так и органические соединения, а также переключаются на процесс брожения в отсутствии молекулярного кислорода.

4. *Микроаэрофильные бактерии* хорошо растут при сниженном парциальном давлении кислорода, но при повышенном содержании CO_2 (представители рода *Brucella*).

5. *Аэрофилы* нуждаются в повышенном содержании кислорода (холерный вибрион, возбудители дифтерии, туберкулеза).

В процессе дыхания образуется огромное количество энергии (АТФ), которая используется для синтеза органических веществ, передвижения, поддержания осмотического давления и др. Образование АТФ у аэробов и анаэробов осуществляется разными путями. Но биологическое значения дыхания этим не ограничивается. В результате химических реакций, сопровождающих дыхание, образуется большое количество промежуточных соединений, из которых могут синтезироваться аминокислоты, жиры, белки, витамины.

3.4. Рост и размножение бактерий

Полученные микробной клеткой питательные вещества и энергия используются для роста и размножения бактерий. **Рост** – это увеличение массы отдельной клетки в результате синтеза клеточного материала. Во время роста размеры клетки увеличиваются. После достижения определенных размеров клетка прекращает рост и начинает делиться (размножаться). **Размножение бактерий** – это способность бактерий к самовоспроизведению (увеличению количества особей). Для подавляющего большинства бактерий характерно бинарное поперечное деление. Перед делением у бактериальных клеток происходит удвоение молекулы ДНК. Каждая дочерняя клетка получает копию материнской ДНК. Процесс деления микробной клетки считается законченным, когда цитоплазма дочерних клеток разделена перегородкой или перетяжкой (рис. 60).

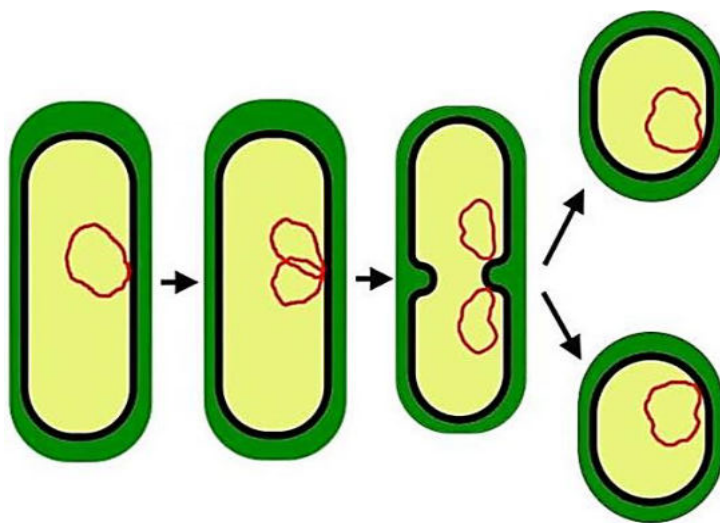


Рис. 60. Схема бинарного деления бактериальной клетки

Деление бактерий может происходить в различных плоскостях с образованием многообразных сочетаний клеток: цепочки стрептококков, парные соединения (диплококки), тетрады кокков, пачки (сарцина), гроздь (стафилококки). Палочковидные и извитые формы делятся поперечно, только в одной плоскости. У некоторых микроорганизмов размножение происходит путем образования почки, которая по величине меньше исходной клетки.

Скорость размножения бактерий велика, что обусловлено интенсивностью их обмена. У большинства бактерий каждая клетка делится в течение 15–30 мин. Есть виды бактерий, которые делятся медленно, 13–24 ч, например, микобактерии туберкулеза. Для каждого вида бактерий скорость размножения может быть различной и зависит от возраста культуры, питательной среды, температуры, значения pH и многих других факторов.

3.5. Питательные среды

Для культивирования бактерий в лабораторных или производственных условиях используют *питательные среды*, которые должны удовлетворять потребности бактерий в питательных веществах, иметь адекватное значение величины pH, быть изотоничными и стерильными, а по возможности, прозрачными. Специфичность большинства питательных сред определяют соединения углерода и азота, но так как конструктивные и энергетические процессы микроорганизмов разнообразны, неодинаковы и их потребности в питательных веществах.

Питательные среды принято делить на несколько групп: среды, которые отличаются по составу и происхождению, физическому состоянию или консистенции и функциональному или целевому назначению.

По происхождению среды бывают *естественными (натуральными)* и *искусственными (синтетическими)*. К естественным средам относят те, в состав которых входят продукты растительного или животного происхождения. Они содержат все компоненты, необходимые для роста и развития бактерий, но имеют непостоянный химический состав, то есть они нестабильны. Поэтому такие питательные среды не пригодны для изучения метаболизма бактерий, а используются, в основном, для накопления биомассы, поддержания культур бактерий в жизнеспособном состоянии и для диагностических целей, например, для выделений чистых культур бактерий. К естественным средам относятся молоко, кровь и сыворотка крови, отвары и экстракты из природных субстратов, пептонная и мясная вода, мясо–пептонные бульон и агар, дрожжевые экстракты, картофельные, яичные и желчесодержащие среды. Синтетические (искусственные) среды имеют определенный химический состав и точное количественное содер-

жание питательных веществ. Их используют для изучения физиологии микроорганизмов. Примерами синтетических сред могут служить среды Козера и Симмонса, используемые для изучения способности бактерий утилизировать цитраты. В состав этих сред, наряду с другими солями, входят цитрат натрия и индикатор. В практической микробиологии, как правило, используются *комбинированные питательные среды*, в которых сочетаются естественные компоненты с неорганическими солями. Примерами таких сред являются среда Цейслера, в состав которой входит мясо–пептонный агар (МПА), кровь и сахар; среды Гисса, содержащие пептон, агар, сахар и индикатор; среда Раппопорт, состоящая из желчного бульона, глюкозы и индикатора и др.

По составу среды можно разделить на *простые* и *сложные*. К простым относятся мясная и пептонная вода, мясо–пептонные бульон и агар. Добавление к таким средам одного или нескольких ингредиентов – углеводов, крови, сыворотки и других составляющих делают их сложными.

По физическому состоянию (консистенции) питательные среды могут быть *жидкими, полужидкими, плотными* или *твердыми, сыпучими или сухими*. Жидкие среды представлены, как правило, водными растворами необходимых для жизни веществ. Их используют для накопления биомассы, обогащения культур бактерий, изучения метаболизма. Полужидкие и плотные питательные среды получают из жидких, добавляя к ним агар или желатин. Концентрация агара для полужидких сред 0,5–0,7%, а для плотных 1,5–2%. Полисахарид агар получают из некоторых видов морских водорослей. Бактерии не используют агар в качестве субстрата, и поэтому состав плотной питательной среды зависит от состава жидкой среды, к которой добавлен агар. Применение желатина ограничено тем, что он разжижается протеолитическими ферментами бактерий и его применяют, в основном, в питательных средах для диагностических целей. Для уплотнения сред используют, так же, силикогель и каррагенан, получаемый из красных морских водорослей. Сухие питательные среды представляют смеси составляющих питательных сред определенного состава. Перед использованием их растворяют в воде в соответствии с инструкцией, указанной на этикетке, устанавливают необходимое значение pH и стерилизуют. Применение сухих питательных сред облегчает работу по приготовлению сложных сред в лабораториях.

По целевому назначению питательные среды делят на несколько групп. *Основные* или *универсальные среды*, например, мясо–пептонный агар (МПА), мясо–пептонный бульон (МПБ); на них могут расти многие виды неприхотливых (нетребовательных) микроорганизмов. Специальные среды используют для культивирования тех бактерий, которые не могут расти на универсальных средах; в состав специальных сред вводят, например, углеводы для роста стрептококков,

желчь для культивирования сальмонелл, дефибрированную кровь для дифтерийной палочки. Среди специальных сред можно выделить *избирательные (элективные, селективные) среды*. Они предназначены для выделения и культивирования определенного вида бактерий из материала, содержащего большое количество разных видов микроорганизмов. Например, для выделения возбудителя туберкулеза из мокроты больного используют среду Левинштейна–Йенсена, сальмонелл из испражнений – среду Плоскирева. В сложном составе таких сред содержатся вещества, ингибирующие рост посторонней микрофлоры, но не влияющие на жизнедеятельность искомого вида бактерий. Такими веществами могут быть анилиновые красители, желчь, хлористый натрий в концентрации выше 1%. В состав некоторых сред входят не только вещества, подавляющие рост отдельных групп микроорганизмов, но и стимуляторы роста отдельных видов бактерий.

Дифференциально-диагностические среды (ДДС) предназначены для идентификации бактерий по биохимическим свойствам. В основе использования этих сред лежат различия в ферментативном составе бактерий и способности ферментов расщеплять тот или иной субстрат (рис. 61). Существуют среды для определения гликолитической активности бактерий, в их состав входят один (среды Гисса) или два (среды Ресселя) углевода.

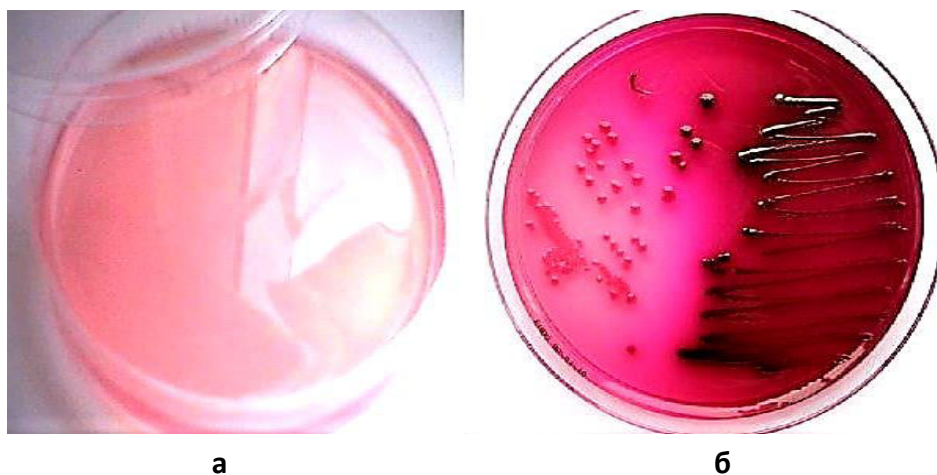


Рис. 61. Дифференциально-диагностическая среда Эндо:
а – среда без посева; б – среда с посевом.

Протеолитическую активность бактерий изучают на МПБ, средах с желатином, свернутой сыворотке. Возможность ферментировать более простые азотсодержащие соединения изучают на питательных средах с аминокислотами, бульоне с мочевиной.

Разновидностью дифференциально-диагностических сред являются *хромогенные питательные среды*. Это питательные среды со специальными хромоген-

ными субстратами, которые в присутствии определенного вида микроорганизмов вызывают появление специфического окрашивания колоний (рис. 62). Хромогенные питательные среды подходят для культивирования, дифференциации и селекции микроорганизмов.

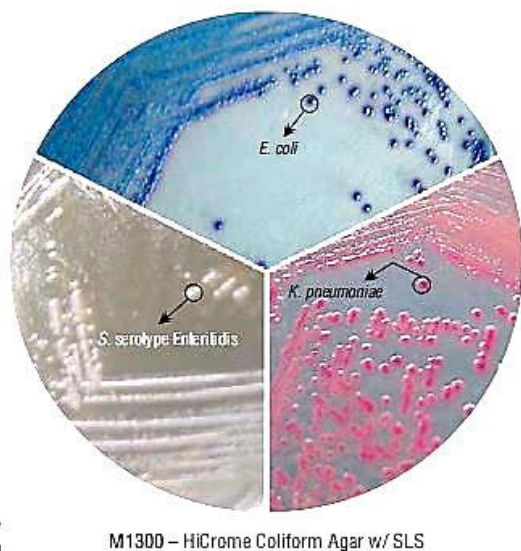


Рис. 62. Хромогенные среды.
Среда М 1300 – HiCrome Coliform Agar
w/SLS (<https://bio-media.ru>)

Способность бактерий к выделению токсинов и ферментов агрессии исследуют на кровяных агарах, желточно–солевом агаре, бессывороточном фосфатном агаре и других подобных средах.

Консервирующие среды используют для транспортировки и хранения в течение длительного времени материала, содержащего бактерии. В их состав входят глицерин, хлорид натрия и фосфатно-буферные растворы.

3.6. Культивирование бактерий

Для роста бактерий, кроме состава питательной среды, имеют значение кислотность среды, аэрация, температура, свет и влажность. Большинство бактерий растет при $pH = 6,8-8,0$, то есть в нейтральной среде. Поддержание нейтрального значения pH , особенно важно для кислотопродуцирующих бактерий. В процессе промышленного культивирования бактерий в больших объемах, pH среды регулируется автоматически добавлением растворов бикарбоната натрия или щелочей.

Газовый состав среды также важен для бактерий. Значительная часть из них нуждается в постоянном притоке молекулярного кислорода. Такие микроорганизмы объединены в группу облигатных аэробов. Меньшая часть бактерий – облигатные анаэробы – способны развиваться только в отсутствии кислорода. Однако, большинство бактерий – факультативные анаэробы, они растут как в присутствии кислорода, так и без него. Для бактерий, культивируемых на плотных

питательных средах или в небольших объемах жидких сред достаточно кислорода, присутствующего в атмосфере. Для культивирования бактерий-аэробов в промышленных масштабах требуется принудительная аэрация путем продувания кислорода в реактор или ферментёр с культурой, а для культивирования анаэробов – создание бескислородных условий. Для этого бактерии-анаэробы засевают уколом в столбик плотной питательной среды, помещают посеvy в специальные приборы – *анаэроостаты* (рис. 63), где газовая фаза представлена инертным газом или создан вакуум, а кислород из среды удаляют с помощью кипячения или химических методов.



Рис. 63. Оборудование для культивирования анаэробных бактерий: анаэроостат 1-CUBE (а); анаэроостат GasPak 100 (б) (<https://kolba24.ru>)

Для выделения чистых культур анаэробов используют специальную среду Китта–Тароцци, а также культивирование в стеклянных трубках по методу Виньяль–Вейона.

Рост и размножение микроорганизмов происходит при благоприятной температуре. Поэтому культивирование их осуществляют в специальных шкафах – термостатах или термостатированных комнатах, где поддерживается оптимальная заданная температура.

При культивировании микроорганизмов в лабораторных или производственных условиях, для получения больших количеств биомассы, используют две различные технологические системы: *постоянное (периодическое) и непрерывное (проточное) культивирование*. В первом случае размножение бактерий происходит в закрытом сосуде до тех пор, пока плотность клеточной популяции не достигнет критической концентрации и не будут исчерпаны запасы питательной среды, а продукты метаболизма не начнут проявлять токсические свойства.

Культуры бактерий, когда при росте в жидких средах в закрытых сосудах определенного объема микроорганизмы находятся в закрытой системе, называют *периодическими*. Рост бактерий в этом случае имеет закономерное развитие, характеризующееся кривой роста (рис. 64).

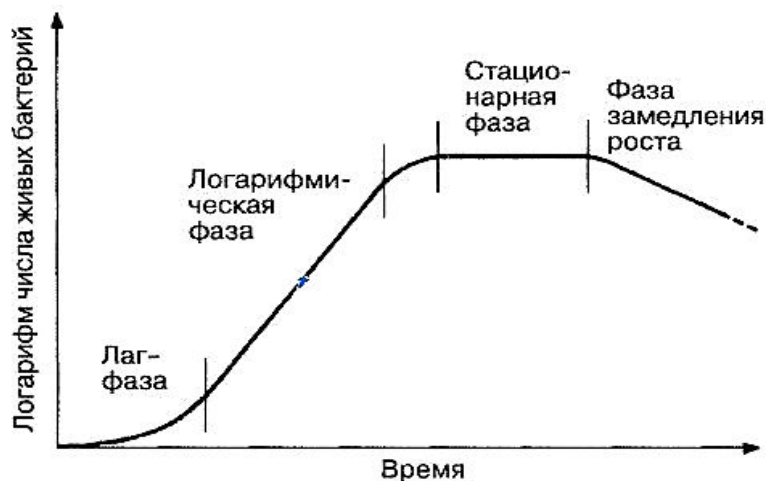


Рис. 64. Кривая роста бактерий в жидкой питательной среде. Фазы размножения бактерий

На этой кривой можно выделить следующие фазы:

I. *Начальная – лаг-фаза* (от англ. *lag* – отставать). Период от посева бактерий до начала размножения. В это время происходит адаптация бактериальных клеток к новым условиям культивирования. Продолжительность составляет в среднем 2–5 ч.

II. *Экспоненциальная (логарифмическая) – log-фаза*. В этот период происходит постоянное деление клеток с максимальной скоростью. Эта скорость зависит от вида бактерий и питательной среды. Время деления бактериальной клетки называется *временем генерации*.

III. *Стационарная фаза*. Характеризуется постоянным числом бактериальных клеток, уменьшением концентрации питательных веществ в среде, накоплением токсических продуктов обмена.

IV. *Фаза отмирания*. Наступает в результате накопления токсических продуктов обмена в среде или в результате аутолиза бактерий.

В промышленных условиях часто используют проточное, или непрерывное культивирование. При этом в реактор или ферментёр непрерывно при перемешивании поступает свежая питательная среда, а продукты метаболизма и накопившаяся бактериальная масса автоматически удаляются. Такое культивирование можно осуществлять в специальных аппаратах – *хемостатах* и *турбидостатах*, где необходимый объем питательной среды поступает автоматически, в зависимости от концентрации бактериальных клеток.

Изотоничность питательной среды зависит от содержания неорганических солей. Для большинства бактерий изотоничной считается среда, концентрация натрия хлорида в которой составляет 0,5–0,6%.

Время культивирования бактерий зависит от времени очередного деления клеток данной популяции. Время генерации большинства патогенных бактерий составляют 20–30 мин. Такие культуры формируются в течение 18–24 ч. Клетки некоторых видов бактерий делятся с большими временными интервалами, поэтому увеличение численности популяций таких культур происходит в течение длительного времени, например, лептоспиры вырастают за 8–10 сут, микобактерии туберкулеза – за 3–4 недели.

3.7. Культуральные свойства бактерий

К *культуральным* или макроморфологическим свойствам относятся характерные особенности роста микроорганизмов на плотных и жидких питательных средах. На плотных питательных средах микроорганизмы могут расти в виде колоний, штриха или сплошного газона. *Колонией* называют изолированное скопление клеток одного вида, выросших из одной клетки (клон клеток).

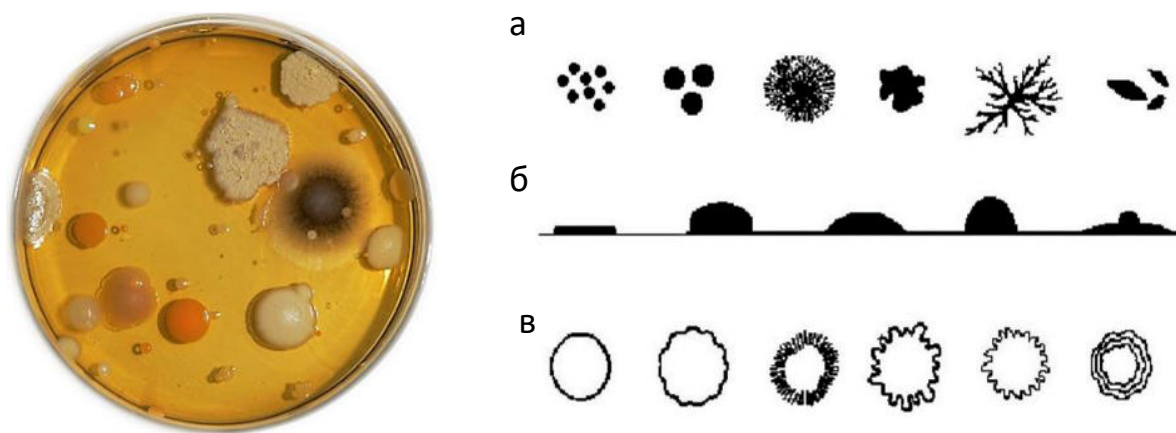


Рис. 65. Характер роста бактерий на плотной питательной среде: форма колоний (а); профиль колоний (б); край колонии (в) (<https://thepresentation.ru>)

В зависимости от того, где растет микроорганизм (на поверхности плотной питательной среды, в толще ее), различают поверхностные, глубинные и донные колонии. Поверхностные колонии (выросшие на поверхности среды), отличаются разнообразием, они видоспецифичны и их изучение используется для определения видовой принадлежности (идентификации) исследуемой культуры (рис. 65). При описании колоний учитывают следующие признаки:

- *форма колонии* – округлая, амёбовидная, ризоидная, неправильная и т.д.;

- *размер (диаметр) колонии* – очень мелкие (точечные) (0,1–0,5 мм), мелкие (0,5–3 мм), средних размеров (3–5 мм) и крупные (более 5 мм в диаметре);
- *поверхность колонии* – гладкая, шероховатая, складчатая, морщинистая, с концентрическими кругами или радиально исчерченная;
- *профиль колонии* – плоский, выпуклый, конусовидный, кратерообразный и т.д.;
- *прозрачность* – тусклая, матовая, блестящая, прозрачная, мучнистая;
- *цвет колонии* (пигмент) – бесцветная или пигментированная (белая, желтая, золотистая, красная, черная), особо отмечают выделение пигмента в среду с ее окрашиванием;
- *край колонии* – ровный, волнистый, зубчатый, бахромчатый и т.д.;
- *структура колонии* – однородная, мелко или крупнозернистая, струйчатая; край и структуру колонии определяют с помощью лупы или на малом увеличении микроскопа, поместив чашку Петри с посевом на столик микроскопа крышкой вниз;
- *консистенция колонии* – определяют, прикасаясь к поверхности петлей, колония может быть плотной, мягкой, врастающей в агар, слизистой (тянется за петлей), хрупкой (легко ломается при соприкосновении с петлей).

Различают два основных типа колоний – *S* и *R* типы. Колонии *S*-типа (от англ. *smooth* – гладкий) – круглые, гладкие, блестящие, выпуклые, с ровными краями, влажные. Колонии *R*-типа (от англ. *rough* – шероховатый) – плоские, шероховатые, матовые, неправильной формы, с исчерченными краями. Однако форма колоний подвержена изменчивости. *R*-формы колоний могут переходить в *S*-формы и наоборот.

Глубинные колонии чаще всего похожи на более или менее сплюснутые чечевички (форма овалов с заостренными концами), иногда комочки ваты с нитевидными выростами в питательную среду. Образование глубинных колоний часто сопровождается разрывом плотной среды, если микроорганизмы выделяют газ. Донные колонии имеют обычно вид тонких прозрачных пленок, стелющихся по дну.

Колонии могут изменяться с возрастом, их свойства зависят от состава среды, температуры культивирования.

Описание роста микроорганизмов при посеве штрихом включает его особенности: скудный, умеренный, обильный; сплошной с ровным или волнистым краем; диффузный; перистый; ризоидный; древовидный (рис. 66). Так же характеризуют цвет, поверхность, консистенцию.

Рост микроорганизмов на жидких питательных средах учитывают, используя суточные культуры, выращенные в стационарных условиях. В жидких питательных средах при росте микроорганизмов наблюдается помутнение среды, образование пленки или осадка (рис. 67).

Рост бактерий с равномерным помутнением среды (диффузный рост) характерен для факультативных анаэробов. Степень помутнения может быть слабая, умеренная, сильная.

Придонный рост бактерий является типичным для анаэробов, при этом образуется осадок: скудного, обильного, рыхлого, слизистого, хлопьевидного, зернистого. Питательная среда может быть прозрачной или мутной. Бактерии, образующие цепочки (возбудитель сибирской язвы, стрептококки) также растут придонно.



Рис. 66. Рост бактерий при посеве штрихом (<https://o.quizlet.com>)

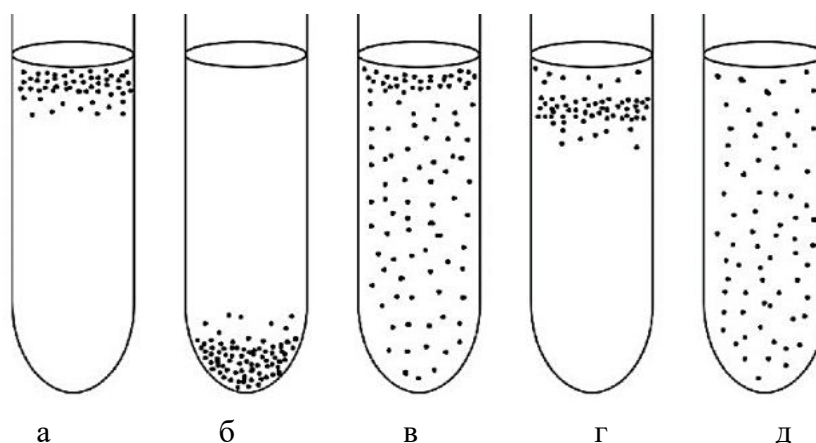


Рис. 67. Рост бактерий в жидкой питательной среде (МПБ): поверхностный рост (а, г); придонный рост (б); диффузное помутнение (в, д) (<https://image1.slideserve.com>)

Пристеночный рост – образование зерен, рыхлых хлопьев на внутренней поверхности стенок сосуда. Питательная среда при этом остается прозрачной.

Поверхностный рост бактерий характеризуется появлением на поверхности среды пленки: тонкой, плотной, рыхлой, гладкой, складчатой, влажной, сухой,

кольцеобразной или сплошной. Такой рост наблюдается при культивировании аэробных бактерий.

При росте на полужидких питательных средах подвижные микроорганизмы вызывают выраженное помутнение, неподвижные формы растут только по ходу посева уколом в среду (рис. 68).

Нередко рост микробов сопровождается появлением запаха, пигментацией среды, выделением газа. Характерный запах культур некоторых видов бактерий связан с образованием различных эфиров (уксусноэтилового, уксусноамилового и др.), индола, меркаптана, сероводорода, скатола, аммиака, масляной кислоты.

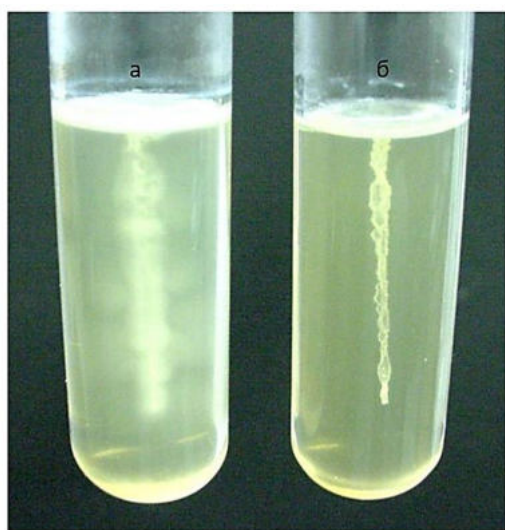


Рис. 68. Рост подвижных (а) и неподвижных (б) бактерий в сульфид-индол-моторильном агаре (SIM) – полужидком агаре (<https://germsandworms.wordpress.com>)

Многие виды микроорганизмов способны образовывать пигменты. Химическая природа пигментов разнообразна: каротиноиды, антоцианы, меланины. Если пигмент не растворим в воде, окрашивается только культуральный налет, если же он растворим, окрашивается и питательная среда. Считается, что пигменты защищают бактерии от губительного действия солнечных лучей, поэтому в воздухе так много пигментированных бактерий, кроме того, пигменты участвуют в обмене веществ этих микроорганизмов.

В природе существуют, так называемые, фосфоресцирующие бактерии, культуры которых светятся в темноте зеленовато-голубоватым или желтоватым светом. Такие бактерии встречаются, главным образом, в речной или морской воде. К светящимся бактериям (фотобактериям) относятся аэробные бактерии (вибрионы, кокки, палочки).

3.8. Ферменты бактерий

Ферменты – это биологические катализаторы белковой природы. Микробная клетка, подобно клеткам высших организмов, оснащена достаточно актив-

ным ферментативным аппаратом. Так как состав ферментов определяется геномом, то он является видовым признаком. Совокупность ферментативных свойств бактерий называется *биохимическими свойствами* бактерии.

Ферменты микроорганизмов обладают теми же свойствами и функциями, что и ферменты высших организмов. В соответствии с катализирующими реакциями все ферменты разделяют на шесть классов:

1. *Оксидоредуктазы* – катализируют реакции окисления-восстановления.
2. *Трансферазы* – катализируют реакции переноса различных групп от донора к акцептору.
3. *Гидролазы* – катализируют разрыв связей в субстратах с присоединением воды.
4. *Лиазы* – катализируют реакции разрыва связей в субстрате без присоединения воды или окисления.
5. *Изомеразы* – катализируют превращения в пределах одной молекулы (внутримолекулярные перестройки).
6. *Лигазы* (синтетазы) – катализируют присоединение двух молекул с использованием энергии фосфатных связей.

Несмотря на малые размеры микробной клетки, распределение в ней ферментов строго упорядоченно. Ферменты энергетического обмена и транспорта питательных веществ локализованы в цитоплазматической мембране и ее производных. Ферменты белкового синтеза связаны с рибосомами. Многие ферменты не связаны с определенными структурами клетки, а находятся в цитоплазме в растворенном виде.

Ферменты бактерий подразделяются на *экзо-* и *эндоферменты*. Эндоферменты функционируют только внутри клетки. Они катализируют реакции биосинтеза и энергетического обмена. Экзоферменты выделяются клеткой в среду и катализируют реакции гидролиза сложных органических соединений на более простые, доступные для ассимиляции микробной клеткой. К ним относятся гидролитические ферменты, играющие исключительно важную роль в питании микроорганизмов.

В зависимости от условий образования ферментов их разделяют на *конститутивные* и *индуцибельные*. Конститутивными называют ферменты, синтезируемые клеткой вне зависимости от субстрата, на котором развиваются бактерии. Например, ферменты гликолиза. Индуцибельные ферменты синтезируются только в ответ на присутствие в среде необходимого для клетки субстрата-индуктора. Индуцированный синтез ферментов идет, пока в среде присутствует индуктор. При этом ферменты синтезируются заново во всех клетках одновременно. Индукторами биосинтеза являются многие питательные вещества. К индуцибельным относится большинство гидролитических ферментов.

Известны также ферменты, которые получили название *аллостерических*. Кроме активного центра у них имеется регуляторный или аллостерический центр, который в молекуле фермента пространственно разделен с активным центром. Аллостерическим (от греч. *allos* – иной, чужой) он называется потому, что молекулы, связывающиеся с этим центром, по строению не похожи на субстрат, но оказывают влияние на связывание и превращение субстрата в активном центре, изменяя его конфигурацию. Молекула фермента может иметь несколько аллостерических центров. Вещества, связывающиеся с аллостерическим центром, называют аллостерическими эффекторами. Они влияют через аллостерический центр на функцию активного центра: или облегчают ее, или затрудняют. Соответственно аллостерические эффекторы называются положительными (активаторы) или отрицательными (ингибиторы). Аллостерические ферменты играют важную роль в тонкой регуляции метаболизма бактерий. Поскольку практически все реакции в клетке катализируются ферментами, регуляция метаболизма сводится к регуляции интенсивности ферментативных реакций.

У возбудителей инфекционных заболеваний имеются *ферменты патогенности*, они разрушают ткани и клетки макроорганизма, обуславливая тем самым распространение патогенных микроорганизмов и их токсинов в инфицированных тканях. К таким ферментам относятся *плазмокоагулаза, нейраминидаза, коллагеназа, лецитиназа, гиалуронидаза* и некоторые другие ферменты. Гиалуронидаза стрептококков, например, расщепляет гиалуроновую кислоту в мембранах клеток соединительных тканей макроорганизма, что способствует распространению возбудителей и их токсинов в организме, обуславливая высокую инвазивность этих бактерий. Плазмокоагулаза является главным фактором патогенности стафилококков, так как участвует в превращении протромбина в тромбин, который вызывает образование фибриногена, в результате чего каждая бактерия покрывается пленкой, предохраняющей ее от фагоцитоза.

Ферменты микроорганизмов нашли широкое применение в биотехнологии, в том числе в генетической инженерии, для получения иммунобиологических препаратов (например, вакцин), различных биологически активных веществ, а также ряда продуктов в легкой и пищевой промышленности.

Ферменты микроорганизмов характеризуют их видовые свойства и поэтому их исследуют с целью идентификации бактерий. В зависимости от субстрата гидролитические ферменты принято делить на две большие группы:

1. *Гликолитические* или *сахаролитические ферменты*, субстратом для которых являются различные сахара, а продуктами их расщепления – кислоты, спирты, альдегиды, H_2O и CO_2 .
2. *Протеолитические ферменты*, расщепляющие белки с образованием полипептидов, аминокислот, аммиака, индола, сероводорода.

Для изучения активности ферментов при идентификации микроорганизмов широко используют дифференциально-диагностические среды, в состав которых входят определенные субстраты – сахара или белки.

При исследовании сахаролитической активности бактерий распространены моносубстратные дифференциально-диагностические среды Гисса (пестрый ряд Гисса), лактозосодержащие среды Эндо, Левина, Плоскирева, дисубстратные среды Ресселя, полисубстратные среды Клиглера и Олькеницкого (рис. 69). Последние могут служить и для изучения протеолитических свойств бактерий, так как содержат компоненты, способные выявить аммиак и сероводород, высвобождающиеся при расщеплении аминокислот некоторыми микроорганизмами.

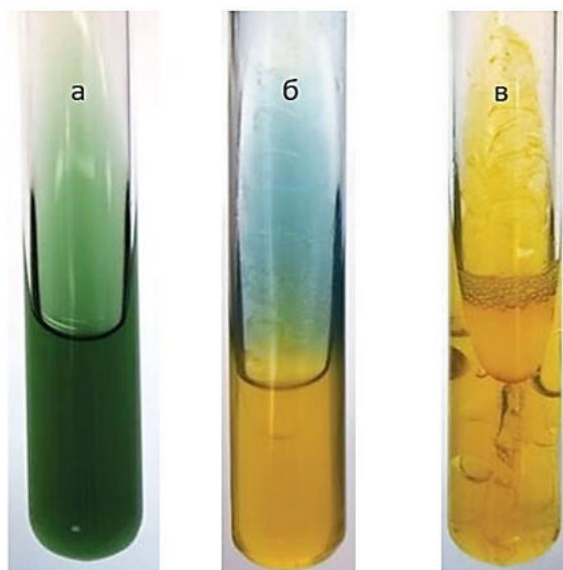


Рис. 69. Идентификация бактерий по гликолитическим свойствам.

Среда Ресселя I: контроль (а); *S. flexneri* (б); *E. coli* (в)

Протеолитические ферменты бактерий определяются по выделению индола, сероводорода, расщеплению некоторых аминокислот, например, фенил-аланина, лизина, цистина.

Протеолитические ферменты способны изменять (разжижать) желатин, причем, разные виды бактерий по-разному изменяют «столбик» желатина в пробирке с посевом микроорганизма (рис. 70). Так, при росте холерного вибриона «столбик» желатина принимает форму гвоздя, при росте стафилококка – чулка, при росте синегнойной палочки наблюдается послойное разжижение среды.

В практических бактериологических лабораториях широко применяют тест-системы и экспресс-методы для ориентировочного изучения биохимических свойств микроорганизмов. Наиболее часто используют *систему индикаторных бумаг (СИБ)*. СИБы представляют диски фильтровальной бумаги, пропитанные растворами сахаров или других субстратов в сочетании с индикаторами. Такие

диски опускают в пробирку с выросшей в жидкой питательной среде культурой. По изменению цвета диска с субстратом судят о работе фермента. Микротест-системы для изучения идентификации энтеробактерий представлены одноразовыми пластиковыми контейнерами со средами, содержащими различные субстраты, с добавлением индикаторов. Посев чистой культуры микроорганизмов в такие тест-системы позволяет быстро выявить способность бактерий утилизировать цитраты, глюкозу, сахарозу, выделять аммиак, индол, разлагать мочевины, лизин, фенилаланин и т.д. (рис. 71).



Рис. 70. Действие протеолитических ферментов. Разжижение желатина (<http://biologylib.ru>)



Рис. 71. Тест-система для энтеробактерий – API.

Верхний планшет – все тесты положительные, нижний – все отрицательны

3.9. Выделение чистых культур микроорганизмов

Чистая культура – совокупность микроорганизмов одного вида. Выделение чистых культур бактерий – обязательный этап бактериологического исследования в микробиологической диагностике инфекционных болезней, в изучении микробной загрязненности различных объектов окружающей среды, и, в целом, при любой работе с микроорганизмами. Исследуемый материал (гной, мокрота, испражнения и другой материал от больных; вода, почва, воздух, пищевые

продукты,) обычно содержит ассоциации микроорганизмов. Выделение чистой культуры позволяет изучить морфологические, культуральные, биохимические, антигенные и другие признаки, по совокупности которых определяется видовая и типовая принадлежность возбудителя, то есть проводится его *идентификация*.

Методы выделения чистой культуры основаны либо на механическом разобщении бактерий (метод Дригальского, метод секторов и др.), либо на биологических свойствах возбудителей (метод Фортнера, метод Шукевича и др.).

Для большинства методов выделения чистой культуры проводят путем отбора и культивирования изолированной колонии (потомство одной микробной клетки).

Метод Дригальского – широко применяется в бактериологической практике, при этом исследуемый материал разводят в пробирке стерильным физиологическим раствором или бульоном. Одну каплю материала вносят в первую чашку и стерильным стеклянным шпателем распределяют по поверхности среды. Затем этим же шпателем (не прожигая его в пламени горелки) делают такой же посев во второй и третьей чашках. С каждым посевом бактерий на шпателе остается все меньше и меньше и, при посеве на третью чашку, бактерии будут распределяться по поверхности питательной среды отдельно друг от друга (рис. 72). Через 1–7 сут выдерживания чашек в термостате (в зависимости от скорости роста микроорганизмов) на третьей чашке каждая бактерия дает клон клеток, образуя изолированную колонию, которую пересевают на скошенный агар с целью накопления чистой культуры.

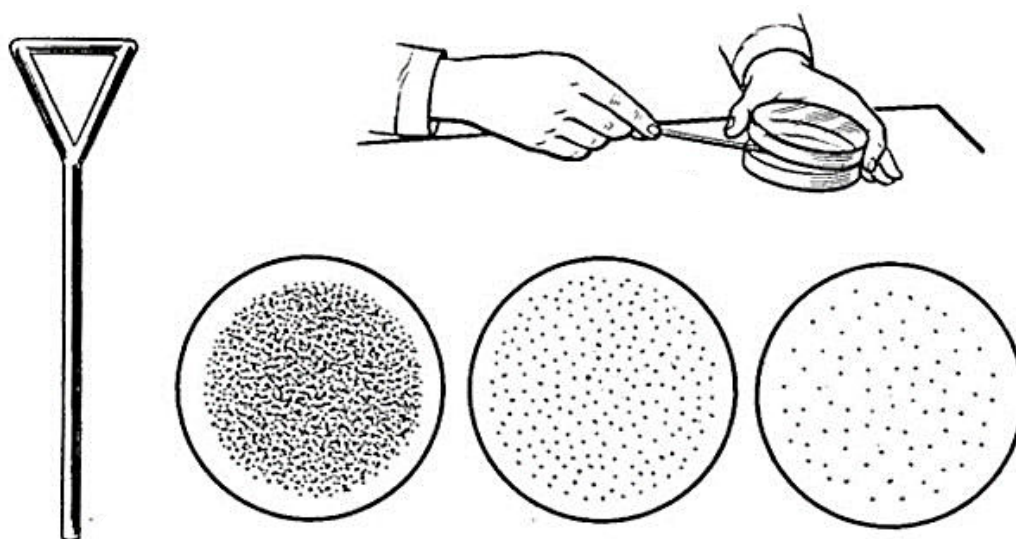


Рис. 72. Посев материала по методу Дригальского для получения изолированных колоний

Метод секторов предполагает посев бактериологической петлей исследуемого материала на поверхность агара в чашках Петри. На первом этапе петлей с культурой наносят ряд параллельных штрихов (сектор А). Петлю стерилизуют и проводят серию штрихов в направлении, перпендикулярном первым (сектор Б). Затем петлю вновь стерилизуют и штрихи наносят в секторе В, а после очередной стерилизации – в направлении Г (рис. 73). Чашки помещают в термостат и через определенное время учитывают результаты. Обычно на штрихах А и Б вырастает большое число колоний (иногда сплошной рост), тогда как на штрихах В и Г формируются изолированные колонии.

Метод Шукевича – применяется для получения чистой культуры протей и других микроорганизмов, обладающих «ползущим» ростом. Посев исследуемого материала производят в конденсационную воду у основания скошенного агара. Подвижные микробы (протей) способны подниматься вверх по скошенному агару, неподвижные формы остаются расти внизу на месте посева.

В ходе выделения чистой культуры бактерий можно выделить следующие этапы:

I. Исследуемый материал. Микроскопия и посев нативного материала на питательную/элективную среду с целью получения изолированных колоний.

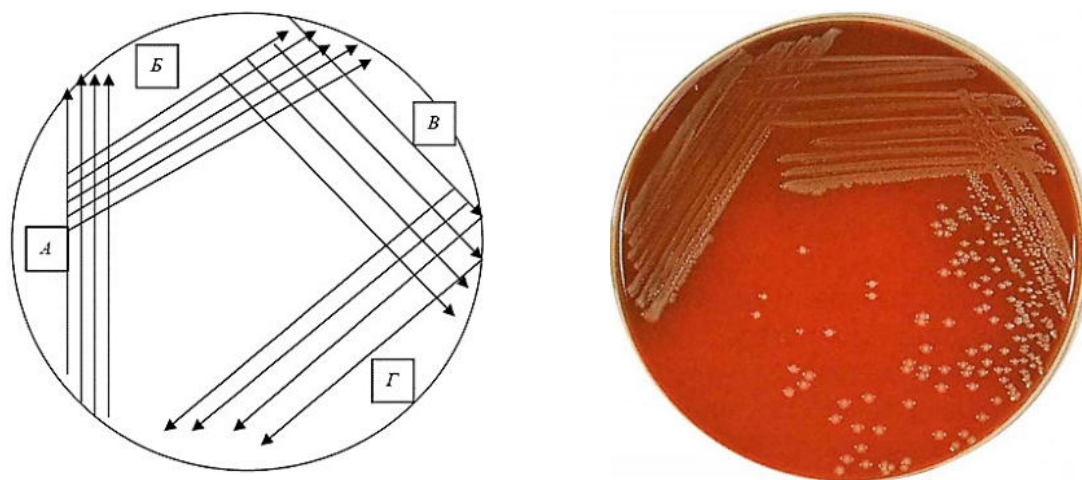


Рис. 73. Схема посева бактерий штрихами для получения изолированных колоний

II. Изолированные колонии. Изучение «подозрительных» колоний (по культуральным свойствам). Микроскопия окрашенного мазка (определение морфологических свойств бактерий). Пересев на среду накопления.

III. Чистая культура. Микроскопия. Идентификация выделенной чистой культуры по биохимическим свойствам, антигенной структуре, чувствительности к бактериофагам.

Методы культивирования и выделения чистой культуры *облигатных анаэробов* имеют свои особенности. Необходимым условием при выделении чистой

культуры является отсутствие кислорода на всех этапах выделения анаэробов. Для создания анаэробных условий используют *физические, химические, биологические методы*.

Физические методы включают: кипячение среды с последующей изоляцией посева в среде стерильным вазелиновым маслом или парафином; посев анаэробов уколом в высокий столбик агара или полужидкой среды; удаление воздуха из специальных герметических сосудов – анаэростатов с посевами (метод Вейнберга, метод Виньял–Вейона, метод Цейsslера).

Химические методы предполагают использование в замкнутых сосудах химических веществ – адсорбентов кислорода (щелочной раствор пирагаллола, гидросульфит натрия), редуцентов кислорода (тиогликат натрия, аскорбиновая кислота, цистин и др.). Анаэробные условия можно создать при помощи газогенерирующих систем в анаэростатах: таблетки боргидрид натрия, которые при взаимодействии с водой, образуют водород. Водород, связываясь с кислородом воздуха в присутствии катализатора, образует воду.

Биологические методы: совместное культивирование аэробов и анаэробов на твердых питательных средах (метод Фортнера), культивирование некоторых облигатных анаэробов в организме лабораторных животных.

Методы выделения чистой культуры анаэробов:

1. *Метод Вейнберга.* Сущность его заключается в том, что исследуемый материал разводят в расплавленной и охлажденной до 45–50 °С агаризированной питательной среде. Делают 6–10 последовательных разведений, затем среду в пробирках быстро охлаждают и заливают поверхность слоем смеси парафина и вазелинового масла, чтобы помешать проникновению воздуха в толщу питательной среды.

2. *Метод Виньял–Вейона.* Готовят разведения исследуемого материала в сахарном агаре. Из каждого разведения материал набирают в пастеровские пипетки, концы которых запаивают. После культивирования пипетку надпиливают, разламывают и переносят колонию в среду накопления (например, среду Китта–Тароцци).

3. *Метод Цейsslера.* Исследуемый материал рассевают штрихом по поверхности плотной питательной среды, помещают в анаэробные условия (например, анаэростат) и культивируют при оптимальной температуре в термостате. Полученные изолированные колонии пересевают в среду накопления.

Для культивирования строгих анаэробов используют среды: Китта–Тароцци, Вильсон–Блера.

Раздел 4. ОСНОВЫ ВИРУСОЛОГИИ

4.1. Строение и классификация вирусов

Вирусы – мельчайшие микроорганизмы, не имеющие клеточного строения, белоксинтезирующей системы, содержащие только один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК).

Для вирусов характерны две формы существования: внеклеточная (покоящаяся) и внутриклеточная (репродуцирующаяся, вегетативная). Внеклеточная форма называется вирусной частицей или *вирионом*.

Форма вирионов может быть различной: палочковидной (вирус табачной мозаики), пулевидной (вирус бешенства), сферической (вирусы полиомиелита, вирус иммунодефицита человека – ВИЧ), в виде сперматозоида (многие бактериофаги). Размеры вирионов колеблются от 20–30 нм (пикорна-, парвовирусы) до 350–400 нм (поксвирусы).

По строению вирусы принято подразделять на *простые и сложные*. Простые вирусы состоят из нуклеиновой кислоты, окруженной снаружи белковой оболочкой – *капсидом* (от лат. *capsa* – футляр). Капсид вместе с заключенной в нем нуклеиновой кислотой называют *нуклеокапсидом*. Морфологическими субъединицами капсида, видимыми в электронный микроскоп, являются *капсомеры* – белковые субъединицы, состоящие из одной или нескольких молекул белка. Сложные вирусы имеют еще дополнительную внешнюю оболочку – *суперкапсид* или *непелос* (производное мембранных структур клетки-хозяина).

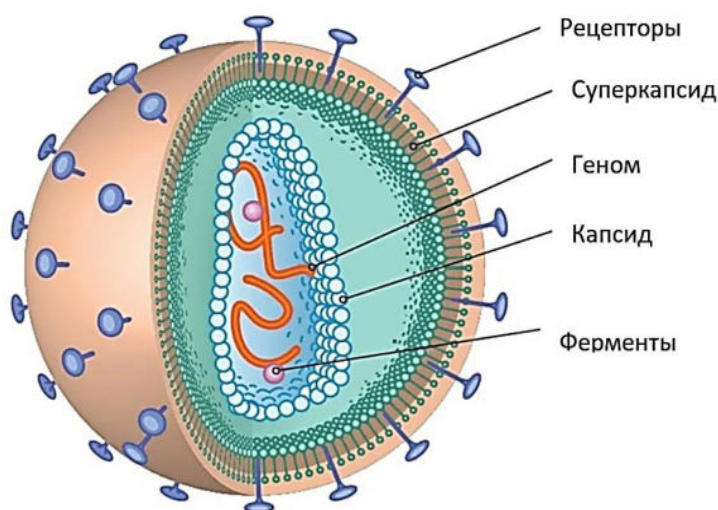


Рис. 74. Схема строения вириона на примере ВИЧ
(<https://avatars.dzeninfra.ru>)

Капсид и суперкапсид защищают вирионы от воздействий окружающей среды, обуславливают избирательное взаимодействие (адсорбцию) с рецепторами определенных клеток, а также антигенные и иммуногенные свойства вирионов.

Существуют три типа строения капсидов, основанных на расположении морфологических субъединиц (рис. 75):

- 1) вирионы с кубической (икосаэдрической) симметрией;
- 2) вирионы со спиральной симметрией;
- 3) вирионы, имеющие смешанный тип симметрии.

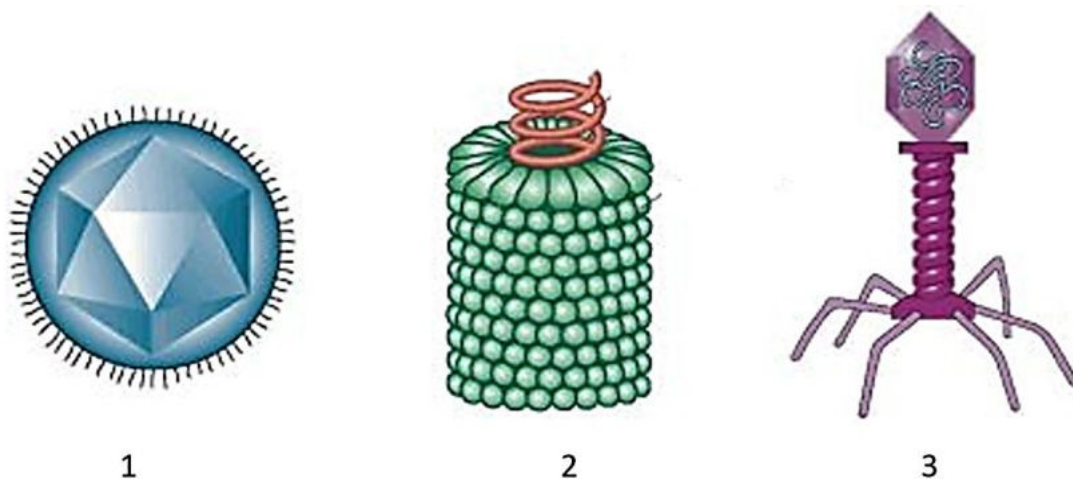


Рис. 75. Типы симметрии капсида вирусов:

1 – икосаэдрический, 2 – спиральный, 3 – смешанный (<https://konspekta.net>)

У вирусов с кубической симметрией капсомеры расположены в виде правильного икосаэдра со скрученной в клубок нитью ДНК или РНК. Икосаэдр имеет 20 граней (каждая представляет равносторонний треугольник), 12 вершин. У спирального типа капсомеры расположены в виде спирали, нуклеиновая кислота (преимущественно РНК) также скручена в виде пружины, располагаясь между витками белковых молекул. У третьего типа присутствуют оба типа симметрии, такой тип симметрии свойственен вирусам бактерий – бактериофаги. Капсид головки фага имеет кубический тип симметрии, а отросток – спиральный тип.

Тип симметрии вирусов и характер расположения капсомеров придают вирусам определенную форму, которую можно наблюдать в электронном микроскопе. Когда капсомеры расположены в виде многогранника они придают вирусу сферическую форму. Поэтому вирусы с кубическим типом симметрии в электронном микроскопе имеют округлую форму. Спиральный тип симметрии наблюдают у крупных вирусов. Капсомеры придают вирусу палочковидную форму, поэтому вирионы со спиральным типом симметрии в электронном микроскопе имеют вытянутую палочковидную или нитевидную форму. Бактериофаги со смешанным типом симметрии имеют форму сперматозоидов.

Химический состав вирионов определяется нуклеиновыми кислотами, белками, липидами и углеводами.

Нуклеиновые кислоты. Вирусы содержат только один тип нуклеиновой кислоты – либо ДНК, либо РНК, поэтому различают *ДНК-содержащие* и *РНК-содержащие* вирусы. Подавляющее большинство вирусов являются РНК-содержащими. Наиболее простой вирусный геном кодирует 3–4 белка, наиболее сложный – более 50 полипептидов.

ДНК вирусов может быть:

- одноцепочечная линейная ДНК (парвовирусы);
- одноцепочечная кольцевая ДНК (бактериофаги);
- двухцепочечная линейная ДНК (вирусы герпеса);
- двухцепочечная кольцевая ДНК (вирусы гепатита В).

РНК вирусов может быть:

- одноцепочечная нефрагментированная РНК (парамиксовирусы);
- одноцепочечная фрагментированная РНК (вирусы гриппа);
- двухцепочечная фрагментированная РНК (реовирусы);
- одноцепочечная кольцевая РНК (вирус гепатита D);
- две одинаковые одноцепочечные РНК (ретровирусы).

Среди РНК-содержащих вирусов различают вирусы с положительным геномом (*плюс-нить РНК*) и вирусы с отрицательным геномом (*минус-нить РНК*). Плюс-нить РНК этих вирусов выполняет наследственную функцию и функцию матричной РНК (мРНК), является инфекционной, т.е. при попадании в клетку она может самостоятельно вызвать инфекционный процесс. Минус-нить РНК этих вирусов выполняет только наследственную функцию, не обладает матричной активностью, поэтому до начала трансляции на ней должна быть синтезирована положительная РНК при помощи фермента РНК-зависимой-РНК-полимеразы.

Геном вирусов способен функционировать автономно от генома клетки-хозяина или может включаться в состав генетического аппарата клетки в виде провируса, проявляя себя генетическим паразитом клетки. Нуклеиновые кислоты некоторых вирусов (вирусы герпеса и др.) могут находиться в цитоплазме инфицированных клеток, напоминая плазмиды.

Вирусные белки принято разделять на две группы: *структурные* и *неструктурные* (функциональные).

Структурными белками (VP) являются все те белки, которые формируют вирион, количество их у разных вирусов различно, зависит от степени организации и размеров вируса. Их подразделяют на капсидные и суперкапсидные белки. Капсидные белки состоят из *нуклеокапсидных (NP)* и *собственно капсидных (коровых)* белков (рис. 76). Среди суперкапсидных белков можно выделить *наружные белки* (шипы, пепломеры, рецепторные), *мембранный белок*, *матриксный белок*.

Неструктурные белки (NS) – это ферменты, которые либо входят в состав вириона (вирионные), либо кодируются вирусным геномом (вирусиндуцированные). Вирусные ферменты функционируют при прикреплении к клетке-хозяину, репликации вирусного генома, сборке вирионов и выходе их из хозяйской клетки. К таким ферментам относятся: нейроминидаза, полимеразы, обратная транскриптаза, протеазы, эндонуклеазы, лигазы и др.

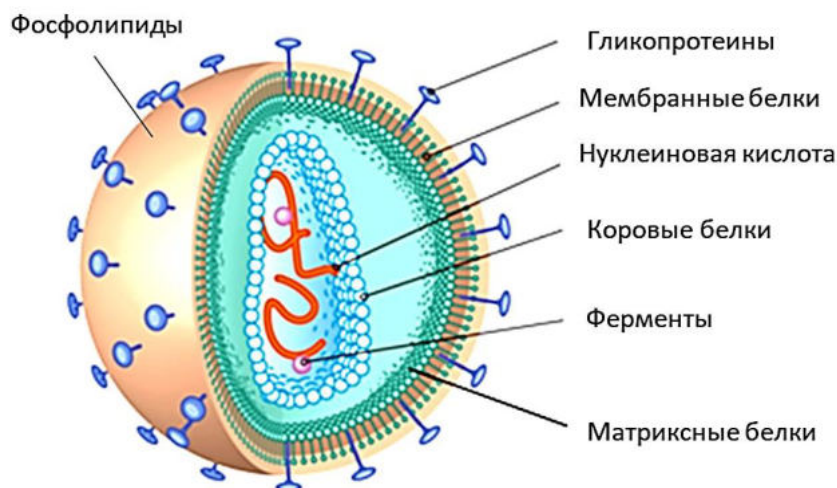


Рис. 76. Химический состав вируса на примере ВИЧ (<https://avatars.dzeninfra.ru>)

Липиды вирусов (фосфо- и гликолипиды) имеют клеточное происхождение. Они могут составлять до 20–30% от массы сложного вириона и включаются в оболочку при выходе вируса из клетки и присутствуют в составе суперкапсида. Липиды стабилизируют вирусную частицу, определяют конформацию суперкапсидных белков, а также способствуют проникновению вируса через гидрофобную клеточную мембрану. Большинство липидсодержащих вирусов чувствительно к эфиру и детергентам

Углеводы. В составе вириона входят рибоза и дезоксирибоза, которые являются обязательными составными частями нуклеиновых кислот. Также присутствует галактоза, манноза. Все углеводы участвуют в упаковке капсида. Кроме того, углеводы присутствуют в составе гликопротеинов суперкапсида. Типичным примером такого гликопротеина является рецептор гемагглютинин, который вызывает склеивание эритроцитов и обладает антигенной специфичностью.

Современная таксономия и классификация вирусов разрабатывается Международным комитетом по таксономии вирусов (МКТВ). МКТВ устанавливает принципы и правила для классификации существующих вирусов и для признания новых вирусных таксонов. Сведения о современной таксономии вирусов излагаются в периодических Докладах и релизах МКТВ.

Все известные вирусы относят к царству *Vira*, которое подразделяется на два подцарства: *дезоксивирусы (ДНК-вирусы)* и *рибовирусы (РНК-вирусы)*. В современной классификации вирусов выделяют следующие таксономические

уровни: порядок, семейство, подсемейство, род и вид. Название порядка вирусов имеет окончание *-virales*, семейства – *-viridae*, подсемейства – *-virinae*, рода – *-virus*. Например, вирус ветряной оспы относится к порядку *Herpesvirales*, семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Alphaherpesvirinae*, роду *Varicellovirus*. Наименование вида вируса состоит более чем из одного слова, и может включать название местности выявления вируса, заболевания, которое он вызывает, организм хозяина или порядковый номер вида. В настоящее время известно свыше 300 видов вирусов, которые вызывают заболевания у человека. Количество патогенных вирусов постоянно возрастает.

Согласно классификации, базовой таксономической единицей в вирусологии является *вид*, хотя он определен не у всех известных вирусов. При идентификации вирусов существенное значение имеет их внутривидовая дифференциация на варианты. Ведущими среди них являются генетические варианты (генотипы вируса) и серологические (антигенные) варианты или вирусные серотипы. Для задач медицинской вирусологии такое подразделение особенно необходимо, так как разные варианты вируса многократно отличаются по своей патогенности. *Серотип* вируса определяется в серологических реакциях со специфическими антителами (реакции нейтрализации (РН), иммуноферментном анализе (ИФА), реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и др.). *Генотип* (геногруппа) вируса устанавливается методами молекулярной гибридизации, полимеразной цепной реакции (ПЦР), методами определения последовательности (секвенирования) нуклеиновых кислот. Международный комитет по таксономии не устанавливает и не проводит внутривидовое разделение вирусов на варианты. Такое деление является задачей рабочих групп специалистов-вирусологов.

Кроме обычных вирусов, известны и, так называемые, неканонические вирусы: *прионы* и *вириоды*. Прионы – это белковые инфекционные частицы, имеющие вид фибрилл размером 10–20×200 нм, они вызывают у животных и человека энцефалопатии в условиях медленной вирусной инфекции (болезнь Крейтцфельда–Якоба, куру и др.). Вириоды – это небольшие молекулы одноцепочечной кольцевой, суперспирализованной РНК (250–370 нуклеотидов), не содержащие белка и вызывающие заболевания растений.

4.2. Репродукция вирусов

Вирусы – облигатные внутриклеточные паразиты, репродуцирующиеся только в живых клетках.

Различают три типа взаимодействия вируса с клеткой:

1) *продуктивный*, при котором в зараженных клетках образуется новое поколение вирионов;

2) *абортивный*, характеризующийся прерыванием инфекционного процесса в клетке, поэтому новые вирионы не образуются;

3) *интегративный* тип, или *виrogenия*, заключающийся в интеграции, т.е. встраивании вирусной ДНК в виде *провируса* в хромосому клетки и их совместном сосуществовании.

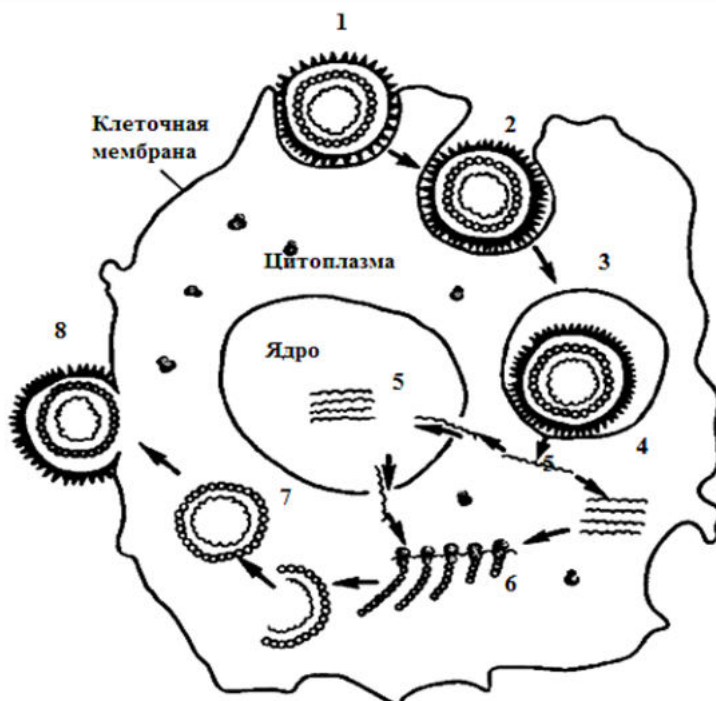


Рис. 77. Репродукция вирусов в клетке: 1 – адсорбция вируса на клетке, 2 – проникновение вируса в клетку эндоцитозом, 3 – депротенинизация, 4 – репликация вирусной нуклеиновой кислоты, 5 – ядро клетки, 6 – синтез вирусных белков на клеточных рибосомах, 7 – сборка вирионов, 8 – выход вируса из клетки почкованием (8) (<https://students-library.com>)

Продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой осуществляется в результате размножения, т.е. репродукции вируса (от англ. *reproduce* – воспроизводить). Репродукция вируса происходит в несколько стадий (рис. 77), различающихся у разных вирусов:

- 1) адсорбция вирионов на клетке;
- 2) проникновение вирусов в клетку;
- 3) депротенинизация или «раздевание» вирусов и высвобождение вирусного генома;
- 4) биосинтез компонентов вируса;
- 5) формирование вирусных частиц;
- 6) выход вирионов из клетки.

Проникновение вируса в клетку происходит либо путем *виropексиса* (рецепторного эндоцитоза), либо слияния оболочки вируса с клеточной мембраной (при наличии белка слияния), или в результате сочетания этих двух механизмов.

При рецепторном эндоцитозе возникает инвагинация клеточной мембраны и образование внутриклеточной вакуоли (эндосомы). Вакуоль с вирусом может попадать в разные участки цитоплазмы или в клеточное ядро с последующим выходом вируса за пределы эндосомы. Процесс слияния активируется связыванием вирусных белков капсидной или суперкапсидной оболочек с клеточными рецепторами. Оболочки вируса далее сливаются с цитоплазматической мембраной клетки хозяина, чему способствует их гидрофобность. У ряда возбудителей (например, парамиксовирусов) имеется специальный F-белок, вызывающий слияние клеточных и вирусных мембран.

Эндоцитозом в клетку поступают простые вирусы (аденовирусы, пикорнави-русы), а также некоторые сложные вирусы – ортомиксовирусы (вирус гриппа), рабдовирусы (вирус бешенства), тогавирусы. Путем слияния проникают сложные вирусы – герпесвирусы, парамиксовирусы, ретровирусы (ВИЧ).

В процессе проникновения вириона в клетку при участии клеточных ферментов происходит его депротеинизация, в результате которой удаляются поверхностные структуры вируса, и высвобождается его внутренний компонент (сердцевина, нуклеокапсид, нуклеиновая кислота).

Биосинтез вирусных компонентов осуществляется в разных частях клетки, поэтому называется *дизъюнктивным* (от лат. *disjunctus* – разобщенный). Все РНК-содержащие вирусы, за исключением вирусов гриппа и ретровирусов, репродуцируются в цитоплазме клетки, а ДНК-содержащие вирусы (исключение поксвирусы) – в ядре клетки-хозяина, где осуществляются транскрипция и репликация, в цитоплазме происходит синтез вирусных белков. Белки вируса синтезируются в результате транскрипции, т.е. «переписывания» информации с генома вируса на информационную РНК (иРНК) и последующей трансляции (считывание иРНК на рибосомах) с образованием белка вируса. Синтез вирусных нуклеиновых кислот происходит в процессе репликации (от лат. *replicatio* – повторение).

Формирование вирионов происходит путем самосборки: составные части вириона транспортируются в места сборки вируса в ядре или цитоплазме. Сборка компонентов вириона происходит за счет гидрофобных, ионных, водородных связей и стерического соответствия. В результате самосборки капсомеров, образовавшихся из вирусных полипептидов, и взаимодействия их с нуклеиновыми кислотами вируса образуются нуклеокапсиды. Суперкапсидная оболочка сложноорганизованных вирусов включает в себя кроме вирусспецифических белков еще компоненты мембраны клетки.

Выход вирионов из клетки реализуется двумя основными путями. Первый тип – взрывной: из погибающей клетки одновременно выходит большое количество вирионов. По взрывному типу выходят из клетки просто устроенные вирусы,

не имеющие суперкапсида. Второй тип – почкование, присущ вирусам, имеющим суперкапсид. Сначала синтезированный нуклеокапсид транспортируется к клеточным мембранам, в которые уже встроены вирусспецифические белки. Затем 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.

Кроме продуктивного типа взаимодействия вируса и клетки возможно интегративное или *виrogenия*. Вирогения характеризуется интеграцией (встраиванием) нуклеиновой кислоты вируса в геном клетки, а также репликацией и функционированием вирусного генома как составной части генома клетки. Нуклеиновая кислота ДНК-геномных вирусов встраивается непосредственно в молекулярную нуклеиновую кислоту (гепаднавирусы, паповавирусы и др.). Нуклеиновая кислота РНК-геномных вирусов не может встраиваться непосредственно в ДНК клетки из-за различия в их химическом строении. В этой связи РНК-содержащие вирусы (ретровирусы) сначала синтезируют на цепи РНК нить ДНК. Такой обратный синтез нуклеиновых кислот возможен только благодаря присутствию в составе вирионов ретровирусов специального фермента – обратной транскриптазы (ревертазы). Встроенная в состав хромосомы клетки вирусная ДНК называется провирусом. Провирус реплицируется в составе хромосомы и переходит в геном дочерних клеток, т.е. состояние виrogenии наследуется. Под влиянием некоторых физических или химических факторов провирус может 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 развития опухолей, аутоиммунных и хронических заболеваний. На способности вирусов к интеграции с геномом клетки основаны персистенция (от лат. *persisto* – постоянно пребывать, оставаться) вирусов в организме и развитие персистентных вирусных инфекций. Например, вирус гепатита В способен вызывать персистирующие поражения с развитием хронического гепатита и часто опухолей печени.

4.3. Методы культивирования и индикации вирусов

Так как вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами, их культивирование проводят в живых клеточных системах: *в организме лабораторных животных, в развивающихся куриных эмбрионах и культурах клеток*. Основными задачами культивирования являются:

- изучение механизмов патогенеза вирусной инфекции;
- разработка методов лабораторной диагностики вирусных заболеваний;

- получение препаратов для профилактики, лечения и диагностики вирусных инфекций.

Культивирование вирусов в организме лабораторных животных. Выбор экспериментальных животных определяется целью работы и видовой чувствительностью к изучаемому вирусу. Для заражения используют обезьян, кроликов, морских свинок, хомячков, белых крыс и мышей.

Лабораторных животных заражают различными способами в зависимости от тропизма вируса к определенным тканям. Так, например, для культивирования нейротропных вирусов заражение производят преимущественно в мозг (вирусы бешенства, клещевого энцефалита и др.), культивирование респираторных вирусов осуществляется при интраназальном инфицировании животных (вирусы гриппа), дерматотропных (вирус оспы) – путем накожного и внутрикожного заражения. Наиболее часто используются накожное, внутрикожное, внутримышечное, внутрибрюшинное и внутримозговое заражение.

При первичном заражении животные могут не заболеть, поэтому через 5–7 дней внешне здоровых животных умерщвляют, а из их органов готовят суспензии, которыми заражают следующие партии животных. Эти последовательные заражения называются «*пассажами*».

Индикацию, т.е. обнаружение факта размножения вируса, устанавливают на основании развития типичных признаков заболевания, патоморфологических изменений органов и тканей животных или положительной *реакции гемагглютинации (РГА)*. РГА основана на способности некоторых вирусов вызывать агглютинацию (склеивание) эритроцитов различных видов животных, птиц и человека за счет поверхностного вирусного белка – *гемагглютинина*.

В настоящее время использование животных для культивирования вирусов ограничено.

Культивирование вирусов в куриных эмбрионах. Куриный эмбрион представляет собой удобную и простую модель для выращивания вирусных культур, его полости защищены твердой оболочкой и стерильны и большинство известных вирусов обладают способностью размножаться в курином эмбрионе. Культивирование вируса в курином эмбрионе широко используется при промышленном культивировании. Используют эмбрионы в возрасте от 8 до 14 дней в зависимости от вида вируса, способа заражения и задач исследования. Вирусы гриппа культивируются в 9–10-дневных эмбрионах, осповакцины – в 12-дневных, паротита – в 7-дневных. Размножение вируса в куриных эмбрионах происходит в разных частях зародыша, что связано с особенностями тропизма вируса и поэтому заражение развивающегося куриного эмбриона осуществляют внесением его на хорионаллантоисную оболочку, в аллантоисную и амниотическую полости, желточный мешок, тело эмбриона. (рис. 78).

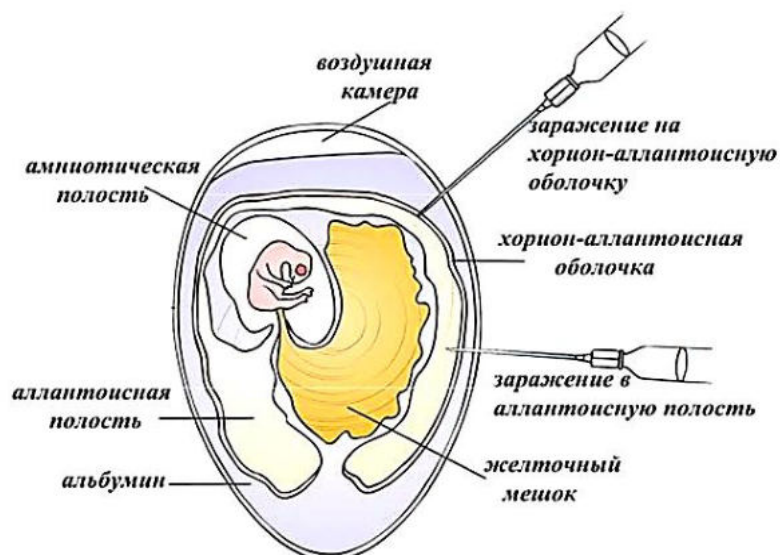


Рис. 78. Строение и способы заражения куриного эмбриона (<https://studopedia.ru>)

Индикацию вирусов в курином эмбрионе осуществляют на основании специфических поражений оболочек и тела эмбриона (оспины, кровоизлияния), а также в РГА (рис. 79).

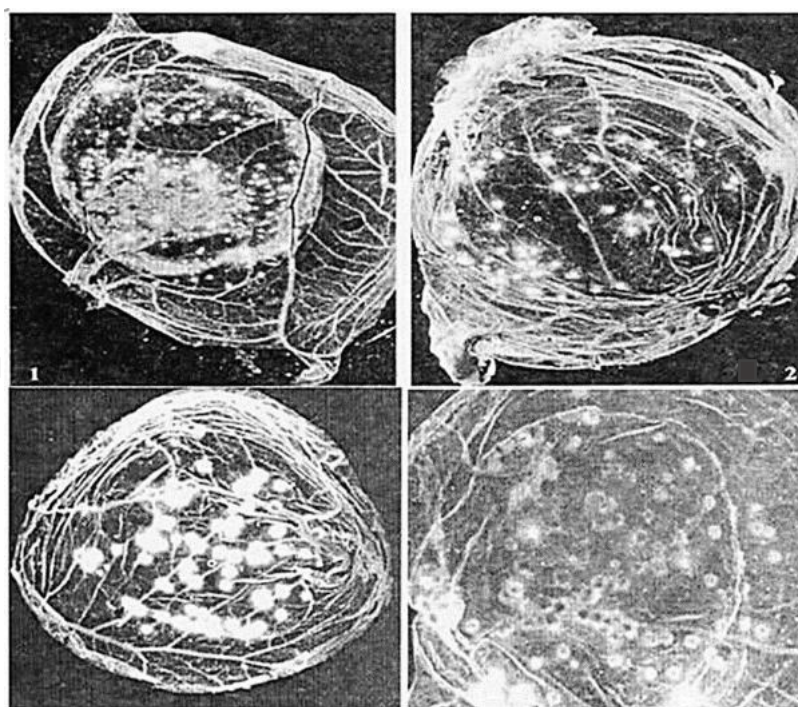


Рис. 79. Образование бляшек на хорионаллантоисной оболочке (<https://coollib.net>)

Культивирование вирусов в культуре клеток. Этот метод наиболее широко применяется в настоящее время.

Культура клеток – это совокупность клеток, полученных из различных органов и тканей человека, животных или растений, живущих и размножающихся в искусственной питательной среде в условиях *in vitro*.

Большое распространение получили культуры клеток из эмбриональных и злокачественно перерожденных тканей, обладающих более активной по сравнению с нормальными клетками взрослого организма способностью к росту и размножению. Выбор клеточных культур определяется их чувствительностью к отдельным группам вирусов.

В зависимости от техники приготовления различают три вида культур клеток:

- 1) *однослойные* – клетки, способные прикрепляться и размножаться на поверхности химически нейтрального стекла лабораторной посуды в виде моно-слоя;
- 2) *сuspензионные* – клетки, размножающиеся во всем объеме питательной среды при постоянном ее перемешивании, их активно применяются в биотехнологии с целью получения большого количества вирусной биомассы в промышленных биореакторах для приготовления вакцин или вирусных диагностикумов;
- 3) *органные* – цельные кусочки органов и тканей, сохраняющие исходную структуру вне организма (применяются ограничено).

Максимальное распространение получили однослойные клеточные культуры, которые различаются по числу жизнеспособных генераций в зависимости от числа пассажей. *Пассаж* – это перенос небольшой части клеток из выросшей клеточной культуры во флакон или другую посуду для культивирования со свежей питательной средой для дальнейшего размножения. Пассажи обеспечивают длительное поддержание клеточной культуры. По числу жизнеспособных генераций культуры клеток делятся на:

1) *первичные культуры* – способные размножаться только на первых генерациях, т.е. в нескольких пассажах после выделения из тканей, а затем погибают. Их получают из тканей человека или животных (клетки почек обезьян, человеческие или куриные фибробласты и др.).

2) *полуперевиваемые* или *диплоидные культуры* имеют ограниченную продолжительность жизни (40–50 пассажей), содержат неизменный диплоидный геном. Источник таких клеток – эмбриональные человеческие или животные клетки (человеческие легочные и панкреатические фибробласты, эпителиальные клетки молочной железы и др.). Они активно используются как для культивирования вирусов, так и для получения вирусных вакцин (для профилактики полиомиелита, краснухи, бешенства и других болезней);

3) *перевиваемые* или *стабильные (непрерывные) культуры* способны размножаться в лабораторных условиях неопределенно длительный срок посредством постоянного пассирования. Многие из них происходят из злокачественных опухолевых клеточных линий (опухолевая трансформация клеток). Обычно они имеют измененный набор хромосом. К таким культурам относятся клетки *HeLa*

из аденокарциномы шейки матки, *Herp-2* из клеток карциномы гортани, *RD* из клеток рабдомиосаркомы и др. Широко используются перевиваемые клеточные линии животного происхождения (клетки почек золотистого сирийского хомячка *BHK*, клетки почек африканских зеленых мартышек *Vero* и др.). Дополнительным источником перевиваемых клеточных линий могут стать клетки первичных культур, которые подверглись трансформации в условиях *in vitro*.

Для получения клеточных культур проводят выделение и гомогенизацию тканей, содержащих необходимые клетки. Далее их обрабатывают протеазой (трипсином или коллагеназой) для разрушения межклеточных перегородок и вносят в специальную посуду со средой для культивирования. После начала инкубации в термостате клетки начинают делиться и покрывают дно сосуда, образуя монослой (рис. 80).

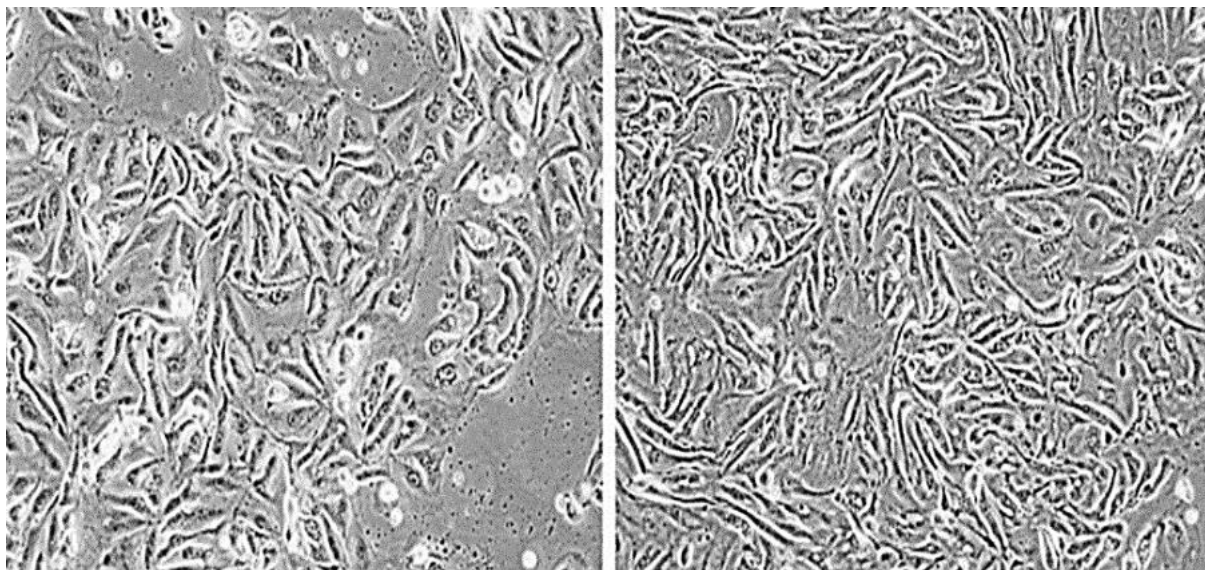


Рис. 80. Однослойная культура клеток (<https://jbiomedtech.petrso.ru>)

Питательная среда для культивирования клеток содержит буферный солевой раствор, факторы роста (аминокислоты, витамины) и антибиотики для предупреждения бактериальной или грибковой контаминации.

Индикацию вирусов в культуре клеток проводят на основании следующих феноменов:

1. *Цитопатическое действие (ЦПД)* – видимые под микроскопом морфологические изменения клеток, вплоть до их отторжения от стекла, которые возникают в результате внутриклеточной репродукции вирусов. Характер ЦПД зависит от конкретной вирусной инфекции. При репродукции одних вирусов (парамиксовирусы, герпесвирусы) наблюдается слияние клеток с образованием синцития (рис. 81), других (энтеровирусы, реовирусы) – сморщивание и деструкция клеток, третьих (аденовирусы) – агрегация клеток и т.д.

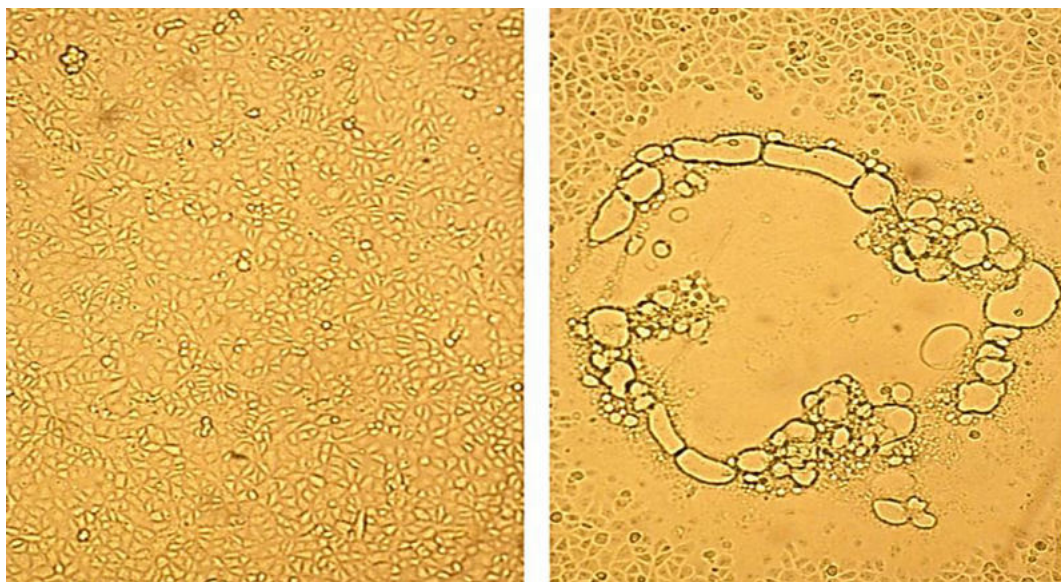


Рис. 81. ЦПД вируса кори на клетки *Vero*. Образование гигантских многоядерных клеток–симпластов с последующей деструкцией и образованием полостей по типу «мыльных пузырей» (справа); слева – контроль, интактная культура клеток (<https://studfile.net>)

2. *Вирусные включения* – скопление вирусных частиц или отдельных компонентов вирусов в цитоплазме или ядре клеток, выявляемые под микроскопом при специальном окрашивании (рис. 82). Включения различаются по величине, форме, численности. Характерные ядерные включения формируются в клетках, зараженных вирусами герпеса, аденовирусами, гриппа, бешенства, оспы и др.



Рис. 82. Тельца Бабеша–Негри при бешенстве (<https://studfile.net>)

3. *Бляшки*, или *негативные колонии* – ограниченные участки, состоящие из дегенеративных клеток, которые вирусы способны образовывать в моно-слое клеток под агаровым покрытием. Они видны невооруженным глазом как светлые

пятна на фоне прижизненно окрашенных нейтральным красным клеток. Одна бляшка соответствует потомству одного вириона.

4. *«Цветная» проба* (проба Солка). Если вирусы не размножаются в культуре клеток, то живые клетки в процессе своего метаболизма выделяют кислые продукты, что ведет к изменению рН среды и цвета индикатора фенолового красного на желтый. При продукции вирусов нормальный метаболизм клеток нарушается, клетки гибнут, и среда сохраняет свой первоначальный (красный) цвет. Таким образом, красный цвет среды указывает на наличие вируса и прекращение жизнедеятельности клеток.

5. *Гемадсорбция* – способность культур клеток, инфицированных вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты определенных видов животных и птиц. Гемадсорбция проявляется скоплением в виде гроздей эритроцитов, адсорбированных на инфицированных вирусом клетках.

6. *Интерференция* – ингибиторное действие одного вируса на репродукцию другого вируса. При этом клетка, внутри которой находится вирус, становится устойчивой к заражению другим вирусом.

4.4. Бактериофаги

Бактериофаги (от *бактерии*, + греч. *phagein*, поедать) – это вирусы, специфически поражающие клетки бактерий. Бактериофаги распространены в природе повсеместно – там, где присутствуют бактерии. Их выявляют в воде, почве, выделениях человека и животных, пищевых продуктах и т.д. По сравнению с вирусами человека бактериофаги более устойчивы к факторам окружающей среды, что позволяет им длительное время сохраняться на объектах окружающей среды. При инфекциях бактериофаги выделяются из организма с испражнениями, мочой, слюной одновременно с бактериальными возбудителями заболеваний и являются важными эпидемиологическими маркерами инфекции. Считается, что бактериофаги представляют собой наиболее многочисленную и филогенетически древнюю группу вирусов. Фаги играют одну из основных ролей в поддержании баланса в биосфере планеты, регулируя численность микробных клеток. Бактериофаги обеспечивают перенос генов между бактериями, что приводит к ускоренной эволюции бактериальной популяции и селекции приспособленных микроорганизмов. В них видят способ борьбы с устойчивыми к антибиотикам бактериями, с одной стороны, с другой – с ними приходится бороться там, где используют бактерии в качестве продуцентов полезных продуктов, включая молочнокислые.

Классификация фагов определяется типом их нуклеиновой кислоты и структурой фаговой частицы. Только два семейства представлены РНК-содержащими

бактериофагами, остальные содержат ДНК, представители двух семейств имеют в геноме однонитевую ДНК, остальные – двухнитевую. Геномная ДНК может быть, как кольцевой, так и линейной.

Морфология большинства фаговых частиц напоминают по форме сперматозоид или головастик. Основными элементами структуры фага являются головка, содержащая упакованную нуклеиновую кислоту, и хвостовой отросток, который заканчивается базальной пластинкой с короткими шипами и нитями (фибриллы) для прикрепления к бактериальной клетке (рис. 83).

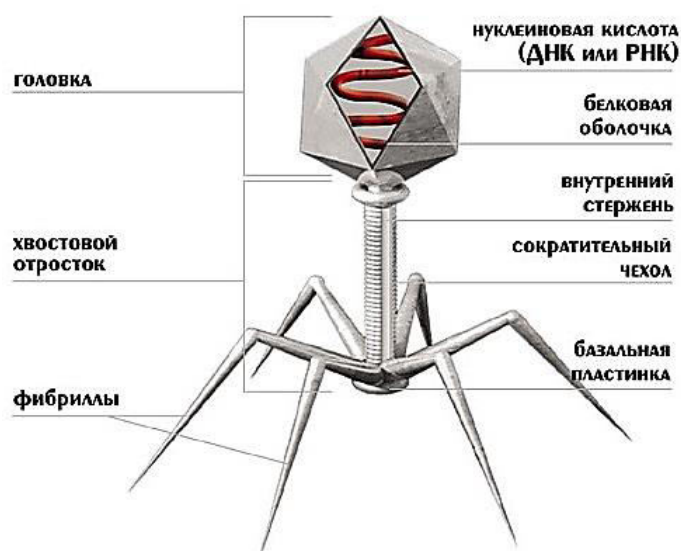


Рис. 83 Строение бактериофага T4 *Escherichia coli* (<https://studfile.net>)

У некоторых фагов головка может быть покрыта липидным суперкапсидом, отросток может быть окружен сократительной белковой оболочкой (чехлом). Фаг такой структуры имеет смешанный тип симметрии (головка – кубический, хвост – спиральный). Размеры фага в среднем колеблются от 20 до 200 нм (нитевидные фаги – до 800 нм).

По морфологии различают пять основных типов бактериофагов:

- 1) ДНК-содержащие нитевидные фаги;
- 2) РНК-содержащие фаги с рудиментом (аналогом) отростка;
- 3) ДНК-содержащие фаги с коротким отростком;
- 4) ДНК-содержащие фаги отростка с длинным отростком и несокращающимся чехлом;
- 5) ДНК-содержащие фаги с сокращающимся чехлом отростка с базальной пластинкой.

Для проникновения в микробную клетку под чехлом у фагов содержится фермент эндолизин (муреин-гидролаза), аналогичный по функции ферменту ли-

зоциму. Также здесь находятся АТФаза и ионы кальция, необходимые для сокращения чехла. В головке внутренние белки содержат полиамины (спермин, путресцин) для связывания с нуклеиновой кислотой. Это способствует суперспирализации нуклеиновой кислоты и ее плотной упаковке. В головке также содержится фермент транскриптаза для транскрипции фаговой ДНК.

Бактериофаги по типу взаимодействия с бактериальной клеткой подразделяются на:

1) *вирулентные* – способные к продуктивной инфекции, лизису бактерий и образованием новых фаговых частиц;

2) *умеренные* – способны встраивать свою ДНК в геном бактериальной клетки. Такое состояние фага называется *профагом*. Бактерия, содержащая профаг, называется *лизогенной*. Лизогенная бактериальная клетка отличается от исходной наличием дополнительной генетической информации за счет генов профага. Изменение фенотипических свойств бактерии, вызванное вирусной ДНК, обозначают термином «*лизогенная (фаговая) конверсия*». Лизогенные бактерии приобретают иммунитет к заражению тем фагом, который содержится в них в состоянии профага. Дополнительной причиной конверсии может быть активация молчащих бактериальных генов, если гены профага выступают в роли промоторов. Лизогенная конверсия характерна для многих видов бактерий. Она сопровождается выраженным изменением их культуральных, биохимических, антигенных или других свойств. В клинических ситуациях особую важность приобретает появление в результате трансдукции антибиотикоустойчивых или высоковирулентных штаммов бактерий. В частности, передача *tox*-генов бактериофагами определяет продукцию экзотоксинов у возбудителей дифтерии, ботулизма, холеры.

Выделяют следующие стадии взаимодействия бактериофагов с чувствительными бактериальными клетками:

- 1) адсорбция;
- 2) проникновение нуклеиновой кислоты фага в бактерию;
- 3) репродукция бактериофага (для вирулентных фагов) или лизогения (для умеренных фагов);
- 4) выход фаговых частиц (для вирулентных фагов).

Адсорбция происходит за счет рецепторов фаговой частицы (шипы и фибриллы базальной пластинки), которые взаимодействуют с рецепторами оболочки бактериальной клетки (липополисахарид, тейхоевые кислоты, белки). Отдельные фаги адсорбируются на пилях бактерий. Прочность связывания зависит от pH среды, температуры, ионной силы. На одной клетке может адсорбироваться до 300 фагов.

Проникновение нуклеиновой кислоты фага в бактерию зависит от сократительных белков чехла фага. Эндолизин разрушает участок клеточной стенки бактерии, происходит активация АТФазы, сокращение белков чехла и центральный стержень отростка прокалывает мембрану клетки. Далее осуществляется впрыскивание (инъекция) нуклеиновой кислоты фага. При этом белки головки и отростка остаются снаружи.

Репродукция фага протекает в несколько этапов, сначала происходит остановка клеточного метаболизма с прекращением синтеза бактериальных нуклеиновых кислот и белков, затем происходят процессы трансляции, транскрипции и репликации с образованием фаговых белков и их нуклеиновых кислот. Созревание фаговых частиц (или сборка бактериофагов) заключается в заполнении фаговой ДНК или РНК вновь сформированных пустотелых капсидов головки. Параллельно формируются базальная пластинка и отросток, которые далее соединяются с головкой фага. Время репродукции составляет от 10–15 мин до нескольких часов.

Выход зрелых фагов наиболее часто происходит путем лизиса с разрушением бактериальной клетки (рис. 84). Лизис осуществляется фаговыми эндолизинами.

Взаимодействие фагов с бактериальной клеткой характеризуется высокой специфичностью. *Моновалентные фаги* реагируют только с бактериями определенного вида; *типовые фаги* – только с отдельными вариантами (типами) данного вида бактерий. Типоспецифические бактериофаги используют для выявления соответствующих бактерий, т.е. для их фаготипирования. *Поливалентные фаги* могут связываться с несколькими родственными видами бактерий.

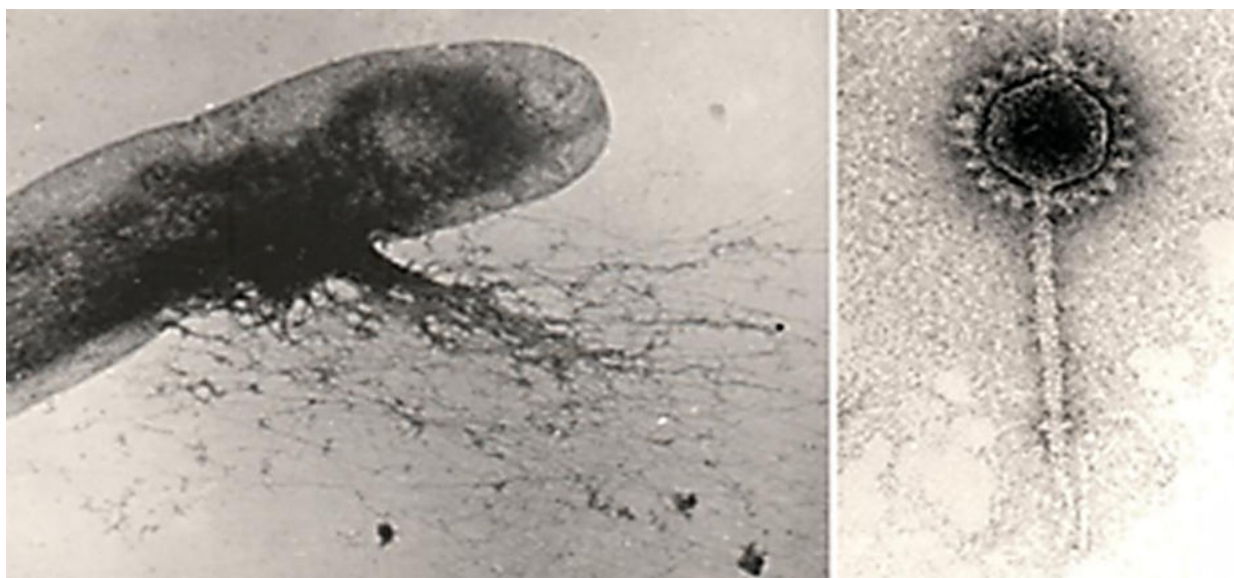


Рис. 84. Лизис *E. coli* и выход фаговых частиц. Справа – зрелая форма бактериофага (<https://biomolecula.ru>)

Строгая специфичность бактериофагов в отношении чувствительных к ним бактериальных клеток нашла широкое применение бактериофагов в медицине. Фаги используют для диагностики, лечения или профилактики бактериальных инфекций. При проведении диагностики бактериофаги применяют для идентификации выделенных культур бактерий. С помощью типоспецифических фагов проводят фаготипирование, т.е. устанавливают принадлежность неизвестной выделенной культуры бактерии к определенному фаготипу. Фаготип является важным эпидемиологическим маркером выделенного штамма возбудителя, так как один и тот же вид бактерий может содержать десятки фаготипов. Определение фаготипов и последующее их сравнение у разных штаммов одного вида позволяет установить источник и пути распространения инфекций.

Кроме того, обнаружение специфических бактериофагов в объектах окружающей среды или клиническом материале может указывать на наличие в них соответствующих бактерий (например, определение коли-фагов в воде).

В биотехнологии бактериофаги используют в качестве векторов для генной инженерии, с их помощью в бактерии встраивают гены человека, синтезирующие гормоны, цитокины, антитела или другие субстанции. Так же для изучения функции белковых молекул и создания библиотек генов и кодируемых ими белков, например, с применением технологии «фагового дисплея».

Раздел 5. ДЕЙСТВИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МИКРООГРАНИЗМЫ

5.1. Физические факторы

Физические факторы (температура, давление, излучение и др.) на микроорганизмы могут оказывать как негативное, так и благоприятное действие. Неблагоприятное воздействие может замедлять рост и размножение микроорганизмов (статическое действие) или вызывать их гибель (бактерицидное, фунгицидное действие). Оптимальные условия способствуют росту и размножению микроорганизмов, что можно активно использовать при их культивировании.

Температура. По отношению к существованию в различных температурных режимах микроорганизмы делят на *мезофильные, психрофильные, термофильные формы*.

Для мезофилов оптимальной температурой является 25–40 °С. К этой группе относится подавляющее большинство как сапрофитных, так и патогенных бактерий.

Среди микроорганизмов – обитателей глубин океанов, тундровых почв встречаются сапрофитные виды – психрофилы, которые размножаются при температуре ниже 20 °С. Термофильные микроорганизмы, заселяющие, например, воды горячих источников, способны размножаться при температуре выше 70 °С.

Бактерии-мезофилы в вегетативном состоянии чувствительны к повышению температуры до 50–55 °С. При этом происходит денатурация белков бактериальной клетки, что ведет к гибели. Спорообразующие бактерии – бациллы, клостридии – более устойчивы к повышению температуры, многие из них способны выдерживать в течение нескольких часов нагревание до 100–110 °С. Однако, чувствительность к повышенной температуре колеблется у бактерий в зависимости от условий культивирования, состава питательной среды, длительности экспозиции температурного влияния и других факторов. При температуре ниже оптимальной на 5–10 °С бактерии не погибают, однако, их размножение задерживается в связи с замедлением обмена веществ. Для сохранения вегетативных форм бактерий при пониженной температуре применяют вещества с высокой вязкостью, которые предохраняют цитоплазму бактериальной клетки от разрушения кристаллами льда. Такие вещества называют *криопротекторами*. К ним относятся желатина, раствор альбумина, глицерин, 40% раствор сахарозы. Криопротекторы используют для длительного хранения культур бактерий при минусовых температурах, а также при лиофильном высушивании микроорганизмов.

Высушивание. При относительной влажности менее 30% у большинства бактерий происходит замедление всех процессов жизнедеятельности. Наиболее чувствительны к высушиванию патогенные микроорганизмы (возбудители гонореи, менингита, холеры, брюшного тифа, дизентерии и др.). Более устойчивыми являются микроорганизмы, защищенные слизью мокроты. Высушивание под вакуумом из замороженного состояния – *лиофилизацию* – используют для продления жизнеспособности, консервирования микроорганизмов при приготовлении иммунобиологических препаратов. Лиофильное высушивание предусматривает переход вещества из замороженного состояния в сухое, минуя жидкую фазу. Лиофилизированные культуры микроорганизмов в течение нескольких лет сохраняются и не меняют своих первоначальных свойств.

Осмотическое и гидростатическое давление. Бактерии, дрожжи и плесневые грибы устойчивы к гидростатическому давлению. Они переносят давление 1000–3000 атм, а спороносные бактерии – до 20000 атм. При таком высоком давлении снижается активность бактериальных ферментов и токсинов.

Осмотическое давление отрицательно влияет на биохимическую активность микроорганизмов. Повышение концентрации солей задерживает развитие многих бактерий, однако, есть виды способные развиваться в присутствии концентрированных растворов солей, такие бактерии называют *осмофильными* (*галофильными*). Осмотическое давление в клетке регулирует цитоплазматическая мембрана. При высоком осмотическом давлении окружающей среды происходит *плазмолиз*. Плазмолиз явление обратимое и, если понизить осмотическое давление окружающего микроорганизмы раствора, вода поступает внутрь клетки и возникает явление противоположное плазмолизу – *плазмолитиз*.

Действие излучения. Большинство патогенных бактерий плохо переносят прямой солнечный свет. На этом основано использование ультрафиолетового света с целью обеззараживания (стерилизации) воздуха в помещениях медицинских учреждений. Как УФ-свет, так и рентгеновские лучи, и другие виды ионизирующего излучения оказывают на микроорганизмы летальное или мутагенное действие. Наиболее эффективны короткие лучи ультрафиолетового спектра с длиной волны около 280 нм. Такие лучи поглощаются нуклеиновыми кислотами клетки, при этом поражаются пиримидиновые основания и клетки погибают в результате возникновения летальных мутаций. Часть облученных клеток популяции способна к восстановлению, репарации ДНК. Репарация облученных молекул ДНК происходит при фотореактивации клеток, для этого необходимо воздействовать на клетки повторно лучами более длинноволновой области (520–550 нм) или провести ликвидировать повреждения ДНК без участия видимого света (*темновая репарация*).

Радиоактивное излучение также губительным образом действует на микроорганизмы. В то же время были обнаружены бактерии, устойчивые к действию ионизирующих излучений. Например, *Micrococcus radiodurans* была выделена из ядерного реактора. Устойчивость к излучению определяют морфологическое и физиологическое состояние микроорганизма, экспозиция, доза облучения. Бактерии более чувствительны к ионизирующему облучению, чем вирусы. Механизм действия ионизирующей радиации так же связан с изменением нуклеиновых кислот клетки. Ионизирующая радиация в отдельных случаях используется в практике здравоохранения для стерилизации лекарственных веществ, медицинских изделий из пластика, хирургических материалов.

Ультразвуковые волны при частоте колебания 1–1,3 мГц в течение 10 мин оказывает бактерицидный эффект на клетки микроорганизмов. Ультразвук способствует разрыву клеточных стенок и мембран, повреждению флагеллина у подвижных форм микроорганизмов. Влияние ультразвука основано на механическом разрушении микроорганизмов в результате возникновения высокого давления внутри клетки или на появлении гидроксильных радикалов и атомарного кислорода в водной среде цитоплазмы. Это позволяет использовать его в качестве стерилизующего агента, а также применять для инактивации и дезинтеграции вирусов с целью получения антигенов и вирусных вакцин.

5.2. Химические факторы

К химическим факторам, влияющим на жизнедеятельность микробов, относят: концентрация водородных ионов (рН) в среде, окислительно-восстановительный потенциал среды и действие химических веществ.

Концентрации водородных ионов (рН среды). В зависимости от отношения к рН среды микроорганизмы делятся на:

- **Нейтрофилы** – предпочитают нейтральную реакцию среды. Растут в диапазоне значений рН от 4 до 9. К ним относятся большинство бактерий.
- **Ацидофилы** (кислотолюбивые). Растут при рН 4 и ниже. К ацидофилам относятся молочнокислые, уксуснокислые бактерии, грибы и дрожжи.
- **Алкалофилы**. К этой группе относятся микроорганизмы, которые растут и развиваются при рН 9 и выше (холерный вибрион).

Зная отношение различных микроорганизмов к реакции среды и регулируя ее рН, можно подавлять или стимулировать их развитие.

Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) среды служит количественной мерой способности некоторых соединений или элементов отдавать электроны. Выражается в Eh (rH₂). Величина Eh минимальна при насыще-

нии среды водородом и максимальна при насыщении ее кислородом. Она измеряется от 0 до 41 единиц. При равновесии окислительно-восстановительных процессов в среде rH_2 равен 28. Присутствие в среде окисляющих веществ (метилевого синего, резазурина, кислот, перманганата калия и др.) повышает значение потенциала. Значение же соединений, обладающих восстановительными свойствами (цистеин, тимоловая кислота), снижает потенциал. ОВП также резко уменьшается при отмирании микроорганизмов, лизисе их фагом и действии на культуры лизоцимом. Изменяя ОВП среды, можно повлиять на интенсивность размножения различных групп микроорганизмов и направленность вызываемых ими биохимических процессов.

Химические вещества могут служить источниками питания; не оказывать какого-либо влияния; стимулировать или подавлять рост. Проявления различного влияния химических веществ зависит от самой природы химических соединений, их концентрации, времени контакта, от сопутствующих факторов среды - температуры, pH и др., а также от индивидуальных свойств микроба. Химические вещества, способные оказывать бактерицидное действие используют для *дезинфекции*, то есть для уничтожения возбудителей инфекционных заболеваний в окружающей среде.

К химическим веществам, действующим на микроорганизмы, относятся:

1. Окислители.
2. Поверхностно-активные вещества.
3. Галогены.
4. Соли тяжелых металлов.
5. Кислоты.
6. Щелочи.
7. Спирты.
8. Фенолы, крезолы и их производные.
9. Альдегиды (формальдегид, формалин).
10. Красители.

По механизму противомикробного действия все химические вещества подразделяются на:

1. Денатурирующие белки – коагулируют и свертывают белки.
2. Омыляющие белки – приводят к «набуханию» и растворению белков.
3. Окислители – повреждают сульфгидрильные группы активных белков.
4. Реагирующие с фосфатнокислыми группами нуклеиновых кислот.
5. Поверхностно активные вещества – вызывают повреждения клеточной стенки.

Денатурирующие вещества:

- фенол, крезол и их производные – бактерицидное действие связано с повреждением клеточной стенки и денатурацией белков цитоплазмы;

- формальдегид – бактерицидное действие обусловлено дегидратацией поверхностных слоев и денатурацией белка;

- спирты – бактерицидное действие обусловлено способностью «отнимать» воду и свертывать белки;

- соли тяжелых металлов (сулема, мертиолат, соли ртути, серебра, цинка, свинца, меди) – положительно заряженные ионы металлов адсорбируются на отрицательно заряженной поверхности бактерий и изменяют проницаемость их цитоплазматической мембраны, изменяется структура дыхательных ферментов;

Омыляющие белки – щелочи, гашеная известь.

Окисляющие белки (хлор, бром, йодосодержащие, перекись водорода, перманганат калия) – выделяют активный атомарный кислород, вызывая цепную реакцию свободнорадикального перекисного окисления липидов, что ведет к деградации мембран и белков микроорганизмов.

Поверхностно-активные вещества (жирные кислоты, мыла, моющие средства, детергенты) – нарушают проницаемость цитоплазматической мембраны.

Галогены (хлорсодержащие: хлорная известь, хлорамин Б, дихлор-1, сульфохлорантин, хлорцин и др.; йодосодержащие: спиртовой раствор йода, йодинол, йодоформ, раствор Люголя и др.) – разрушают ферментативные структуры бактериальной клетки, угнетают гидролитическую и дегидрогеназную активность бактерий, инактивируют такие ферменты, как амилазы и протеазы, денатурируют белки цитоплазмы, а также выделяют атомарный кислород, оказывающий окисляющее действие на микроорганизмы.

Красители (бриллиантовый зеленый, риванол, трипфлавин, метиленовая синь) – обладают сродством к фосфорнокислым группам нуклеиновых кислот и нарушают процесс деления бактерий. Многие красители используются в составе антисептиков.

Бактерицидный эффект кислот (салициловая, борная) и щелочей на микроорганизмы обуславливается:

- дегидратацией микроорганизмов;
- изменением pH среды;
- гидролизом коллоидных систем;
- образованием кислотных и щелочных альбуминатов.

5.3. Дезинфекция

Дезинфекция – это мероприятия, направленные на уничтожение возбудителей инфекционных болезней (патогенных и условно-патогенных микроорганизмов): вирусов, бактерий и грибов – в окружающей среде, в том числе и на изделиях медицинского назначения.

Различают *профилактическую* и *очаговую* дезинфекции.

Профилактическую дезинфекцию проводят при отсутствии источника инфекции. Очаговую дезинфекцию выполняют в случае возникновения инфекционного заболевания или подозрении на него и подразделяют на *текущую* и *заключительную*. Текущая дезинфекция выполняется в присутствии больного в течение всего заразного периода. Заключительная дезинфекция проводится после изоляции, выздоровления или смерти больного.

Основными методами дезинфекции являются:

- *механические методы* предполагают удаление микроорганизмов путем вытряхивания, выколачивания, влажной уборки, стирки белья с мылом, проветривания;
- *физические методы* включают кипячение, обработку в дезинфекционных камерах и др.;
- *химические методы* используют химические вещества, которые обладают высокой бактерицидной активностью. К наиболее распространенным дезинфицирующим средствам относятся хлорсодержащие, фенольные, перекисные и аммониевые соединения.
- *биологические методы* — это уничтожение микроорганизмов с помощью микробов;
- *комбинированные методы* предполагают использование сочетание вышеперечисленных методов.

Дезинфекция входит в совокупность мер, направленных на уничтожение микроорганизмов не только в окружающей среде, но и в макроорганизме, например, в ране и является основой *асептики* и *антисептики*.

Асептика — система профилактических мероприятий, направленных на предупреждение внедрения возбудителей инфекции в рану, ткани, органы при хирургических операциях, перевязках и других лечебных и диагностических процедурах.

Антисептика — это совокупность химических, биологических, механических и физических способов снижения численности, подавления или полного уничтожения популяций облигатно- и условно-патогенных микроорганизмов на здоровой коже, в ране, патологических образованиях с целью предупреждения развития инфекционных процессов и сепсиса, т.е. это комплекс лечебно-профилактических мероприятий, направленных на уничтожение микробов в ране или в организме в целом.

5.4. Стерилизация

Стерилизация (*обеззараживание, обеспложивание*) – это совокупность физических и химических способов полного освобождения объектов внешней среды от микроорганизмов, включая и споры. *Стерильность* – понятие абсолютное, оно означает полное отсутствие микроорганизмов, как на поверхности, так и внутри стерильного объекта.

Используют несколько способов стерилизации: термическая (под действие высоких температур), холодная (с помощью ультразвука, излучения, фильтрации). В некоторых случаях эти методы комбинируют.

1. **Термические методы** (прокаливание в пламени, стерилизация горячим воздухом, стерилизация насыщенным паром, применение гласперленовых стеклянных шариков).

Прокаливание самый простой способ стерилизации. В пламени горелки прокаливают бактериологические петли, препаровальные иглы, кончики пинцетов и ножниц, предметные стекла. При этом бактерии, грибы и их споры сгорают.

Стерилизацию сухим жаром чаще всего используют для стеклянной посуды. Ее проводят в специальных суховоздушных (сухожарочных) шкафах, имеющих датчики – регуляторы температуры.

Стерилизацию насыщенным паром под давлением (автоклавирование) в паровых стерилизаторах (автоклавах). Это наиболее надежный и распространенный способ стерилизации. Принципиальное устройство автоклавов представлено на рисунке 85. Стерилизация осуществляется в стерилизационной камере, куда подаётся через патрубок пар из парообразующей камеры. Предварительно в парообразующую камеру заливается вода, где она при нагревании превращается в пар.

Время стерилизации зависит от физико-химических свойств и объема продукта. Так, питательные среды стерилизуют 20–30 мин при 1 атм, перевязочный материал и резиновые изделия от 1 до 2 ч при 1,0–1,5 атм.

Наконечники, в том числе ультразвуковые, и насадки к ним, эндодонтические инструменты с пластмассовыми хвостовиками стерилизуют только паровым методом.

Питательные среды, свойства которых изменяются при температуре выше 100 °С в автоклавах стерилизуют *текущим паром* при незавинченной крышке и открытом выпускном кране.

Для стерилизации в автоклаве сред, портящихся под действием температур выше 100 °С, применяется *дробная стерилизация* – трех- или четырехкратная обработка с интервалом в 1 сут, во время которого не успевшие погибнуть споры

бактерий прорастают в вегетативные формы и погибают от действия пара и температур.

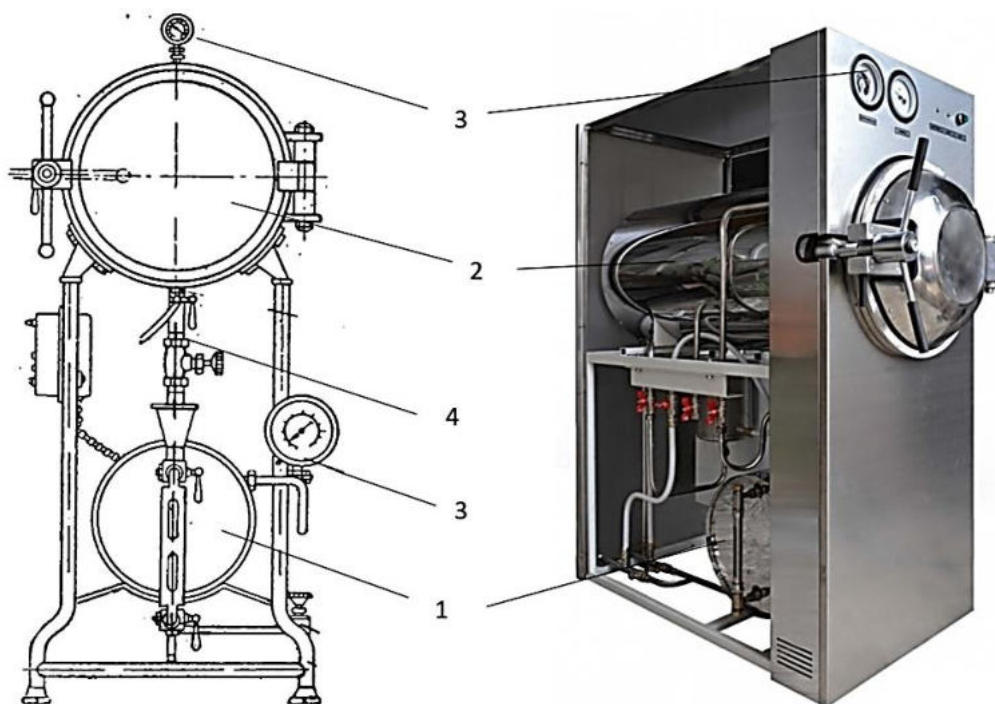


Рис. 85. Устройство автоклава: 1 – парообразующая камера, 2 – стерилизационная камера, 3 – манометры, 4 – патрубок

В пищевой промышленности проводят *пастеризацию* – однократный прогрев продуктов при температуре 60–75 °С в течение 15–30 мин.

Для контроля стерильности материала и режима стерилизации в сухожаровом шкафу и автоклавах используют *физические, химические, биологические* методы.

Физические методы предполагают контроль режима стерилизации с использованием термометров и манометров.

Для химического контроля используют термохимические индикаторы или вещества с определенной точкой плавления. Например, бензойную кислоту с температурой плавления 120 °С. Эти вещества выпускаются в ампулах. Расплавление порошка и превращение его в сплошную массу указывают на то, что температура в биксе была равна точке плавления контрольного вещества или превышала ее. Для контроля режима стерилизации в сухожаровых стерилизаторах используют порошкообразные вещества с высокой точкой плавления: аскорбиновую кислоту (187–192 °С), янтарную кислоту (180–184 °С), тиомочевину (180 °С). Термохимический индикатор представляет собой полоску бумаги, на которую нанесена термоиндикаторная краска. По окончании стерилизации визуально определяют изменение цвета термохимического индикатора и сравнивают

с эталоном. При несоблюдении режима стерилизации изменения цвета термохимического индикатора не происходит.

При биологическом контроле делают посев смыва с простерилизованного объекта или используют бактериологические тесты. Смыв делают стерильным тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором, затем делают посев смыва на питательную среду. В качестве бактериологических тестов используют пробирки с известной спороносной непатогенной культурой микроорганизмов, которые погибают при определенной температуре. Тест-культуры вкладывают вглубь бикса, а по окончании стерилизации извлекают и делают посеvy. Отсутствие роста микробов свидетельствует о стерильности материала.

Стерилизация в среде нагретых стеклянных гласперленовых шариков. Этот метод используется в стоматологии для экспресс-стерилизации мелких инструментов. Основными недостатками данного метода является то, что он подходит только для металлических предметов, отсутствие химического и биологического контроля проведенной стерилизации.

2. Холодная стерилизация (радиационная, инфракрасная, химическая, фильтрование через бактериальные фильтры) осуществляется в отношении материалов, сред и растворов, которые изменяют свойства при тепловой стерилизации.

Радиационная стерилизация связана с облучением термочувствительных изделий медицинского назначения ионизирующим излучением. Основными достоинствами этого метода являются: высокая степень инаktivации микроорганизмов и возможность стерилизации большеразмерных медицинских изделий в больших объемах.

Инфракрасная стерилизация основана на применении кратковременного импульсного инфракрасного излучения, создающего в рабочей камере температуру 200⁰С. Недостатками данного метода стерилизации являются отсутствие упаковки инструментов, повреждающее воздействие на полимерные материалы и резину, отсутствие контролирующих индикаторов.

Химическая стерилизация (применение растворов химических средств, газов). При стерилизации с использованием химических веществ изделия погружают в растворы альдегид- или кислородсодержащих средств, некоторых хлорсодержащих компонентов, обладающих спороцидным действием. По окончании стерилизации их промывают стерильной жидкостью (питьевая вода, 0,9 % раствор натрия хлорида) с соблюдением правил асептики для предотвращения вторичного обсеменения простерилизованных изделий микроорганизмами.

Для *газовой стерилизации* используют смесь окиси этилена и бромистого метила, окись этилена, пары раствора формальдегида в этиловом спирте, а также озон. Стерилизацию газовым методом осуществляют в стационарных газовых

стерилизаторах. Основными недостатками данного метода являются дороговизна оборудования, время стерилизации (несколько часов), необходимость дегазации при помощи специальной аппаратуры, что дополнительно увеличивает стоимость и длительность цикла стерилизации.

Фильтрование. Стерилизация фильтрованием показана для синтетических сред определенного состава, содержащих термолabile аминокислоты, витамины, белки, для ароматических углеводов, для антибиотиков и других лекарственных средств. Фильтрование проводится через мелкопористые материалы, которые адсорбируют клетки микроорганизмов: каолин, фарфор, нитроцеллюлоза (мембранные фильтры) и др. После стерилизующей фильтрации среды и растворы обязательно проверяют на стерильность, помещая микропробы простерилизованных растворов в термостат при температуре 37 °С.

В стоматологии стерильными должны быть все инструменты, соприкасающиеся с твердыми тканями зубов и слизистой оболочкой ротовой полости, контактирующие со слюной и кровью, а также применяемые для инъекционного введения лекарственных препаратов.

Перед стерилизацией изделия очищают от белковых, жировых, механических загрязнений, остаточных количеств лекарственных веществ и дезинфектантов. Для предстерилизационной очистки могут быть использованы различные синтетические моющие средства, она осуществляется ручным или механизированным способом. Предстерилизационную очистку изделий осуществляют после дезинфекции или при совмещении с дезинфекцией в одном процессе (в зависимости от применяемого средства). Качество предстерилизационной очистки изделий оценивают путем постановки азопирамовой или амидопириновой пробы на наличие остаточных количеств крови, а также путем постановки фенолфталеиновой пробы на наличие остаточных количеств щелочных компонентов моющих средств. Контроль качества предстерилизационной очистки проводят ежедневно.

5.5. Дезинфекция и стерилизация в стоматологическом кабинете

В стоматологии изделия медицинского назначения после применения подлежат дезинфекции независимо от дальнейшего их использования (изделия однократного и многократного применения).

Без стерилизации дезинфекции с дальнейшим использованием подлежат изделия и приспособления, непосредственно не контактирующие со слюной, кро-

вью и тканями полости рта пациента в процессе проведения лечебно-диагностических процедур: фотополимеризационные лампы (за исключением световодов, которые должны стерилизоваться), пистолеты вода/воздух и т.д.

Изделия однократного применения после использования подлежат дезинфекции с последующей утилизацией. Повторное использование их запрещается.

Медицинские изделия многократного применения при стоматологических манипуляциях у пациентов подлежат последовательно:

- дезинфекции;
- предстерилизационной очистке;
- стерилизации;
- последующему хранению в условиях, исключающих вторичную контаминацию микроорганизмами.

При проведении дезинфекции, предстерилизационной очистки и стерилизации изделия медицинского назначения погружают в дезинфицирующий раствор с заполнением каналов и полостей. Разъемные изделия погружают в разобранном виде, инструменты с замковыми частями замачивают раскрытыми, сделав этими инструментами в растворе несколько рабочих движений.

Дезинфекцию способом протирания допускается применять для тех изделий медицинской техники и медицинского назначения, которые

- не соприкасаются непосредственно с пациентом;
- конструкционные особенности которых не позволяют применять способ погружения (наконечники, переходники от турбинного шланга к наконечникам, микромотор к механическим наконечникам, наконечник к скелеру для снятия зубных отложений, световоды светоотверждающих ламп).

Для этих целей не рекомендуется использовать альдегидсодержащие средства. Обработку наконечников после каждого пациента допускается проводить следующим образом:

- канал наконечника промывают водой, прочищая с помощью специальных приспособлений (мандрены и т.п.), и продувают воздухом;
- наконечник снимают и тщательно протирают его поверхность (однократно или двукратно – до удаления видимых загрязнений) тканевыми салфетками, смоченными питьевой водой, после чего обрабатывают одним из разрешенных к применению для этой цели дезинфицирующих средств, а затем в паровом стерилизаторе.

После дезинфекции изделия медицинского назначения многократного применения должны быть отмыты от остатков дезинфицирующего средства в соответствии с рекомендациями, изложенными в инструкции по применению конкретного средства.

Дезинфекцию стоматологических оттисков, заготовок зубных протезов проводят после применения у пациентов перед направлением в зуботехническую лабораторию и после их получения из зуботехнической лаборатории непосредственно перед применением. Выбор дезинфицирующего средства обусловлен видом оттискового материала. После дезинфекции изделия промывают питьевой водой для удаления остатков дезинфицирующего средства.

Обеззараживание стоматологических отсасывающих систем проводят после окончания работы, для чего через систему прокачивают раствор дезинфицирующего средства, рекомендованного для этих целей; заполненную раствором систему оставляют на время, указанное в инструкции по применению средства. После окончания дезинфекционной выдержки раствор из системы сливают и промывают ее проточной водой.

Полировочные насадки, карборундовые камни, предметные стекла подлежат дезинфекции, очистке и стерилизации. В физиотерапевтическом отделении дезинфекции подвергают съемные десневые и точечные электроды, тубусы к аппарату КУФ (коротковолновое ультрафиолетовое облучение), световоды лазерной установки, стеклянные электроды к аппарату дарсонвализации. Для аппликаций во рту используют стерильный материал.

Раздел 6. АНТИМИКРОБНАЯ ТЕРАПИЯ **ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Антибиотики – специфические продукты жизнедеятельности клетки или их модификации, обладающие высокой физиологической активностью по отношению к определенным группам микроорганизмов или к злокачественным опухолям, избирательно задерживая их рост или полностью подавляя развитие.

6.1. Классификация антибиотиков

Антибиотики можно отнести к так называемым биологическим факторам, которые способны влиять на жизнедеятельность отдельных микроорганизмов.

Существует несколько подходов к классификации антибиотиков: 1) по происхождению, способу получения; 2) по спектру действия (по характеру биологического, объекта, в отношении которого данный антибиотик активен); 3) по типу действия; 4) по химическому строению антибиотика; 5) по механизму действия антибиотика.

По происхождению антибиотики классифицируются в зависимости от продуцента (бактерии, грибы, растения, животные).

По способу получения антибиотики подразделяются на:

- *природные антибиотики*, которые получены в ходе биологического синтеза живыми организмами (микроорганизмами, грибами, животными, растениями);
- *синтетические антибиотики* (получены в ходе химического синтеза);
- *полусинтетические антибиотики* получены комбинированным способом, являются результатом химической модификации природных антибиотиков.

По спектру действия выделяют:

- *антибактериальные антибиотики*;
- *противотуберкулезные антибиотики* (стрептомицин, рифампицин);
- *противогрибковые антибиотики* (нистатин, анкотил, дифлюкан и др.);
- *противоопухолевые антибиотики*.

Антибактериальные антибиотики бывают *широкого и узкого спектра* действия. Антибиотики широкого спектра оказывают активное влияние на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы.

Антибиотики узкого спектра избирательно действуют либо на грамположительные бактерии, либо на грамотрицательные бактерии.

По типу воздействия антибиотиков на микробную клетку выделяют следующие группы:

- *бактерицидные* – способные вызывать гибель бактерий;

- *бактериостатические* – приостанавливающие размножение.

У некоторых антибиотиков тип действия зависит от их концентрации. Например, аминогликозиды в малых дозах оказывают бактериостатическое действие, в больших – бактерицидное.

По химическому строению антибиотики классифицируются на основании общих признаков в химическом составе. Выделяют:

1. *β-лактамы* (пенициллины, цефалоспорины, монобактамы, карбапенемы) имеют в своей структуре молекул β-лактамное кольцо (рис. 86).

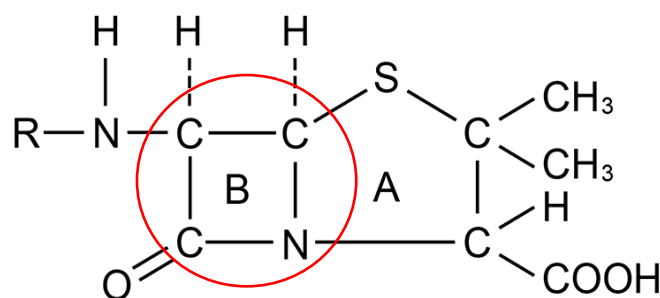


Рис. 86. Структура β-лактамного кольца

2. *Аминогликозиды* (стрептомицин, гентамицин). Содержат аминсахара, которые соединены гликозидной связью с аминциклическим кольцом:

3. *Тетрациклины* (тетрациклин, доксициклин). В основе их химического строения лежит конденсированная четырехциклическая система.

4. *Макролиды* (эритромицин, олеандомицин). Основой химической структуры которых является макроциклическое лактонное кольцо, к которому присоединены углеводные остатки.

5. *Линкозамиды* (линкомицин). Имеют близкие к макролидам биологические и фармакологические свойства.

6. *Гликопептиды* (ванкомицин). Содержат замещенные пептидные соединения.

7. *Полиены* (нистатин). Содержат сопряженные связи.

8. *Полимиксины*. Сложные органические соединения, в основе которых является полипептид.

9. *Сульфаниламиды*. Производные сульфаниловой кислоты.

10. *Хинолоны/фторхинолоны*.

11. *Нитрофураны* (фуразолидон).

12. *Рифампицины* (рифампицин) и др.

Классификация антибиотиков по механизму действия основана на воздействие их на отдельные компоненты бактериальной клетки.

6.2. Механизм действия антибиотиков

Антибиотики влияют на бактерии в фазе активного роста и размножения. Это связано с тем, что антибиотики (и другие химиотерапевтические агенты) вмешиваются в метаболизм бактериальных клеток и никогда не повреждают готовые структуры покоящихся бактерий (исключением являются антибиотики, обладающие мембранотропным эффектом – тиротрицин и полимиксины). Поэтому антибиотики, прежде всего, действуют на патогенные микроорганизмы и только при длительном применении – на нормальную микрофлору. Патогенетически значимая колонизация требует от возбудителей быстрого размножения и усиленной метаболической активности. Это повышает уязвимость бактерий для антибиотиков. Отсюда следует практически важный вывод: антибиотики менее эффективны при хронических, чем при острых инфекциях и практически не эффективны при бессимптомном и малосимптомном носительстве патогенных бактерий.

По механизму антимикробного действия антибиотики можно разделить на группы:

- ингибиторы синтеза компонентов клеточной стенки;
- нарушающие функции цитоплазматической мембраны;
- подавляющие синтез белков;
- ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот, нуклеотидов;
- антиметаболиты.

Ингибиторы синтеза компонентов клеточной стенки. Клеточная стенка бактерий — идеальная мишень для высокоизбирательного антибактериального эффекта, так как ее структурная основа, пептидогликан, уникальна и жизненно необходима для прокариот.

Синтез пептидогликана начинается в цитоплазме клетки бактерии, а транспорт его компонентов (N-ацетилмурамой кислоты и N-ацетилглюкозамина) через цитоплазматическую мембрану осуществляется специальным переносчиком — липидом-II, который предоставляет ферментам данные компоненты, чтобы те осуществили «сборку» пептидогликана (рис. 87).

Эту стадию ингибируют *гликопептиды*. Основным представителем класса гликопептидов является *ванкомицин*. Механизм действия ванкомицина основан на подавлении синтеза клеточной стенки с помощью прямого связывания с терминальной частью пептидного мостика (а именно с D-аланил-D-аланином) липида-II.

Комплекс «ванкомицин–пентапептид» не позволяет:

- трансгликозилазе осуществлять образование гликозидных связей;
- транспептидазе формировать пептидные мостики.

Благодаря этому клеточная стенка бактерии разрушается.

Работу транспептидаз (пенициллинсвязывающих белков), которые участвуют в сшивании пептидогликановых цепей межпептидными связями, также блокируют β -лактамы антибиотики.

Они необратимо ингибируют транспептидазу вследствие сходства этих антибиотиков с D-аланин-пептидной цепью пептидогликана (рис. 88).

Завершают саморазрушение клеточной стенки с последующим разрывом цитоплазматической мембраны собственные ферменты бактерий – аутолизины, которые в норме расщепляют пептидогликан при делении бактериальных клеток.

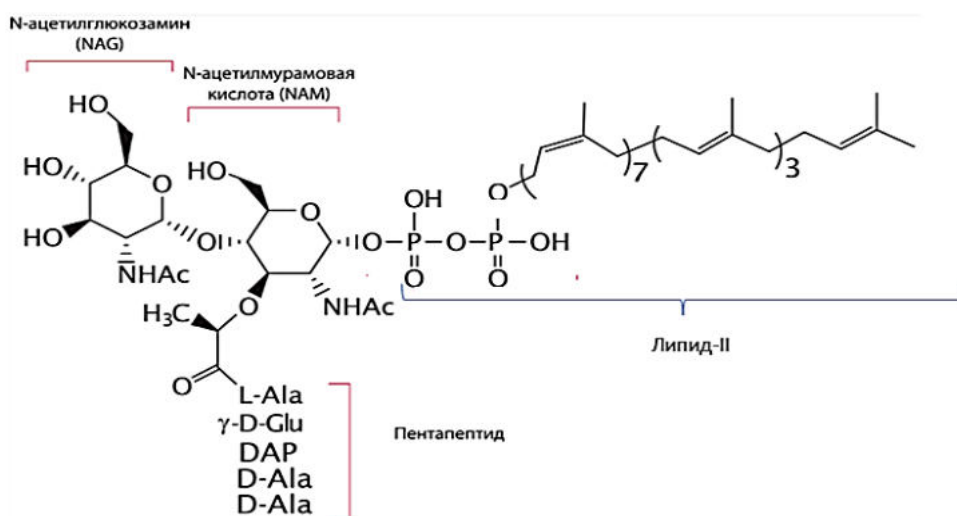


Рис. 87. Структура липида-II. Липид-II соединен с N-ацетилглюкозамином (NAG) и N-ацетилмурамой кислотой (NAM) и коротким пентапептидным «мостиком»

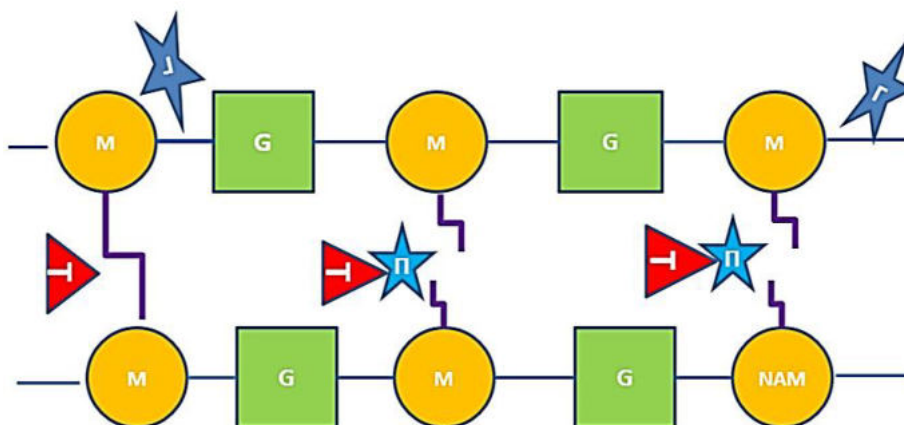


Рис. 88. Механизм действия бета-лактамовых антибиотиков и гликопептидов: N-ацетилглюкозамин (G) и N-ацетилмурамовая кислота (M), транспептидаза (Т), пенициллин (П), гликопептиды (Г)

Существуют антибиотики, нарушающие образование пептидогликана на начальных стадиях его синтеза (циclosерин, фосфомицин и бацитрацин).

Антибиотики, нарушающие функции цитоплазматической мембраны (полимиксины, грамицидины, нистатин и др.)

Полимиксины имеют положительный заряд и нарушают отрицательный заряд внешней мембраны грамотрицательных бактерий, конкурентно замещая ионы кальция и магния у фосфатных групп ЛПС. Дестабилизация ЛПС приводит к разрывам во внешней мембране, потере периплазматических и цитоплазматических компонентов. Кроме того, полимиксины ингибируют дыхательные ферменты на внутренней мембране бактерии.

Липопептиды действуют преимущественно на грамположительные бактерии. Препарат связывается с мембраной посредством кальций-зависимой вставки в ее билипидный слой, что ведёт к образованию поры. В результате этого происходит утечка ионов калия, мембрана деполяризуется. Нарушения электролитного баланса клетки и заряда мембраны ведут к подавлению образования бактериальных ДНК, РНК и белков, из-за чего микроорганизм и погибает.

Антибиотики, подавляющие синтез белка (аминогликозиды – стрептомицин, неомицин, канамицин и др.; макролиды – эритромицин, олеандомицин; тетрациклины; линкозамиды; хлорамфеникол и др.). Большинство этих антибиотиков так или иначе оказывают влияние на трансляцию. В этом смысле эти препараты можно назвать антирибосомальными антибиотиками. Они только на бактериальные рибосомы, так как прокариотические рибосомы отличаются от эукариотических.

Тетрациклины – антибиотики широкого спектра действия с бактериостатическим эффектом. В микробной клетке они обратимо связываются с малой 30S субъединицей бактериальной рибосомы и в итоге вызывают остановку синтеза белка.

Макролиды обратимо связываются с 50S субъединицей рибосом.

Линкозамиды и *хлорамфеникол* связываются с пептидилтрансферазным центром, расположенным в А-сайте (центре специфического узнавания аминокислоты) 50S субъединицы, нарушая работу пептидилтрансферазы, поскольку меняется его конформация.

Аминогликозиды обладают бактерицидным действием. Антибиотики связываются со специфическими белками-рецепторами на 30S субъединице рибосом, изменяя при этом конформацию А-сайта. Это приводит к ингибированию синтеза белка.

Антибиотики, нарушающие синтез нуклеиновых кислот пуриновых и пиримидиновых оснований

Фторхинолоны обладают бактерицидным действием. Они блокируют синтез бактериальной ДНК за счет ингибирования ферментов – бактериальной ДНК-гиразы и топоизомеразы IV. Ингибирование ДНК-гиразы предотвращает

расслабление положительно суперскрученной ДНК, что необходимо для процессов транскрипции и репликации. Это, соответственно, влияет на рост, деление и жизнедеятельность бактериальной клетки. Ингибирование топоизомеразы нарушает расхождение материнской и реплицированной хромосомных ДНК в соответствующие дочерние клетки во время деления.

Рифамицины, присоединяясь к РНК-полимеразе, блокируют синтез мРНК.

Антибиотики, обладающие антиметаболическими свойствами

Антиметаболиты – это группа лекарственных препаратов, имеющие сходство по химической структуре с эндогенными продуктами метаболизма. Они вступают в конкуренцию с нормальными метаболитами, замещают их в биохимических реакциях, но выполнять их функцию не могут.

Сульфаниламиды являются структурным аналогом парааминобензойной кислоты, конкурентно ингибируют фермент дигидроптероатсинтазу, вследствие чего нарушается синтез фолатов, пуринов и нуклеиновых кислот, необходимых для роста и деления бактерий.

Триметоприм селективно ингибирует бактериальный фермент дигидрофолатредуктазу, который катализирует реакцию превращения дигидрофолиевой кислоты в тетрагидрофолиевую кислоту, необходимую для образования пуринов и нуклеиновых кислот.

6.3. Побочное действие антибиотиков

Антибиотики обладают побочным действием, оказывая неблагоприятное влияние на макроорганизм, на микроорганизмы, изменяют эффект других лекарственных средств.

Осложнения со стороны макроорганизма

1. *Токсические реакции.* Выраженность токсического действия антибиотика на организм зависит от свойств препарата, его дозы, способа введения, состояния больного. Гепатотоксическим действием обладают, например, тетрациклины, эритромицин, нефротоксическим – аминогликозиды. Тетрациклины, кроме того, нарушают формирование костного скелета и эмали зубов, поэтому их нельзя назначать беременным женщинам и детям до 12 лет. Хлорамфеникол и сульфаниламиды поражают органы кроветворения. При использовании некоторых цефалоспоринов возможны кровотечения в результате нарушения синтеза витамина К.

2. *Дисбиозы.* При использовании антибиотиков широкого спектра действия погибают не только возбудители заболевания, но и чувствительные к данным препаратам представители нормальной микрофлоры. В то же время размножа-

ются антибиотикорезистентные микроорганизмы, которые могут стать причиной вторичных эндогенных инфекций. Предупредить развитие дисбиоза невозможно, но вполне реально свести до минимума его последствия. Во-первых, по возможности надо использовать антибиотики узкого спектра действия; во-вторых, параллельно с антибактериальными антибиотиками назначать противогрибковые препараты; в-третьих, для восстановления нормальной микрофлоры можно применять пробиотики и пребиотики.

3. *Отрицательное воздействие на иммунитет.* При введении антибиотиков возможны аллергические реакции. Их возникновение зависит от свойств самого препарата (наиболее сильными аллергенами являются пенициллины и цефалоспорины), от способа его введения (аллергические реакции развиваются чаще при повторном введении антибиотика) и индивидуальной чувствительности больного к антибиотику. Многие антибиотики обладают иммунодепрессивным действием. Например, левомецетин угнетает антителообразование, тетрациклины – фагоцитоз.

Изменения микроорганизмов, вызванные антибиотиками

Помимо того, что антибиотики оказывают неблагоприятное побочное действие на макроорганизм, они могут вызывать нежелательные для человека изменения самих микроорганизмов.

1. *Появление атипичных форм микроорганизмов.* У микробов могут изменяться морфологические, биохимические и другие свойства. Например, следствием антибиотикотерапии может быть образование L-форм бактерий. Микроорганизмы с измененными свойствами трудно обнаружить.

2. Формирование антибиотикорезистентности.

Еще один нежелательный эффект антибиотиков – инактивация других лекарственных средств. Например, эритромицин стимулирует выработку ферментов печени, которые разрушают многие лекарственные средства.

6.4. Механизмы антибиотикорезистентности бактерий и пути их преодоления

Антибиотикорезистентность – это устойчивость микробного штамма к одному или нескольким антибиотикам. В медицинском смысле резистентными следует считать бактерии, если они не обезвреживаются такими концентрациями антибиотика, которые возникают в организме при введении фармакологических (т.е. клинически реальных) дозировок.

Понять природу лекарственной устойчивости бактерий помогает представление об общих принципах реализации антимикробного эффекта. Они сводятся к следующему:

- 1) антибиотик должен связаться с бактериями и пройти через их оболочку;
- 2) антибиотик должен быть доставлен к месту действия;
- 3) антибиотик должен вступить во взаимодействие с внутриклеточными мишенями.

Формирование устойчивости возможно на каждом из этих этапов.

Устойчивость может быть *природной* и *приобретенной*.

Природная устойчивость бактерии к антибиотику закодирована в хромосомных генах и является видовым признаком. Истинная природная устойчивость характеризуется отсутствием у микроорганизмов мишени действия антибиотика или недоступности мишени вследствие первично низкой проницаемости или ферментативной инактивации. Например, пенициллин не действует на микоплазмы, обладающие к нему врожденной резистентностью, так как у них нет мишени, на которую этот антибиотик влияет, – пептидогликана. Природная устойчивость к аминогликозидам анаэробов объясняется тем, что транспорт этих антибиотиков через цитоплазматическую мембрану связан с системами переноса электронов, которые у анаэробов отсутствуют. По этой же причине факультативные анаэробы в условиях анаэробноза, становятся значительно более устойчивыми к аминогликозидам, чем в аэробных условиях. При совместном воздействии на микробную клетку аминогликозидов и β -лактамов последние нарушают структуру цитоплазматической мембраны бактерий и облегчают транспорт аминогликозидов. В результате этого между β -лактамами и аминогликозидами проявляется выраженный синергизм.

Природная резистентность является постоянным видовым признаком и легко прогнозируется.

Приобретенная резистентность связана с приобретением *генов резистентности* (*r-генов*), переносимых транспозонами (подвижными или «прыгающими» генами) и плазмидами (R-плазмидами). Возникновение приобретенной резистентности к антибиотикам связано либо с изменениями, происходящими в результате спонтанных мутаций в бактериальной хромосоме, либо с приобретением бактериальной клеткой R-плазмид. Резистентность передается другим клеткам в результате размножения или генетического обмена, что приводит к распространению антибиотикорезистентности. Антибиотик в данном случае играет роль селективного фактора: через 1–3 года после применения нового антибиотика появляются устойчивые к нему штаммы бактерий, а через 10–20 лет формируется полная резистентность к препарату. В результате мутации бактерия приобретает устойчивость к одному антибиотику, а с R-плазмидой – фактором множественной лекарственной устойчивости связана резистентность к 5–6 препаратам. Кроме того, бактериальная клетка может иметь несколько R-плазмид, что обуславливает возникновение полирезистентных штаммов.

Одним из резервуаров r-генов служит нормальная микрофлора, изобилующая многочисленными видами бактерий. Здесь складываются благоприятные условия для обмена транспазонами и плазмидами тем более, что эндогенные бактерии часто попадают под косвенную атаку антибактериальных агентов и вынуждены выживать в их присутствии, напрягая генетические резервы адаптации.

Выделяют следующие механизмы резистентности:

1. Нарушение проницаемости клеточной стенки для антибиотика и подавление его транспорта к внутриклеточным мишеням. Причиной является полная или частичная утрата пуриновых белков.
2. Модификация мишеней, т.е. изменение структуры, на которую действует антибиотик. Например, мишенями действия β -лактамов являются ферменты транспептидазы (ПСБ – пенициллин связывающие белки), участвующие в синтезе клеточной стенки бактерий. В результате модификации у некоторых ПСБ уменьшается сродство к β -лактамам. У стафилококков устойчивость обусловлена появлением у микроорганизмов дополнительного ПСБ (ПСБ2а). Маркером наличия ПСБ2а является устойчивость к метициллину или оксациллину. Ведущим механизмом устойчивости к хинолонам/фторхинолонам является модификация мишеней – двух бактериальных ферментов ДНК-гиразы и топоизомеразы IV, опосредующих конформационные изменения в молекуле бактериальной ДНК, необходимые для ее нормальной репликации. Основной мишенью действия макролидов, кетолидов и линкозамидов является 50S субъединица бактериальной рибосомы. Метилирование мишени действия макролидов обуславливает высокий уровень устойчивости к этим антибиотикам.
3. Инактивация антибиотика, т.е. синтез бактериальной клеткой ферментов, разрушающих антибиотик. Например, 95% стафилококков стали вырабатывать β -лактамазы, пенициллиназу и поэтому приобрели устойчивость к пенициллину. В результате действия пенициллиназы образуется пеницилловая кислота, не обладающая антибиотическим действием. Наибольшее значение имеют β -лактамазы расширенного действия, разрушающие цефалоспорины I-IV поколения, но чувствительны к ингибиторам. Основным механизмом устойчивости к аминогликозидам является их ферментативная инактивация путем модификации. Модифицированные молекулы аминогликозидов теряют способность связываться с рибосомами и подавлять биосинтез белка.
4. Активное выведение антибиотика из бактериальной клетки (*эффлюкс*). Так, синегнойная палочка имеет систему активного выведения карбопипеномов из клетки. Активное выведение макролидов и линкозамидов осуществляют несколько транспортных систем.

5. Формирование метаболического шунта, т.е. снижение физиологической значимости мишени за счет дублирования способов образования жизненно важных метаболитов. Резистентность к триметоприму может являться результатом приобретения генов дигидрофолатредуктазы, нечувствительной к ингибции, а устойчивость к сульфаниламидам – генов дигидроптероатсинтетазы.

6.5. Принципы рациональной антибиотикотерапии

I. *Микробиологический принцип.* Антибиотики необходимо применять строго по показаниям. Для того чтобы подобрать необходимые препараты, нужно до назначения лечения взять у больного материал для исследования, выделить чистую культуру возбудителя и определить его чувствительность к антибиотикам – *антибиотикограмму*.

II. *Фармакологический принцип.* Основан на правильной дозировке препарата, соблюдении необходимых интервалов между введением лекарства, продолжительности антибиотикотерапии, методах введения, знания фармакокинетики препарата, возможности сочетания различных лекарственных препаратов. Как правило, инфекционные болезни лечатся с помощью одного антибиотика (моноантибиотикотерапия). При заболеваниях с длительным течением (например, подостром септическом эндокардите, туберкулезе) для предупреждения формирования антибиотикорезистентности применяют комбинацию химиотерапевтических препаратов.

III. *Клинический принцип.* При назначении антибиотиков учитывают общее состояние больного, возраст, пол, наличие беременности, иммунный статус, сопутствующие заболевания.

IV. *Эпидемиологический принцип.* При подборе антибиотика необходимо знать, к каким антибиотикам устойчивы микроорганизмы в среде, окружающей больного (в отделении, больнице, географическом регионе), насколько часто встречаются антибиотикорезистентные штаммы. Распространенность устойчивости к данному антибиотику не остается постоянной, а изменяется в зависимости от того, насколько широко используется антибиотик.

V. *Фармацевтический принцип.* Необходимо учитывать срок годности и правила хранения препарата, так как при длительном и неправильном хранении антибиотик теряет свою активность и в результате его деградации могут образовываться токсические продукты.

6.6. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам

Исследованию по оценке антибиотикочувствительности подлежат чистые культуры микроорганизмов или материал изолированных колоний с плотных питательных сред после первичного посева образца клинического материала, в последнем случае параллельно необходимо провести идентификацию культуры.

Метод серийных разведений. Метод основан на прямом определении величины *минимальной подавляющей концентрации (МПК)*, определяемой как минимальная концентрация антибиотика, подавляющая видимый рост исследуемого микроорганизма. В зависимости от характера используемой питательной среды различают методы серийных разведений в агаре или бульоне. В зависимости от объема используемой жидкой питательной среды выделяют методы серийных макро- и микро-разведений.

Для проведения метода готовят последовательные разведения тестируемого антибиотика в стерильном прозрачном питательном бульоне, в каждую пробирку вносят определенное количество клеток тест-микроба (рис. 89).

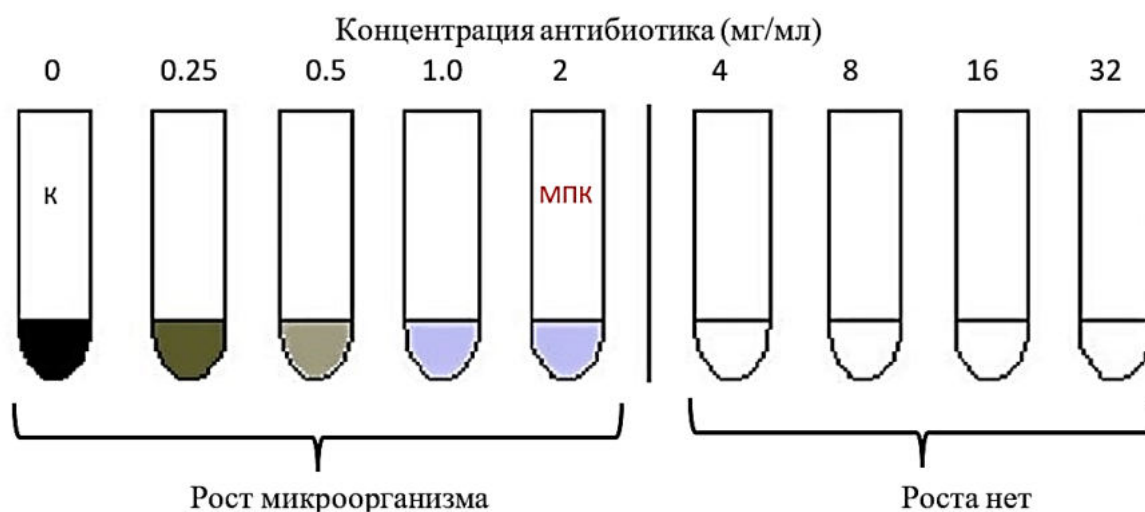


Рис. 89. Определение чувствительности микроорганизма к антибиотику.
Метод серийных разведений для определения МПК антибиотика

Пробирки помещают в термостат на 20–24 ч при температуре, оптимальной для тест-микроба. После этого в пробирках определяют наличие или отсутствие роста тест-культуры. Наличие роста микроорганизма в бульоне (помутнение бульона) свидетельствует о том, что данная концентрация антибиотика недостаточна, чтобы подавить его жизнеспособность. Наименьшую концентрацию антибиотика, с которой визуально не определяется бактериальный рост, считают минимальной подавляющей концентрацией. Измеряется МПК в мг/л или мкг/мл.

Диско-диффузионный метод (метод дисков). Для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам диско-диффузионным методом на поверхность агара в чашке Петри наносят суспензию исследуемого микроорганизма, затем помещают диски, пропитанные определенным количеством антибиотика. Диффузия антибиотика в агар приводит к формированию зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков. После инкубации чашек в термостате при температуре 37 °С в течение 24 ч учитывают результат путем измерения диаметра зоны задержки роста микроорганизма вокруг диска в миллиметрах (рис. 90). В зависимости от диаметра зоны задержки роста определяется чувствительность микроорганизма к антибиотику:

- до 10 мм – устойчивый
- 11–15 мм – мало чувствительный
- 16–25 мм – чувствительный
- более 25 мм – высокочувствительный

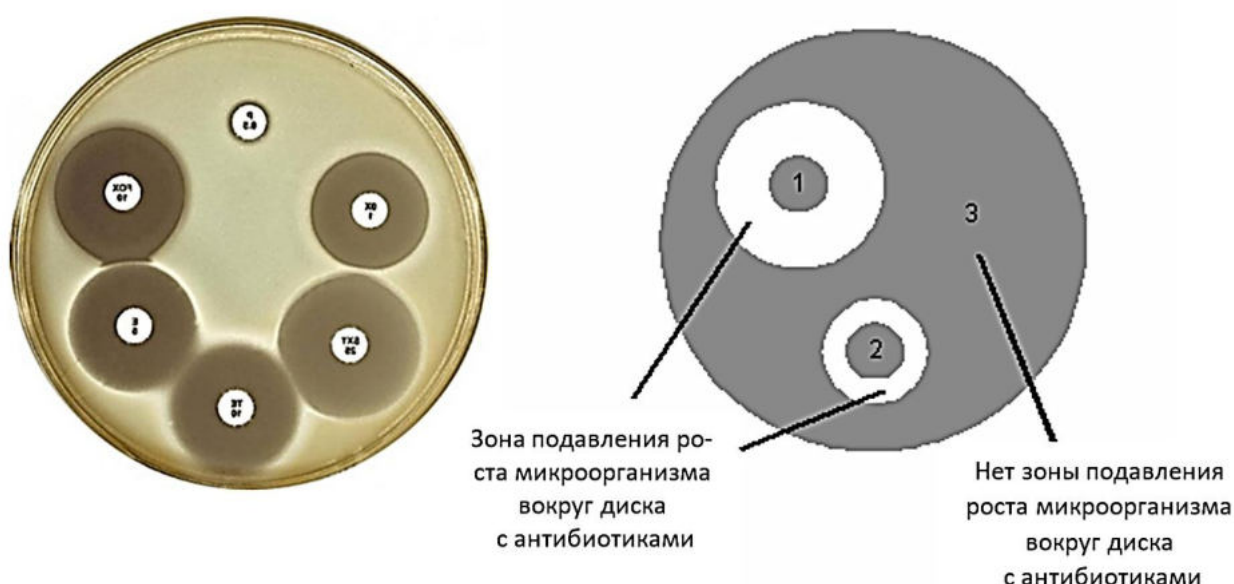


Рис. 90. Определение чувствительности микроорганизма к антибиотику.
Диско-диффузионный метод

Эпсилومترический тест (Е-тест). Определение чувствительности микроорганизма с помощью Е-теста проводится аналогично тестированию диско-диффузионным методом. Отличие состоит в том, что вместо диска с антибиотиком используют полоску Е-теста, содержащую градиент концентраций антибиотика от максимальной к минимальной (рис. 91). В месте пересечения эллипсовидной зоны подавления роста с полоской Е-теста получают значение МПК.

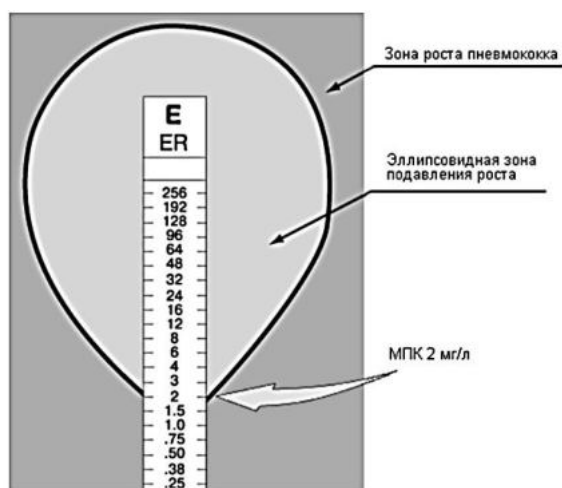


Рис. 91. Определение чувствительности микроорганизма к антибиотику. Е-тест

Раздел 7. САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Санитарная микробиология – раздел общей микробиологии, изучающий микрофлору окружающей среды, её влияние на здоровье человека и состояние среды его обитания. Изучение микрофлоры и микробиологических процессов в среде обитания человека необходимо для гигиенической оценки его взаимоотношений с окружающей средой. Санитарная микробиология разрабатывает методы контроля за состоянием воды, почвы, воздуха, пищевых продуктов и различных предметов обихода. Санитарно-микробиологические методы направлены на определение общей микробной обсеменённости (общее микробное число), определение и титрование санитарно-показательных микроорганизмов, выявление в исследуемых объектах патогенных микроорганизмов и их метаболитов, определение степени недоброкачества изучаемых объектов или продуктов, вызванной деятельностью микробов.

Практическая санитарная микробиология использует два основных метода оценки санитарно-эпидемического состояния внешней среды:

- 1) прямое обнаружение патогенных микроорганизмов или их токсинов в объектах окружающей среды;
- 2) выявление косвенных признаков пребывания патогенов во внешней среде.

Методы прямого обнаружения – наиболее точные и надёжные критерии оценки эпидемиологической опасности внешней среды. Наиболее часто проводят посев исследуемого материала на питательные среды. Недостатками этих методов является низкое содержание патогенов в исследуемом материале, при этом их неравномерное распределение во внешней среде. Прямые методы являются разнонаправленными исследований, что практически сложно осуществимо. Ситуацию значительно усугубляет возрастание роли условно-патогенных микроорганизмов, способных вызвать эпидемические вспышки заболеваний.

Методы косвенной идентификации предусматривают применение двух критериев, по которым можно косвенно судить о возможном присутствии возбудителя во внешней среде: *общее микробное число (ОМЧ)* и *содержание санитарно-показательных микроорганизмов (СПМ)*.

ОМЧ определяют путём подсчёта всех микроорганизмов (растущих на питательных средах) в 1 г или 1 мл или 1 м³ субстрата. Используя этот критерий, обычно исходят из предположения, что чем больше объект загрязнён органическими веществами, тем выше ОМЧ и тем вероятнее присутствие патогенов.

Санитарно-показательные микроорганизмы – это представители нормальной микрофлоры, которые выделяются естественным путем в окружающую

среду и там сохраняются, поэтому служат показателями санитарного неблагополучия, потенциальной опасности исследуемых объектов; по СПМ можно косвенно судить о возможном присутствии патогенов во внешней среде. То есть, при их определении исходят из предположения, что чем больше объект загрязнён выделениями человека и животных, тем больше будет СПМ и тем вероятнее присутствие патогенов.

Основные требования, предъявляемые к СПМ, следующие:

- 1) микроорганизмы должны постоянно обитать в естественных полостях организма человека и животных и выделяться в окружающую среду;
- 2) продолжительность выживания их в окружающей среде должна быть такой же или большей, чем патогенных микроорганизмов, выводимых из организма теми же путями;
- 3) они не должны размножаться в окружающей среде;
- 4) они не должны значительно изменять свои биологические свойства при попадании в окружающую среду;
- 5) у них не должно быть во внешней среде «двойников» или аналогов, с которыми их можно перепутать.
- 6) индикация, идентификация и количественный учет СПМ должны производиться современными, простыми, легко доступными и экономичными микробиологическими методами.

Все СПМ являются индикаторами биологического загрязнения. Выделяют несколько групп СПМ, обнаружение которых в объектах окружающей среды говорит о различных видах загрязнения.

1. *Группа А* включает обитателей кишечника человека и животных. Они являются индикаторами фекального загрязнения. Прежде всего, это *бактерии группы кишечной палочки* (БГКП) – представители родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* семейства *Enterobacteriaceae*. Эти микроорганизмы обладают многими общими морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами. Кроме того, в группу А входят энтерококки, протей, сальмонеллы, клостридии, термофилы, бактериоиды, бактериофаги и др.

2. *Группа В* включает обитателей верхних дыхательных путей и носоглотки. Они являются индикаторами аспирационного загрязнения. В нее входят стафилококки (*S. aureus*), а также зеленыящие и гемолитические стрептококки, постоянно обитающие на слизистой оболочке верхних дыхательных путей и выделяющиеся в воздушную среду при разговоре, кашле, чиханье.

3. *Группа С* включает сапрофиты, обитателей внешней среды (бактерии-нитрификаторы, аммонификаторы, грибы и др.). Они являются индикаторами процессов самоочищения среды.

Содержание СПМ выражают в титрах и индексах. *Титр СПМ* – наименьший объем исследуемого материала (в мл или м³) или весовое количество (в г), в котором обнаружена хотя бы одна особь СПМ. *Индекс СПМ* – количество СПМ, обнаруженное в определённом объёме или количестве исследуемого объекта. Индекс – величина, обратная титру. Зная один показатель, можно вычислить другой.

Раздел 8. МИКРОБИОТА ЧЕЛОВЕКА

В условиях физиологической нормы организм человека содержит сотни видов микроорганизмов – бактерий, археев, простейших, грибов и нематод, вирусов. Так же, как и в окружающей среде, в организме человека микроорганизмы существуют в виде **микробиоценозов** – совокупности популяций разных видов микроорганизмов, обитающих в определенном биотопе. Совокупность микробных биоценозов, встречающихся в организме здоровых людей и сформировавшихся в процессе эволюции составляет **микробиоту (микрофлору)** человека. Совокупность разнообразия генов микробиоты различных экологических ниш составляет **микробиом***. Каждому индивидууму свойственны определенные микробные сообщества, сформировавшиеся в процессе его жизнедеятельности. Данные биоценозы характеризуются относительным постоянством. В течение жизни человека качественный и количественный состав микроорганизмов меняется и зависит от пола, возраста, питания, климата и др. Состав и размножение микробиоты контролируются прежде всего макроорганизмом с помощью следующих факторов и механизмов:

- механических факторов (десквамация эпителия кожи и слизистых оболочек, удаление микробов секретами, перистальтикой кишечника, гидродинамической силой мочи в мочевом пузыре и т.д.);
- химических факторов – соляной кислоты желудочного сока, кишечного сока, желчных кислот в тонкой кишке, щелочного секрета слизистой оболочки тонкой кишки;
- бактерицидных секретов слизистых оболочек и кожи;
- иммунных механизмов – подавлением адгезии бактерий на слизистых оболочках секреторными антителами класса IgA.

Кроме того, изменения микробных биоценозов могут быть обусловлены возникновением заболеваний, применением химиотерапевтических и иммунологических препаратов.

Основные отделы организма, заселяемые бактериями (биотопы), включают кожные покровы, верхние дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт и мочеполовую систему, конъюнктивы глаза, наружное ухо.

Микрофлора подразделяется на *аутохтонную (резидентную, постоянную)* и *аллохтонную (транзиторную, временную)*.

Аутохтонная микрофлора характерна для конкретного биотопа (кожа, ротовая полость, толстый кишечник и т.д.). В свою очередь, аутохтонную микрофлору подразделяют на *облигатную* и *факультативную*.

*В отечественной научной литературе термины микробиом, микробиота и микрофлора часто используются как синонимы.

Облигатная микрофлора является главной составляющей любого микробиоценоза, включает в себя относительно постоянные виды бактерий, характерные для определенного биотопа и возраста макроорганизма. Она способна к быстрому восстановлению в случае ее нарушения. Облигатные микроорганизмы противодействуют заселению биотопа случайными микроорганизмами, участвуют в процессах ферментации, иммуностимуляции, т.е. выполняет защитные или нормофизиологические функции. Факультативная флора составляет меньшую часть постоянных обитателей биотопа, состоит из непатогенных или условно-патогенных микроорганизмов. Её качественный и количественный состав непостоянен и время от времени меняется. В случае нарушений или гибели резидентной микрофлоры факультативные микроорганизмы могут замещать освободившуюся нишу конкретного биотопа, что в последующем может способствовать развитию патологии.

Аллохтонная микрофлора представлена микробами, случайно попавшими в данный конкретный биотоп, в котором они сохраняются сравнительно короткое время. Частота их встречаемости и концентрация в данном биотопе определяется поступлением микробов из окружающей среды и состоянием иммунной системы организма хозяина.

В любом биоценозе можно выделить группы микроорганизмов, количество видов которых невелико, но в численном отношении они представляют собой основу биоценоза. Это доминантная микрофлора. Вся резидентная микрофлора относится к доминантной микрофлоре, поэтому нередко эти термины можно рассматривать как синонимы

Для изучения микробиоты человека используют:

- культуральные (бактериологические) методы оценки микробиоты;
- методы метагеномики (секвенирование 16S рРНК или всей ДНК микробов);
- методы метатранскриптомики (секвенирование совокупности всех молекул мРНК микроорганизмов);
- методы метапротеомики (определение белков микроорганизмов);
- методы метаболомики (определение метаболитов микроорганизмов).

Современные методы исследования микробиоты позволяют понять, что некоторые органы и системы организма человека, которые считались ранее стерильными, содержат свою микрофлору.

8.1. Биоплёнка

Биоплёнка (*biofilms*) – сообщество микробов, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ, имеют измененный фенотип (изменение параметров роста и экспрессии специфичных генов). В составе биопленки бактерии сбалансированны по видовому составу и имеют «распределение» функций среди членов сообщества. Биоплёнка является формой существования бактерий, покрывающих поверхности кишечной стенки, других слизистых оболочек, кожи и зубов человека (рис. 92).

Образование биопленки является одной из основных стратегий выживания бактерий в окружающей среде. Биоплёнка обеспечивает физиологическую и функциональную стабильность микрофлоры и конкурентное выживание в экологической нише.

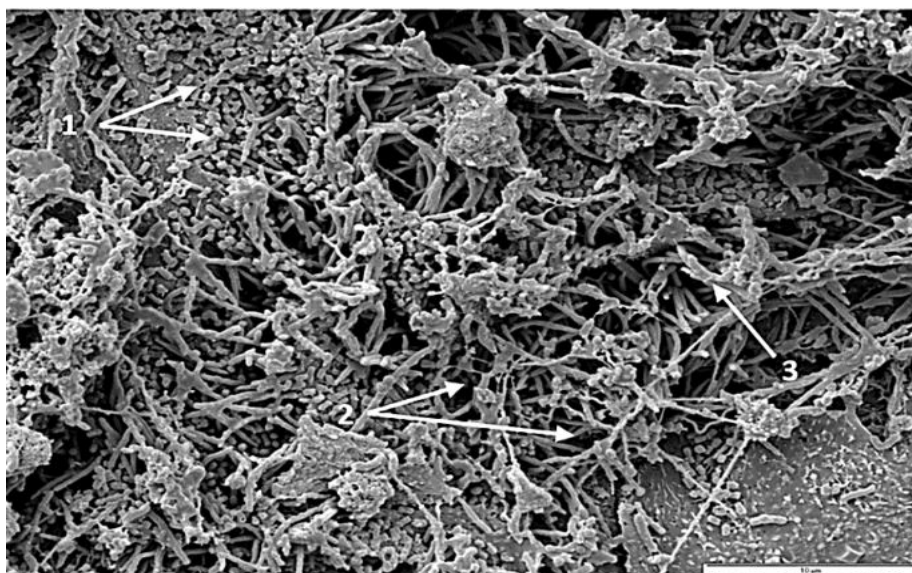


Рис. 92. Структура биоплёнки: 1 – микроколонии, 2 – проводящие каналы, 3 – полимерный матрикс (<https://belodent.org>)

8.2. Микробиота кожи

Поверхность кожи человека, особенно открытые ее части, обсеменены различными микроорганизмами, здесь определяется от 25 млн до 1 млрд микробных клеток. Наиболее многочисленными резидентными группами микроорганизмов кожи являются пропионовые бактерии, стафилококки и грибы рода *Malassezia* и *Candida*. Баланс этих микроорганизмов является условием благополучия кожи. Изменение баланса нормофлоры ассоциировано с развитием кожных заболеваний.

Облигатные микробы представлены также сарцинами, дифтероидами, некоторыми видами стрептококков, бациллами. Доминирование тех или иных бактерий сильно зависит от условий соответствующего участка.

Кроме характерной для кожи микрофлоры здесь могут присутствовать транзиторные микроорганизмы, быстро исчезающие под влиянием бактерицидных свойств кожи, которая связана с действием молочной и жирных кислот, выделяемых потовыми и сальными железами. Бактерицидность кожи отражает общую резистентность организма.

Изучение микробиоты кожи проводят у больных в динамике лечения антибиотиками, гормонами, лучистой энергией. Обследованию подвергаются персонал лечебных учреждений, работники пищевых предприятий.

Санитарно-бактериологическое исследование кожи проводится двумя методами:

1. Посев отпечатков пальцев рук на МПА в чашках Петри с последующим макроскопическим и микроскопическим изучением выросших колоний.
2. Посев смывов с кожи для определения общего микробного числа и кишечной палочки.

8.3. Микробиота дыхательных путей

В дыхательные пути вместе с воздухом попадают пылевые частички и микроорганизмы, большая часть которых задерживаются в полости носа, где и погибают через некоторое время вследствие бактерицидного действия лизоцима и муцина, защитной функции эпителия, деятельности фагоцитов. Верхние отделы дыхательных путей образованы различными по строению анатомическими нишами – предверие носа, носовая полость, носоглотка и ротоглотка.

Часть микроорганизмов верхних дыхательных путей являются общими для всех отделов. Но существует определенная нишевая дифференцировка микробов.

Наибольший контакт с внешней средой имеет преддверие носа. В преддверии носа находятся вибриссы, которые задерживающую крупные частицы из вдыхаемого воздуха, а также серозные и сальные железы. Выделяемый железами кожный жир способствует колонизации этих поверхностей преимущественно липофильными бактериями родов *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, которые способны метаболизировать кожные жиры до короткоцепочечных жирных кислот. Обогащенная кислородом среда и высокая влажность являются дополнительными факторами, способствующими их росту.

В полости носа происходит разогрев и увлажнение вдыхаемого воздуха. Поверхность полости носа выстлана слизистой оболочкой (муцином), которая способна задерживать микрочастицы и микроорганизмы, которые не были отфильтрованы в преддверии носа. В состав облигатной микрофлоры носовых ходов входят стафилококки, коринебактерии. Факультативная микрофлора представлена золотистым стафилококком, стрептококками, непатогенными нейссериями.

Микрофлора носоглотки представлена стрептококками, бактероидами, нейссериями, вейлонеллами, микобактериями. У некоторых людей постоянно встречается золотистый стафилококк, т.е. наблюдается резидентное носительство.

В ротоглотку, анатомически соединенную с ротовой полостью, носоглоткой, гортанью и гортаноглоткой, ведущей в пищевод, попадает множество микроорганизмов различного происхождения. В ротоглотке наиболее часто встречаются бактерии родов *Corynebacterium*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Porphyromonas* и др.

В течение жизни респираторный тракт человека подвергается воздействию внутренних или внешних факторов, которые потенциально могут повлиять на микробиоту верхних дыхательных путей (рис. 93).

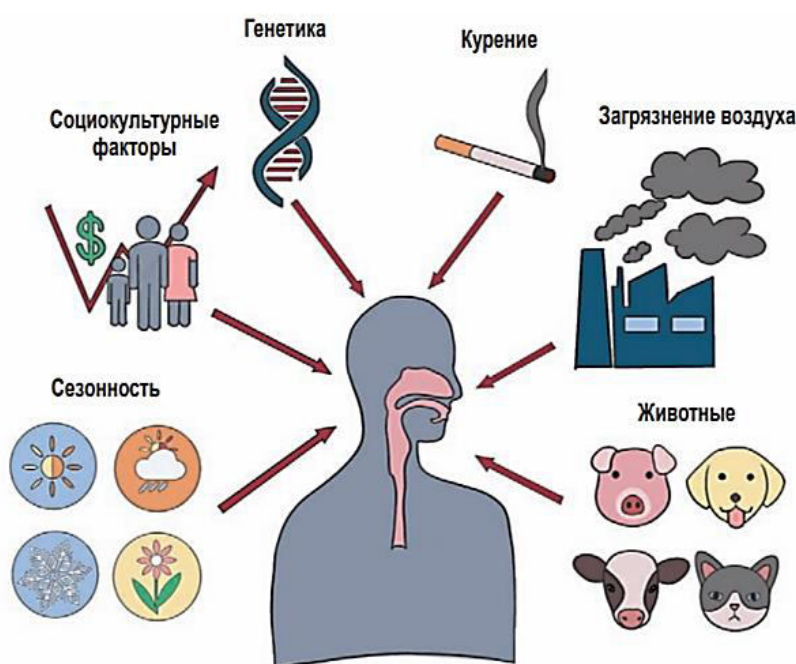


Рис. 93. Факторы, оказывающие влияние на микробиом верхних дыхательных путей человека (<https://doi.org>)

Микрофлору верхних дыхательных путей изучают при заболеваниях носа и зева, а также у больных пневмонией, не отделяющих мокроту, и при обследовании на бактерионосительство. Материал для микробиологической диагностики заболеваний верхних дыхательных путей берется стерильным тампоном.

Материал из полости носа получают введением ватного тампона в полость носа сначала в вертикальном, а затем в горизонтальном направлении. Материал из носоглотки берут стерильным тампоном, а из гортани ватным тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. В это время язык должен быть зафиксирован шпателем, а тампон не должен касаться других участков слизистой оболочки полости рта. В некоторых случаях исследуется промывная вода носоглотки. Материал засевают на кровяной, шоколадный, желточно-солевой агары. Выделенные культуры идентифицируют. Вирусологические исследования проводят путем посева материалов на культуры клеток и куриные эмбрионы.

8.4. Микробиота конъюнктивы глаз

Контаминация поверхности глаза бактериями происходит вследствие физического взаимодействия с окружающей средой. Конъюнктива и роговица постоянно орошаются слезной жидкостью, содержащей лизоцим и другие активные противобактериальные вещества (β -лизин, IgG, лактоферрин). Это делает конъюнктиву экстремально опасной для жизни бактерий средой обитания. Резидентная микрофлора конъюнктивы взрослого человека состоит преимущественно из дифтероидов (*Corynebacterium spp.*), нейссерий и грамотрицательных бактерий, преимущественно рода *Moraxella*. Нередко обнаруживаются стафилококки и стрептококки, микоплазмы.

Посев отделяемого из глаза на микрофлору проводят с целью установления причины гнойно-воспалительных процессов, имеющих инфекционное происхождение. Забор отделяемого с конъюнктивы глаза осуществляют стерильной ватной палочкой, однократно от наружного угла глаза к внутреннему углу.

8.5. Микробиота уха

В наружном слуховом проходе обнаруживаются непатогенные стафилококки, коринебактерии, дрожжеподобные и плесневые грибы (*p. Aspergillus*), которые в определенных условиях являются возбудителями патологических процессов. Во внутреннем и среднем ухе микробы в норме не содержатся.

8.6. Микробиота мочеполовой системы

Для описания микробиоты мочевыводящих путей некоторые авторы используют термины «уробиота», «уробиом»

Уробиом включает более 100 видов микроорганизмов. Наиболее изученными являются бактерии.

У здоровых мужчин было выявлены бактерии родов *Lactobacillus*, *Sneathia*, *Veillonella*, *Corynebacterium*, *Prevotella*, *Streptococcus* и *Ureaplasma*. В уробиоме здоровых женщин доминируют бактерии родов *Lactobacillus*.

На наружных половых органах мужчин и женщин обнаруживаются микобактерии смегмы, стафилококки, коринебактерии, микоплазмы, сапрофитные трепонемы.

Состав влагалищной микрофлоры разнообразен, непостоянен и зависит от уровня гликогена в клетках эпителия и pH влагалищного секрета, что связано с функцией яичников. Доминирующими микроорганизмами у женщин репродуктивного возраста являются молочнокислые бактерии (*Lactobacillus spp.*), которые составляют 95–98% всей микрофлоры влагалища. Лактобактерии ингибируют размножение других видов бактерий и расцениваются, как показатель «здорового» микробиома. Заселение влагалища лактобактериями происходит сразу после рождения. Затем в микробиоценоз включаются энтерококки, стрептококки, стафилококки, коринебактерии. Кокковая флора становится ведущей и характерной для периода детства вплоть до наступления полового созревания. С наступлением половой зрелости в составе микрофлоры преобладают аэробные и анаэробные молочнокислые бактерии, доминирует группа бактерий *Додерлейна* (лактобактерии).

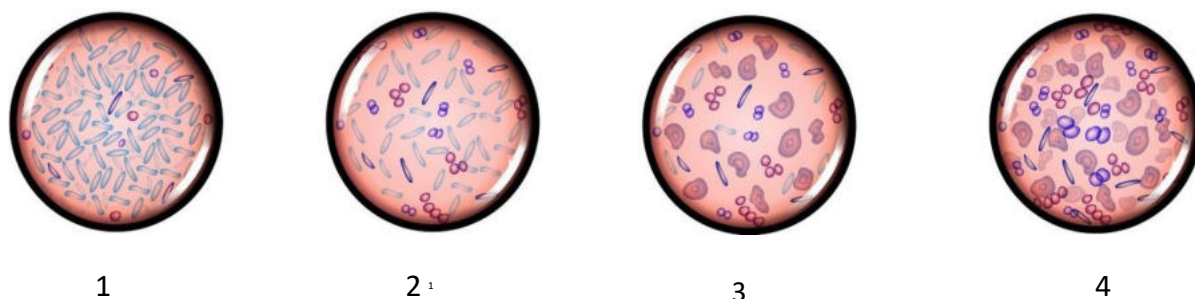


Рис. 94. Степень чистоты влагалища. 1 степень – лактобациллы (95%); 2 степень – лактобациллы (60%), стафилококки, стрептококки и др.; 3 степень – лактобациллы единичные, стафилококки, стрептококки и лейкоциты; 4 степень – лактобациллы практически отсутствуют, патогенная микрофлора, лейкоциты

Различают несколько категорий чистоты влагалища женщин (рис. 94):

1-я категория – в мазках-препаратах обнаруживаются палочки Додерлейна, других видов микроорганизмов почти нет;

2-я категория – кроме молочнокислых бактерий встречается небольшое количество грамположительных диплококков;

3-я категория – уменьшается количество молочнокислых бактерий, увеличивается количество лейкоцитов и другой микрофлоры;

4-я категория – обильное количество лейкоцитов и различной микрофлоры, палочки Додерлейна почти отсутствуют.

1 и 2 категории наблюдаются у здоровых женщин, 3 и 4 – у женщин с воспалительными процессами во влагалище.

8.7. Микробиота желудочно-кишечного тракта

На протяжении всего желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) выделяют несколько биотопов, существенно отличающихся по составу микробиоценоза, что связано с различными морфологическими, функциональными и биохимическими особенностями соответствующих его отделов.

Также наблюдаются различия в составе микрофлоре ЖКТ между просветом кишечника и поверхностью слизистой оболочки. Выделяют *мукозную* (пристеночную) и *просветную* (полостную) микрофлору, состав которой различен. Мукозная микрофлора тесно ассоциирована со слизистой оболочкой, более стабильна и представлена бифидумбактериями и лактобактериями. Она препятствует проникновению в слизистую оболочку патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, играет очень важную роль в поддержании гомеостаза. Просветная микрофлора наряду с бифидум- и лактобактериями включает и других постоянных обитателей кишечника. Полостная микрофлора более изменчива и зависит от скорости поступления пищевых субстратов по пищеварительному каналу.

Микробиота полости рта

Микробиота полости рта отличается количественным и видовым разнообразием микроорганизмов, большинство из которых являются бактериями. В состав микрофлоры полости рта входят также вирусы, грибы и простейшие.

Основные группы бактерий представлены в таблице 3.

Стрептококки составляют около половины всех резидентных микроорганизмов полости рта. Другая половина резидентной флоры состоит из вейллонелл и дифтероидов. Отдельные микроорганизмы (бактероиды, лактобациллы, спирохеты, грибы, простейшие), являясь представителями аутохтонной микрофлоры, в норме представлены в небольших количествах. Между этими постоянными представителями существуют антагонистические или синергические отношения. Считается, что *Streptococcus salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis*, вейллонеллы и дифтероиды являются стабилизирующей частью микрофлоры полости рта, а *S. mutans*, лактобациллы, бактероиды, актиномицеты – агрессивной.

Полость рта сложный биотоп, в котором в свою очередь, можно выделить несколько мелких биотопов:

- слизистая оболочка полости рта;
- протоки слюнных желез;
- десневая жидкость и зона десневого желобка;
- ротовая жидкость;
- зубной налёт или зубная бляшка.

Таблица 3

Основные группы бактерий микробиоты полости рта

Окраска по Граму	Морфология	Род
Облигатные анаэробы		
Грамотрицательные	Кокки	Veillonella
	Палочки	Bacteroides Porphyromonas Prevotella Fusobacterium Leptotrichia
	Спирохеты	Treponema Borrelia
Грамположительные	Кокки	Peptostreptococcus Peptococcus
	Палочки	Bifidobacterium Propionibacterium
Аэробы и факультативные анаэробы		
Грамотрицательные	Кокки	Neisseria
	Спирохеты	Leptospira
Грамположительные	Кокки	Streptococcus Staphylococcus
	Палочки	Lactobacillus Corynebacterium
	Ветвящиеся	Actinomyces

Слизистая оболочка полости рта (СОПР). По условиям обитания слизистая оболочка является наиболее разнообразным биотопом, и в разных его участках микробиота СОПР будет отличаться.

На поверхности слизистой оболочки преобладают факультативно-анаэробная флора (преимущественно *S. oralis* и *S. sanguis*).

В подъязычной области, на внутренней поверхности щёк, в складках и криптах слизистой оболочки полости рта обычно находятся облигатно-анаэробные

иды (вейллонеллы, пептострептококки, лактобактерии). Встречаются *S. oralis*, *S. mitis*.

На корне языка содержится больше всего микроорганизмов (искл. – зубы, десневая борозда) за счёт сосочков языка, благодаря которым микроорганизмы активно колонизируют этот участок СОПР. На корне языка обнаруживаются *S. salivarius* и *S. mitis*, вейллонеллы, а также пептострептококки, актиномицеты и бактериоиды.

На слизистой оболочке твёрдого и мягкого нёба, нёбных дужках и миндалинах в большом количестве обнаруживаются стрептококки, коринебактерии, нейссерии, гемофильные палочки, псевдомонады, а также дрожжеподобные грибы и нокардии.

Протоки слюнных желёз – один из наименее изученных биотопов. Из-за высокой бактерицидной активности слюны протоки желёз здорового человека практически стерильны.

Десневая жидкость и десневой желобок. Здесь находятся нитевидные и извитые облигатно-анаэробные виды бактерий: фузобактерии, лептотрихии, актиномицеты и спирохеты. Это основное место обитания бактериоидов. Встречаются простейшие, дрожжеподобные грибы и микоплазмы.

Ротовая жидкость обеспечивает взаимодействие между всеми биотопами полости рта и регуляцию микрофлоры со стороны макроорганизма. В ротовую жидкость постоянно поступают микробы, размножающиеся на слизистой оболочке полости рта, в десневом желобке, карманах, складках слизистой и в зубной бляшке (налёте). В ротовой жидкости они долго сохраняют жизнеспособность, а многие виды, особенно те, которые не имеют факторов адгезии к слизистой и эмали, активно размножаются. Прежде всего это касается подвижных бактерий – спирохет, вибрионов, спирилл. В значительном количестве в ротовой жидкости содержатся стрептококки (*S. salivarius*), нейссерии, вейллонеллы.

Зубной налёт представляет собой наиболее сложный и многокомпонентный биотоп, формирующийся на поверхности зуба. Это скопление бактерий в матриксе органических веществ, главным образом протеинов и полисахаридов, приносимых туда слюной и продуцируемых самими микроорганизмами.

В зубном налёте сосредоточено до 90% всех микроорганизмов полости рта. Здесь определяются практически все представители микробной флоры ротовой полости. Преобладают – стрептококки (*S. mutans* и *S. sanguis*), актиномицеты (*Actinomyces naeslundii*), лактобациллы. В формировании данного биотопа большую роль играют индивидуальные особенности макроорганизма (диета, образ жизни, профессиональные вредности и т.д.).

Зубная бляшка обычно является результатом структурных изменений зубного налёта.

Видовой состав отдельных участков полости рта во многом зависит от окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) среды. Так, десневая щель и межзубные промежутки имеют отрицательный ОВП, поэтому в этих участках наиболее активно размножаются облигатные анаэробы. Аэрируемые участки биотопов представлены факультативными анаэробами.

Наличие протезов меняет количественный и качественный состав резидентной микрофлоры полости рта.

Микробиота пищевода и желудка

Микрофлора пищевода нестабильна, характеризуется обилием временно находящихся видов, попадающих из полости рта и глотки.

При нормальном функционировании желудка микрофлора в нем почти отсутствует, вследствие кислой реакции желудочного сока и высокой активности гидролитических ферментов. В желудке обнаруживают представителей родов *Lactobacillus*, *Sarcina*. Однако при нарушении работы слизистого и иммунологического компонентов некоторые бактерии находят в желудке свой биотоп. Так, за счет факторов патогенности в желудочной полости закрепляется популяция *Helicobacter pylori*.

Микробиота тонкого кишечника

В двенадцатиперстной и верхних отделах тонкой кишки микроорганизмов встречается мало, несмотря на то что кислая среда желудка сменяется щелочной. Это объясняется неблагоприятным воздействием на микроорганизмы присутствующих здесь ферментов. Тут обнаруживаются энтерококки, молочнокислые бактерии, грибы, дифтероиды (10^6 клеток на 1 г содержимого).

В тощей кишке почти 50% биомассы пристеночной микрофлоры составляют актиномицеты, около 25% – анаэробные кокки (стафилококки, стрептококки, энтерококки и коринеформные бактерии). Число бифидобактерий и лактобацилл колеблется в пределах от 20 до 30%. Другие анаэробы (пептострептококки, бактероиды, клостридии, пропионовокислые бактерии) составляют около 10%. На долю энтеробактерий приходится 1% от суммарной микрофлоры слизистой оболочки.

Плотность заселения стенки кишечника в дистальном направлении меняется в сторону увеличения просветной и снижения мукозной, однако пристеночная микрофлора оказывается существенно более концентрированной, чем просветная.

Микробиота толстой кишки

Микробиота толстой кишки наиболее разнообразна по числу видов (более 200 видов) и количеству обнаруживаемых микробов (10^9 – 10^{11} клеток в 1 г содержимого). В основном это облигатные анаэробные бактерии – 96–99% (бактероиды, бифидумбактерии, вейлонеллы), а также факультативные анаэробы (1–4%) – лактобактерии, фекальные энтерококки и бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. Различные представители микробиоты распределены в толстой кишке неравномерно. Бифидобактерии колонизируют преимущественно слепую, восходящую и нисходящую ободочную кишку, лактобактерии – все отделы толстой кишки за исключением прямой. Кишечная палочка – все отделы толстой кишки, а условно-патогенные штаммы – нисходящую ободочную и сигмовидную кишку: стрептококки обнаружены во всех отделах толстой кишки, но их особенно много в поперечной ободочной и прямой кишке

Несмотря на огромное разнообразие микроорганизмов, в микробиоте кишечника взрослого человека доминируют бактерии групп *Bacteroidetes* и *Firmicutes* при значительно более низкой доле *Actinobacteria* и *Proteobacteria* (рис. 95).

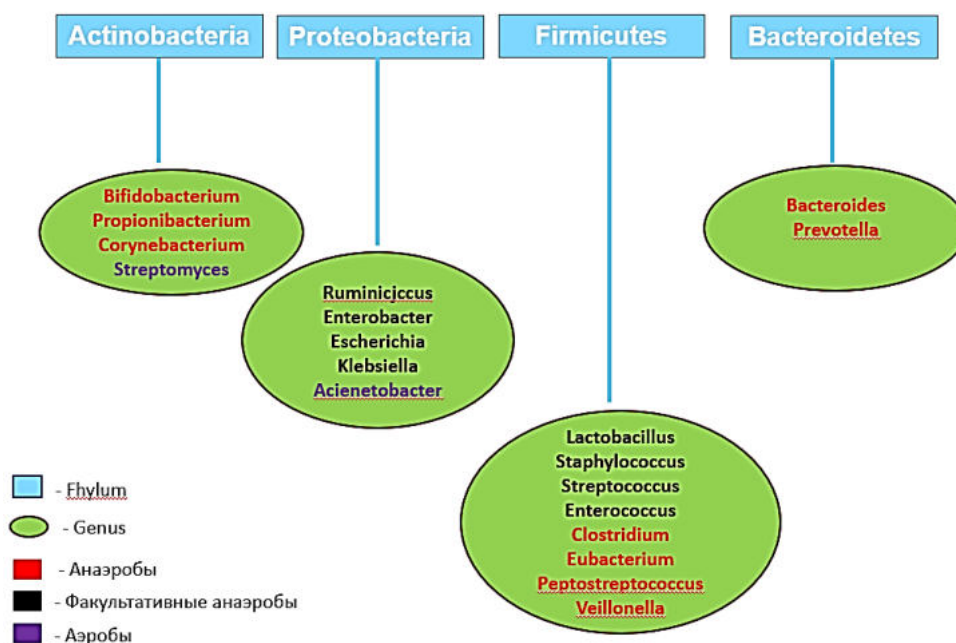


Рис. 95. Основные группы бактерий микробиоты кишечника человека
(<https://www.frontiersin.org>)

Состав микробиоты кишечника меняется в течение жизни человека. Наиболее значимая микробная колонизация ребенка происходит во время родов и после рождения. Способ родоразрешения является существенным фактором, определяющим формирование и состав кишечной микрофлоры.

При естественном родоразрешении пищеварительный тракт ребенка интенсивно заселяется аэробными и факультативными анаэробными бактериями: *E. coli* и другими энтеробактериями, энтерококками и стафилококками, которые снижают концентрацию кислорода в кишечнике и, таким образом, подготавливают условия для колонизации облигатными анаэробами. С конца первой недели жизни ребенка в кишечной микробиоте начинают доминировать строгие анаэробы (бифидобактерии, бактероиды и клостридии), которые приводят к супрессии аэробной флоры. Источником бифидобактерий и бактероидов для ребенка, как правило, является кишечная микрофлора матери. Кишечная микрофлора детей, рожденных вагинальным путем, как правило, представлена микроорганизмами родов *Prevotella*, *Lactobacillus*, входящими в состав вагинальной микрофлоры матери.

При кесаревом сечении основным источником микроорганизмов для детей является микрофлора кожи матери, медицинского персонала, родильного зала, палат. У детей, рожденных путем кесарева сечения, кишечная микробиота характеризуется меньшим разнообразием видов бактерий, низким содержанием бифидобактерий и бактероидов в сравнении с кишечной микрофлорой детей при вагинальных родах. В составе кишечной микробиоты у детей, рожденных оперативным путем, чаще обнаруживаются различные условно-патогенные микробы (*Clostridium difficile*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Streptococcus spp.*). При кесаревом сечении формирование кишечной микрофлоры у детей происходит более длительно.

В первые месяцы жизни микробиота неустойчива, в ней преобладают бифидобактерии, их количество коррелирует с количеством у матери и зависит от способа кормления (грудное или искусственное вскармливание). С введением прикорма микрофлора становится более разнообразной с преобладанием лактобацилл, увеличивается количество строгих анаэробов, меняется внутривидовой состав определенных бактерий. Во втором полугодии жизни ребенка на фоне введения прикорма постоянными представителями кишечной микрофлоры становятся бактероиды.

Примерно к 3–6 годам микрофлора кишечника стабилизируется и приобретает состав, как у взрослых людей.

Для изучения микрофлоры толстого кишечника исследованию подвергают испражнения, видовой состав которых определяют микроскопическими и бактериологическими методами.

8.8. Значение нормальной микробиоты организма человека

В настоящее время микробиом человека рассматривается как еще один активный орган. Микробиота тесно взаимодействует с макроорганизмом, определяет функциональное состояние человека.

Одна из важнейших функций нормальной микрофлоры – это участие в создании *колонизационной резистентности* (сопротивляемости, устойчивости к заселению посторонней микрофлорой). Резидентная микрофлора является антагонистом факультативных бактерий этой же экологической ниши. Антагонистическое действие нормальной микрофлоры обеспечивается более выраженной способностью резидентных бактерий к адгезии и колонизации, а также к продукции специфических веществ – *бактериоцинов* и антибиотиков, которые подавляют рост патогенных микроорганизмов. Так, бифидобактерии за счет ферментации олиго- и полисахаридов продуцируют молочную кислоту и ацетат, которые обеспечивают бактерицидную среду, секретируют вещества-ингибиторы роста патогенных бактерий.

Микробиота кишечника выполняет иммуногенную функцию. Постоянное присутствие бактерий в кишечнике приводит к стимуляции и активации макрофагов, различных клонов лимфоцитов, индукции интерферонов. Под воздействием нормальной микробиоты синтезируются естественные или нормальные антитела. Например, энтерококки (*Enterococcus avium*, *faecalis*, *faecium*) стимулируют местный иммунитет за счет активации В-лимфоцитов и повышения синтеза IgA, высвобождения интерлейкинов-1 β и -6, γ -интерферона.

Микрофлора кишечника человека участвует в ферментации нерасщепленных ранее компонентов пищи. Не всосавшиеся в тонкой кишке белки и углеводы в слепой кишке подвергаются более глубокому бактериальному расщеплению – преимущественно кишечной палочкой и анаэробами. Конечные продукты, образующиеся в результате процесса бактериальной ферментации, оказывают различное влияние на состояние здоровья человека. Например, бутират необходим для нормального существования и функционирования колоноцитов, является важным регулятором их пролиферации и дифференцировки, а также всасывания воды, натрия, хлора, кальция и магния. Вместе с другими летучими жирными кислотами он оказывает влияние на моторику толстой кишки. При расщеплении полисахаридов и гликопротеинов внеклеточными микробными гликозидазами образуются, помимо прочего, моносахариды (глюкоза, галактоза и т.д.), при окислении которых в окружающую среду выделяется в виде тепла не менее 60% их свободной энергии.

Среди важнейших системных функций микрофлоры - рециркуляция желчных кислот, стероидов. Превращение холестерина в не всасывающийся в толстой

кишке копростанол и трансформация билирубина в стеркобилин и уробилин возможны только при участии бактерий, находящихся в кишечнике.

Витаминообразующую функцию выполняют кишечные палочки, бифидо- и лактобактерии. Они участвуют в синтезе и всасывании витаминов К, группы В, фолиевой и никотиновой кислот.

Микробиота влияет на структуру слизистой оболочки кишечника, тем самым участвует в поддержании морфологического и функционального состояния желез, эпителиальных клеток.

Кишечная микробиота определяет этиологию и патогенез аутоиммунных заболеваний, модулируемыми Т-клетками (диабет 1 типа, рассеянный склероз и ревматоидный артрит). Во время развития аутоиммунных заболеваний изменения микробиома имеют решающее значение в воспалении и способствуют потере иммунной толерантности.

В настоящее время доказано взаимовлияние кишечной микробиоты на ЦНС (ось «кишечник–мозг»). Так, например, кишечная микрофлора может влиять на развитие отделов мозга, контролирующих состояния, вызванные стрессом, такие как тревожность или депрессия.

Нормальная микробиота способна вызывать развитие инфекционных заболеваний, большая часть которых носит *оппортунистический* (сопровожающий) характер. Например, кишечные анаэробы (бактероиды) при проникновении в стенку кишечника в результате травмы вызывают формирование абсцессов, а основными возбудителями постгриппозных пневмоний считают микроорганизмы, обитающие в носоглотке любого человека. Ведущую роль в развитии подобных поражений играет не вирулентность самого возбудителя, а ослабление защитных систем макроорганизма (иммунодефицит).

8.9. Дисбиоз

Дисбиоз – качественное и количественное нарушение экологического баланса между микробными популяциями в составе микробиоты организма человека.

Дисбиоз возникает при воздействии дестабилизирующих факторов, таких как, нерациональное использование антибиотиков широкого спектра действия, антисептиков, резкое снижение резистентности организма, вследствие хронических инфекций, радиации и др. При дисбиозах происходит подавление микробов-антагонистов, регулирующих состав микробного биоценоза и размножение условно-патогенных микроорганизмов. Таким путем происходит нарастание и распространение микроорганизмов из родов *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Proteus*, являющихся причиной внутрибольничных инфекций, дрожжеподобных грибов

Candida albicans, вызывающих кандидозы, *E. coli*, являющейся возбудителем колиэнтеритов и др.

Наиболее часто встречается дисбиоз кишечника, который проявляется в нарушении его работы, сопровождается общим недомоганием, болями в области живота и повышенным газообразованием. Длительное нарушение соотношения микроорганизмов в кишечнике может провоцировать развитие аллергических заболеваний, таких как бронхиальная астма, хронический бронхит, ревматоидный артрит и др. Для коррекции дисбиозов применяются пробиотики, пребиотики и синбиотики.

Пробиотики – препараты, получаемые из живых микроорганизмов – представителей нормальной микрофлоры организма человека. К ним относятся колибактерин (живые бактерии кишечной палочки, штамм М-17), бифидумбактерин (взвесь живых *B. bifidum*, штамм n 1), лактобактерин (взвесь живых штаммов *Lactobacterium*), бификол (комплексный препарат, состоящий из взвеси живых бифидумбактерий, штамм n 1 и кишечных палочек, штамм М-17).

Пребиотики – препараты немикробного происхождения, неперевариваемые в кишечнике, способные оказывать стимулирующее влияние на рост и/или метаболическую активность нормальной микрофлоры. К пребиотикам предъявляются достаточно строгие требования: они не должны подвергаться гидролизу пищеварительными ферментами человека, не должны абсорбироваться в верхних отделах ЖКТ, должны селективно стимулировать определенную группу микроорганизмов. Примером пребиотика является хилак форте.

Синбиотики – препараты, являющиеся комбинацией пре- и пробиотиков (например, максилак).

Для лабораторной диагностики дисбиоза кишечника используют бактериологические исследования фекалий, соскобов со слизистых оболочек при эндоскопии, содержимого тонкой кишки и желчи (при зондировании) при взятии материала из прямой кишки специальной стерильной ректальной палочкой.

По результатам посевов испражнений определяют: содержание общего количества кишечных палочек, типичных по ферментативной активности; наличие гемолитических штаммов *E. coli*; наличие прочих условно-патогенных микроорганизмов; наличие бактерий рода *Proteus*; наличие грибов рода *Candida*; количественное содержание бифидобактерий, лактобактерий, бактероидов.

Широко используют методы, основанные на выявлении метаболитов (летучих и клеточных жирных кислот) микроорганизмов – газожидкостной и ионной хроматографии, скрининговые экспресс-методы оценки состояния микробиоценоза кишечника по спектру фекальных протеаз.

Раздел 9. ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

9.1. Генетическая система бактерий

Генетическая система бактерий состоит из ядерных и внеядерных структур. Аналог ядра прокариотов значительно отличается от ядра эукариотических клеток. Он представлен *нуклеоидом*, лишенным оболочки и включающем в себя почти всю ДНК бактерии. Бактериальная хромосома состоит из одной *двунитевой молекулы ДНК кольцевой формы*. Молекула ДНК построена из двух полинуклеотидных цепочек. Каждый *нуклеотид* состоит из азотистого основания, сахара дезоксирибозы и фосфатной группы. Азотистые основания представлены пуринами (аденин, гуанин) и пиримидинами (тимин, цитозин). Каждый нуклеотид обладает полярностью и у него имеются дезоксирибозный 3'-конец и фосфатный 5'-конец. Нуклеотиды соединяются в полинуклеотидную цепочку фосфодиэфирными связями между 5'-концом одного нуклеотида и 3'-концом другого. Соединение между двумя цепочками обеспечивается водородными связями комплементарных азотистых оснований: аденина с тимином, гуанина с цитозином. Нуклеотидные цепи антипараллельны: на каждом конце линейной молекулы ДНК расположены 5'-конец одной цепи и 3'-конец другой цепи. Наследственная информация у бактерий хранится в форме последовательности нуклеотидов ДНК, которая определяет последовательность аминокислотных остатков в молекуле белка. Каждому белку соответствует свой *ген*, то есть дискретный участок на ДНК, отличающийся числом и специфичностью последовательности нуклеотидов. Бактериальная хромосома содержит до 4000 отдельных генов. Совокупность всех генов называется *геномом*. Внешнее проявление генома называется *фенотипом*. Размеры бактериальной хромосомы у различных представителей прокариот варьируют от 3×10^8 до $2,5 \times 10^9$ Д. Бактериальная клетка гаплоидна, а удвоение хромосомы всегда сопровождается ее делением.

Генетическая информация в бактериях может содержаться во *внеядерных* (внехромосомных) молекулах ДНК, представленных плазмидами, транспозонами и инсерционными (вставочными) последовательностями. Они не являются жизненно необходимыми, так как не кодируют информацию о синтезе ферментов, участвующих в метаболизме бактериальной клетки.

Плазмиды бактерий представляют собой двунитевые молекулы ДНК размером от 10^6 до 10^8 Д, несущие от 40 до 50 генов (рис. 96). Количество плазмид в бактериальной клетке может быть от 1 до 200. Выделяют плазмиды, находящиеся в виде отдельной замкнутой молекулы ДНК (*эписомы*) и встроенные в хро-

мосому бактерии (*интегрированные плазмиды*). Плазмиды выполняют регуляторные и кодирующие функции. Первые направлены на компенсацию метаболических дефектов, вторые вносят в бактерию информацию о новых признаках. Как составляющая часть генетического материала бактерии плазмиды играют важную роль в ее жизнедеятельности, детерминируя такие характеристики, как способность продуцировать экзотоксины, ферменты и бактериоцины, устойчивость к лекарственным препаратам и т.д.

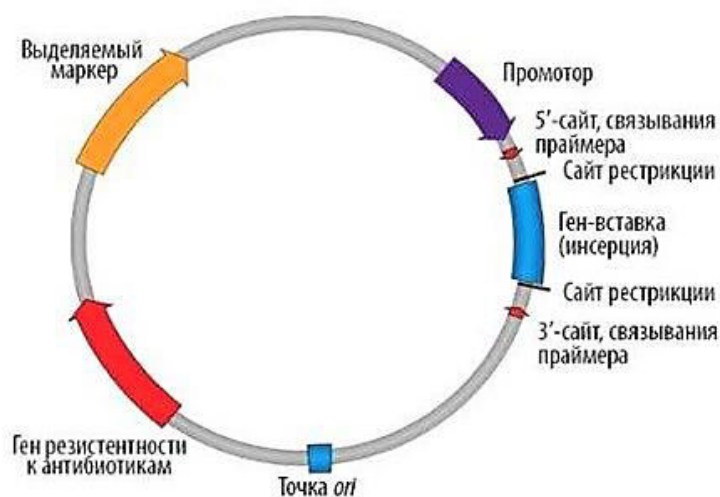


Рис. 96. Карта плазмиды
(<https://studfile.net>)

Удвоение ДНК некоторых плазмид индуцирует деление бактерий, то есть увеличивает их «плодовитость». Такие плазмиды обозначают как *F-плазмиды* или F-факторы (от англ. *fertility* – плодovitость). Интегрированные F-плазмиды называют *Hfr-плазмиды* или Hfr-факторы (от англ. *high frequency of recombinations* – высокая частота рекомбинаций). Hfr-факторы осуществляют перенос части генетической информации данной хромосомы в другую клетку.

Плазмиды, детерминирующие устойчивость к лекарственным антимикробным препаратам, называются *R-плазмидами* или R-факторами (от англ. *resistance* – устойчивость). R-плазмиды содержат гены, детерминирующие синтез ферментов, которые разрушают антибактериальные препараты или отвечают за другие механизмы резистентности. В результате бактериальная клетка становится устойчивой к действию целой группы лекарственных веществ. Многие R-плазмиды являются трансмиссивными и, распространяясь в популяции бактерий, переносят резистентность к воздействию антибактериальных препаратов.

Плазмиды патогенности контролируют вирулентные свойства микроорганизмов, детерминируя синтез факторов патогенности. Так, например, *Ent-плазмида* определяет синтез энтеротоксина. Развитие инфекционного процесса, вызванного возбудителями чумы, сибирской язвы, кишечного иерсиниоза, клещевого иксодового боррелиоза связано с функционированием плазмид патогенности.

Конъюгативные плазмиды переносятся от бактерии к бактерии внутри вида или между представителями близкородственных видов в процессе конъюгации. Чаще всего конъюгативными плазмидами являются F- или R-плазмиды. Подобные плазмиды относительно крупные (25–150 млн Д) и часто выявляются у грамотрицательных палочек. Большие плазмиды обычно присутствуют в количестве 1–2 копий на клетку, и их репликация тесно связана с репликацией бактериальной хромосомы.

Неконъюгативные плазмиды обычно имеют небольшие размеры и характерны для грамположительных кокков, но встречаются также у некоторых грамотрицательных микроорганизмов (например, у *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*). Мелкие плазмиды могут присутствовать в больших количествах (более 30 на клетку), так, как только наличие такого количества обеспечивает их распределение в потомстве во время клеточного деления. При наличии в бактерии одновременно конъюгативных и неконъюгативных плазмид донор может передавать и неконъюгативные плазмиды за счет связывания генетического материала последних с факторами, обеспечивающими их перенос в процессе конъюгации.

Подвижные генетические элементы входят в состав бактериального генома, бактериальной хромосомы и плазмид. К ним относятся *вставочные последовательности* в ДНК, *транспозоны* и *интегроны*. Вставочные или инсерционные последовательности (Is-элементы) представляют собой участки ДНК, способные перемещаться из одного места локализации в другое, и содержат только гены, необходимые для перемещения. Is-последовательности осуществляют координацию взаимодействий плазмид, умеренных фагов, транспозонов и нуклеотида для обеспечения репродукции; регулируют активность генов бактериальной клетки. Они могут инактивировать гены, в которые включились («выключение» гена) или, встраиваясь в хромосому, проявлять эффект промотора, включающего или выключающего транскрипцию соответствующих генов.

Транспозоны (Tn) – это сегменты ДНК, состоящие из вставочных последовательностей и структурных генов, обеспечивающих синтез молекул со специфическими биологическими свойствами (токсичность, устойчивость к антибиотикам и др.). Транспозоны не способны к самостоятельной репликации и размножаются только в составе бактериальной хромосомы.

Интегроны – подвижные генетические элементы, способные захватывать фрагменты чужеродной ДНК. Играют ключевую роль в распространении генов устойчивости к лекарственным препаратам, а также в эволюции бактериальных геномов.

9.2. Репликация бактериальной ДНК

Воспроизведение генетического материала бактерий осуществляется в процессе *репликации*, которая у бактерий протекает по полуконсервативному механизму. Это означает, что каждая из двух цепочек ДНК хромосомы или плазмиды служит матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепочки ДНК (рис. 97).

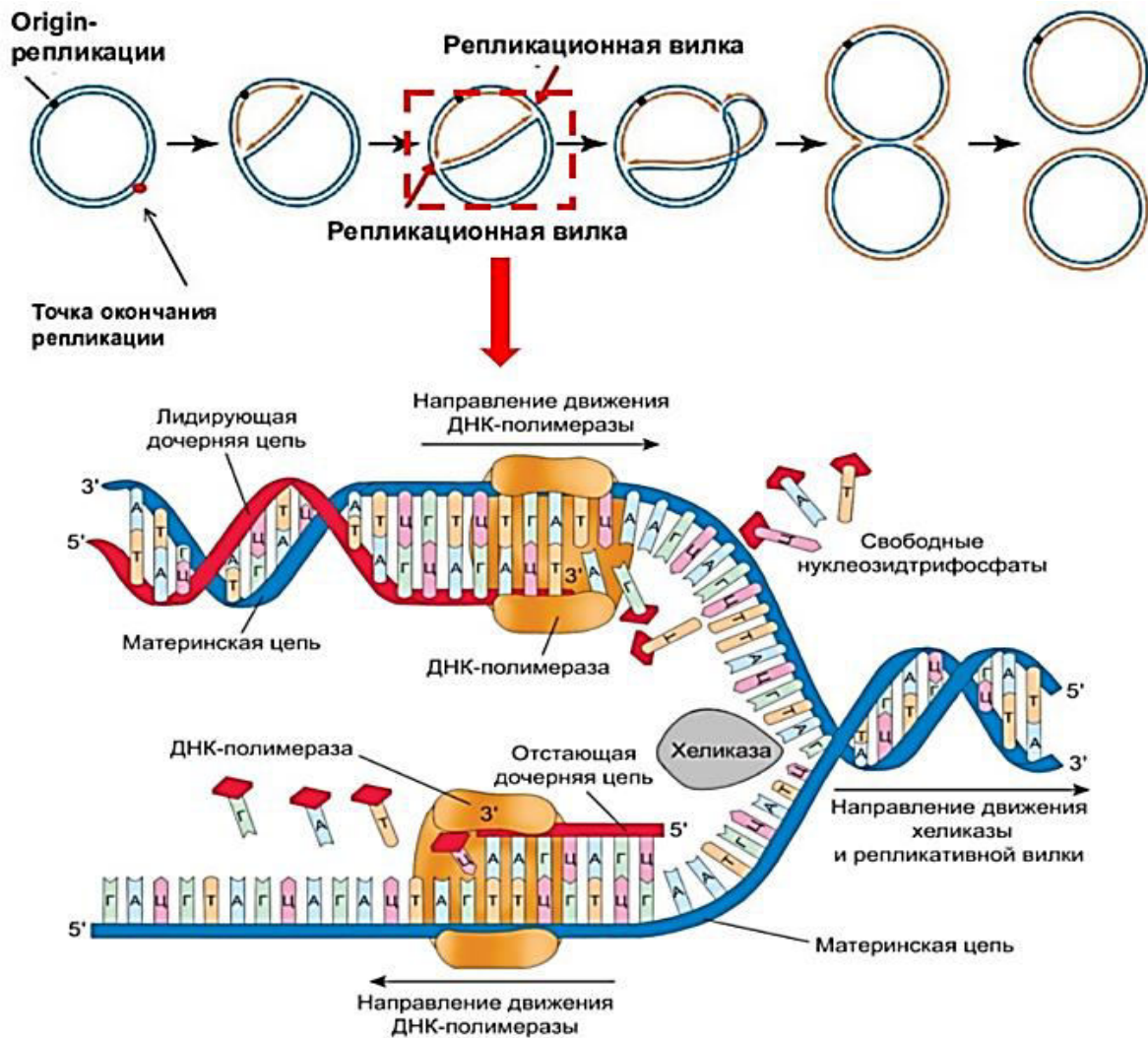


Рис. 97. Схема репликации ДНК у бактерий

В процессе репликации участвует комплекс ферментов. Репликация начинается с расплетения двунитевой ДНК, которое осуществляется ферментом *ДНК-гидролазой*. При этом формируются две репликативные вилки, которые двигаются в противоположных направлениях, пока не встретятся. Формирование новой дочерней цепи осуществляется ферментом *ДНК-полимеразой*. Особенностью функционирования ДНК-полимеразы является ее способность присоеди-

нять комплементарные матрице нуклеотиды к свободному 3'-концу растущей цепочки. Поэтому для осуществления реакции полимеризации нуклеотидов на матрице родительской цепочки ДНК-полимеразе требуется затравка, которая называется *праймером* (от англ. *Primer* – запал). Праймер представляет собой короткую нуклеотидную цепочку, комплементарную матричной цепочки со свободным 3'-концом. На этом свойстве ДНК-полимеразы основана полимеразная цепная реакция (ПЦР), широко используемая в диагностике инфекционных заболеваний. Две цепи двойной спирали ДНК комплементарны друг другу. На каждой цепи из структурных элементов ДНК – дезоксирибонуклеозидтрифосфатов – синтезируется новая цепь. Обе новые двойные цепи состоят из одной родительской и одной вновь синтезированной цепи. Такая точная репликация ДНК гарантирует сохранение генетической информации.

9.3. Реализация наследственной информации

Реализация наследственной информации осуществляется в два этапа. Сначала информация о структуре белка копируется с ДНК на мРНК (*транскрипция*), а затем реализуется на рибосоме в виде конечного продукта – белка (*трансляция*). Это можно представить в виде схемы:

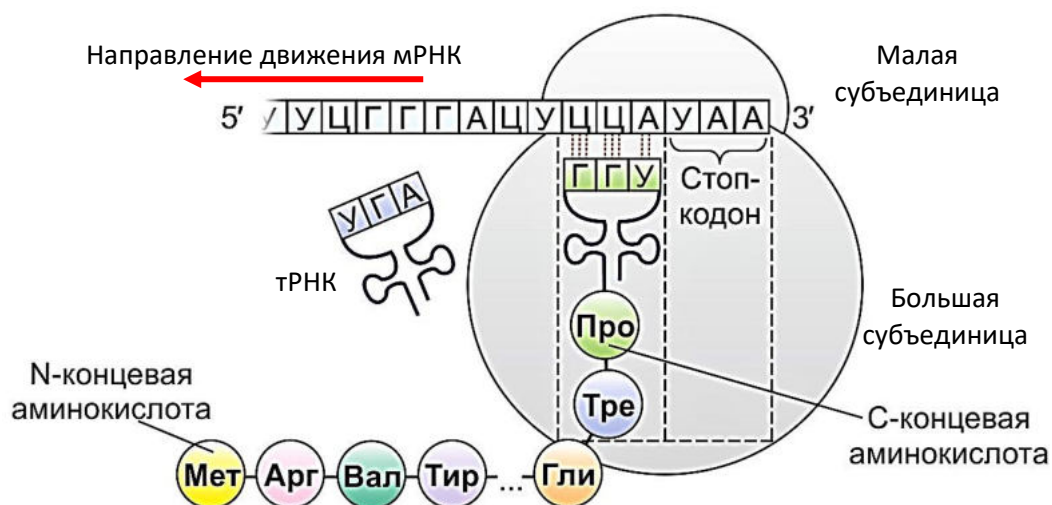
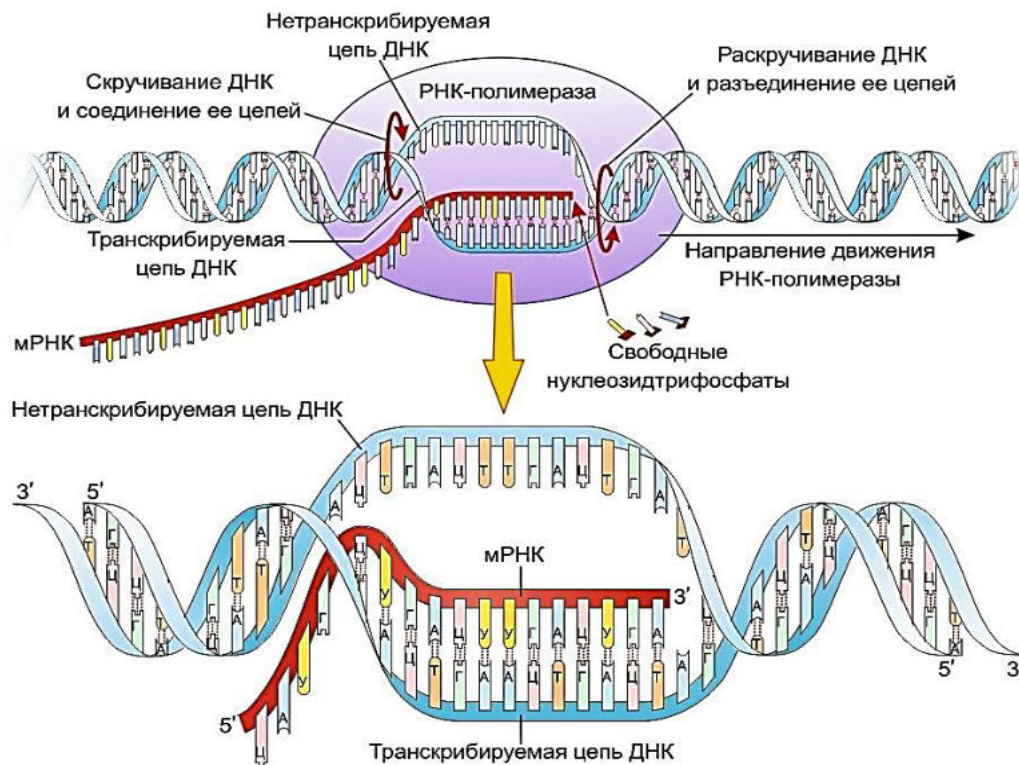


Передачу записанной в ДНК информации к местам синтеза белка осуществляет *матричная* или *информационная* РНК (мРНК). Она состоит из одной цепи и отличается от одиночной цепи ДНК тем, что тимин (Т) в РНК заменен урацилом (У). мРНК синтезируется на одной из цепей ДНК, причем механизм этого процесса сходен с механизмом репликации ДНК. Образование мРНК начинается на 5'-конце, и по последовательности оснований ее цепь комплементарна цепи ДНК (рис. 98).

Этот процесс контролируют гены, определяются последовательностью аминокислот в полипептидных цепях. Эта же последовательность определяет и пространственную структуру белка – *конформацию*.

По мере продвижения рибосомы вдоль мРНК полипептидная цепь увеличивается (рис. 99). Одновременно происходит закручивание этой цепи и свертывание ее в клубок, определяемое последовательностью аминокислот и природой их боковых цепей (гидрофобные и гидрофильные группы), и в результате возникает структура, обуславливающая специфические свойства и функцию данного белка. К мРНК обычно прикрепляется несколько рибосом, так что на одной и той же матрице одновременно синтезируются несколько полипептидных цепей. На

конце мРНК находится кодон, от которого зависит отделение сформированной полипептидной цепи от рибосомы.



9.4. Регуляция экспрессии генетической информации у бактерий

Генная экспрессия – это реализация генетической информации, благодаря которой, ген проявляет свой потенциал в конкретном фенотипическом признаке организма.

За экспрессию одного или нескольких генов ответственен *оперон* – группа структурных генов, находящиеся под общим контролем. Состоит из гена-регулятора, промотора, оператора, структурных генов, терминатора (рис. 100).

Ген-регулятор – контролирующий образование белка-регулятора, который, соединяясь с оператором, может способствовать или препятствовать присоединению РНК-полимеразы к промотору. Если белок регулятор не дает возможность ферменту присоединиться к промотору, он называется *репрессором*. В этом случае осуществляется негативный контроль транскрипции со стороны гена-регулятора. Если белок-регулятор способствует присоединению РНК-полимеразы к промотору и началу процесса транскрипции, его называют *белком-активатором*, и осуществляется позитивный контроль со стороны гена-регулятора.

Промотор – это регуляторный участок ДНК, который служит для присоединения РНК-полимеразы к молекуле ДНК.

Оператор – это регуляторный участок ДНК, который способен присоединять белок-репрессор, который кодируется соответствующим геном. Если репрессор присоединен к оператору, то РНК-полимераза не может двигаться вдоль молекулы ДНК и синтезировать мРНК.

Терминатор – это регуляторный участок ДНК, который служит для отсоединения РНК-полимеразы после окончания синтеза мРНК,

Все эти гены транскрибируются на одну общую молекулу мРНК.

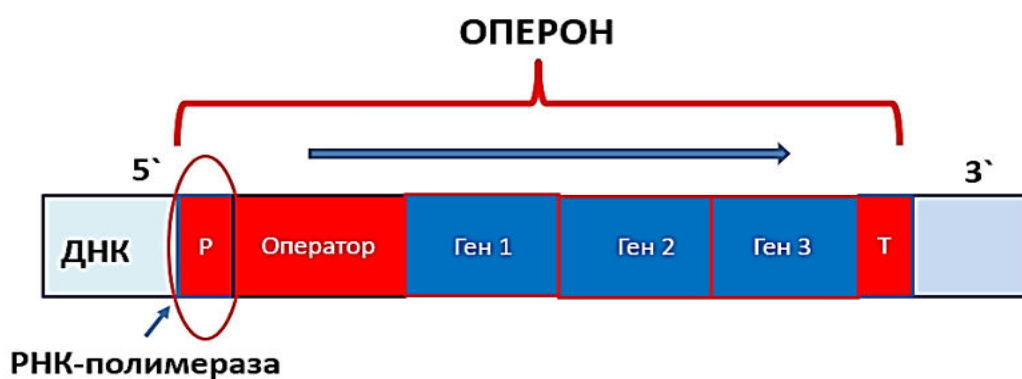


Рис. 100. Структура оперона прокариот. Р- ген-регулятор, Т- терминатор

В процессах регуляции экспрессии генов принимают участие вещества небелковой природы (*эфффекторы*), взаимодействующие с белками-регуляторами и изменяющими их способность связываться с опероном. Например, конеч-

ный продукт метаболической цепи. В зависимости от результатов такого воздействия среди эффекторов различают *индукторы*, способствующие транскрипции, и *корепрессоры*, препятствующие ей.

9.5. Перенос генетического материала бактерий

Передача генетического материала у бактерий осуществляется по вертикали и по горизонтали.

Вертикальный перенос – передача всех генов исходной особи дочерним, которая обеспечивает стабильность генома.

Передача генетического материала по горизонтали способствует изменчивости (появлению новых признаков) и осуществляется в два этапа: перенос ДНК и включение её в ДНК клетки-реципиента. В ходе такой передачи в результате генетической рекомбинации осуществляется обмен генетическим материалом между бактериями, что приводит к образованию рекомбинаций ДНК и формированию дочернего генома, сочетающего гены обоих родителей. Рекомбинация может быть гомологичной, при которой в процессе разрыва и воссоединения ДНК происходит обмен между участками ДНК, обладающими высокой степенью гомологии. Встречается также сайт-специфическая рекомбинация, которая происходит только в определенных участках (сайтах) генома и не требует высокой степени гомологии ДНК, например, включение плазмиды в хромосому бактерии. Горизонтальная передача генетического материала между бактериями осуществляется тремя механизмами: *трансформацией*, *трансдукцией* и *конъюгацией*.

Трансформация – это приобретение бактерией-реципиентом свойств бактерии-донора в результате поглощения ДНК последней.

Процесс трансформации может произвольно происходить в природе у некоторых видов бактерий, чаще грамположительных, когда ДНК, выделенная из погибших клеток, захватывается реципиентными клетками. Как правило, любая чужеродная ДНК, попадающая в бактериальную клетку, расщепляется рестрикционными эндонуклеазами; но при некоторых условиях такая ДНК может быть интегрирована в геном бактерии. По происхождению ДНК может быть плазмидной либо хромосомной и нести гены, трансформирующие реципиента. Подобным путем процессы трансформации могут распространять гены, кодирующие факторы вирулентности, среди бактериальных популяций; однако в обмене генетической информацией трансформация играет незначительную роль. Процесс трансформации представлен на рисунке 101.

Трансформация служит хорошим инструментом для картирования хромосом, поскольку трансформированные клетки включают различные фрагменты

ДНК. Определение частоты одновременного приобретения двух заданных характеристик (чем ближе расположены гены, тем более вероятно, что они оба включатся в один и тот же участок ДНК) дает информацию о взаиморасположении соответствующих генов в хромосоме. Перенос экстрагированной ДНК является основным методом генной инженерии, используемым при конструировании рекомбинантных штаммов с заданным геномом.

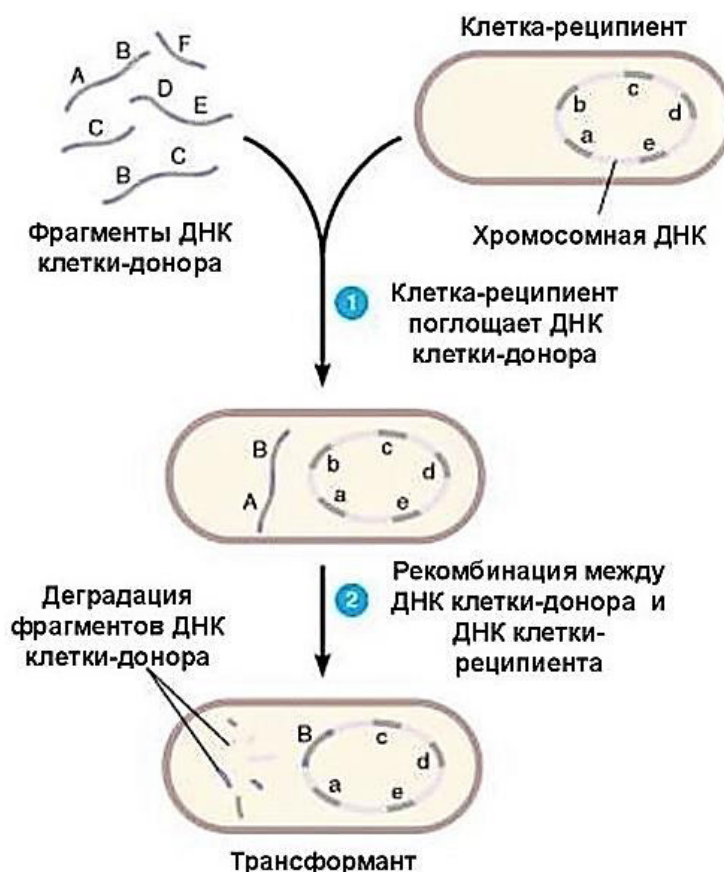


Рис. 101. Схема трансформации бактерий (<https://stylishbag.ru>)

Трансдукция – передача бактериальной ДНК посредством бактериофага. В процессе репликации фага внутри бактерий фрагмент бактериальной ДНК проникает в фаговую частицу и переносится вместе с ней в бактерию-реципиент. Существуют три типа трансдукции: *неспецифическая* (общая), *специфическая* и *абортивная*.

Общая (неспецифическая) трансдукция – перенос бактериофагом фрагмента любой части бактериальной хромосомы (рис. 102).

В клетке, инфицированной бактериофагом, в ходе сборки дочерней популяции в головки некоторых фагов может проникнуть фрагмент бактериальной ДНК или плазмиды либо вместе с вирусной ДНК, либо вместо нее. Этот процесс происходит вследствие того, что бактериальная ДНК фрагментируется после фаговой инфекции, и кусочек бактериальной ДНК того же размера, что и фаговая

ДНК, проникает в вирусную частицу с частотой приблизительно 1 на 1000 фаговых частиц. При такой форме трансдукции в клетки-реципиенты могут быть внесены практически любые гены. Феномен неспецифической трансдукции может быть использован для картирования бактериальной хромосомы.

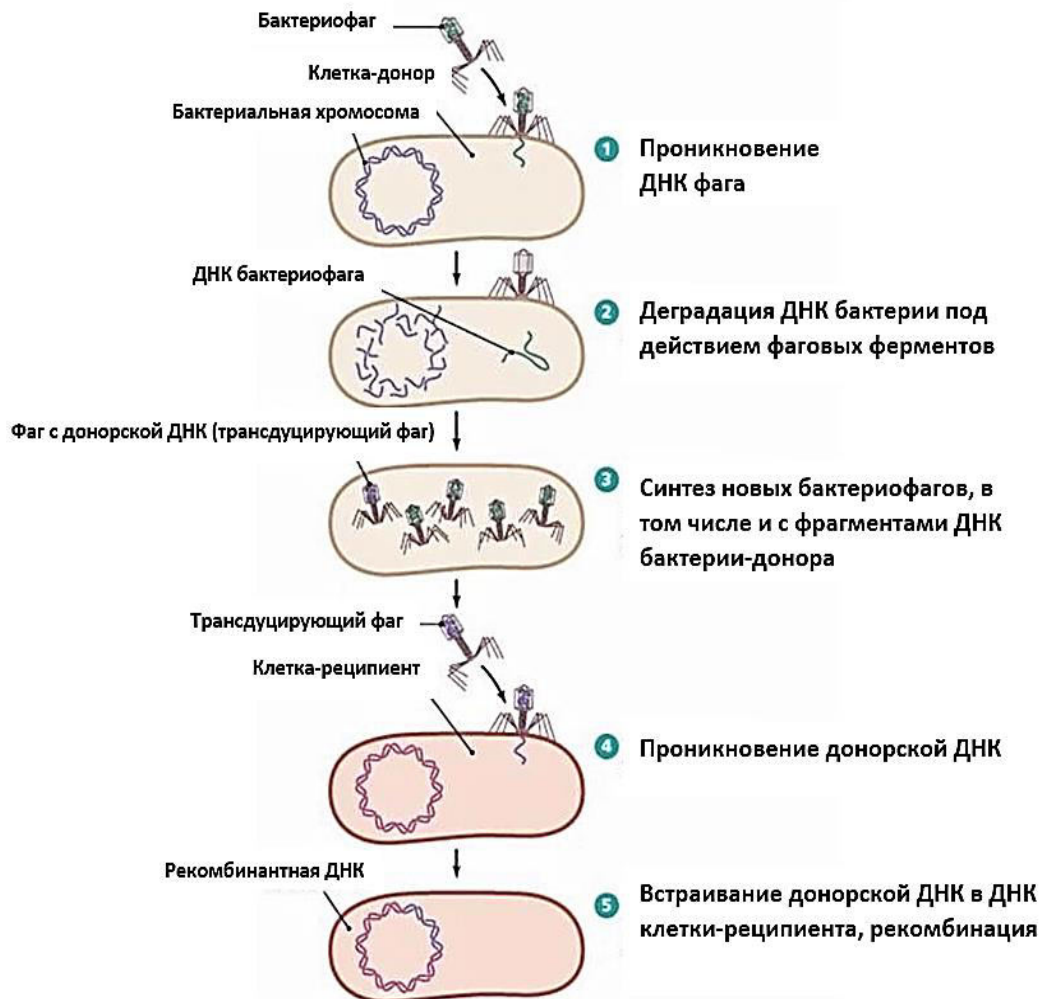


Рис. 102. Схема общей (неспецифической) трансдукции(<https://stylishbag.ru>)

Специфическая трансдукция наблюдается в том случае, когда фаговая ДНК интегрирует в бактерию с образованием профага. При исключении ДНК фага из бактериальной хромосомы в результате случайного процесса захватывается прилегающий к месту включения фаговой ДНК фрагмент бактериальной хромосомы. Так как большинство умеренных фагов интегрируют в бактериальную ДНК в специфических участках, для таких бактериофагов характерен перенос в клетку-реципиент определенного участка бактериальной ДНК донора. Специфическая трансдукция может служить механизмом переноса вирулентных генов среди бактерий при условии, что эти гены локализованы в непосредственной близости от мест интеграции профага. Наиболее характерным примером служит трансдукция, осуществляемая фагом λ (рис. 103).

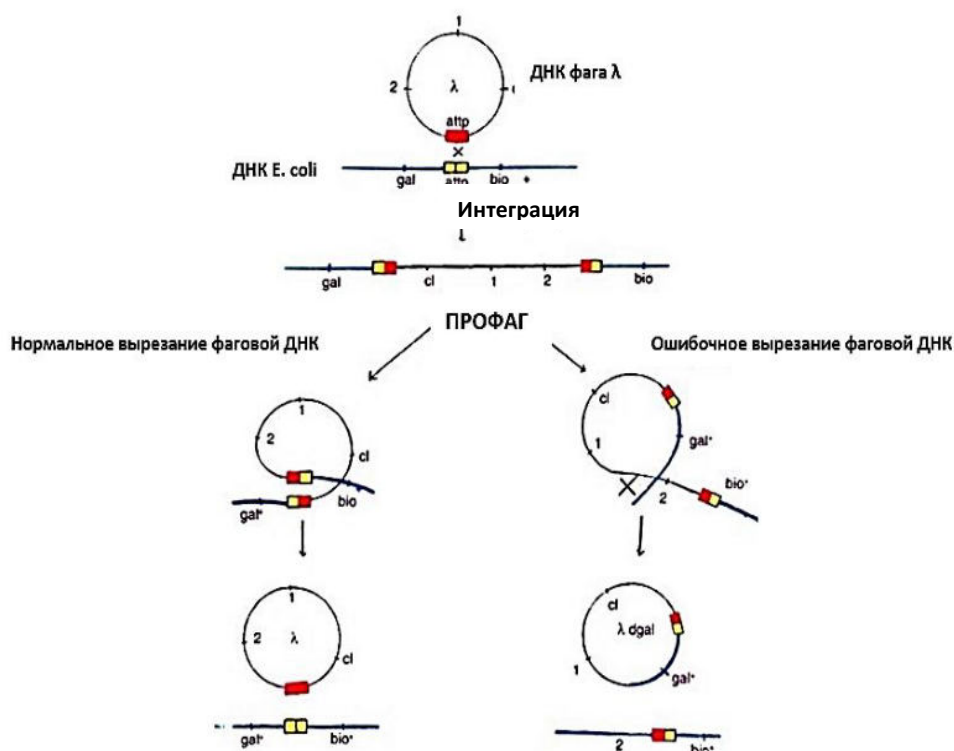


Рис. 103. Схема трансдукции, осуществляемая фагом λ (<https://helpiks.org>)

Абортивная трансдукция. При абортивной трансдукции внесенный фрагмент ДНК донора не встраивается в хромосому реципиента, а остается в цитоплазме и там самостоятельно функционирует. Впоследствии он передается одной из дочерних клеток (то есть наследуется однолинейно) и затем теряется в потомстве.

Конъюгация – это перенос генетического материала путем прямого контакта между двумя клетками. В ходе конъюгации в клетку-реципиент переносится одна из двух цепочек ДНК плазмиды из клетки-донора. Затем двуцепочечные ДНК достраиваются до двуцепочечных молекул. В результате такого переноса клетка-реципиент получает донорские свойства (рис.104).

Необходимым условием конъюгации является наличие в клетке-доноре F-фактора (от англ. *fertility*, *фактор фертильности*, *половой фактор*), который кодирует все белки, необходимые для конъюгации. Клетки-доноры, обладающие F-фактором, обозначаются как F⁺-клетки, а клетки-реципиенты, не имеющие F-фактора – F⁻ клетки.

Если F-фактор встраивается в хромосому клетки-донора и начинает функционировать в виде единого с хромосомой трансмиссивного репликона, то хромосома донора приобретает способность передаваться в клетку-реципиент. Донорские клетки, имеющие встроенный в хромосому F-фактор, называются *Hfr-клетками* (от англ. *high frequency of recombinantion*). Хромосомная ДНК реплицируется, одна цепь копии хромосомы переносится в реципиентную F⁻-клетку,

тогда как другая остается в *Hfr*⁺-клетке, то есть донор сохраняет свое генетическое постоянство (рис. 105).

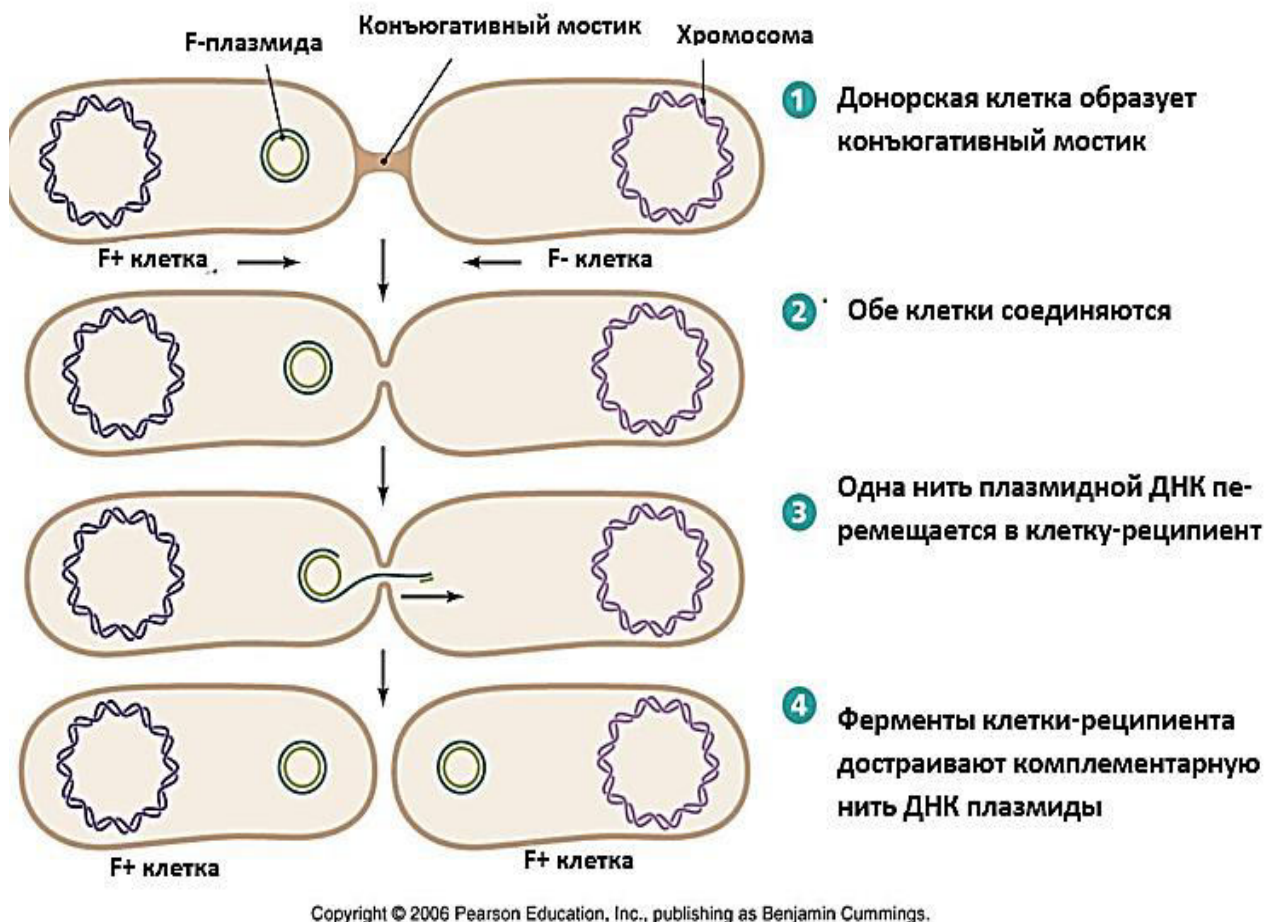


Рис. 104. Схема конъюгации с автономной F-плазмидой

Передача генетического материала при конъюгации начинается с расщепления ДНК в районе локализации F-фактора. Одна нить донорской ДНК передается через конъюгационный мостик в клетку-реципиент. Процесс сопровождается достраиванием комплементарной нити до образования двунитевой структуры. Переданная в реципиентную клетку и достроенная до двунитевой структуры нить ДНК рекомбинирует с гомологичным участком реципиентной ДНК с образованием стабильной генетической структуры.

Биологическая значимость конъюгации хорошо видна на примере распространения резистентности бактерий к антибиотикам. Устойчивость к антибиотикам бактерия может получить в результате мутации, что происходит 1 раз на каждые 10^6 клеточных делений. Однако, однажды изменившись, генетическая информация может быстро распространяться среди сходных бактерий посредством конъюгации, поскольку каждая третья из близкородственных бактерий способна именно к этому типу генетического переноса.

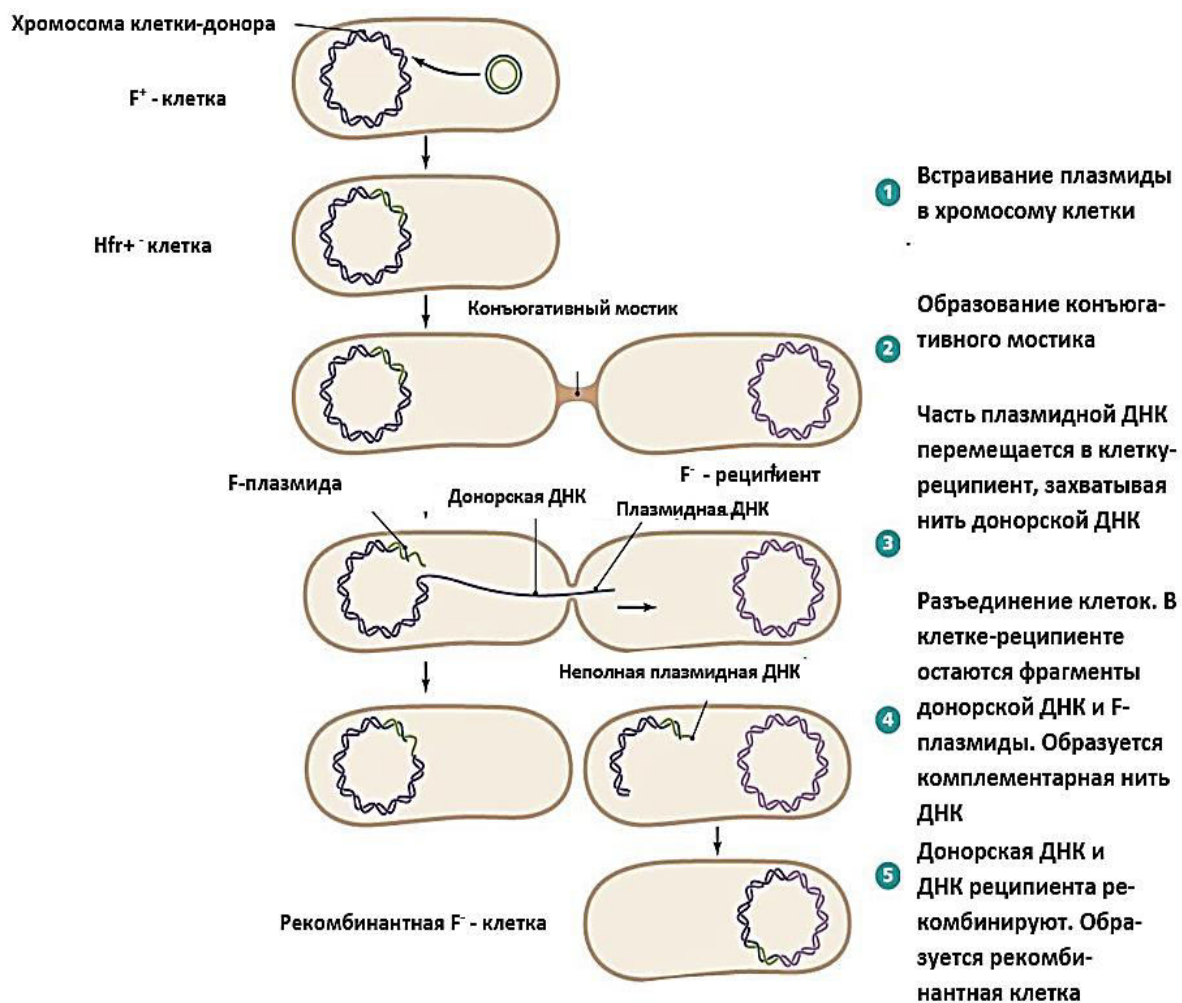


Рис. 105. Схема конъюгации с интегративной F-плазмидой (<https://stylishbag.ru>)

9.6. Генетическая изменчивость бактерий

В процессе жизнедеятельности популяции появляются отдельные бактериальные клетки, которые под действием тех или иных факторов приобретают новые признаки. Если такая изменчивость закрепляется на генетическом уровне, то она называется *генотипической (наследственной) изменчивостью*, к которой относят мутации, рекомбинации.

Мутации – это изменения в последовательности нуклеотидов ДНК, проявляющиеся наследственно закрепленной утратой или изменением какого-либо признака или группы признаков. В их основе лежат ошибки копирования наследственной информации, возникающие при репликации. Фенотипическим проявлением мутации могут быть: изменение морфологии бактериальной клетки, возникновение потребности в факторах роста (например, в аминокислотах, витаминах), то есть ауксотрофность; появление устойчивости к антибиотикам; изменение чувствительности к температуре; снижение вирулентности (аттенуация). Мутации у бактерий носят ненаправленный характер.

Мутации могут быть *спонтанными*, то есть возникающими самопроизвольно, без воздействия извне, и *индуцированными*. Спонтанные мутации появляются в результате:

- 1) ошибок репликации ДНК;
- 2) неправильного формирования комплементарных пар оснований;
- 3) структурных искажений ДНК;
- 4) вследствие перемещения подвижных генетических элементов в процессе роста и размножения популяции бактерий.

Спонтанные мутации могут обуславливать благоприятные и неблагоприятные генетические изменения. Вероятность возникновения определенных мутаций в расчете на одну клетку и на одну генерацию называют частотой мутирования. В фенотипе проявляются не все мутации. Непроявленные мутации называются *молчащими*. У мутанта может произойти обратная мутация или *реверсия*, в результате которой восстанавливаются свойства дикого штамма.

Индукцированные мутации возникают под влиянием внешних факторов, которые называют *мутагенами*. Мутагены бывают физическими (УФ-лучи, γ -радиация), химическими (аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований, например, азотистая кислота и ее аналоги, алкилирующие агенты и др.) и биологическими (транспозоны).

По протяженности повреждений мутации бывают *точечными*, когда повреждения ограничиваются одной парой нуклеотидов, и *протяженными* (*абберациями*). Мутации разделяют на *хромосомные*, обуславливающие появление нового признака при изменении двух и более участков хромосомы, и *генные*, обусловленные появлением нового признака при изменении гена. В этом случае может наблюдаться модификация оснований (изменения отдельных нуклеотидов), выпадение нескольких пар нуклеотидов (*делеции*), перемещение группы нуклеотидов в пределах хромосомы (*транспозиция*), разрыв путем вставки посторонней ДНК (*инсерция*) или добавление нуклеотидных пар (дупликация) и деформации спирали ДНК. Для точечных мутаций частота реверсий довольно высока, в то время как для аббераций реверсии не характерны.

Первичный эффект мутагенного фактора не обязательно ведет к истинной мутации. Новый фенотип проявляется только тогда, когда измененный ген начнет функционировать.

Теоретически мутации, вызванные радиацией, химическими веществами или другими факторами, могли бы привести к вымиранию бактериальной популяции, однако в любой живой клетке существуют биохимические механизмы, способные полностью или частично восстанавливать исходную структуру ДНК. Совокупность ферментов, катализирующих реакции коррекции повреждений ДНК, составляют системы репарации, которые принципиально различаются по

биохимическим механизмам восстановления генома. Известны три основных механизма коррекции дефектов ДНК:

- 1) непосредственная реверсия от поврежденной ДНК к исходной структуре;
- 2) эксцизия («выпадение») повреждений с последующим восстановлением исходной структуры;
- 3) активация механизмов, обеспечивающих устойчивость к повреждениям.

Реверсия повреждений ДНК. К механизмам прямой реверсии повреждений ДНК относится световая репарация или фотореактивация (исправление деформации ДНК под действием УФ-лучей). Световая репарация осуществляется несколькими ферментами: фотолиазой (расщепляет тиминный димер и восстанавливает целостность соседних тиминовых оснований), O₆-метилтрансферазой (удаляет O₆-метильную группу из остатков гуанина после действия метилирующих агентов), ДНК-пурин инсертазой (осуществляет встраивание утерянного при мутации основания в апуриновый сайт), ДНК-гликозилазой (удаление дефектных оснований). Все эти процессы происходят в один этап под действием конкретного фермента и безошибочно восстанавливают исходную структуру ДНК.

Системы эксцизионной репарации удаляют неправильно спаренные или поврежденные основания из ДНК и синтезируют новую последовательность ДНК, замещающую их (рис. 106).

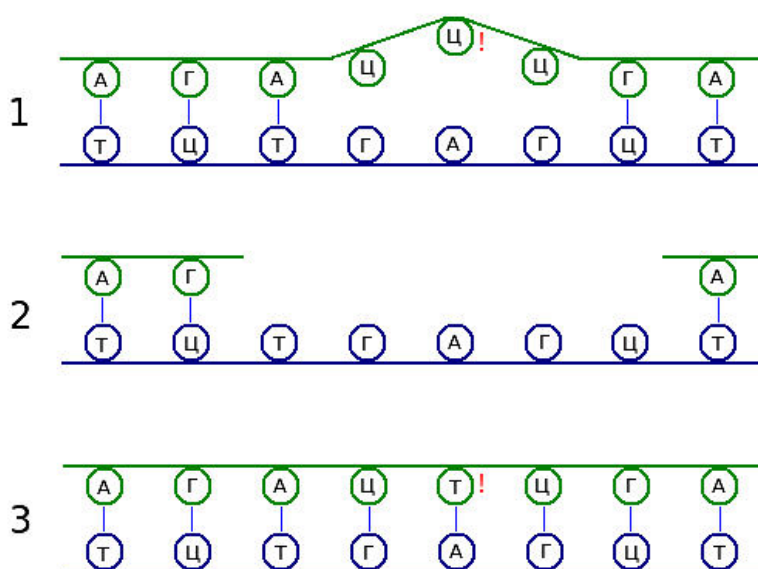


Рис. 106. Схема эксцизионной репарации. 1 – расхождение цепей из-за некомплементарной пары нуклеотидов, 2 – вырезается участок поврежденной ДНК, 3 – брешь застраивается полимеразой

Место повреждения распознает эндонуклеаза, расщепляющая цепь ДНК вблизи дефекта, фрагмент удаляется, а дефект восполняется при помощи ДНК-

полимеразы, которая проникает в брешь и встраивает в нее отсутствующие нуклеотиды, используя неповрежденную цепь ДНК в качестве матрицы. ДНК-лигаза ковалентно связывает 3'-конец вновь синтезированного участка ДНК с цепочкой. Поскольку эта система репарации основана на ресинтезе нуклеотидной цепи на базе неповрежденной матрицы, она также является практически безошибочной.

Репарационные механизмы устойчивости к повреждениям ДНК. Кроме механизмов исправления повреждений клетки имеют возможность «обойти» вызванную повреждениями блокаду репликации ДНК, например, путем репарации в процессе рекомбинации.

9.7. Фенотипическая изменчивость бактерий

Временные, наследственно не закрепленные изменения, называются *модификациями*. Модификации также контролируются геномом бактерий, но (в отличие от мутаций) не сопровождаются изменениями кодирующей структуры и быстро утрачиваются. Чаще всего у бактерий отмечаются морфологические (приводящие к обратимым изменениям формы) и биохимические (проявляются индуцибельным синтезом некоторых продуктов, чаще ферментов) модификации. Модификации возникают как адаптивные реакции бактериальных клеток на изменения окружающей среды, что позволяет им быстро приспосабливаться и сохранять численность популяции на жизнеспособном уровне. После устранения соответствующего воздействия, вызвавшего их образование, бактерии возвращаются к исходному фенотипу.

Стандартное проявление модификации – разделение однородной популяции на несколько типов. Этот феномен получил название *диссоциация* микробов. Обычно диссоциации возникают в условиях, неблагоприятных для исходной популяции. Примером диссоциации может служить изменение вида и структуры бактериальных колоний на твердых питательных средах. Для обозначения диссоциирующих колоний используют первые буквы английских названий: S-колонии (от англ. *smooth* – гладкий); R-колонии (от англ. *rough* – шероховатый); М-колонии (от англ. *mucoid* – слизистый) и D-колонии (от англ. *dwarf* – карликовый). Диссоциации сопровождаются изменениями биохимических, морфологических, антигенных и патогенных свойств возбудителей.

Изменение фенотипа следует считать модификацией, если выполняются три основных условия:

- 1) определенность (связь изменения фенотипа с определенным фактором);
- 2) общность изменений в популяции;
- 3) обратимость (восстановление признака после прекращения действия фактора).

9.8. Генетика вирусов

Вирусам, как и всем живым организмам, свойственны наследственность и изменчивость. Основной особенностью вирусного генома является то, что наследственная информация у вирусов может быть записана как на ДНК, так и на РНК. Геном ДНК-содержащих вирусов двухнитевой (исключение составляют парвовирусы, имеющие однонитевую ДНК), несегментированный и проявляет инфекционные свойства. У вирусов, принадлежащих к родам *Poxvirus* и *Herpadnavirus* геном представлен двумя цепочками ДНК разной длины. Геном большинства РНК-содержащих вирусов однонитевой (исключение составляют реовирусы, обладающие двунитевым геномом, а у ретровирусов имеются две одинаковые нити РНК) и может быть сегментированным (представители родов *Retrovirus*, *Orthomyxovirus*, *Arenavirus* и *Reovirus*) или несегментированным.

Вирусные РНК в зависимости от выполняемых функций подразделяются на +РНК и -РНК. Молекулы +РНК проявляют инфекционность, так как способны непосредственно транслировать генетическую информацию на рибосомы чувствительной клетки, т.е. выполнять функции иРНК и мРНК. Ретровирусы содержат однонитевую +РНК, служащую матрицей для вирусной РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы). При помощи этого фермента информация переписывается с РНК на ДНК, в результате чего образуется ДНК-провирус, интегрирующий в клеточный геном.

-РНК не проявляют инфекционные свойства и для воспроизведения должны транскрибироваться сначала в +РНК, которая служит матрицей для синтеза -РНК.

Нуклеиновые кислоты вирусов подвержены *мутациям*. Фенотипически мутации вирусного генома проявляются изменениями в антигенной структуре, неспособностью вызывать продуктивную инфекцию в чувствительной клетке, термостабильностью, изменением размера и формы бляшек, образуемых под агаровым покрытием. Большинству мутаций присущи реверсии к дикому типу, причем каждая мутация имеет характерную частоту реверсий, которую можно точно измерить. У вирусов выделяют спонтанные и индуцированные мутации.

Скорость *спонтанного мутагенеза* в ДНК-геномах значительно ниже (10^{-8} – 10^{-11} на каждый включенный нуклеотид), чем у РНК-геномных (10^{-3} – 10^{-4} на каждый включенный нуклеотид). Более высокая частота спонтанных мутаций связана с низкой точностью репликации РНК-геномов, которая вероятно связана с отсутствием у РНК-репликаз корректирующей активности, свойственной ферментам, реплицирующим ДНК. Наиболее часто спонтанные мутации наблюдаются у ретровирусов, что связано с более высокой частотой сбоев в обратной транскрипции, не способных к самокоррекции.

Индукцированные мутации у вирусов возникают при действии различных химических и физических мутагенов, которые подразделяют на действующие *in vivo* и *in vitro*.

Вирусные мутации классифицируют по изменениям фенотипа и генотипа. По фенотипическим проявлениям мутации вирусов разделяют на четыре группы:

1. Мутации, не имеющие фенотипического проявления.
2. Летальные мутации, т.е. полностью нарушающие синтез или функцию жизненно важных белков и приводящие к утрате способности к репродукции.
3. Условно летальные мутации, т.е. мутации связанные с потерей способности синтезировать определенный белок или с нарушением его функции только в определенных условиях.
4. Мутации, имеющие фенотипическое проявление, например, изменение размеров бляшек под агаровым покрытием или термостабильности.

По изменению генотипа мутации подразделяют на точечные (локализующиеся в индивидуальных генах) и генные (затрагивающие более обширные участки генома).

Заражение вирусами чувствительных клеток носит множественный характер, т.е. в клетку проникает сразу несколько вирионов. При этом вирусные геномы в процессе репликации могут кооперироваться или интерферировать. Кооперативные взаимодействия между вирусами представлены *генетическими рекомбинациями, генетической реактивацией, комплементацией и фенотипическим смешиванием*.

Генетическая рекомбинация чаще встречается у ДНК-содержащих вирусов или РНК-содержащих вирусов с фрагментированным геномом (вирус гриппа). При генетической рекомбинации происходит обмен между гомологичными участками вирусных геномов.

Генетическая реактивация наблюдается между геномами родственных вирусов с мутациями в разных генах. При перераспределении генетического материала формируется полноценный геном.

Комплементация происходит, когда один из вирусов, инфицирующих клетку, в результате мутации синтезирует нефункциональный белок. Нему-тантный вирус, синтезируя полноценный белок, восполняет отсутствие его у мутантного вируса.

Фенотипическое смешивание происходит при смешанном заражении чувствительной клетки двумя вирусами, когда часть потомства приобретает фенотипические признаки, присущие двум вирусам, при неизменном генотипе.

При множественном инфицировании чувствительной клетки между вирусами могут возникать и интерферирующие взаимодействия. Интерференцией вирусов называют состояние невосприимчивости к вторичному заражению клетки,

уже инфицированной вирусом. При *гетерологической интерференции* инфицирование одним вирусом полностью блокирует возможность репликации второго вируса в пределах одной клетки. Механизмы гетерологической интерференции связаны с угнетением адсорбции другого вируса путем блокирования или разрушения специфических рецепторов, а также с ингибированием трансляции мРНК любой гетерологичной мРНК в инфицированной клетке. Кроме того, первичное заражение может индуцировать образование интерферона, ингибирующего репликацию второго вируса.

Гомологическая интерференция, т.е. интерференция между гомологичными вирусами, характерна для многих вирусов, особенно при повторных пассажах *in vitro* и при высокой множественности инфицирования. В таких условиях образуется много дефектных вирусных частиц, обычно не способных к репродукции. Однако размножение дефектных вирусов возможно при совместном заражении с полноценным вирусом (вирус-помощник). При этом дефектный вирус может вмешиваться в репликативный цикл вируса-помощника и образовывать дочерние дефектные интерферирующие (ДИ) вирусные частицы. ДИ-частицам присущи три основных свойства:

- 1) дефектность (повреждение в важных генах);
- 2) способность к интерференции (ДИ-частицы препятствуют репликации полноценного вируса или других гомологичных вирусов);
- 3) способность к самообогащению за счет стандартного вируса.

Циркуляция ДИ-частиц и коинфекция с полноценным вирусом вызывают вялотекущие, длительные формы инфекции.

Кроме взаимодействий, происходящих между вирусами, при смешанной инфекции происходят также взаимодействия между вирусом и клеткой-хозяином. При взаимодействии клеток с ДНК-содержащими вирусами может происходить вирусная трансформация клетки. В результате трансформации у клеток изменяются морфологические, биохимические и ростовые характеристики, может появляться способность к опухолевому росту. Представляет интерес трансформация клеток под действием РНК-геномных ретровирусов. У ретровирусов трансформация и репликация не являются взаимоисключающими, поскольку трансформированные клетки способны реплицировать вирус. Геномы трансформирующих вирусов обычно интегрируют с геномом трансформируемой клетки.

9.9. Применение генетических методов в диагностике инфекционных заболеваний

Для диагностики инфекционных заболеваний генетическими методами маркером возбудителя является его геном. Методы индикации нуклеиновых кислот

применяют для диагностики вирусных инфекций, для идентификации бактерий (особенно таких, которые трудно выделить) и для определения точного таксономического положения микроорганизмов.

Рестрикционный анализ проводится при помощи *ферментов-рестриктаз*. Каждая рестриктаза разрезает молекулу ДНК по определенным нуклеотидным последовательностям, специфичным для каждого вида или варианта микроорганизма. При постановке реакции ДНК обрабатывают рестриктазой (рис. 107) и определяют количество и длину полученных фрагментов с помощью метода электрофореза. Сопоставляя данные идентифицируемого и стандартного штамма ДНК, определяют видовую принадлежность микроба.

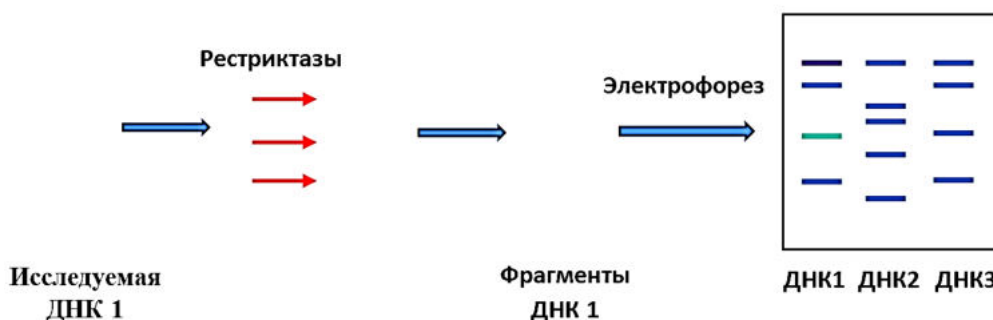


Рис. 107. Схема постановки рестрикционного анализа

Метод молекулярной гибридизации (рис. 108) основан на способности ДНК и РНК специфически соединяться (гибридизироваться) с комплементарными олигонуклеотидными фрагментами, искусственно синтезированными и мечеными ферментом, флюорохромом или изотопом. Эти фрагменты называются зондами.

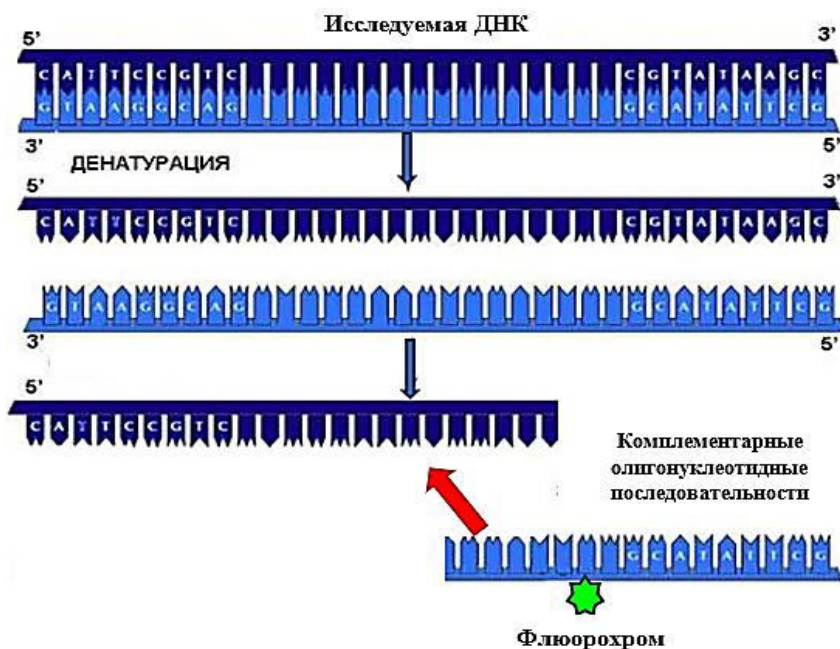


Рис. 108. Схема метода молекулярной гибридизации

Для проведения молекулярной гибридизации молекулу исследуемой ДНК расплетают, одну нить закрепляют на специальном фильтре, который помещают в раствор, содержащий меченый зонд. Создаются условия, благоприятные образованию двойных спиралей. При наличии комплементарности между зондом и исследуемой ДНК они образуют между собой двойную спираль. После окончания гибридизации и отмывания несвязавшихся продуктов проводится детекция образовавшегося комплекса при помощи соответствующей метки.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) основана на многократном увеличении числа копий (амплификации) определенного участка ДНК, катализируемом ферментом ДНК-полимеразой (рис. 109). Реакция полимеризации инициируется *специфическими праймерами* (короткими фрагментами «затравочной» ДНК) в каждом из множества повторяющихся циклов. Специфичность ПЦР определяется способностью праймеров «узнавать» строго определенный участок ДНК и связываться с ним согласно принципу молекулярной комплементарности. ПЦР – это очень чувствительный метод, теоретически для получения результата достаточно наличие в материале одной молекулы ДНК.

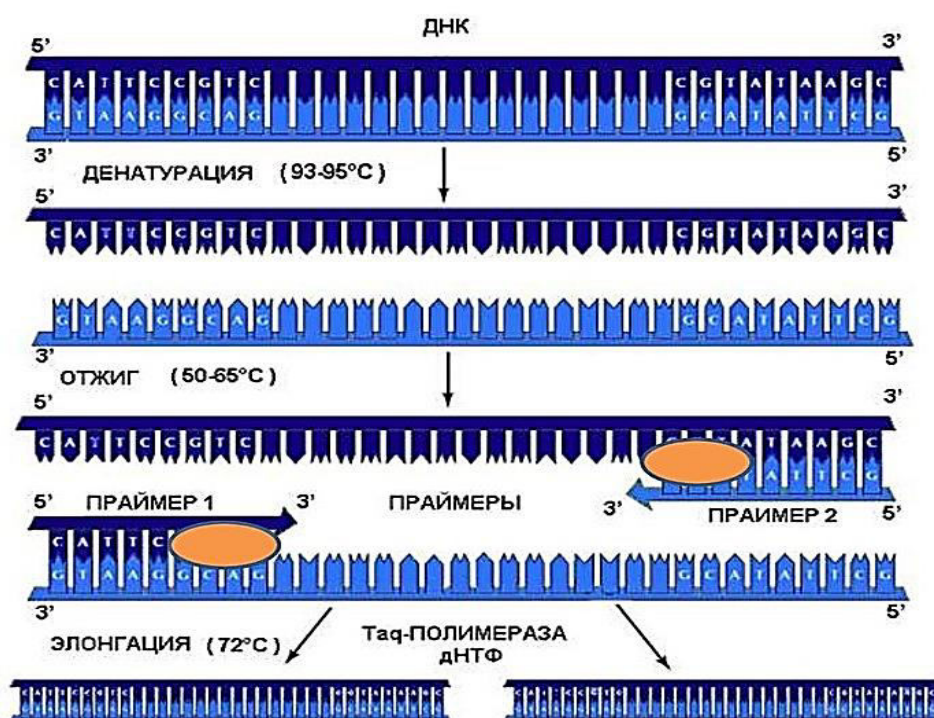


Рис. 109. Схема 1-го цикла амплификации полимеразной цепной реакции

При использовании РНК в качестве матриц для ПЦР предварительно на этой РНК-матрице посредством фермента РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы или ревертазы) синтезируют комплементарную ДНК, которая затем используется в качестве матрицы в ПЦР. После того, как из бактерий *Thermos thermophilis* удалось получить ДНК-полимеразу, которая наряду с

полимеразной обладает еще и обратнo транскриптазной активностью, удалось совместить эти две реакции. Этот вариант ПЦР широко применяется для детекции РНК-содержащих вирусов, определения экспрессии вирусных, бактериальных и клеточных генов по их РНК.

Для синтеза ДНК-матрицы отбирают наиболее консервативную часть - уникальный ген. Выделенную из исследуемого материала ДНК нагревают. При этом ДНК распадается на две нити (*денатурация*). Добавляют праймеры, затем смесь ДНК и праймеров охлаждают. При этом праймеры при наличии в смеси ДНК искомого гена связываются с его комплементарными участками (*отжиг*).

При температуре, оптимальной для функционирования ДНК-полимеразы, нуклеотиды присоединяются к 3'-концам праймеров, формируется специфический фрагмент-ампликон (*элонгация*).

После этого цикл повторяют снова (30–40 циклов), при этом количество ДНК гена будет увеличиваться каждый раз в 2 раза (рис. 110). Реакцию проводят в специальных приборах – амплификаторах.

После 30–80 циклов накопления копий ДНК проводят их идентификацию методом гель-электрофореза и визуализацию в УФ свете после окрашивания этидием бромидом. Для подтверждения принадлежности ДНК возбудителю можно провести ДНК-гибридизацию.

Регистрация продуктов накопления продуктов ПЦР может также осуществляться в реальном времени (Real time PCR).

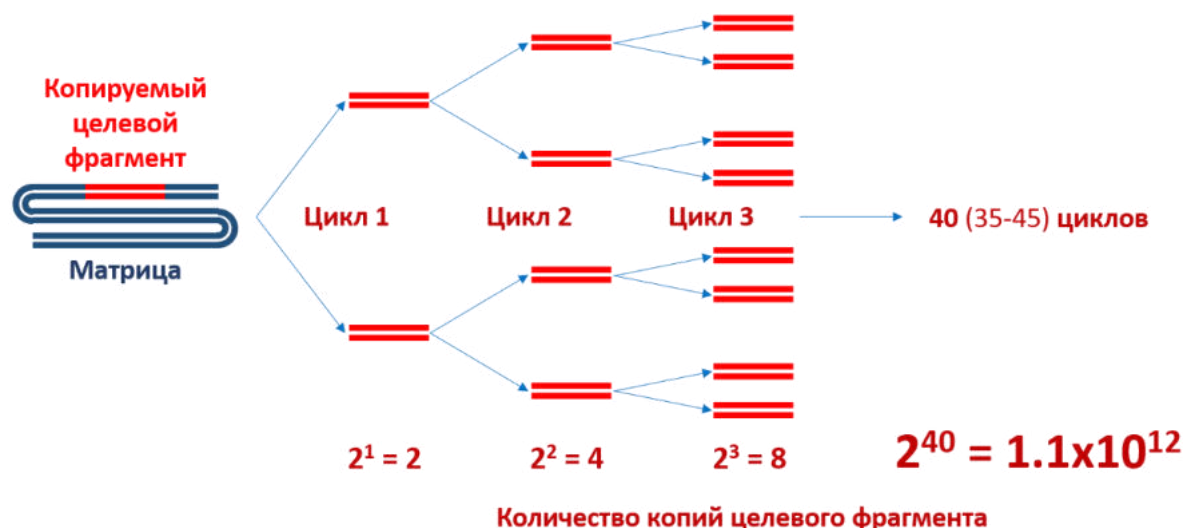


Рис. 110. Схема полимеразной цепной реакции

Раздел 10. ИНФЕКЦИЯ. ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС

10.1. Основные формы инфекции

Инфекция – процесс взаимодействия между микроорганизмом и макроорганизмом, протекающий в конкретных условиях внешней и социальной среды.

Инфекционный процесс представляет собой совокупность физиологических и патологических реакций, развивающихся в макроорганизме в процессе инфекции.

Инфекционное заболевание – есть одна из форм инфекционного процесса.

Развитие инфекции обусловлено несколькими факторами: состоянием защитных сил организма, свойствами возбудителя заболевания и его инфицирующей дозы, условиями внешней среды, путями передачи и входными воротами инфекции.

Формы инфекции. В зависимости от свойств, природы возбудителя, его локализации в макроорганизме, путей распространения, состояния макроорганизма различают следующие основные формы инфекции:

1) *экзогенная* форма возникает в результате проникновения патогенного микроорганизма извне – от больных или бактерионосителей, из окружающей среды с водой, пищей, воздухом, почвой;

2) *эндогенная* форма инфекции вызывается условно-патогенными микроорганизмами – представителями нормальной микрофлоры организма в результате снижения резистентности макроорганизма (переохлаждение, травма, оперативные вмешательства, иммунодефицитные состояния).

Инфекции также подразделяют на *острые* и *хронические*. Острая инфекция характеризуется внезапным началом и кратковременным течением. Хроническая инфекция протекает длительно, и возбудитель может находиться в макроорганизме в течение нескольких месяцев или лет.

По локализации возбудителя в макроорганизме различают *очаговую* форму инфекции, при которой микроорганизм локализуется в одном конкретном очаге и *генерализованную*, когда возбудитель распространяется по всему макроорганизму лимфогенным и гематогенным путем. В этом случае развивается бактериемия или вирусемия. При сепсисе в крови больного происходит размножение возбудителя. В случае возникновения гнойных очагов во внутренних органах развивается септикопиемия. Поступление в кровь токсинов микроорганизмов носит название токсинемии.

В зависимости от количества видов микроорганизмов, вызывающих заболевание, различают *моноинфекцию* и *смешанную* (микст)-инфекцию.

Моноинфекция вызывается одним видом микроорганизма, смешанная инфекция – двумя или несколькими видами.

Реинфекция – это заболевание, вызванное повторным заражением организма тем же возбудителем после выздоровления.

Суперинфекция – инфицирование макроорганизма тем же возбудителем до его полного выздоровления.

Рецидив – возврат клинических симптомов болезни, без повторного заражения микроорганизмами, за счет оставшихся возбудителей в макроорганизме.

Вторичная инфекция – к развивающейся первичной инфекции присоединяется другая инфекция, вызываемая новым видом возбудителя.

Аутоинфекция – развитие инфекционного процесса, вызванного собственной микрофлорой, чаще всего условно-патогенной.

Кроме того, инфекции принято делить по наличию симптомов на: *манифестные инфекции* – имеют выраженную симптоматику и *бессимптомные инфекции* – заболевание не имеет выраженных симптомов.

Типичная инфекция – при развитии заболевания клинические симптомы характерны для данной болезни.

Атипичная инфекция – клинические симптомы болезни стерты, носят невыраженный характер. Такое течение болезни связывают со слабой вирулентностью возбудителя, высокой напряженностью иммунитета, либо эффективным лечением.

Медленные инфекции – характеризуются длительным инкубационным периодом, прогрессирующим течением болезни, слабым иммунным ответом и неблагоприятным исходом. Возбудитель сохраняется в организме человека продолжительное время (месяцы, годы) в латентном состоянии, и при благоприятных для него условиях начинает активно размножаться и вызывать тяжелое заболевание.

Персистентная инфекция – возбудитель, проникая в организм, вызывает заболевание, но под воздействием активного лечения химиопрепаратами и приобретенным специфическим иммунитетом подвергается L-трансформации. Такие формы бактерий не чувствительны ко многим химиопрепаратам, а также к антителам и могут длительное время персистировать в организме больного. При определенных условиях (снижении резистентности организма, прекращении лечения) возбудитель восстанавливает свои патогенные свойства и вызывает рецидив болезни.

Латентная (инаппарантная) инфекция. Заболевание протекает скрытно, без внешних клинических симптомов.

Бактерионосительство (вирусоносительство). После латентной инфекции или перенесенного инфекционного заболевания организм человека не в состоя-

нии освободиться от возбудителя – эта форма инфекции называется бактерионосительством или вирусоносительством. Это состояние формируется при слабой напряженности постинфекционного иммунитета. При этом человек после клинического выздоровления становится носителем возбудителя в течение многих месяцев и лет, являясь источником инфекции для окружающих.

Абортивная инфекция – возбудитель проникает в макроорганизм, но не размножается в нем, но в связи с высокой резистентностью организма, инфекционный процесс не развивается.

10.2. Основные источники инфекции.

Механизмы и пути заражения. Входные ворота инфекции

Основными *источниками* инфекции могут быть:

- 1) больной человек, бактерионоситель (вирусоносительство), реконвалесцент;
- 2) животные;
- 3) объекты окружающей среды.

Заражение человека от больного может происходить в течение всего периода болезни. При бактерионосительстве выделение возбудителя продолжается после клинического выздоровления пациента. Заболевания (холера, брюшной тиф и т.д.), которыми болеет только человек, называют *антропоными*.

Источником инфекции также являются и животные. Человек заражается непосредственно от больного животного при контакте с ним или при употреблении в пищу инфицированных продуктов, через укусы кровососущих переносчиков. Заболевания, которыми болеет человек и животные, называют – *зооантропонозные* (бруцеллез, чума, лептоспироз).

Объекты внешней среды служат естественной средой обитания некоторых патогенных бактерий или могут быть контаминированы выделениями человека и животных.

Механизм передачи – это совокупность эволюционно сложившихся способов перемещения возбудителя инфекционной (паразитарной) болезни от источника в восприимчивый организм. Каждый механизм передачи может реализоваться посредством одного или нескольких путей передачи.

Существует несколько механизмов передачи возбудителя инфекции, каждый из которых включает в себя пути передачи возбудителя инфекции:

1. *Аспирационный механизм*. Пути передачи – воздушно-капельный, воздушно-пылевой. Факторы передачи – жидкий и сухой аэрозоль.

2. *Фекально-оральный* (для антропонозов), алиментарный механизм. Пути передачи – водный, пищевой, бытовой. Факторы передачи – вода, продукты питания, руки, мухи, почва.

3. *Контактный* механизм передачи. Пути передачи – прямой контакт (контактно-половой) и непрямой контакт (контактно-бытовой). Факторы передачи – слизь, гной, серозное отделяемое, предметы обихода, почва, вода.

4. *Трансмиссивный* механизм передачи. Пути передачи – инокуляционный, контаминационный. Факторы передачи – кровососущие членистоногие, слюна кровососущих, коксальная жидкость клещей.

5. *Вертикальный* механизм передачи. Путь – трансплацентарный. Факторы передачи – кровь матери.

6. *Искусственный* механизм передачи. Путь передачи – парентеральный. Факторы передачи – медицинский и немедицинский инструментарий.

Ворота инфекции. Место проникновения возбудителя во внутреннюю среду макроорганизма называют входными воротами инфекции. Заражение человека происходит через поврежденную кожу, слизистые оболочки пищеварительного и дыхательного путей, мочеполовую систему. Заражение через неповрежденную кожу встречается редко (лептоспироз).

В зависимости от вида возбудителя и его свойств дальнейшее распространение по организму будет происходить лимфогенным, гематогенным или нейrogenным путем. Некоторые микроорганизмы начинают размножаться на месте внедрения, вызывая очаговую инфекцию. Распространение возбудителя по всему организму вызывает генерализацию инфекционного процесса.

10.3. Периоды инфекционного процесса

Отличительной особенностью инфекционного заболевания является, циклическое течение со сменой периодов: инкубации, продромы, развития болезни, выздоровления реконвалесценция.

Инкубационный период – период времени от момента внедрения возбудителя в макроорганизм и до появления первых клинических симптомов болезни. При каждом инфекционном заболевании продолжительность инкубационного периода различна и колеблется в широких пределах – от нескольких часов (грипп) до нескольких месяцев (гепатит В). Длительность инкубационного периода зависит от вида микроорганизма, инфицирующей дозы, его вирулентности, пути проникновения в организм и от состояния макроорганизма. Инкубационный период связан с адгезией и колонизацией клеток макроорганизма возбудителем в воротах инфекции. Признаков заболевания в данном периоде еще нет, но в организме уже происходят начальные проявления патологического процесса в

виде морфологических изменений, обменных и иммунологических сдвигов и др. Если макроорганизм окажется не способен обезвредить возбудитель, развивается следующий период заболевания.

Продромальный период характеризуется появлением первых общих признаков заболевания без четкой характерной симптоматики для данного инфекционного процесса. Развиваются неспецифические общие для многих заболеваний симптомы в виде лихорадки, недомогания, снижения аппетита, общей слабости, головной боли, субфебрильной температуры. Продолжительность продромального периода 1–3 сут., но может увеличиваться до 10 дней и зависит от этиологии инфекционного заболевания. Для ряда заболеваний (лептоспироз, грипп) продромальный период не типичен. Отсутствие продромального периода может свидетельствовать о более тяжелой форме инфекционного процесса. В продромальном периоде возбудитель интенсивно размножается в месте его локализации, продуцирует соответствующие токсины и инвазируется в ткани.

Период развития болезни. В период развития болезни наряду с общими неспецифическими признаками проявляются характерные симптомы для данного заболевания. Наиболее типичными признаками инфекционной болезни являются лихорадка, воспаление, явление поражения центральной и вегетативной системы, нарушение функций сердечно-сосудистой системы и органов пищеварения. При некоторых заболеваниях появляются кожные высыпания, желтуха и другие симптомы. В данный период возбудитель заболевания активно размножается в организме, происходит накопление токсинов и ферментов, которые поступают в кровь и вызывают синдром интоксикации или токсикосептический шок. В период разгара болезни происходит активная перестройка иммунологической реактивности организма и выработка специфических антител класса IgM, с последующим синтезом IgG.

Больной в этот период является наиболее опасным для окружающих, вследствие выделения возбудителя из организма в окружающую среду.

Длительность периода разгара и развития болезни зависит от вида возбудителя, состояния иммунологической реактивности организма, своевременной диагностики, эффективности лечения и других условий.

Период выздоровления (реконвалесценция). При благоприятном течении заболевания наступает период выздоровления. Выздоровление характеризуется постепенным исчезновением клинических симптомов заболевания, восстановлением нарушенных функций организма, нейтрализацией и выведением возбудителя и токсинов из организма.

Выздоровление может быть полным, при котором все нарушенные функции восстанавливаются или неполным, если сохраняются остаточные явления (мышечная атрофия при полиомиелитах, клещевом энцефалите, дефекты кожи при

натуральной оспе и т.п.). Клиническое выздоровление опережает патоморфологическое восстановление поврежденных органов, а также полное освобождение организма от возбудителя. При большинстве инфекционных заболеваний в период выздоровления организм полностью освобождается от возбудителя, формируется иммунитет.

В некоторых случаях выздоровление переходит в микробоносительство или после кажущегося выздоровления возникает рецидив.

10.4. Понятие о патогенности и вирулентности бактерий.

Бактериальные токсины

Патогенность – это потенциальная способность микроорганизма вызывать инфекционный процесс. Патогенность представляет собой видовой признак, появившийся в ходе эволюции микроорганизма и приспособления его к паразитированию в организме человека. Для патогенности характерна специфичность, т.е. способность вызывать патоморфологические и патофизиологические изменения в определенных тканях и органах.

Для количественной оценки степени патогенности микроорганизма используют термин *вирулентность*, которая измеряется в условно принятых единицах – DLM, DcL, DL50. DLM (*Dosis letalis minima*) – минимальная смертельная доза микроорганизмов, которая вызывает гибель 95 % восприимчивых лабораторных животных. DL50 вызывает гибель 50 % зараженных животных, DcL – смертельная доза, вызывающая гибель всех животных.

Степень патогенности микроорганизма зависит от многих факторов и обусловлена как наличием ферментных систем, обеспечивающих существование возбудителя в макроорганизме, так и его способностью противостоять факторам защиты организма, направленных на уничтожение возбудителя. По степени патогенности различают патогенные и условно-патогенные микроорганизмы. Патогенные микроорганизмы способны, в большинстве случаев, вызывать инфекционный процесс, а условно-патогенные, часто являются естественными обитателями организма человека, вызывают заболевания только при снижении иммунитета и достаточно большой инфицирующей дозе. Степень патогенности микроорганизма связана с его способностью к адгезии, колонизации, инвазии, подавлению фагоцитоза и других факторов.

К факторам патогенности относят способность микроорганизмов прикрепляться к клеткам (адгезия), размножаться на их поверхности (колонизация), проникать в клетки и ткани (инвазия) и противостоять факторам защиты организма (агрессия).

Адгезия является пусковым механизмом инфекционного процесса. Под адгезией понимают способность микроорганизма адсорбироваться на чувствительных клетках с последующей колонизацией. Структуры, ответственные за связывание микроорганизма с клеткой называются адгезинами и располагаются они на его поверхности. Адгезины очень разнообразны по строению и обуславливают тропность возбудителей – способность одних микроорганизмов прикрепляться к клеткам эпителия дыхательных путей, других – кишечного тракта или мочеполовой системы и т.д. На процесс адгезии могут влиять физико-химические механизмы, связанные с гидрофобностью микробных клеток, суммой энергии притяжения и отталкивания. У грамотрицательных бактерий адгезия происходит за счет пилей общего порядка. У грамположительных бактерий адгезины представляют собой поверхностные белки и тейхоевые кислоты клеточной стенки. У других микроорганизмов эту функцию выполняют различные структуры клеточной системы: поверхностные белки, липополисахариды и др.

Инвазия. Под инвазивностью понимают способность микроорганизмов проникать через слизистые, кожу, соединительно-тканые барьеры во внутреннюю среду организма и распространяться по его тканям и органам. Проникновение микроорганизма в клетку связывается с продукцией ферментов, а также с факторами, подавляющими клеточную защиту. Так фермент гиалуронидаза расщепляет гиалуроновую кислоту, входящую в состав межклеточного вещества, и, таким образом, повышает проницаемость слизистых оболочек и соединительной ткани. Нейраминидаза расщепляет нейраминную кислоту, которая входит в состав поверхностных рецепторов клеток слизистых оболочек, что способствует проникновению возбудителя в ткани.

Агрессия. Под агрессивностью понимают способность возбудителя противостоять защитным факторам макроорганизма. К факторам агрессии относятся: протеазы – ферменты, разрушающие иммуноглобулины; коагулаза – фермент, свертывающий плазму крови; фибринолизин – растворяющий сгусток фибрина; лецитиназа – фермент, действующий на фосфолипиды мембран мышечных волокон, эритроцитов и других клеток. Патогенность может быть связана и с другими ферментами микроорганизмов, при этом они действуют как местно, так и генерализовано.

Важную роль в развитии инфекционного процесса играют токсины. По биологическим свойствам бактериальные токсины делятся на *экзотоксины* и *эндотоксины*.

Экзотоксины продуцируют как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии. По своей химической структуре это белки. По механизму действия экзотоксина на клетку различают несколько типов: цитотоксины, мембранотоксины, функциональные блокаторы, эксфолианты и эритрогемины. Механизм

действия белковых токсинов сводится к повреждению жизненно важных процессов в клетке: повышение проницаемости мембран, блокады синтеза белка и других биохимических процессов в клетке или нарушении взаимодействия и взаимосоординации между клетками. Экзотоксины являются сильными антигенами, которые инициируют образование в организме антитоксинов.

По молекулярной организации экзотоксины делятся на две группы:

- 1) экзотоксины, состоящие из двух фрагментов;
- 2) экзотоксины, составляющие единую полипептидную цепь.

По степени связи с бактериальной клеткой экзотоксины делятся условно на три класса: класс А – токсины, секретируемые во внешнюю среду; класс В – токсины частично секретируемые и частично связанные с микробной клеткой; класс С – токсины, связанные и с микробной клеткой и попадающие в окружающую среду при разрушении клетки.

Экзотоксины обладают высокой токсичностью. Под воздействием формалина и температуры экзотоксины утрачивают свою токсичность, но сохраняют иммуногенное свойство. Такие токсины получили название *анатоксинов* и применяются для профилактики таких заболеваний, как столбняк, газовая гангрена, ботулизм, дифтерия, а также используются в виде антигенов для иммунизации животных с целью получения анатоксических сывороток.

Эндотоксины по своей химической структуре являются липополисахаридами, которые содержатся в клеточной стенке грамотрицательных бактерий и выделяются в окружающую среду при лизисе бактерий. Эндотоксины не обладают специфичностью, термостабильны, менее токсичны, обладают слабой иммуногенностью. При поступлении в организм больших доз эндотоксины угнетают фагоцитоз, увеличивают проницаемость капилляров, оказывают разрушающее действие на клетки. Микробные липополисахариды разрушают лейкоциты крови, вызывают дегрануляцию тучных клеток с выделением вазодилататоров, активируют фактор Хагемана, что приводит к лейкопении, гипертермии, гипотонии, ацидозу, дессиминированной внутрисосудистой коагуляции (ДВК).

Эндотоксины стимулируют синтез интерферонов, активируют систему комплемента по классическому пути, обладают аллергическими свойствами. При искусственном введении небольших доз эндотоксина повышается резистентность организма, усиливается фагоцитоз, стимулируются В-лимфоциты.

Патогенность бактерий контролируется тремя типами генов: гены – собственной хромосомы, гены, привнесенные плазмидами или умеренными фагами.

Раздел 11. ИММУНОЛОГИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

11.1. Иммуни́тет. Виды иммунитета

Иммуни́тет (от лат. *immunitas* – освобождение, избавление от чего-либо) представляет собой систему биологических механизмов, направленных на сохранение постоянства внутренней среды организма, с помощью которых он распознает и уничтожает все генетически чужеродное экзогенной (патогенные микроорганизмы, гельминты, их токсины, белки, чужеродные ткани и органы) и эндогенной (собственные мутировавшие и поврежденные клетки) природы.

Выделяют *врожденный* и *приобретенный* (адаптивный) иммунитет.

Врожденный иммунитет – это эволюционно сформировавшаяся система клеточных и гуморальных факторов защиты организма от чужеродного и потенциально опасного патогена (микроорганизмов, трансплантата, токсинов, опухолевых клеток и инфицированных клеток), которая существует изначально, ещё до его первого попадания в организм. Врожденный иммунитет может видовым, индивидуальным.

Видовой иммунитет, представляющий собой генетически опосредованную невосприимчивость некоторых видов животных и человека к возбудителям заболеваний, поражающих другие виды. Так, люди не восприимчивы к вирусу чумы собак, чумы рогатого скота (клетки человека не имеют рецепторов к вирусу). Животные невосприимчивы к некоторым вирусам (ветряной оспы, гепатита А, гепатита В, кори), некоторым бактериям (гонококки, возбудители сифилиса). Крысы и мыши устойчивы к дифтерийному токсину, а кошки и собаки – к столбнячному.

Видовой иммунитет, как правило, обусловлен отсутствием на клетках рецепторов к патогену (бактерия, вирус, токсины) или мембранных субстратов, соответствующих ферментам проникновения микроорганизма (гонококк).

Существуют и внутривидовые (расовые, этнические) различия в восприимчивости к инфекционным болезням. У жителей некоторых районов Африки обнаружен ген, вызывающий в организме его носителей синтез аномального гемоглобина, так называемого серповидноклеточного гемоглобина, или гемоглобина S (Hb-S). Эритроциты, содержащие такой гемоглобин, принимают форму серпа. Люди, гетерозиготные по данному гену, устойчивы к малярии, вызываемой *Plasmodium falciparum*.

Индивидуальный врождённый иммунитет определяется теми особенностями, которые передаются организму с родительскими генами и в процессе эмбрионального развития.

Приобретенный иммунитет характеризуется развитием специфических иммунных реакций на конкретный чужеродный агент.

В зависимости от путей формирования различают несколько типов приобретенного иммунитета (рис. 111).

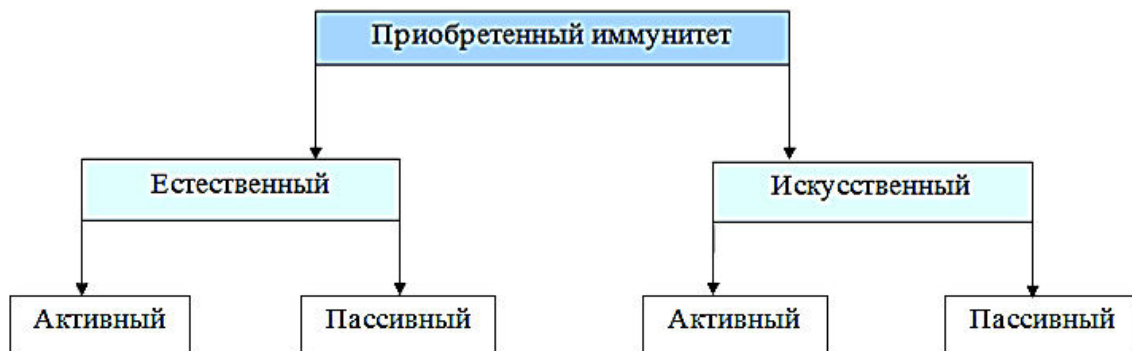


Рис. 111. Типы приобретенного иммунитета

Приобретенный естественный активный иммунитет вырабатывается после перенесенного инфекционного заболевания, скрытой инфекции или многократного бытового инфицирования без возникновения заболевания. Часто его называют постинфекционным и в зависимости от полноты освобождения организма от возбудителя подразделяют на стерильный и нестерильный. Продолжительность может быть различна и сохраняться годами, десятилетиями и даже в течение всей жизни (брюшной тиф, дифтерия, корь).

Приобретенный искусственный активный иммунитет возникает после вакцинации макроорганизма.

Приобретенный естественный пассивный иммунитет возникает, когда антитела матери передаются с кровью плоду (IgG) и с молоком при грудном вскармливании ребенка (IgA секреторный). Такой иммунитет (плацентарный, материнский) обеспечивает невосприимчивость новорожденного на протяжении 6–7 мес. к возбудителям некоторых инфекционных заболеваний (корь, дифтерия, скарлатина).

Приобретенный искусственный пассивный иммунитет создается введением выработанных другим организмом (животным – гетерологичных, человеком – гомологичных) специфических антител. Продолжительность невосприимчивости от 2–3 недели до 1,5 мес.

Напряженность приобретенного иммунитета относительная и, в большинстве случаев, он утрачивается в различные сроки.

Приобретенный противоинфекционный иммунитет объединяет два типа иммунного ответа макроорганизма: гуморальный и клеточный. Напряженность гуморального типа зависит от класса и уровня циркулирующих специфических

антител, а клеточного – от функциональной активности макрофагов и различных субпопуляций Т-лимфоцитов. Как правило, в механизмах развития защиты против возбудителей инфекционных заболеваний принимают участие оба типа с преобладанием того или другого в разные фазы инфекционного заболевания.

В зависимости от природы и биологических свойств микроорганизмов приобретенный противoinфекционный иммунитет подразделяют на антитоксический, антибактериальный, противовирусный, иммунитет к грибкам простейшим. Однако деление это достаточно условное и имеет в настоящее время лишь дидактическое значение.

11.2. Факторы врожденного иммунитета

Все факторы врожденного иммунитета передаются по наследству, кодируются генами зародышевой линии и не меняются в течение жизни.

Факторы врожденного иммунитета (неспецифической резистентности) реализуют защиту в течение первых минут/часов после внедрения чужеродного агента и выступают в качестве первой линии защиты.

Все факторы врожденного иммунитета условно можно разделить на:

- механические барьеры;
- гуморальные факторы врожденного иммунитета;
- клеточные механизмы врожденного иммунитета.

Ниже приведены факторы неспецифической резистентности (табл. 4).

Таблица 4

Факторы неспецифической резистентности

Внешние барьеры	Внутренние барьеры	Клеточные факторы	Гуморальные факторы
Кожа Слизистые Нормальная микрофлора	Лимфоузлы Тканевые барьеры Клеточные барьеры	Фагоциты Естественные киллеры (NK)	Комплемент Лизоцим, β-лизины Белки острой фазы Цитокины (в том числе интерфероны) Нормальные антитела
Физиологические факторы: желудочный сок, пот, чихание, высокая температура и др.			

Кожа и слизистые оболочки

Для большинства патогенных микроорганизмов слизистые оболочки разных органов и кожа являются барьером, препятствующим проникновению внутрь организма.

Слушивание верхних слоев эпидермиса, секреты сальных и потовых желез способствуют удалению микробов с поверхности кожи. Секреты сальных и потовых желез содержат молочную и жирные кислоты, перекись водорода, аммиак, мочевины. Это приводит к торможению развития патогенных микробов на коже.

Местную защиту органов дыхания осуществляет *мукоцилиарная система* (*мукоцилиарный клиренс*), образованная реснитчатым аппаратом бронхов, трахеи, полости носа, собственно ресничек со слизистым покрытием, которое вырабатывается секреторными железами бокаловидных клеток и базальных клеток.

Слизистая оболочка полости рта имеет незначительные участки с ороговевающим эпителием (поверхность дёсен, твёрдого нёба и спинки языка), которые эффективно осуществляют барьерную функцию. Остальные участки многослойного неороговевающего эпителия не только выполняют роль барьера, но используют для защиты и другие иммунные механизмы. Например, эпителий полости рта имеет *Toll-подобные рецепторы*, которые взаимодействуют с консервативными повторами поверхностных молекул (ЛПС, флагеллин, пилин и др.) патогенных микробов, отсутствующих у клеток хозяина. Такое взаимодействие приводит к синтезу эпителиальными клетками *цитокинов*, *β -дефенсинов*. Предполагают, что последние способствуют образованию пор в ЦПМ бактерий, что ведёт к их разрушению. Клетки неороговевающего эпителия также синтезируют такой антимикробный белок, как *кальпротектин*, который конкурирует с бактериями за цинк, лишая их этого важного элемента. На поверхности слизистой оболочки находится вязкий муциновый слой, через который проходят питательные вещества и метаболиты, но не проходят бактерии и токсины.

Нормальная микробиота

Нормальная микробиота является одним из факторов неспецифической резистентности организма: аутохтонные микроорганизмы обладают антагонистическими свойствами по отношению к патогенным микроорганизмам и аллохтонным видам и обеспечивают *колонизационную резистентность*.

Колонизационная резистентность – способность микрофлоры и макроорганизма, кооперативно взаимодействуя, защищать слизистые оболочки от патогенной микрофлоры.

Антагонистические свойства нормальной микрофлоры связаны с:

- выработкой бактериоцинов и лизоцима, образованием кислот (молочной, уксусной, муравьиной, пропионовой) и спиртов, ингибирующих размножение патогенных микроорганизмов;
- препятствует адгезии патогенных микроорганизмов на слизистых оболочках.

Нормальная микрофлора вызывает постоянное антигенное раздражение системы иммунитета, в том числе местного, поддерживая ее в физиологически активном состоянии.

Лимфатические узлы, тканевые и клеточные барьеры

Барьером для большинства микроорганизмов являются лимфатические узлы, а также скопления лимфоидных клеток в различных внутренних органах. В лимфоидной ткани, благодаря действию клеточных факторов (цитотоксический эффект, фагоцитоз и др.) происходит фиксация и гибель значительной части или всех возбудителей.

Наиболее богаты лимфатическими сосудами кожа и слизистые оболочки пищевого канала и дыхательного аппарата. При повреждении кожи и слизистых оболочек находящиеся на их поверхности микробы проникают в лимфатические сосуды и током лимфы доставляются в лимфатические узлы, которые являются своеобразным биологическим фильтром для возбудителей.

Гисто-гематические барьеры препятствуют проникновению возбудителей из крови в головной мозг, репродуктивную систему и глаза. Кроме того, мембрана каждой клетки является барьером и препятствует проникновению микроорганизмов.

Клеточные факторы

Фагоциты и естественные киллеры (ЕК, НК) – клетки, которые осуществляют неспецифическую защиту организма.

Фагоциты – специализированная группа клеток животного организма, обладающих способностью к фагоцитозу живых и мертвых микробов и клеток, органических и неорганических частиц. К основным фагоцитирующим клеткам относятся нейтрофилы и моноциты, макрофаги.

Фагоцитоз (от греч. *Phagos* – пожирающий и *kytos* – клетка) – процесс, при котором фагоциты захватывают частицы, диаметром более 0,1 мкм (рис. 112).

Движение фагоцитов к объекту фагоцитоза обусловлено повышенной концентрацией *хемоаттрактантов*, которые образуют в этой области микробы, активированные компоненты комплемента, цитокины.

Объект фагоцитоза взаимодействует с рецепторами фагоцита (адгезия) и поглощается последним. В результате погружения чужеродной частицы внутрь фагоцита образуется фагосома. Затем фагосома сливается с лизосомой, образуя фаголизосому. В фаголизосоме происходит активация лизосомальных ферментов (протеаз, липаз, нуклеаз и др.) и закисление среды (рН до 4.5). Микроорганизм разрушается.

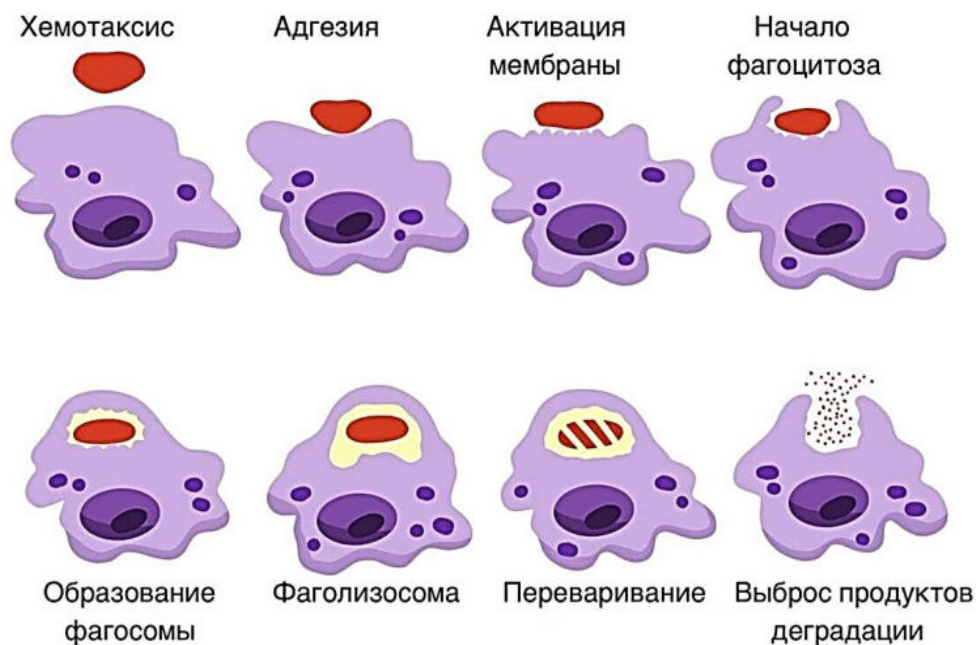


Рис. 112. Основные этапы фагоцитоза

Разрушение объекта фагоцитоза осуществляется двумя сложными механизмами: *кислородзависимой (респираторный взрыв)* и *кислороднезависимой* цитотоксичности фагоцитов.

Кислородзависимой механизм – повышение в фагоцитирующих клетках синтеза активных форм кислорода. Активные формы кислорода можно разделить на первичные и вторичные. Первичные формы – супероксид-радикал (O_2^-) и монооксид азота (NO^-). Данные формы обладают регуляторным и умеренным бактерицидным действием, синтезируются в клетках в процессе ферментативной реакции. Супероксид-радикал в ферментативной системе НАДФН-оксидазы, монооксид азота – NO-оксидазой.

В результате образования первичных форм кислорода происходит активация комплекса ферментов, которые синтезируют вторичные активные формы кислорода – перекись водорода (H_2O_2), синтезируемая супероксиддисмутазой из супероксид-радикала, хлорноватистая кислота ($HOCl$), синтезируемая миелопероксидазой из H_2O_2 . Все вторичные АФК обладают выраженной бактерицидной активностью. Они секретируются в фагосому, где происходит расщепление поглощенного объекта, например, анаэробных микроорганизмов.

Кислороднезависимые механизмы реализуются в фаголизосоме при участии лизосомальных ферментов – лизоцим, лактоферрин, гидролазы. Микробицидной активностью обладает молочная кислота, образующаяся в результате гликолиза и понижающая внутривакуольный pH до 4,0. Лизосомы содержат в себе более тридцати различных ферментов, способных гидролизировать большую часть захваченных объектов. В гранулах лейкоцитов найдены и другие микробоцидные

вещества, например, катионные белки, лактоферрин, различные пероксидазы, активные также в отношении и вирусов.

Процесс фагоцитоза усиливают *опсонины* – белки, обволакивающие объект фагоцитоза.

Фагоцитоз может быть *завершенным* и *незавершенным*. Результатом завершённого фагоцитоза является разрушение захваченного микроба. При незавершённом фагоцитозе микроорганизмы выживают и сохраняют способность к размножению (рис. 113).

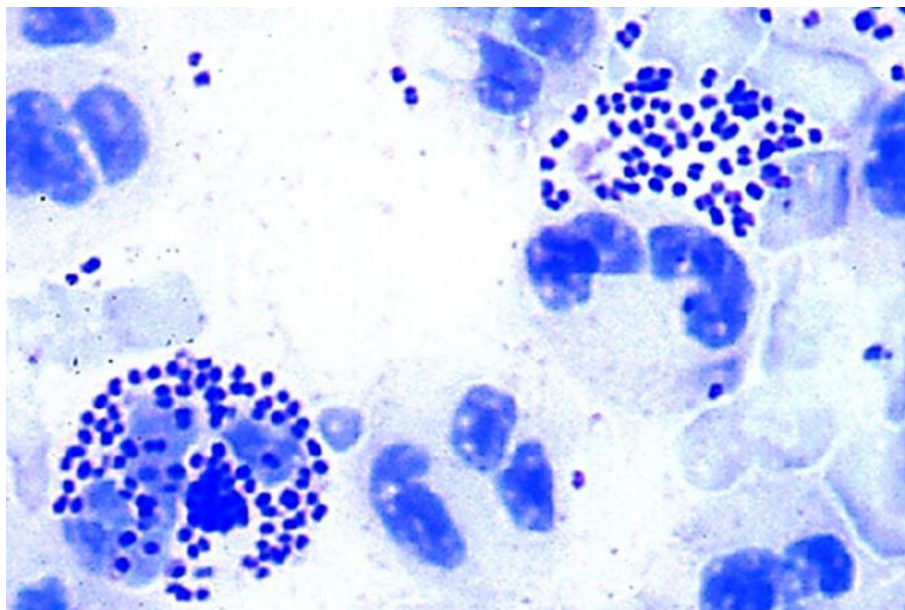


Рис. 113. Незавершённый фагоцитоз при гонорее. Окраска метиленовым синим (<https://meinlehrmittel.de>)

Среди механизмов защиты патогенных микроорганизмов, приводящих к незавершённому фагоцитозу, можно назвать такие как: препятствие слияния лизосом с фагосомами (токсоплазмы, микобактерии), устойчивость к действию лизосомальных ферментов (гонококки, стафилококки, стрептококки), покидают фагосому, избегая действия микробицидных факторов (риккетсии). Незавершённый фагоцитоз приводит к персистенции патогенных агентов в организме и хронизации инфекции.

Естественные (нормальные) киллеры (NK-клетки) – это зернистые лимфоциты, уничтожающие ауто-, алло- и ксеногенные опухолевые клетки, а также клетки, инфицированные вирусами, бактериями и простейшими.

NK-клетки уничтожают клетку-мишень после установления с ней прямого контакта при помощи специальных белков – *перфоринов*. Перфорины встраиваются в мембрану чужеродной или трансформированной клетки, образуя в ней «пору», приводящую к лизису клетки-мишени.

Гуморальные факторы

Наряду с клеточными реакциями резистентности в процессе эволюции возник ряд веществ, находящихся в коллоидно-растворимом состоянии или же выделяющихся в жидкие среды организма. Эти вещества осуществляют функцию первичной защиты от чужеродных антигенных и неантигенных частиц. Количество этих гуморальных факторов значительно. К числу более активных, или наилучшим образом изученных, следует отнести комплемент, β -лизины, белки острой фазы воспаления, интерферон, цитокины, нормальные антитела, лизоцим, пропердин, лейкины, и др.

Система комплемента (от лат. *complementum* – дополнение, средство пополнения) представляет собой систему сывороточных белков, которые принимают участие в реакциях неспецифической защиты: фагоцитоза, хемотаксиса, лизиса клеток, участие в анафилаксии, активации тучных клеток и др. Белки комплемента по структуре являются глобулинами или гликопротеинами. Белки комплемента продуцируются макрофагами, лейкоцитами, клетками печени и составляют 5–10% белков крови. Согласно номенклатуре, принятой ВОЗ, система комплемента обозначается символом С, а ее индивидуальные компоненты символами С1, С2 и т.д. Систему комплемента составляют 20–26 белков сыворотки крови, девять из них являются основными белками (С1–С9), а один представляет комплекс: 4 белка системы пропердина, один – ингибитор фермента активатора.

Каждая белковая фракция обладает определенными свойствами. В норме фракции комплемента находятся в неактивном состоянии. Активированные компоненты комплемента действуют в определенном порядке – в виде каскада ферментов, при этом продукт предшествующей реакции служит катализатором для включения в последующую реакцию компонента и субкомпонента.

Выделяют три механизма (пути) активации комплемента:

- 1) классический путь;
- 2) лектиновый путь;
- 3) альтернативный путь.

При *классическом пути* (рис. 114) начальным активатором комплемента является иммунный комплекс антиген-антитело. Активируют систему комплемента IgM и большинство подклассов IgG. Иммунный комплекс связывается с компонентом С1 комплемента, который имея в своем составе активную протеазу расщепляет компоненты С2 и С4 с образованием *С3-конвертазы* (С4bС2b). С3-конвертаза расщепляет фракцию С3. Активная фракция С3b присоединяется к комплексу С4bС2b и превращает его в *С5-конвертазу* (С4bС2bС3b). С5-конвертаза расщепляет фракцию С5, после чего происходит формирование *мембраноатакующего комплекса (МАК)*. Мембраноатакующий комплекс встраивается в

клеточную стенку микроорганизма, образуется «пора», нарушается осмотическое давление внутри клетки, и она погибает.

Рис. 114. Пути активации комплемента: 1- классический; 2 – лектиновый; 3 – альтернативный. МСЛ – маннансвязывающий лектин, MASP – маннозосвязывающий белок, МАК – мембраноатакующий комплекс

При альтернативном пути активаторами являются клетки микроорганизмов, полисахариды, липополисахариды (эндотоксины) бактерий, вирусы и другие антигены без участия антител. Активация начинается со связывания активной фракции C3b, которая всегда присутствует в сыворотке крови в результате постоянно протекающего здесь спонтанного расщепления фракции C3, с поверхностными молекулами не всех, но некоторых микроорганизмов C3b связывает фактор В, образуя комплекс C3bВ. В связанном с C3b виде фактор В выступает в качестве субстрата для фактора D (сывороточной сериновой протеазы), которая

расщепляет его с образованием активного комплекса C3bBb. Этот комплекс обладает ферментативной активностью, структурно и функционально аналогичен C3-конвертазе классического пути (C4bC2b) и называется *C3-конвертазой альтернативного пути*. Сама по себе C3-конвертаза альтернативного пути нестабильна. Чтобы альтернативный путь активации комплемента успешно продолжался этот фермент стабилизируется фактором Р (пропердином). Дальше активация идет, аналогично классическому пути активации комплемента.

Таким образом, комплемент участвует в инактивации микроорганизмов. Образовавшиеся фракции комплемента C3b и C5b являются опсонинами и активируют фагоцитоз. C3a и C5a участвуют в аллергической реакции, называемой анафилаксия, принимают участие в формировании воспалительной реакции.

Содержание и уровень комплемента в крови можно использовать как тест, характеризующий состояние естественной резистентности макроорганизма: высокое содержание комплемента в крови считается благоприятным признаком; снижение уровня комплемента является отрицательным прогностическим показателем.

β-лизины – термостабильные белки молекулярной массой около 6 тыс. кДа, присутствуют в сыворотке крови и тканях, продуцируются тромбоцитами. Они оказывают бактерицидный эффект на грамположительные спорообразующие бактерии за счет освобождения и активирования ферментов, находящихся в цитоплазматической мембране. β-лизины активны только в присутствии ионов Ca^{++} .

Белки сыворотки крови. «Острофазная реакция» – ранняя реакция, при которой повышается концентрация белков плазмы крови. К белкам острой фазы относятся: С-реактивный белок, сывороточные амилоиды А и Р, факторы свертывания крови, металлосвязывающие белки, ингибиторы протеаз, ман-нансвязывающий лектин и др. Белки острой фазы усиливают местное воспаление и антимикробную защиту.

Цитокины являются медиаторами межклеточных взаимодействий и продуцируются различными клетками иммунной системы. Цитокины имеют белковую природу, а их действие происходит через рецепторы на поверхности мембран клеток. Активность цитокинов взаимосвязана, один цитокин активирует выработку другого и т.д.

Выделяют несколько групп цитокинов:

- 1) интерфероны;
- 2) гемопоэтины;
- 3) факторы некроза опухоли;
- 4) хемокины.

Интерфероны – это группа белков, вырабатываемых эукариотическими клетками в ответ на внедрение в них ряда биологических агентов – интерферогенов. Различают α -, β -, γ -интерфероны - IFN- α , IFN- β , IFN- γ . В покое нормальные клетки содержат незначительное количество IFN, поскольку гены, кодирующие их, не транскрибируются. Транскрипция начинается после контакта клетки с соответствующим индуктором (*интерферогеном*). Индукторами IFN- α , IFN- β являются вирусы, РНК (особенно двунитевая), липополисахариды, компоненты некоторых бактерий. Индукторами IFN- γ выступают антигены, Т-митогены и некоторые цитокины.

IFN- α (лейкоцитарный интерферон) синтезируют лейкоциты периферической крови. IFN- β (фибробластный интерферон) синтезируют фибробласты. IFN- α и IFN- β главным образом, присущи противовирусный и антипролиферативный эффекты, в меньшей степени – иммуномодулирующий.

Противовирусное действие IFN основано на активации генов (локализованных у человека в 21-й хромосоме) после связывания интерферонов со специфическими интерфероновыми рецепторами на поверхности клеток, в результате чего синтезируются белки, обеспечивающие резистентность этой клетки к вирусам. Основными из них являются два - 2',5'-*олигоаденилатсинтетаза* и *протеинкиназа*. 2',5'-олигоаденилатсинтетаза представляет собой фермент, конвертирующий АТФ в 2',5'-олигоаденилат. Последний активирует РНК-азу, которая приводит к повреждению вирусной РНК. За счет инактивации фактора eIF-2 (продолжающего фактора) протеинкиназа инактивирует удлинение пептидных цепей вирусных белков.

Таким образом, под воздействием IFN в клетке синтезируется два фермента, один из которых расщепляет вирусную РНК, а другой тормозит синтез вирусных белков (рис. 115). В результате новые вирусные частицы либо вовсе не формируются, либо их число уменьшается в десятки или сотни раз.



Рис. 115. Механизм противовирусного действия интерферона (А.Г. Букринская, 1986)

Интерфероны ингибируют репродукцию многих вирусов и не только против индуцировавших его образование вирусов, но также и против ряда других не родственных с индуктором вирусов. Интерферон не влияет на прикрепление или проникновение вируса в клетку или на выделение его из клетки; он ограничивает или ингибирует лишь синтез белков вируса. Он циркулирует в организме человека кратковременно – около двух недель, что следует учитывать при применении интерферона как профилактического или терапевтического средства.

Главное действие IFN- γ (иммунный интерферон) – участие в реакциях иммунитета. Он начинает вырабатываться на последующих этапах инфекционного процесса уже сенсibilизированными Т-лимфоцитами и активно участвует в каскаде специфического иммунного ответа. Является активатором макрофагов, усиливает активность цитотоксических лимфоцитов и NK-клеток. Активирует экспрессию молекул HLA I и HLA II классов.

Гемопоэтинами являются факторы роста клеток, к которым относятся интерлейкины (ИЛ-2 – ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-11, ИЛ-13, ИЛ-15), продуцируемые активированными Т- и В-лимфоцитами, макрофагами, а также клетками стромы тимуса. Эти интерлейкины стимулируют активацию и дифференцировку лимфоцитов, лейкоцитов, макрофагов и др.

Также к гемопоэтинам относят колониестимулирующие факторы (КСФ), которые контролируют активацию, пролиферацию и созревание клеток иммунной системы.

Факторы некроза опухоли (ФНО- α , ФНО- β) являются стимуляторами адгезии, антителообразования, активности мононуклеарных клеток и способны лизировать некоторые опухоли. Они продуцируются макрофагами.

Хемокины привлекают в очаг воспаления лейкоциты, моноциты и лимфоциты. К хемокинам относят ИЛ-8, МИФ-макрофагингибирующий фактор и др.

Лизоцим – протеолитический фермент мурамидаза (от лат. *tirus* – стенка). По химической структуре лизоцим относится к полипептидам, содержащим в молекуле около 130–160 аминокислотных остатков. Он растворим в слабокислой среде, устойчив к непродолжительному кипячению, к трипсину.

Лизоцим (мурамидаза) способен расщеплять основное вещество клеточной стенки бактерии муреин путем разрушения связи между первым углеродным атомом N-ацетилмурамовой кислоты и четвертым углеродным атомом N-ацетилглюкозамина, входящего в состав клеточной стенки бактерий. В результате этого изменяется ее проницаемость.

Лизоцим синтезируется фагоцитами и является мощным защитным фактором слизистой оболочки полости рта, глаза, содержится в слезах, слюне, крови, материнском молоке, тканях различных внутренних органов. Высокая концентрация лизоцима выявляется в околоплодных оболочках и водах плода.

Лизоцим выполняет в организме важные биологические функции: бактерицидное действие, стимулирующее воздействие на фагоцитоз и образование антител, способность нейтрализовать некоторые микробные токсины, а также противовоспалительное действие.

Нормальные (естественные) антитела – это в основном низкоаффинные антитела, присутствующие в организме без явной антигенной стимуляции. Нормальные антитела могут поступать трансплацентарно или с молоком матери. Они способны взаимодействовать с широким спектром антигенов. Содержание нормальных антител в крови здоровых людей постоянно в течение жизни, а отклонения свидетельствуют о развитии патологии.

Нормальные антитела связываются с широким спектром патогенов, что реализуется в их непосредственной нейтрализации, активации комплемента с привлечением фагоцитов, а также в усилении гуморального иммунного ответа.

Воспаление

Развитие воспалительного процесса может быть следствием инфицирования организма патогенной микрофлорой, вирусами, простейшими, а также возникать на фоне активации условно патогенной микрофлоры при снижении специфических иммунологических механизмов защиты и резистентности организма.

Биологический смысл воспаления заключается в отграничении патогена, его уничтожении и элиминации, после чего воспаление заканчивается репарацией и восстановлением гомеостаза.

Воспаление протекает в три этапа:

1. *Альтерация* – повреждение клеток и тканей.
2. *Экссудация* – расстройство микроциркуляции с экссудацией и эмиграцией лейкоцитов.
3. *Пролиферация* – размножение клеток и восстановление целостности ткани.

Воспалительный процесс всегда начинается с альтерации (разрушения) ткани, именно она является пусковым механизмом, развивающихся в дальнейшем патологических изменений. Микроорганизмы, попавшие в ткани, начинают делиться, в результате их жизнедеятельности выделяются токсины и ферменты, оказывающие разрушающее действие. Повреждающие факторы вызывают спазм мелких сосудов, приводящий к развитию местной гипоксии. В результате каскада биохимических изменений из тучных клеток высвобождается гистамин, под действием которого спазм сменяется расширением сосудов, замедлением кровотока, развивается гиперемия. Расширение сосудов, стаз и нарушение проницаемости сосудистой стенки приводят к выходу жидкости и форменных элементов

из просвета. Развиваются отек и инфильтрация тканей. Появление боли обусловлено действием токсинов и ферментов на нервные окончания.

Выход жидкой части крови из сосудистого русла является началом фазы экссудации. В течение ее в очаге развиваются метаболические нарушения: нарушаются окислительные процессы, углеводный, белковый, минеральный обмен. В свою очередь они приводят к ещё большему нарастанию отека и повреждению тканей.

Пролиферация – завершающая фаза воспаления. Центральную роль в процессе репарации играют роль моноклеарные фагоциты, которые синтезируют медиаторы, вызывающие пролиферацию фибробластов.

11.3. Антигены

Антигены (от лат. *anti* – против, *genos* – род) – генетически чужеродные для организма вещества с характерными химическими группировками, которые способны вызывать в организме ответную специфическую иммунологическую реакцию (образование специфических антител, появление сенсibilизированных лимфоцитов, возникновение состояния толерантности к этому веществу).

Свойства антигенов

Основными свойствами антигенов являются *чужеродность*, *иммуногенность* и *специфичность*.

Чужеродность – отличие данного антигена от антигенов организма. Чужеродность – главное условие антигенности.

Иммуногенность антигена – способность антигена индуцировать иммунный ответ. Она определяется белковой частью антигена. Иммуногенность зависит от дозы, схемы и способа введения в организм. Молекулярная масса также влияет на иммуногенность. Например, при введении антигена с *адьювантом* (от лат. *adjuvare* – помогать), иммунный ответ усиливается. В качестве адьювантов используют вещества различного происхождения и состава.

Специфичность – это способность антигена избирательно реагировать с антителами или сенсibilизированными лимфоцитами. Специфичность антигена определяется *антигенной детерминантой (эпитопом)*. Антигенные детерминанты расположены в тех местах молекулы антигена, которые находятся в наибольшей связи с микроокружением. В белковой молекуле, например, они могут располагаться не только на концах полипептидной цепи, но и в других ее частях. Антигенные детерминанты содержат в своем составе по крайней мере три аминокислоты с жесткой структурой (тирозин, триптофан, фенилаланин). Специфичность антигена связана также с порядком чередования аминокислот

полипептидной цепи и комбинацией их положений по отношению друг к другу. Примерно на каждые 5000 дальтон относительной молекулярной массы молекулы антигена приходится одна антигенная детерминанта (эпитоп). Количество антигенных детерминант у молекулы антигена определяет его валентность. Она тем выше, чем больше относительная молекулярная масса молекулы антигена. Так, у дифтерийного токсина 8 валентностей, гемоцианина – 231 и т.д.

Неактивная часть молекулы антигена играет роль носителя детерминанты (*шлеппер*) и способствует проникновению антигена во внутреннюю среду организма, его пиноцитозу или фагоцитозу, клеточной реакции на проникновение антигена, образование медиаторов межклеточного взаимодействия в иммунном ответе (Т-лимфоциты имеют рецепторы к носителю, В-лимфоциты к антигенной детерминанте). Антигенные детерминанты некоторых антигенов получены искусственным путем. Их введение в организм животных без носителя, приводит к низкому иммунному ответу.

Принято различать полноценные антигены, неполноценные антигены (*гаптены*). Полноценными антигенами называют такие антигены, которые вызывают образование антител или сенсibilизацию лимфоцитов и способны реагировать с ними как в организме, так и в лабораторных реакциях. Свойствами полноценных антигенов обладают белки, полисахариды, высокомолекулярные нуклеиновые кислоты и комплексные соединения этих веществ.

Неполноценные антигены, или *гаптены*, сами по себе не способны вызвать иммунный ответ, но могут взаимодействовать со специфическими антителами или сенсibilизированными Т-лимфоцитами. При соединении к гаптену белка или другого полимера-носителя гаптен способен вызвать иммунный ответ.

Антигены бактерий и вирусов

Различные микроорганизмы в связи со сложностью их структуры и химического состава содержат различные антигены: белки, углеводы, липоидные соединения и их комплексы.

У бактерий, соответственно анатомическим структурам клетки, различают (рис. 116):

- Н-антигены (жгутиковые, если бактерия их имеет);
- К-антигены (поверхностные, антигены капсулы – полисахариды, липополисахариды, белки);
- О-антигены (соматический – белки, нуклеопротеины, ферменты бактерий);
- антигены экскретируемые бактериями в окружающую их среду (белки-экзотоксины, полисахариды капсул).

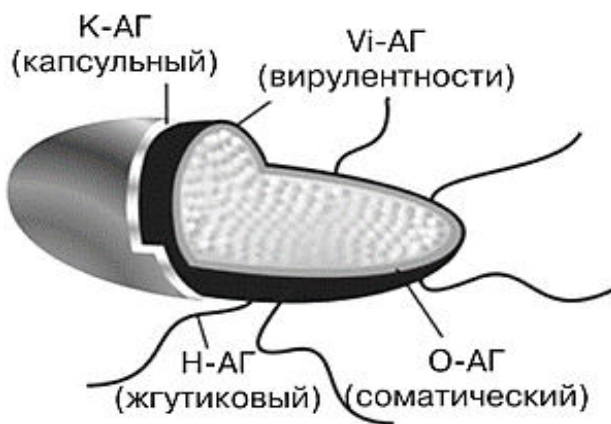


Рис. 116. Антигены бактерий

Антигенами вирусной природы являются: гликопротеины и протеины суперкапсида вируса, белки капсида, вирусные ферменты.

Среди многочисленных антигенов микробной клетки различают такие, которые присущи только данному серовару микробов (*типовые антигены*), данному виду (*видовые антигены*), а также общие для группы (рода, семейства) микроорганизмов (*групповые антигены*). Такие антигены извлекают из разрушенных микроорганизмов, иммунизируют ими животных и получают, соответственно типовые, видовые, групповые сыворотки. Такие сыворотки применяют с целью идентификации выделенных из организма больного (или окружающей среды) бактерий, определяя не только вид, но и серотип внутри вида.

Таким образом, микроорганизмы представляют собой сложный комплекс многочисленных антигенов. При ее попадании во внутреннюю среду макроорганизма на многие из этих антигенов будут образовываться свои специфические антитела. Одни антигены индуцируют образование едва заметного количества антител, другие – быстрое и значительное антителообразование. Соответственно этому различают «слабые» и «сильные» антигены. Антигены, которые обладают высокой иммуногенностью и полностью обеспечивают иммунитет к инфекционному заболеванию, являются *протективными антигенами*.

Определенные антигены некоторых микроорганизмов при повторном попадании в макроорганизм могут вызывать развитие гиперчувствительности со стороны иммунной системы (аллергии). Такие антигены называют *аллергенами*.

Выделяют антигены, которые способны связываться с Т-лимфоцитами без помощи антигенпредставляющих клеток (АПК), минуя их активные центры. В результате чего происходит поликлональная активация Т-лимфоцитов (от 2 до 20% всех периферических лимфоцитов), которые выбрасывают в кровь огромное количество цитокинов. Это ведет к общей интоксикации организма и гибели Т-лимфоцитов путем апоптоза, что в свою очередь приводит к развитию имму-

нодефицита. Такие антигены получили название *суперантигенов*. Суперантигенами для Т-лимфоцитов являются: энтеротоксины стафилококка, токсины синдрома токсического шока, антигены ВИЧ, антигены вируса бешенства.

Антигены организма человека

Белки, углеводы и полимеры крови и внутренних органов обычно не являются антигенами для самого организма, в котором они синтезируются, но в то же время могут являться антигенами для других особей того же вида. К таким антигенам относятся *аллогенные* или групповые антигены и *изогенные* или типовые антигены.

К *аллоантигенам* организма человека относятся: антигены группы крови (эритроцитарная система АВ0, система Rh (резус)-фактора и др.), раковоэмбриональные антигены (α -фетопротеин, трансферрин) и др. Аллогенные ткани при трансплантации иммунологически несовместимы – они отторгаются макроорганизмом.

Изогенные антигены общие только для генетически идентичных организмов, например, для однояйцевых близнецов. Примерами изоантигенов у человека являются *антигены главного комплекса гистосовместимости*. Изотрансплантанты не отторгаются при пересадке.

Помимо этого, выделяют так называемые забарьерные органы, т.е. органы, отделенные от кровотока особым барьером (гематоэнцефалический, гематотестикулярный и др.), белки которых в норме не поступают в кровь и являются антигенами для собственного организма. В число таких органов входят мозг, хрусталик глаза, паращитовидные железы, семенник.

Антигены главного комплекса гистосовместимости (ГКГС или *MHC – major histocompatibility complex*) уникальны для каждого организма и определяют его биологическую индивидуальность. У человека антигены МНС исторически называются «человеческий лейкоцитарный антиген» или *HLA*, от англ. – *Human Leucocyte Antigen*.

Главный комплекс гистосовместимости – это группа генов и кодируемых ими белков-антигенов клеточной поверхности, которые играют важнейшую роль в распознавании чужеродного и развитии иммунного ответа. Совокупность локусов (генов) главного комплекса гистосовместимости располагается на коротком плече С6 хромосомы человека и подразделяется на 3 класса (рис. 117). Выделяют *HLA I класса* и *HLA II класса*.

HLA I класса имеются у всех клеток организма (искл. эритроциты, нейроны и ворсинчатый трофобласт), является маркером «своего» для иммунокомпетентных клеток. Они обеспечивают межклеточную кооперацию, презентацию анти-

гена. Белковая часть HLA I класса состоит из двух нековалентно связанных полипептидных цепей: тяжелой α -цепи и легкой β -цепи (рис. 118). α -цепь имеет домены (1, 2, 3), трансмембранный и цитоплазматический участки. Щель Бьюркмана (антигенсвязывающая борозда) – это гипервариабельный участок, ответственный за сорбцию и презентацию молекул антигена.

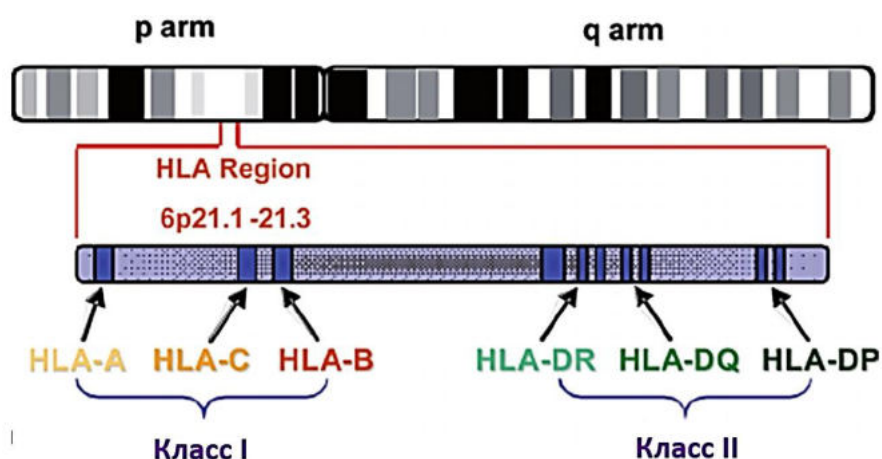


Рис. 117. Генетическая карта локусов HLA

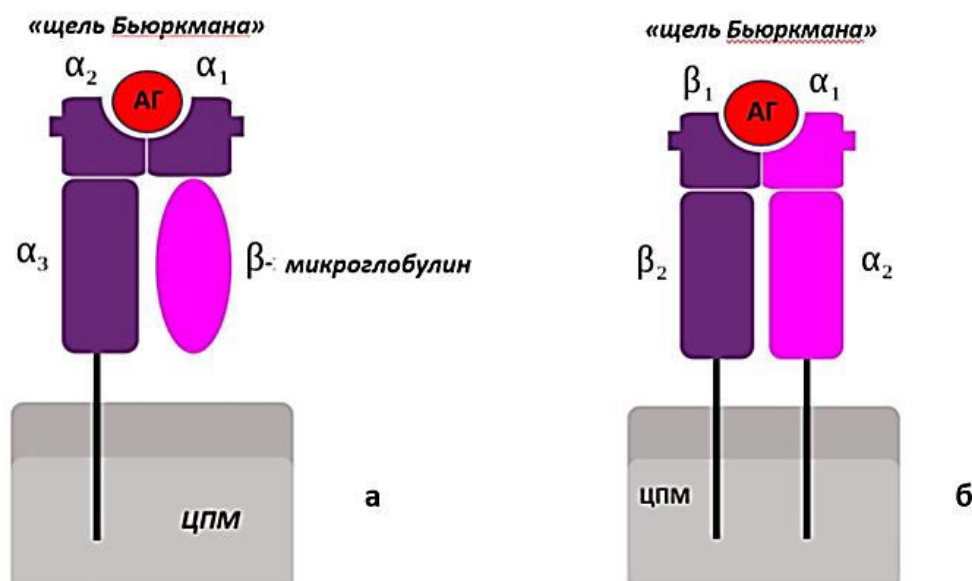


Рис. 118. Строение HLA I класса (а) и HLA II класса (б)

Молекула HLA II класса состоит из двух нековалентно связанных α - и β -цепей, образующих соответствующие домены (рис. 118) Щель Бьюркмана» в HLA II класса образована одновременно обеими цепочками. Экспрессируется на поверхности *антигенпрезентирующих клеток*: дендритных клеток, В-лимфоцитов, активированных макрофагах. Участвует в индукции приобретенного иммунитета.

11.4. Антитела

Антитела представляют собой белки глобулиновой природы (иммуноглобулины), образующиеся в организме под воздействием антигена и обладающие способностью избирательно связываться с ним.

Основные функции антител:

- связывание антигена с целью его нейтрализации и элиминации из организма;
- участие в распознавании «чужого» антигена;
- обеспечение кооперации иммунокомпетентных клеток (макрофагов, Т- и В-лимфоцитов);
- участие в различных формах иммунного ответа (фагоцитоз, киллерная функция, аллергические реакции и др.).

Способность иммуноглобулина связываться с антигенами характеризуется *авидностью и аффинностью*.

Авидность – прочность суммарной связи антитела с соответствующим антигеном.

Аффинность – точность совпадения (сродства) пространственной конфигурации активного центра Ig с конфигурацией антигенной детерминанты.

Строение антител

Структурная единица антител – мономер (рис. 119). Мономер иммуноглобулинов состоит из двух пар полипептидных цепей: двух идентичных Н-цепей (от англ. *heavy* – тяжелый) и двух идентичных L-цепей (от англ. *light* – легкий), связанных дисульфидными связями.

Существует 5 типов тяжелых цепей и обозначаются буквами греческого алфавита – μ (мю), γ (гамма), α (альфа), ϵ (эпсилон), δ (дельта). Они соответственно определяют класс иммуноглобулинов – *IgM*, *IgG*, *IgA*, *IgE*, *IgD*. Два типа легких цепей – κ (каппа) и λ (лямбда), одинаковые для разных классов.

В цепях различают переменную область, или V-область (англ. *variable* – разный), и константную область, или C-область (англ. *constant* – постоянный). Константная часть имеет постоянную последовательность аминокислот, переменная характеризуется изменчивостью аминокислотной последовательности.

Переменные участки легких и тяжелых цепей (VL–VH) формируют *активные центры антител (паратопы)*, которые непосредственно соединяются с детерминантой антигена (эпитопом). Активный центр представляет собой полость или щель, соответствующую пространственной конфигурации детерминантной группы антигена. Один из активных центров по разным причинам может быть функционально инертным. Такие антитела называются *неполными*. Неполные антитела встречаются у разных классов иммуноглобулинов.

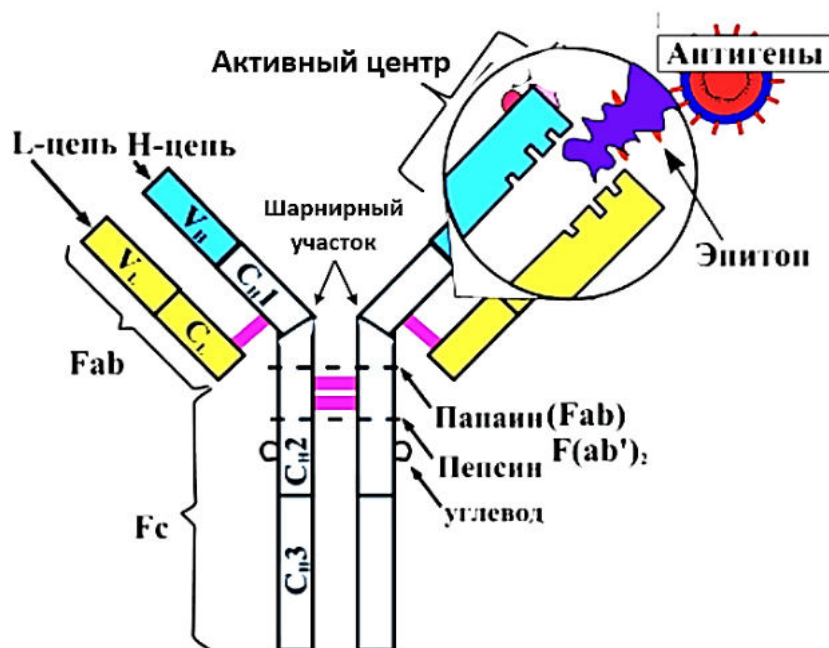


Рис. 119. Строение молекулы иммуноглобулина (IgG)

Участок CL – CH1 определяет небольшие различия в последовательности расположения аминокислот у индивидуумов одного и того же вида. Область CH2–CH2 участвует в фиксации и активации комплемента, а область CH3–CH3 – в фиксации антитела к клеткам (лимфоцитам, макрофагам, тучным клеткам).

Полипептидные цепи иммуноглобулинов свернуты в несколько глобулярных структур – доменов, которые удерживаются за счет внутрицепочечных дисульфидных связей (рис. 120).

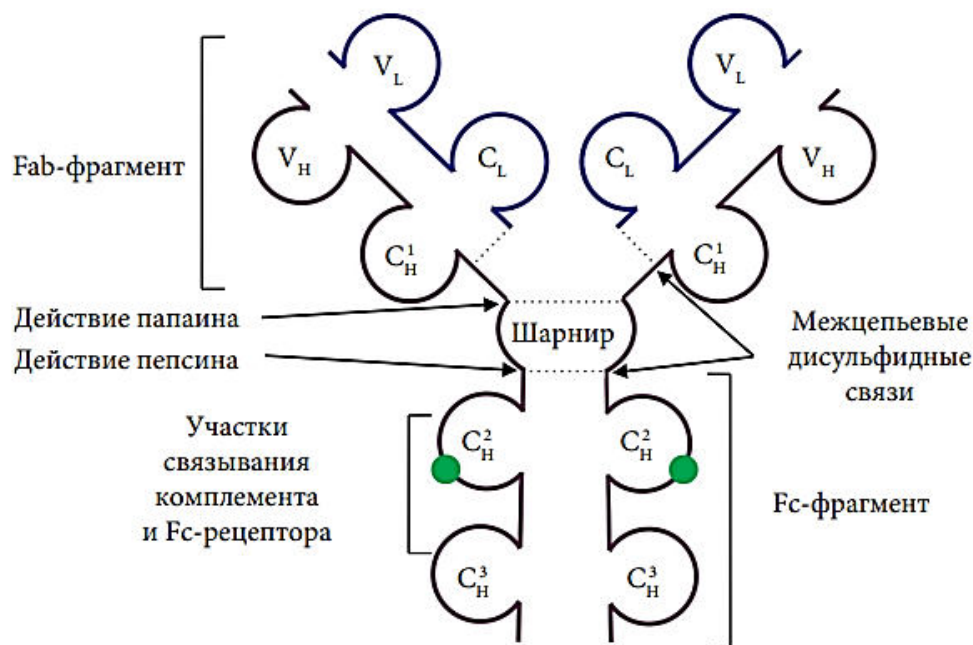


Рис. 120. Доменная структура молекулы иммуноглобулина (<https://elar.urfu.ru>)

Домены принято нумеровать в направлении от N-конца к С-концу. Аминокислотные последовательности доменов легкой и тяжелой цепей, расположенных напротив друг друга, являются гомологичными. Фрагмент тяжелой цепи между доменами CH1 и CH2 называют *шарнирной областью*. Это наиболее лабильная, гибкая часть молекулы, что позволяет активным центрам функционировать независимо один от другого при взаимодействии с антигенами.

Под действием фермента папаина мономер иммуноглобулина расщепляется на два одинаковых *Fab-фрагмента* и один *Fc-фрагмент*. Fab-фрагмент включает активный центр, следовательно, способен специфически связывать антиген, отсюда и название (англ. *fragment antigen binding*).

Fc-фрагмент (англ. *fragment crystallizable region*) осуществляет адсорбцию иммуноглобулинов к клеткам за счет взаимодействия с клеточными рецепторами, а также связывание с первым компонентом (C1q) комплемента при активации этой системы по классическому пути.

Данный тип строения молекулы характерен для всех классов иммуноглобулинов, различия заключаются в дополнительной организации этой основной единицы (рис. 121). Так, H-цепь IgM состоит не из 4, а из 5 доменов, а вся молекула IgM представляет собой пентамер молекулы IgG, соединенный дополнительными полипептидными J-цепями. IgA может быть в форме мономеров (сывороточный IgA) и димеров (секреторный IgA). Последний имеет дополнительные J и S цепи.

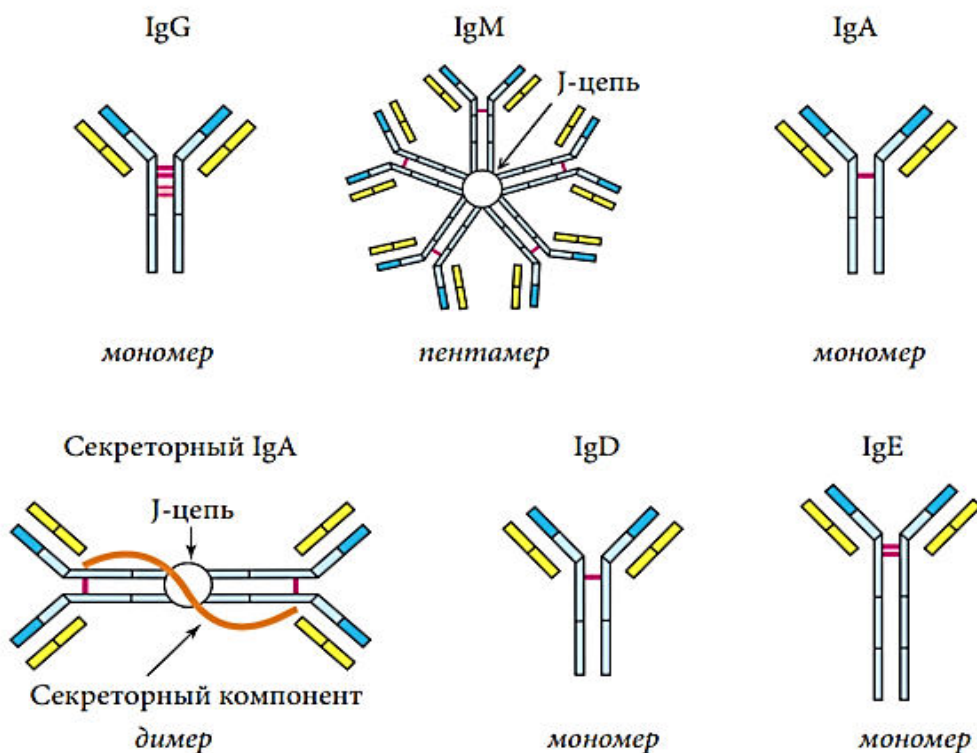


Рис. 121. Схематичное строение иммуноглобулинов

Классы иммуноглобулинов

Выделяют пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgG, IgM, IgD и IgE. Иммуноглобулины классов G и A подразделяются еще и на подклассы.

Иммуноглобулины класса G составляют 80% иммуноглобулинов сыворотки крови. Это мономер, имеющий два антигенсвязывающих центра. IgG участвует в классическом пути активации комплемента. Fc-фрагмент может связываться с макрофагами, нейтрофилами, НК. Способен проникать через плаценту, обеспечивая защиту плода и естественный пассивный иммунитет новорожденного.

Эти антитела отвечают за длительный иммунитет, противoinфекционную защиту, связывают токсины, усиливают фагоцитарную активность, вызывают агглютинацию бактерий и вирусов.

Иммуноглобулины класса M представляют собой пентамер с полипептидной J-цепью, которая связывает момеры IgM. Иммуноглобулины этого класса обладают низкой аффинностью, но высокоavidны из-за большого числа активных центров.

При первичном иммунном ответе они первыми появляются в крови. Наличие IgM к антигену конкретного возбудителя указывает на острый инфекционный процесс. Их действие направлено прежде всего против микроорганизмов. Они участвуют в активации комплемента по классическому пути, опсонизируют, агглютинируют, лизируют микроорганизмы.

Мономер IgM, будучи фиксированными на мембране В-лимфоцитов, выполняет функцию антигенраспознающего рецептора.

Иммуноглобулины класса A существуют в сывороточной и секреторной формах. Сывороточный IgA представлен в виде мономера, секреторный – в виде димера, соединенного J-цепью. Секреторный иммуноглобулин (*sIgA*) содержит секреторный компонент, который защищает IgA от действия протеолитических ферментов. *sIgA* в высокой концентрации содержится в слюне, слезах, желчи, кишечном соке, в женском молоке, на слизистой дыхательных путей и половых органов.

Иммуноглобулины класса E. В норме в сыворотке крови человека этих антител содержится крайне мало (0,002%). Они способны связываться Fc-участком с мембраной тучных клеток, базофилов. Участвует в противопаразитарном иммунитете и в ответе на аллергены.

Иммуноглобулины класса D находятся на поверхности В-лимфоцита (наряду с IgM) и выполняют функцию антигенраспознающего рецептора.

Динамика антителиобразования

Антитела синтезируются плазмочитами, каждый клон которых продуцирует антитела только одной специфичности, т.е. к одной антигенной детерминанте.

При первичном и повторном введении антигена динамика антителиобразования отличается, но можно выделить следующие стадии (рис. 122):

I. *Латентной фаза.* В этот период происходит переработка и представление антигена иммунокомпетентным клеткам, размножение клона клеток, специализированного на выработку антител к данному антигену, начинается синтез антител. В этот период антитела в крови не обнаруживаются.

II. *Логарифмическая фаза.* Синтезированные антитела высвобождаются из плазмочитов и поступают в лимфу и кровь.

III. *Стационарная фаза.* Количество антител достигает максимума и стабилизируется.

IV. *Фаза снижения уровня антител.*

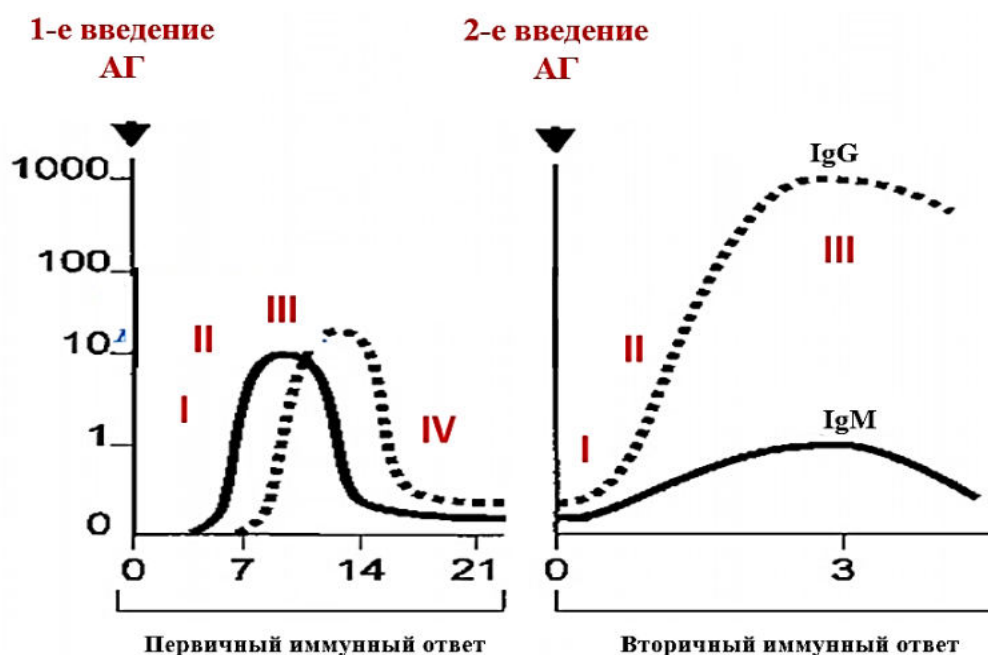


Рис. 122. Динамика образования антител: I — латентная фаза, II — логарифмическая фаза, III — стационарная фаза, IV — фаза снижения антител в сыворотке крови

При первичном введении антигена латентная фаза составляет 3–5 сут, логарифмическая — 7–15 сут, стационарная — 15–30 сут и фаза снижения — 1–6 мес. и более. Первыми синтезируются IgM, а затем IgG.

При вторичном введении антигена латентный период укорочен до нескольких часов или 1–2 сут, логарифмическая фаза характеризуется быстрым нарастанием и значительно более высоким уровнем антител, который в последующих

фазах длительно удерживается и медленно, иногда в течение нескольких лет, снижается. При вторичном иммунном ответе в отличие от первичного синтезируются преимущественно IgG.

Генетический контроль биосинтеза антител

Полипептидные цепи антител синтезируются на рибосомах В-лимфоцитов (плазмоцитов), собираются в молекулу (глобулу) и транспортируются в кровь или на поверхность ЦПМ В-лимфоцитов, где выполняют роль клеточных рецепторов. Антитела могут быть получены к любому возможному антигену. Информацию о всех специфических иммуноглобулинов зашифровать в геноме невозможно. В геноме хранится набор заготовок виде генных локусов, расположенными на разных хромосомах. Локусы имеют различные комбинации, в зависимости от контроля той или иной цепи и могут содержать следующие участки:

- L – кодирует лидерный пептид, необходимый для секреции антител на поверхность клетки;
- V – гены вариабельной части антитела;
- C – гены константной части;
- J (англ. *joining* – соединяющий) – гены соединительной области полипептида;
- D (англ. *diversity* – разнообразие) – гены дополнительной вариабельности.

Установлено, что ген, кодирующий L-цепь, имеет следующую экзон-интронную структуру (*зародышевая комбинация генов, локус*):

L-гены – интрон – V-ген – интрон – J-ген – интрон – C-ген (рис. 123).

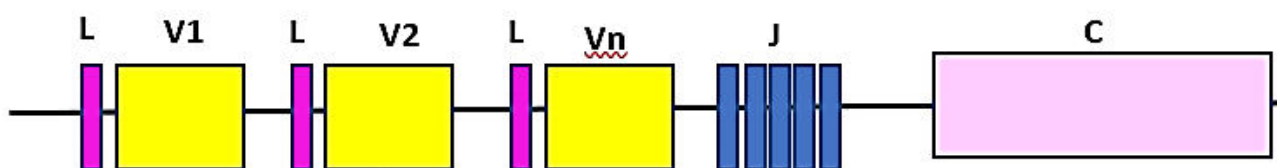


Рис. 123. Локус генов, кодирующих L-цепь

V-ген и J-ген кодируют вариабельный V-домен, C-ген – константный C-домен легкой цепи иммуноглобулинов.

Синтез L-цепи контролируется 300 вариантами V-гена и 4 вариантами J-гена. Рекомбинации этих генов позволяют получить большое количество вариантов различающихся по своей специфичности L-цепей (рис. 124).

Если перестройка всех локусов прошла неудачно, то клетка подвергается апоптозу. Если перестройка одного из локусов привела к образованию функционального гена, то рекомбинация остальных локусов блокируется.

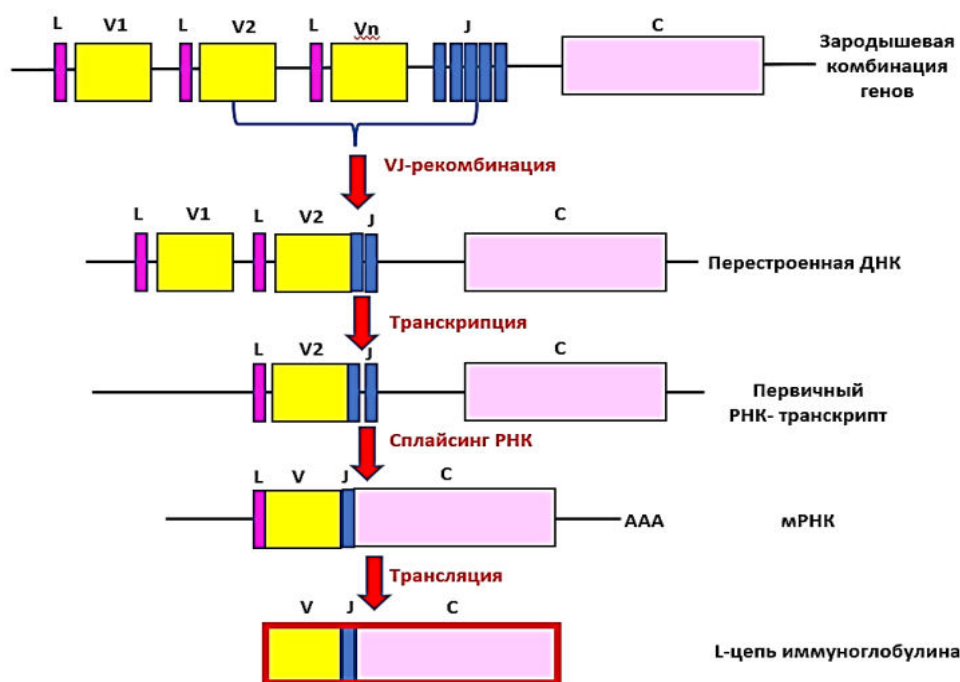


Рис. 124. Схема перестройки зародышевых генов L-цепей

В лимфоците экспрессия генов происходит только на одной из двух гомологичных хромосом и синтезируется только один тип L-цепи (λ или κ). Этот феномен лежит в основе *принципа клональной селекции лимфоцитов*, согласно которой в организме возникают клоны клеток, иммунокомпетентных в отношении различных антигенов; антиген избирательно контактирует с соответствующим клоном, стимулируя выработку им антител.

Генетический контроль синтеза тяжелых цепей имеет свои особенности. Схематически полный ген H-цепи иммуноглобулинов выглядит таким образом: L-ген – интрон – V-ген – интрон – D-ген – интрон – J-ген – интрон – C-ген (рис. 125).

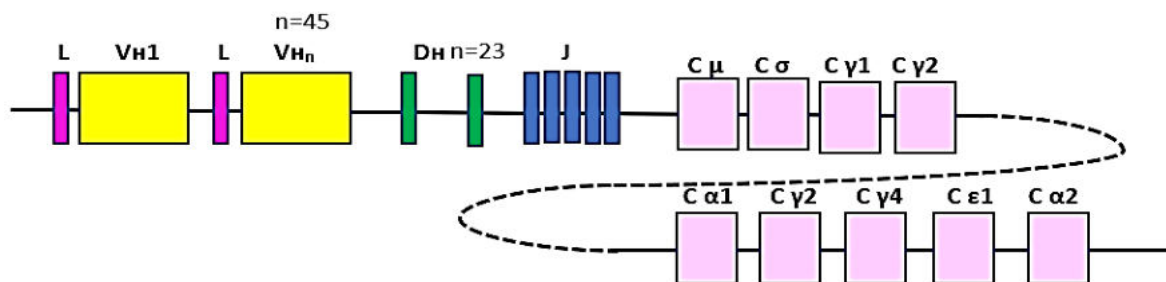


Рис. 125. Локус генов, кодирующих H-цепь

C-домены H-цепей различных изотипов кодируется 9 разными C-генами. В формировании вариабельных V-доменов тяжелой цепи участвуют V-, D-, J-сегменты. При этом любой из V-генов тяжелой цепи может соединяться с любым из C-генов.

Все С- и V-гены, имеют экзон-интронную структуру. Каждый домен кодируется отдельным экзоном, между последними расположены интроны. В ходе иммунного ответа V-гены тяжелой цепи могут переключаться с С-гена одного класса на С-гены другого класса, что приводит к появлению антител одной и той же антительной специфичности, но принадлежащих к разным классам (IgM, IgG, IgA, IgE, IgD).

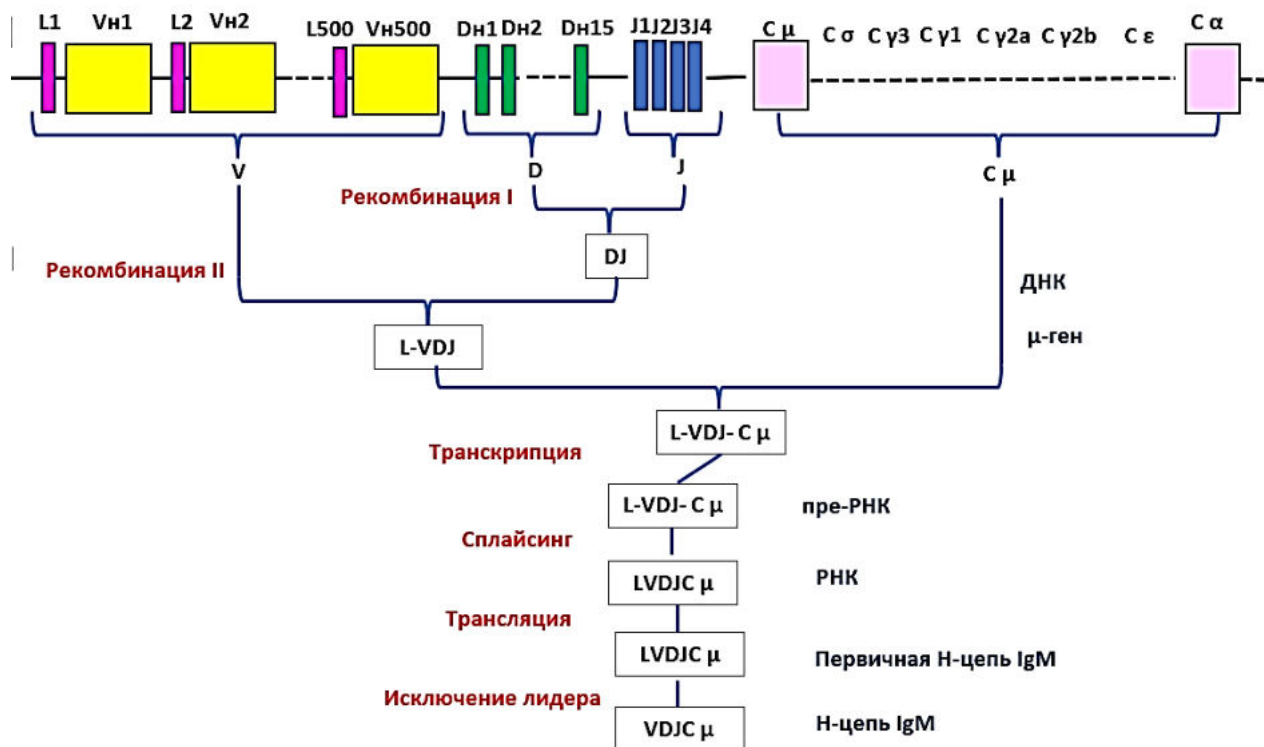


Рис. 126. Схема рекомбинации генов, кодирующих тяжелые цепи иммуноглобулинов

В общей сложности синтез Н-цепей иммуноглобулинов контролируют 200 вариантов V-генов, 20 вариантов D-генов, 4 варианта J-генов и 9 вариантов С-генов. В результате VDJ-рекомбинации на ранних этапах дифференцировки лимфоцитов, формируется комбинаторный ген, с которым происходят – *сплайсинг*, трансляция (рис. 126). В результате сплайсинга (от англ. *to splice* – сшивать, соединять) происходит вырезание интронов и соединение экзонов с формированием «зрелой» мРНК. В отдельных участках V-сегментов иммуноглобулинов наблюдаются мутации.

Особенность реорганизации генома В-лимфоцитов заключается в переключении контроля синтеза иммуноглобулинов одного класса на другой при сохранении контроля их специфичности за счет реорганизованного VDJ-локуса.

Сигналы на переключение классов поступают от CD4 Т-клеток, а также от цитокинов. Например, интерлейкин ИЛ-4 индуцирует переключение на синтез IgG или IgE. В процессе переключения классов иммуноглобулинов происходит

цитокин-зависимая транскрипция в требуемой константной области, образовавшейся в результате рекомбинации переключения.

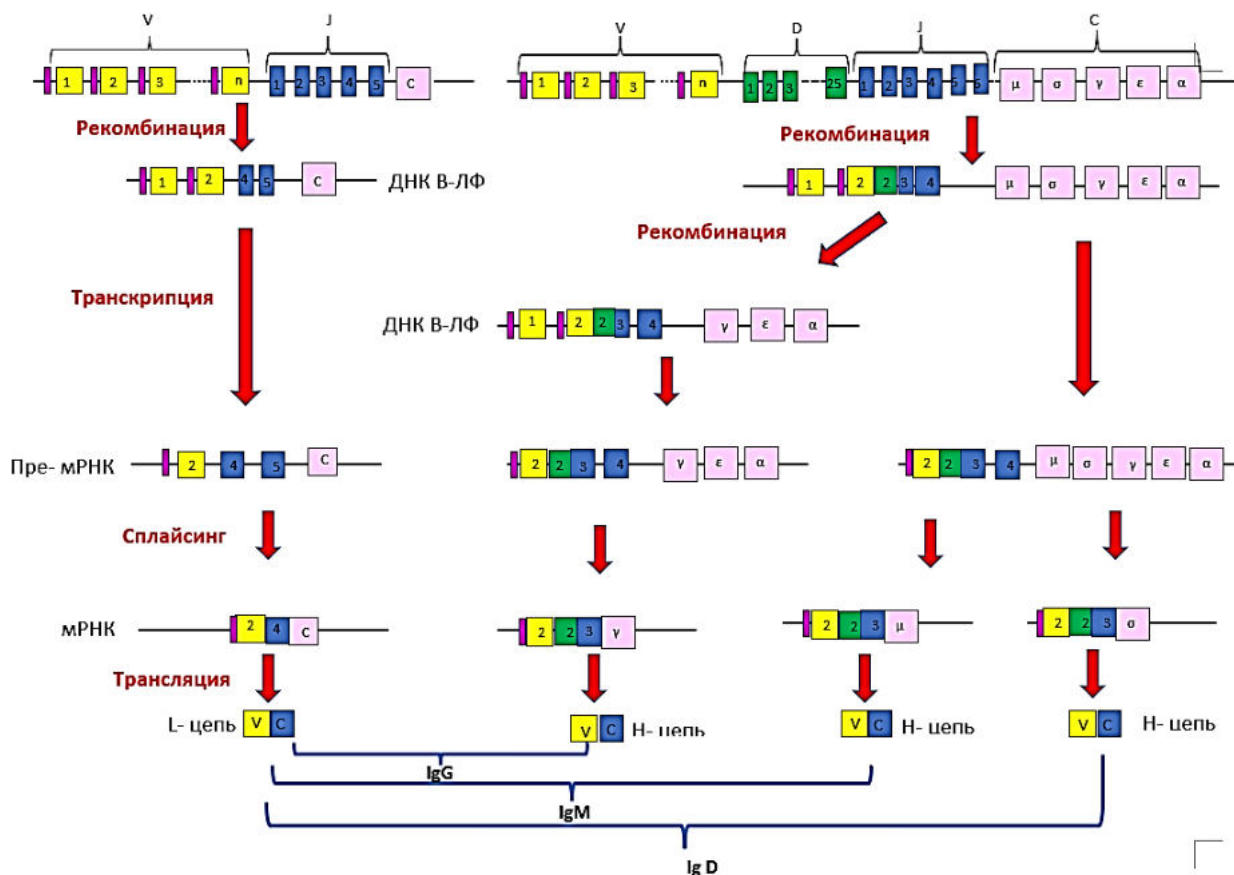


Рис. 127. Класс-переключающая рекомбинация иммуноглобулинов

Например, если экспрессируется класс G, то вырезаются все фрагменты ДНК, соответствующие классам M, D, A, E, и образуется активный фрагмент ДНК, включающий в себя вариабельные гены, а также ген, кодирующий константную γ -цепь. Если же клетка должна экспрессировать антитело класса E, то под влиянием Т-клеток и цитокинов происходит переключение классов. Перед каждым геном тяжелых цепей (кроме D-класса) имеется сайт переключения. При наличии сигнала от Т-клеток или цитокинов эти участки рекомбинируют друг с другом, а промежуточные гены (соответствующие цепям $C\mu$, $C\delta$ $C\alpha$) вырезаются. Удаление промежуточных генов происходит следующим образом. При получении сигнала на переключение соответствующие участки рекомбинируют, при этом образуется петля цепи ДНК, которая вырезается эндонуклеазами. Сайты рекомбинации расположены в зонах интронов и в результате сплайсинга также удаляются.

11.5. Клеточная кооперация при иммунном ответе

Формирование специфического иммунитета – сложный многоступенчатый процесс, в котором ведущую роль играют Т-лимфоциты, В-лимфоциты, антиген-презентирующие клетки.

Т-лимфоциты образуются в костном мозге и созревают в тимусе (наивные зрелые Т-лимфоциты). В тимусе образуются две популяции клеток:

- клетки, несущие маркер CD4, *Т-хелперы* (от англ. *helper* – помощник);
- клетки, несущие маркер CD8, *цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ)*.

Основная функция зрелых Т-лимфоцитов – это распознавание чужеродных антигенных пептидов (детерминант) в комплексе с главным комплексом гистосовместимости на поверхности антигенпрезентирующих клеток. Для выполнения этой функции у Т-лимфоцитов имеется *Т-клеточный рецептор (TCR)*, который состоит из двух цепей - α -цепи и β -цепи (рис. 128). Цепи представлены 4 доменами:

- переменный внеклеточный домен,
- константный внеклеточный домен,
- гидрофобный внутримембранный,
- гидрофильный цитоплазматический.

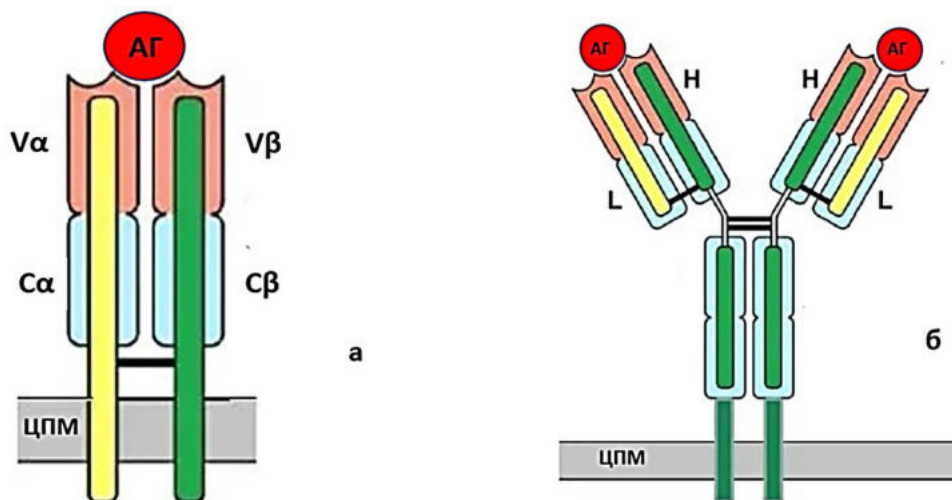


Рис. 128. Строение Т-клеточного рецептора (а) и В-клеточного рецептора (б): ЦПМ – цитоплазматическая мембрана; $V\alpha$ – переменный участок α -цепи; $V\beta$ – переменный участок β -цепи; $C\alpha$ – константный участок α -цепи; $C\beta$ – константный участок β -цепи; H-цепь; L-цепь; АГ – антиген

TCR распознают короткие пептиды в комплексе с молекулами HLA. Поэтому микробные белки сначала должны процессироваться в клетках до коротких пептидов и уже затем презентироваться на их поверхности в комплексе с молекулами HLA.

В-лимфоциты (от англ. *bursa of Fabricius*) – образуются и дифференцируются в костном мозге (или в фабрициевой сумке у птиц). После связывания с АГ В-лимфоциты дифференцируются в плазматические клетки – плазмоциты, секретирующие антитела одной специфичности.

В-лимфоциты на своей поверхности имеют антигенраспознающий *В-клеточный рецептор (BCR)*, который состоит из молекулы мембранного иммуноглобулина (mIgM и mIgD). BCR также имеет трансмембранные и внутрицитоплазматические сегменты, передающие внутриклеточные сигналы (рис. 128). BCR распознают нативные (непроцессированные) антигены. Поэтому В-лимфоциты не нуждаются в предварительной презентации антигена.

Связывание антигена с TCR или BCR приводит к активации цитоплазматических доменов и, в конечном итоге, к активации многочисленных генов и изменению фенотипа лимфоцита.

Кроме антигенраспознающих рецепторов лимфоциты на своей поверхности имеют белковые молекулы, выполняющие роль *корцепторов* межклеточных взаимодействий в иммунном ответе. Корцепторы представлены также на моноцитах, макрофагах, гранулоцитах и др. Обозначаются корцепторы как CD (от англ. *cluster of differentiation, cluster of designation*) и номеруются соответственно принятой классификации таких комплексов – CD1, CD2, CD3 и т.д. Функция некоторых корцепторов (CD4, CD8) сводится к дополнительному распознаванию «своей» антигенпредставляющей клетки. Взаимодействие отдельных рецепторов (CD154 Th2 и CD40 В-лимфоцитов) приводит к образованию комплекса, обладающего свойством мощного индуктора пролиферации В-лимфоцитов. Роль многих корцепторов изучена еще недостаточно.

Антигенпрезентирующие клетки (АПК) – клетки системы мононуклеарных фагоцитов (моноциты, макрофаги, купферовские клетки, клетки Лангерганса, дендритные клетки) и В-лимфоциты, способные осуществлять протеолиз экзо- и эндогенных белковых антигенов, в результате чего образуются пептиды. Затем антигенные пептиды связываются молекулами главного комплекса гистосовместимости для их презентации Т-лимфоцитам. АПК участвуют в важнейших для формирования иммунной системы процессах, являются ключевым звеном в регуляции адаптивного иммунного ответа.

Процессинг и презентация антигена

Микробная клетка представляет собой сложный антигенный комплекс, в состав которого входят десятки антигенов, каждый из которых индуцирует «свой» иммунный ответ. Таким образом, иммунный ответ на микроорганизм является суммарным эффектом ответа на большинство антигенов, входящих в его струк-

турные и функциональные компоненты. Расщепление микробной клетки до отдельных антигенов и их антигенных детерминант (эпитопов) осуществляется носит название *процессинга*. Антигенные детерминанты связываются в эндоплазматическом ретикулуме с молекулами HLA и выходят на поверхность клетки для контакта с TCR Т-лимфоцитов (*презентация антигена*).

Презентация антигенов на молекулах HLA I. В процессе жизнедеятельности любой соматической клетки синтезируются белки. Неправильно собранные или нефункциональные белки разрушаются в *протеосомах* – больших протеолитических комплексах цитоплазмы. В случае инфицирования клетки внутриклеточными паразитами (вирусами, хламидиями, микобактериями и др.) подвергаться деградации будет и часть микробных белков. Сформированные в протеасомах пептиды с помощью специального белка-переносчика транспортируются в эндоплазматический ретикулум, где соединяются с молекулами HLA I. После этого везикулы с комплексом HLA I отпочковываются от эндоплазматического ретикулума и мигрируют к цитоплазматической мембране (рис. 129). С поверхности цитоплазматической мембраны HLA I распознается цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ).

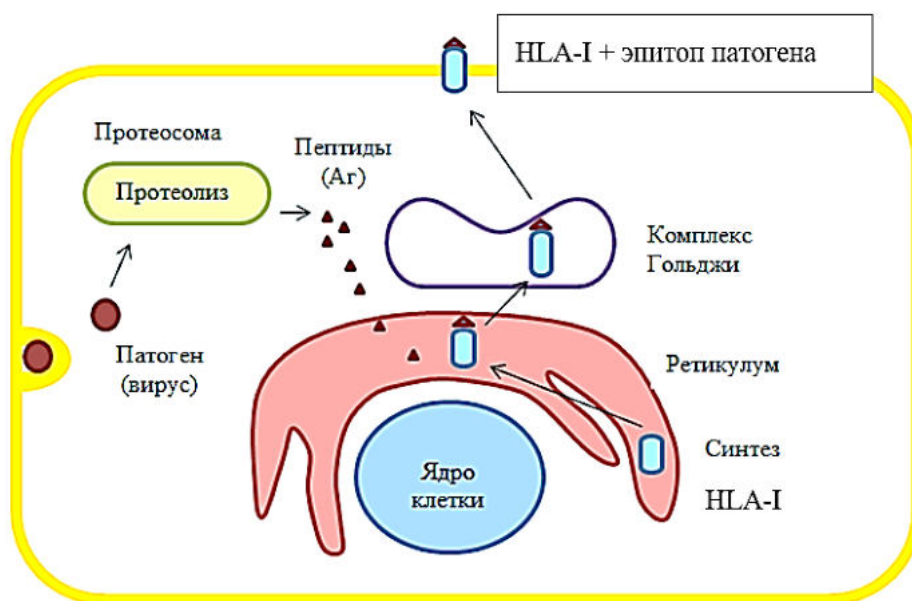


Рис. 129. Презентация антигена соматическими клетками

Презентация антигенов на молекулах HLA II. Презентировать антигены на молекулах *HLAII* способны только АПК. На молекулах *HLAII* презентированы пептиды (как микробного, так и собственного происхождения), образовавшиеся в результате деградации белков в фаголизосомах (рис. 130). Однако пептиды, образовавшиеся из белков собственного организма, не распознаются Т-хелперами, так как аутореактивные.

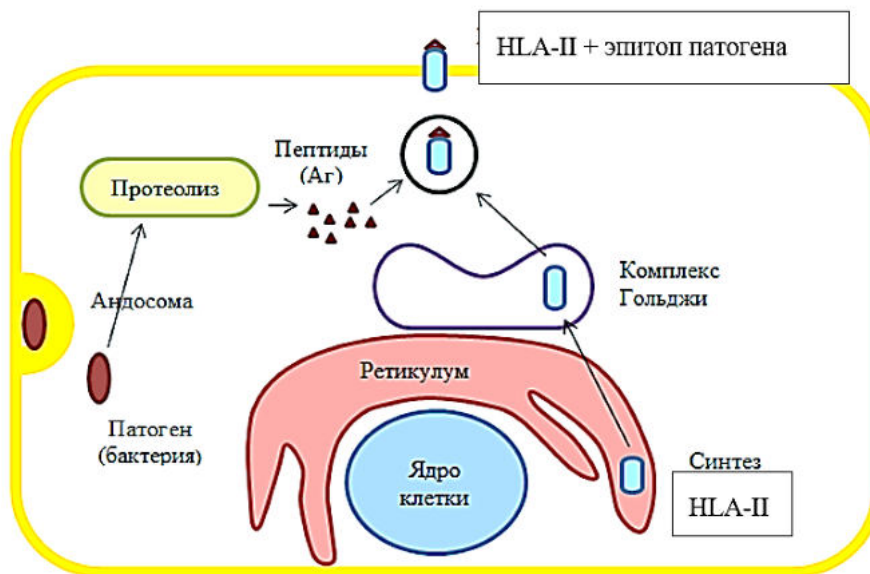


Рис. 130. Презентация антигена макрофагами

Иммунный ответ обеспечивается взаимодействием АПК, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, синтезируемых ими цитокинов. Он включает следующие стадии: распознавание антигена, активация, пролиферация и дифференцировка.

TCR Т-хелпера (Th0) осуществляет распознавание антигена в комплексе с HLA II класса (рис. 131). TCR узнает антиген в результате формирования иммунного синапса, что приводит к активации Т-лимфоцита. Дополнительным условием для стимуляции Т-лимфоцитов является костимуляция АПК и цитокинами. Последние осуществляют межклеточное взаимодействие в формировании специфического иммунного ответа.

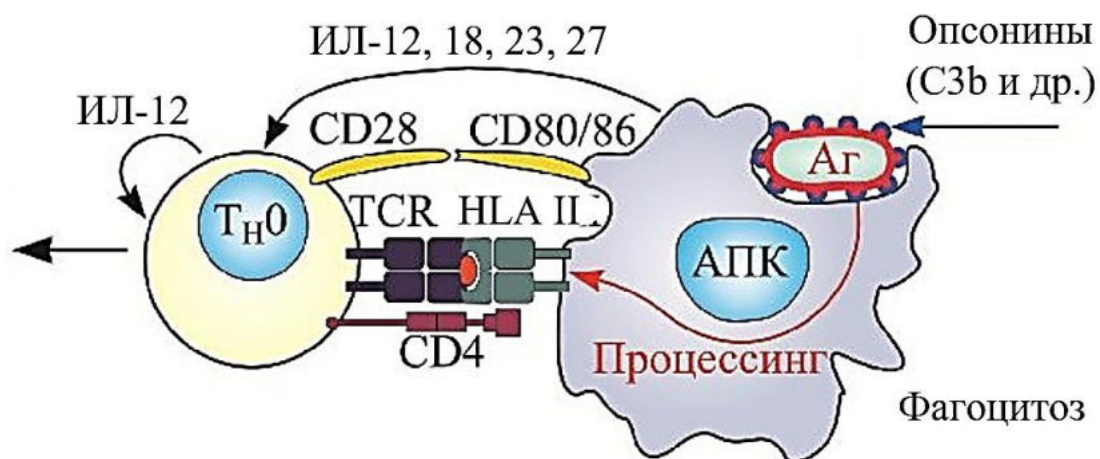


Рис. 131. Процессинг и презентация антигенной детерминанты макрофагом Th0 клетке

Th0-клетки (наивные Т-хелперы) под действием цитокинов дифференцируются в Th1 и Th2, оказывающие друг на друга супрессирующие действие (рис. 132).

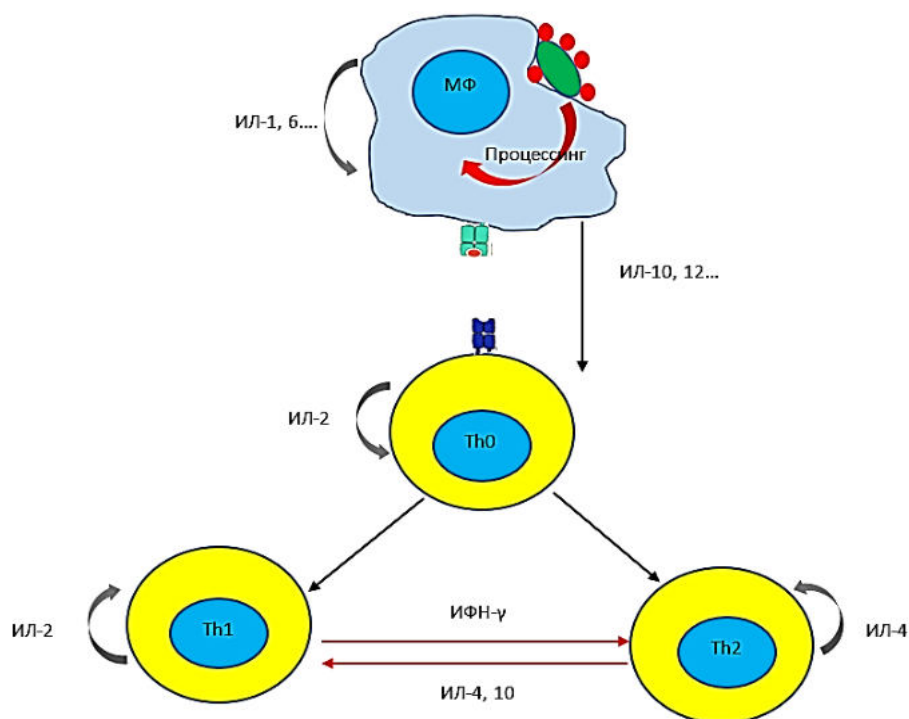


Рис. 132. Дифференциация Th0 в Th1, Th2

Th1-лимфоциты ответственны за развитие *клеточного иммунного ответа*, Th1-лимфоциты – за развитие *гуморального ответа* (рис. 133).

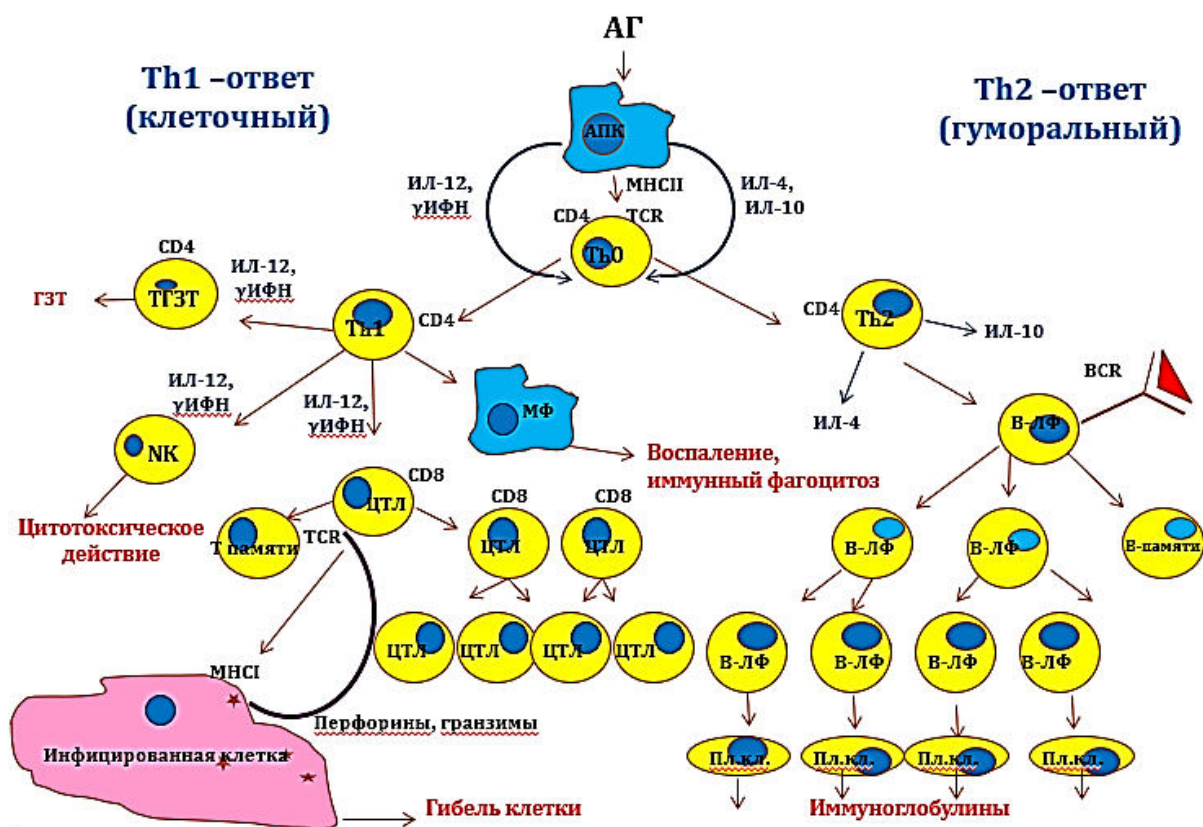


Рис. 133. Схема формирования клеточного иммунного ответа (Th1) и гуморального иммунного ответа (Th2)

Клеточный (Th1) тип иммунного ответа

В клеточном иммунном ответе участвуют $CD4^+$ Th1-клетки и реализуют его цитотоксические CD8 Т-лимфоциты (ЦТЛ). Основным цитокином клеточного иммунитета является ИЛ-12, который синтезируется АПК, и стимулирует рост, дифференцировку $CD4Th0$ (в сторону Th1), $CD8$ ЦТЛ, НК-клеток. Кроме того, ИЛ-12 индуцирует продукцию ИФН- γ , который повышает антимикробную активность фагоцитов, цитотоксичность НК-клеток, антигенпрезентирующие свойства макрофагов и синтез ИЛ-12.

Иммунный ответ по типу Th1 формируется, если патоген является внутриклеточным паразитом.

Активированные ЦТЛ «узнают» при помощи TCR инфицированные микробами клетки по микробным пептидам в комплексе с HLA I и вызывают гибель клеток-мишеней при помощи перфорина, гранзимов, гранулолизинов и др (рис. 134).

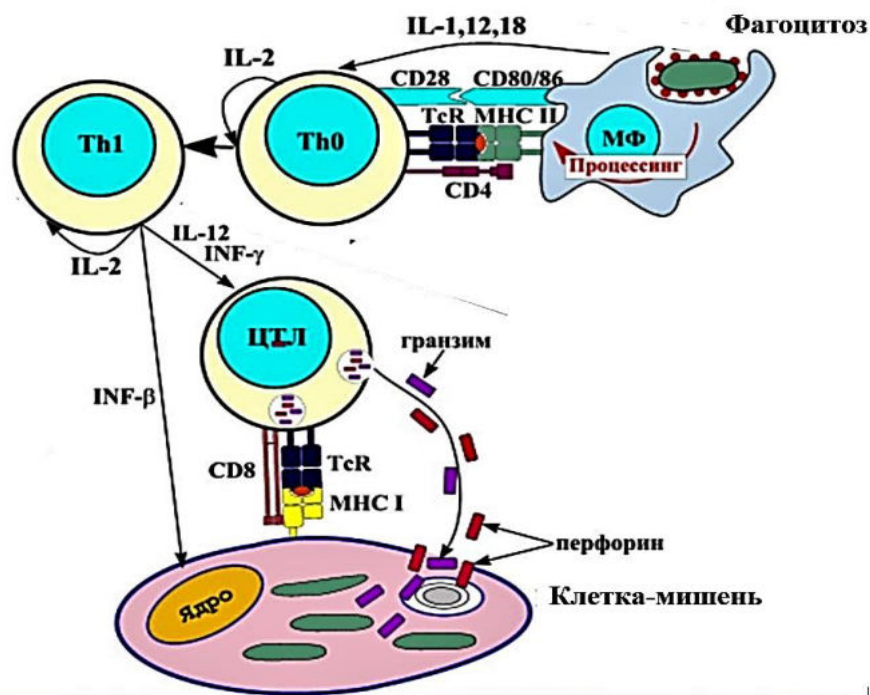


Рис. 134. Схема клеточного иммунного ответа

Гуморальный (Th2) тип иммунного ответа

Гуморальный ответ является результатом активации и дифференцировки В-лимфоцитов в плазмоциты, которые синтезируют специфические иммуноглобулины. Стимуляция В-лимфоцитов может осуществляться непосредственно после связывания их BCR с антигенами с повторяющимися последовательностями. Но ответ В-лимфоцитов на большинство антигенов требует участия $CD4Th2$ -лимфоцитов (рис. 135).

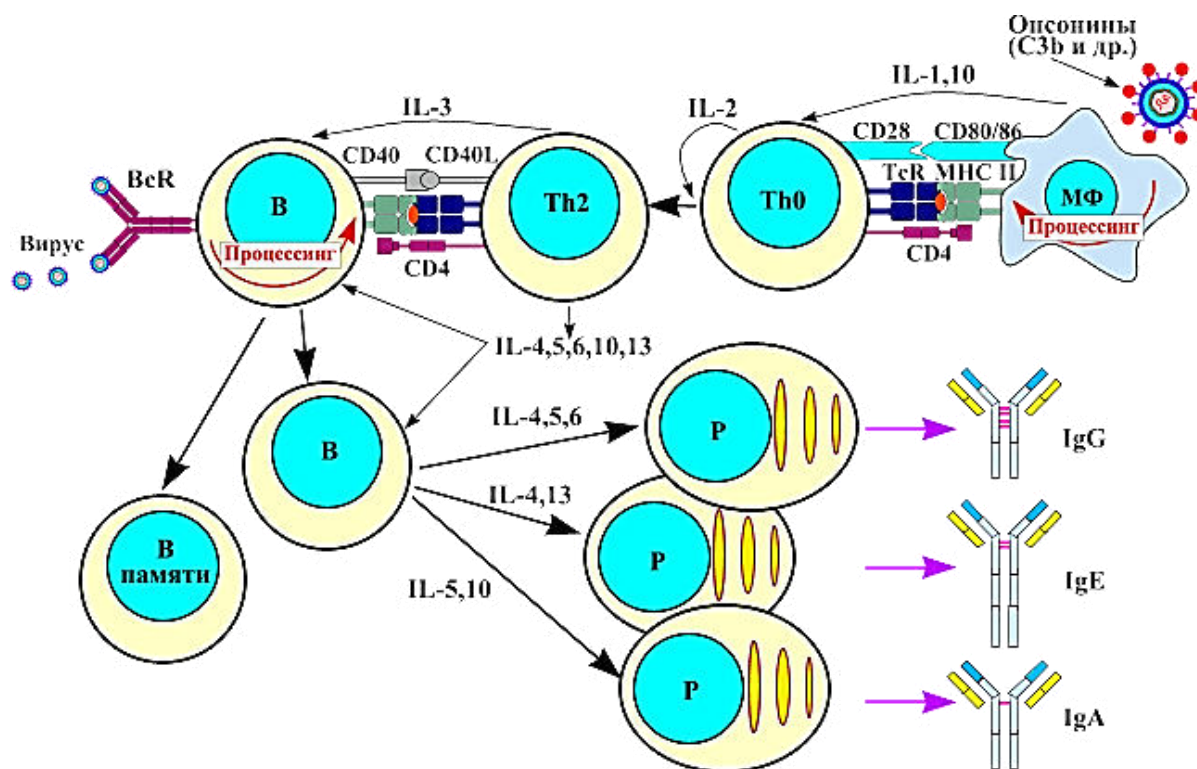


Рис. 135. Схема гуморального иммунного ответа

BCR связывается с непроцессированным антигеном и затем В-лимфоцит поглощает этот антиген. После процессинга В-лимфоцит презентует его эпитоп в составе HLAII Th2-клеткам. Взаимодействие этих клеток и синтезируемые Th2-клетками интерлейкины (ИЛ-4, 5, 6 и др.) дополнительно активизируют В-лимфоциты. В результате происходит пролиферация В-лимфоцитов и дифференцировка их в плазматические клетки. Плазмоциты синтезируют иммуноглобулины и секретируют их во внеклеточное пространство.

Некоторая часть Т и В-лимфоцитов после активации и клональной экспансии дифференцируются в долгоживущие клетки иммунологической памяти, которые обеспечивают более быстрый иммунный ответ при повторной встрече с тем же антигеном.

Особенности иммунитета при бактериальных, грибковых и протозойных инфекциях

Антибактериальный иммунитет направлен против бактерий и их токсинов (антитоксический иммунитет). При некоторых бактериальных инфекциях, возбудители продуцируют экзотоксин (дифтерия, столбняк ботулизм, газовая гангрена и др.), который является главным в патогенезе заболевания. Для таких токсических инфекций в формировании иммунитета ведущую роль играют образующиеся в организме антитела-антитоксины. Однако антитоксические анти-

тела не блокируют адгезию бактерий на поверхности клеток-мишеней и их колонизацию. Вследствие этого, искусственный антитоксический иммунитет не создает полной защиты макроорганизма и не предотвращает фиксацию бактерий на поверхности клеток-мишеней, колонизацию клеток и ткани, размножение бактерий.

При другой группе бактериальных инфекций (менингококковая инфекция, коклюш, легионеллез и др.) решающая роль принадлежит иммунному лизису и фагоцитозу бактерий. Образующиеся при этих заболеваниях IgG инициируют целый ряд антителоопосредованных биологических реакций:

а) при фиксации АТ на поверхности бактерий происходит активация комплемента по классическому варианту с образованием мембраноатакующего комплекса и последующим лизисом бактерий;

б) опсонизация бактерий антителами и компонентами комплемента (C3b) приводит к усилению поглотительной и переваривающей активности фагоцита;

в) нейтрализация антителами антифагинов, выделяемых бактериями наружу (фактор, препятствующий образованию фагоцитами псевдоподий; фактор, препятствующий миграции макрофагов) или входящих в состав их анатомических структур (М-протеин стрептококков, капсульные вещества пневмококков и др.).

Таким образом, формирующийся при этих заболеваниях иммунитет зависит от уровня циркулирующих антител, содержания и активности компонентов комплемента, а также от функционального состояния фагоцитов.

К следующей группе бактериальных инфекций, со своими особенностями формирования иммунитета, относятся такие, возбудители которых являются внутриклеточными паразитами, способными длительно существовать внутри фагоцитов и даже размножаться в них (туберкулез, туляремия, бруцеллез, листериоз и др.). Тогда включается механизм клеточного иммунитета с активацией Th1-хелперов, ЦТЛ, макрофагов.

Противобактериальная защита слизистых оболочек обеспечивается IgA, которые препятствуют адгезии бактерий на эпителиоцитах.

Противовирусный иммунитет. В основе противовирусного иммунитета – клеточный иммунный ответ, действие которого направлено на инфицированные вирусом клетки-мишени (действие ЦТЛ, НК, фагоцитов). Внеклеточные вирусы (вирионы) нейтрализуются специфическими антителами, а также факторами врожденного иммунитета – сывороточными противовирусными ингибиторами. Слизистые оболочки защищены IgA, IgM. Противовирусную защиту усиливают интерфероны. Они индуцируют в клетках синтез ферментов, подавляющих репродукцию вируса, и оказывают иммуномодулирующее действие.

Противогрибковый иммунитет. Большую роль в противогрибковой защите играют защитные функции неспецифической резистентности (барьерные функции кожи, слизистых оболочек и их секреты на поверхности).

Основой специфического противогрибкового иммунитета является клеточный иммунитет. В тканях происходит фагоцитоз, развивается эпителиоидная гранулематозная реакция. Микозы, как правило, развиваются после длительной антибиотикотерапии или при иммунодефицитах (по полиморфноядерным лейкоцитам, Т-лимфоцитам, С3 компоненту комплемента). Снижение активности фагоцитов, низкая продукция ЦТЛ, Т-хелперов сопровождается развитием гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Антитела при микозах выявляют в низких титрах.

Противопротозойный иммунитет. На внеклеточные формы простейших действуют антитела (IgM, IgG). Иммунитет зависит от стадии развития паразитов. Паразит, имеющий различные стадии развития в организме, может ускользать от ранее образовавшихся антител (плазмодии малярии). Внутриклеточно расположенные простейшие уничтожаются за счет клеточного иммунитета. Фагоцитоз может быть незавершенным.

11.6. Серологические реакции

Серологические реакции (от лат *serum* – сыворотка, *logos* – учение) основаны на специфическом взаимодействии антигена с антителом с образованием видимого иммунного комплекса. Реакции проводят *in vitro*.

Серологические методы исследования применяются для:

- а) выявления с диагностической целью антител в сыворотке крови обследуемого;
- б) определения родовой, видовой и типовой принадлежности микроорганизма.

Как правило, в лаборатории такие реакции проводят *in vitro*, и проходят они в две фазы:

- 1) специфической;
- 2) неспецифической.

В специфическую фазу происходит специфическое взаимодействие антигена с антителом. А в неспецифическую – комплекс «антиген–антитело» проявляется в виде осадка, зоны помутнения и др. Эта фаза требует определенных условий (наличие электролита, оптимального pH среды).

В лабораторной практике применяют серологические реакции, основанные на прямом взаимодействии антигена с антителом (агглютинация, преципитация) и опосредованные реакции (реакция непрямой гемагглютинации, реакция связывания комплемента), а также реакции с использованием меченых антител или

антигенов (иммуноферментный, радиоиммунный анализ, метод флюоресцирующих антител).

Определение антител осуществляют с использованием известных антигенов. В качестве антигенов применяют *диагностикумы*, содержащие взвесь инактивированных микроорганизмов или их антигены. Как правило, результаты серологической диагностики получают при исследовании парных сывороток крови больных, взятых в первые дни болезни и через определенные промежутки времени от начала заболевания.

Определение возбудителя или его антигенов проводят с известными *диагностическими сыворотками*, содержат строго специфичные антитела.

Реакция агглютинации (РА)

Реакция агглютинации (от лат. *agglutinate* – склеивание) применяется в лабораторной практике для идентификации выделенных микроорганизмов или для обнаружения специфических антител в сыворотке крови.

Механизм реакции основан на взаимодействии детерминантных групп *корпускулярного* антигена с активными центрами иммуноглобулина в электролитной среде. Реакции протекают в две фазы – соединение антигена с антителом, вторая фаза – выделение в осадок образовавшегося комплекса АГ+АТ. (рис. 136).

Существуют два варианта постановки реакции агглютинации:

- пластинчатый (ориентировочный)
- пробирочный (развернутый).

Пластинчатая агглютинация является качественной реакцией и служит для предварительной идентификации микроорганизмов (рис. 137). Учет реакции агглютинации на стекле производится через 5–10 мин.

Пробирочная агглютинация используется для определения количественного содержания антител, при этом в пробирках ставится развернутая реакция агглютинации.

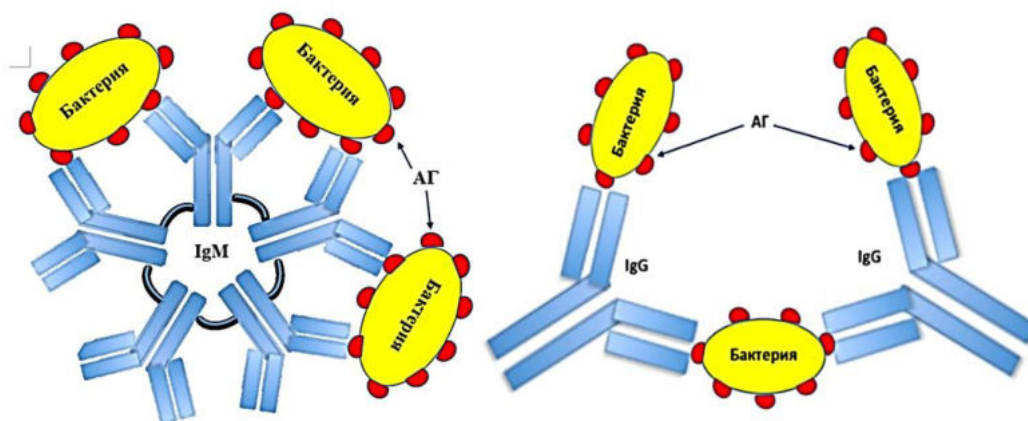


Рис. 136. Реакция агглютинации с IgM и IgG

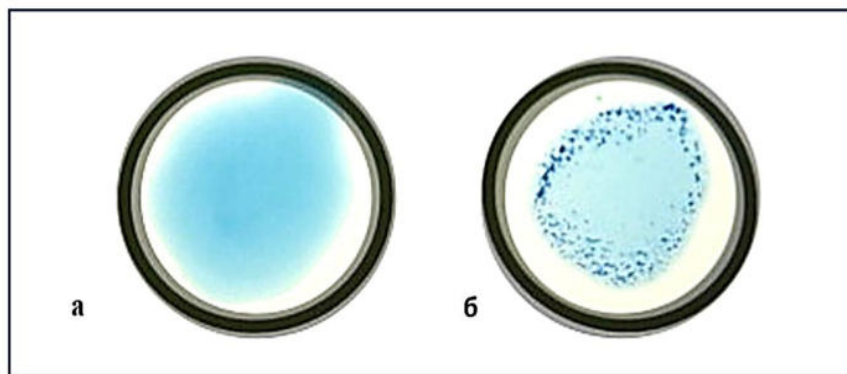


Рис. 137. Реакция агглютинации на стекле: отрицательная реакция (а); положительная реакция (б)

При положительной реакции на дне пробирки образуется осадок (агглютинат). За титр антител принимают последнее разведение, в котором наблюдается четкая агглютинация (рис. 138). Постановка РА должна сопровождаться контролем сыворотки и антигена. Учет пробирочной реакции агглютинации проводят через 18–20 ч.

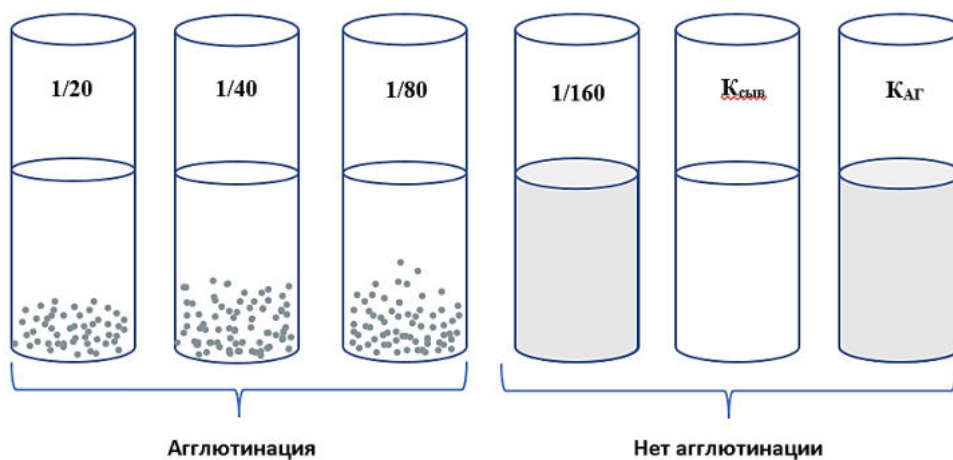


Рис. 138. Развернутая реакция агглютинации

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)

Непрямые (опосредованные) реакции агглютинации основаны на взаимодействии специфических антител с мелкодисперсными антигенами, которые адсорбированы на корпускулярных носителях (эритроцитах, шариках латекса, клеток стафилококков). В зависимости от корпускулярного носителя различают следующие реакции:

- реакция непрямой гемагглютинации (РНГА);
- реакция латекс агглютинация (Латекс-агглютинация);
- реакция коагглютинации (РКоА).

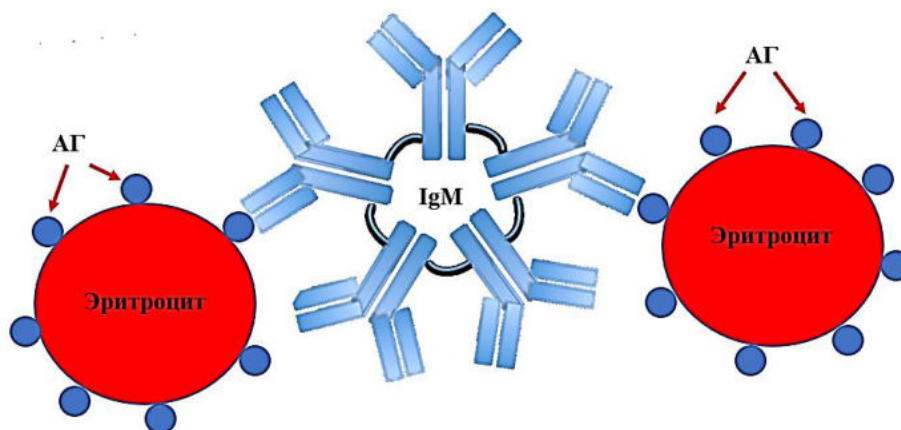


Рис. 139. Реакция не прямой (пассивной) гемагглютинации с антигенным эритроцитарным диагностикумом

РНГА применяют в двух вариантах: с известными антигенами для обнаружения антител или с известными антителами для выявления антигенов. Эта реакция специфична и применяется для диагностики заболеваний, вызванных бактериями и риккетсиями. Для постановки РНГА используют эритроцитарные диагностикумы, приготовленные путем адсорбции на эритроцитах антигенов или антител в зависимости от цели исследования (рис. 139).

Реакцию ставят в специальных полистироловых пластинах с лунками.

В положительных случаях осадок имеет вид тонкой пленки с фестончатыми кружевными краями из склеивающихся эритроцитов, покрывающих дно лунки («зонтик»). За титр принимают максимальное разведение исследуемого материала, вызывавшее агглютинацию эритроцитов (рис. 140).

Наличие в сыворотке больного «нормальных» (перекрёстно реагирующих) антител обуславливает ложноположительные результаты в реакции агглютинации (РНГА, РКоА, латекс-агглютинации). Для предотвращения этого было введено понятие диагностического титра. *Диагностический титр антител* – это пограничное разведение сыворотки, при котором агглютинацию в большей степени уже обуславливают специфические антитела. Величина диагностического титра зависит от возбудителя и вида серологической реакции. Так, для сыпного тифа диагностический титр реакции агглютинации составляет 1:100, для брюшного тифа 1:200, а для не прямой гемагглютинации при брюшном тифе 1:40. Основанием для того считать реакцию положительной, является превышение диагностического титра при постановке реакции не менее чем в 2–4 раза.

Ложноположительная реакция в диагностическом титре (и выше) может получиться в случае, если человек уже болел тем инфекционным заболеванием, диагностика которого проводится на данный момент. Чтобы исключить такой ре-

зультат серологические реакции ставятся с *парными сыворотками*. Для ее осуществления сыворотку больного исследуют дважды с интервалом от 7 до 14 дней. При текущем заболевании титр реакции будет нарастать, в случае перенесенного заболевания титр останется неизменным. При исследовании парных сывороток диагностически значимым считается нарастание титра не менее чем в 4 раза.

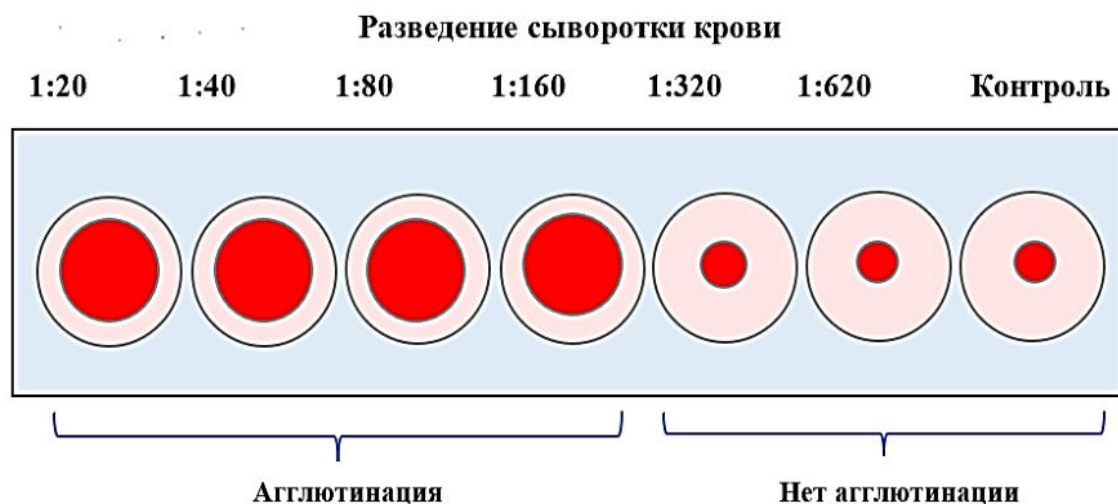


Рис. 140. Постановка и учет РНГА

Реакция преципитации (РП)

Феномен преципитации (от лат. *praecipito* – осаждать) заключается во взаимодействии *мелкодисперсных* антигенов (преципитиногенов) с соответствующими антителами (преципитинами) и образованием преципитата. То есть, в отличие от реакции агглютинации в данном методе антиген имеет молекулярную формулу и образует прозрачный раствор.

Постановку РП осуществляют двумя методами: в жидкой среде – по типу реакции флоккуляции, кольцепреципитации или в плотной среде в ага-ре (геле). РП применяют в двух целях: выявление антигенов по известной преципитирующей сыворотке или антител с использованием известных антигенов. Существует много вариантов постановок реакции, но чаще всего используют следующие методики: реакция преципитации в геле по Оухтерлони, радиальная иммунодиффузия по Манчини, реакция иммуноэлектрофореза, реакция флоккуляции, кольцепреципитации.

Реакция преципитации в геле по Оухтерлони. Для постановки реакции используют 1% агар Дифко, который разливают расплавленным на предметные стекла или чашки Петри слоем толщиной 0,5 см. В застывшем агаре вырезают лунки диаметром 5 мм специальным приспособлением. В одну лунку помещают взвесь, содержащую исследуемый антиген, в другую – преципитирующую сыво-

ротку. Антиген и антитела диффундируют в питательную среду, вступают в иммунную реакцию и образуют полосы преципитации. Учет реакции проводят предварительно через 4 ч, окончательно – через 24–48 ч. У многокомпонентных систем появляются несколько линий преципитата (рис. 141).

Реакцию Оухтерлони можно использовать для определения токсигенных штаммов бактерий, титра антител, активности стандартных диагностикумов или иммунных специфических сывороток.

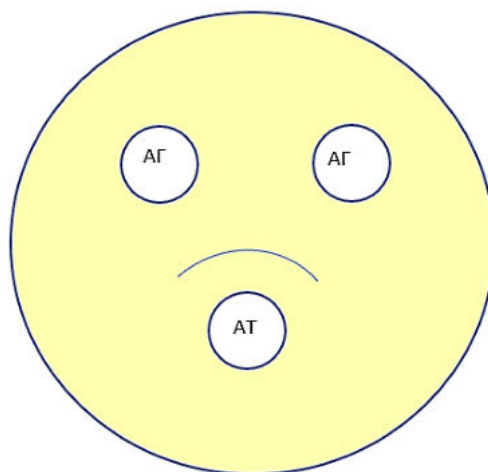


Рис. 141. Реакция преципитации в геле по Оухтерлони: лунка с иммунной сывороткой

Реакция кольцепреципитации. Данную реакцию применяют для выявления антигенов с помощью преципитирующей сыворотки, содержащей специфические антитела. Это качественный метод исследования. Реакцию проводят путем наслаивания на иммунную сыворотку среды, содержащей определенный антиген. Реакцию ставят в узких пробирках объемом 0,1–0,5 мл. В случае соответствия антигена и антитела на границе между ними через 3–5 мин образуется мутное опалесцирующее кольцо преципитации (рис. 142).

Необходимым условием образования нерастворимого иммунного комплекса является эквивалентное соотношение антигенов и антител.

Реакция иммуноэлектрофореза (ИЭФ). В основе реакции лежит принцип преципитации. ИЭФ, как правило, используется для исследования антигенной структуры микроорганизмов. Реакцию проводят в два этапа. Вначале проводят электрофоретическое разделение антигена в забуференном агаровом геле. Антигенный комплекс помещают в лунку, которая находится в центре геля, залитого на стеклянную пластинку. Затем через гель пропускают электрический ток, в результате происходит перемещение антигенов на неодинаковые расстояния соответственно своей электрофоретической подвижности (рис. 143-I). После этого в

канавку, которая расположена по краю пластинки, вносят специфическую иммунную сыворотку и помещают во влажную камеру (рис. 143-II). Антигены и антитела диффундируют в геле навстречу друг другу. В месте их соприкосновения образуются дугообразные линии преципитации (рис. 143-III).

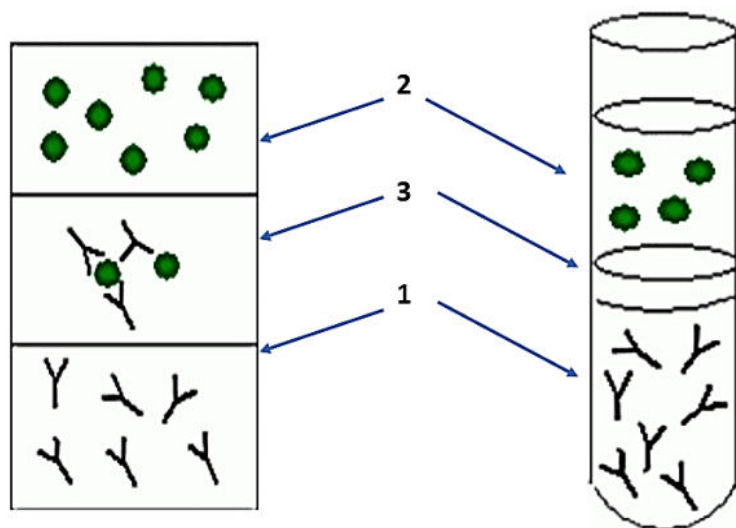


Рис. 142. Реакция
кольцеприце-
питации:
1 – преципитирующая сыво-
ротка, 2 – материал с анти-
геном, 3 – кольцо преципи-
тации

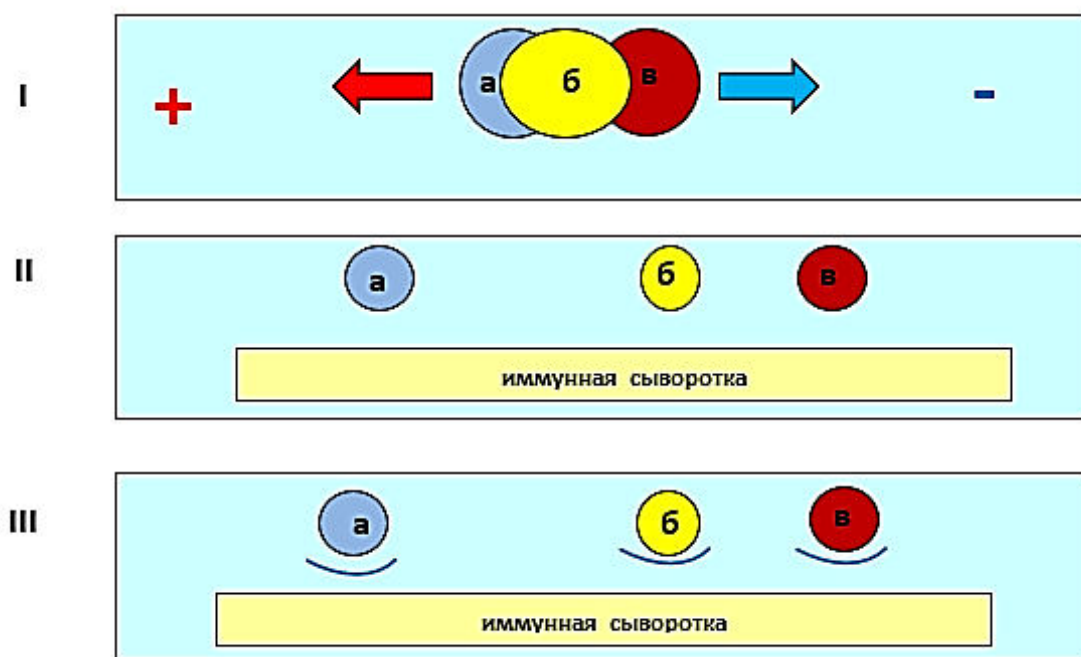


Рис. 143. Реакция иммуноэлектрофореза с различными антигенами (а, б, в)

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)

РИФ основана на соединении антигенов бактерий, риккетсий и вирусов со специфическими антителами, мечеными флюоресцирующими красителями (флуоресцеинизотиоцианат, родамин, В-изотиоцианит, лиссатин-родамин В-200,

сульхохлорид и др.), имеющими реакционноспособные группы (сульхохлорид, изотиоцианит и др.). Эти группы соединяются со свободными аминогруппами молекул антител, которые не теряют при обработке флуорохромом специфического сродства к соответствующему антигену. Образовавшиеся комплексы АГ–АТ становятся хорошо видимыми, ярко светящимися структурами под люминесцентным микроскопом (рис. 144).

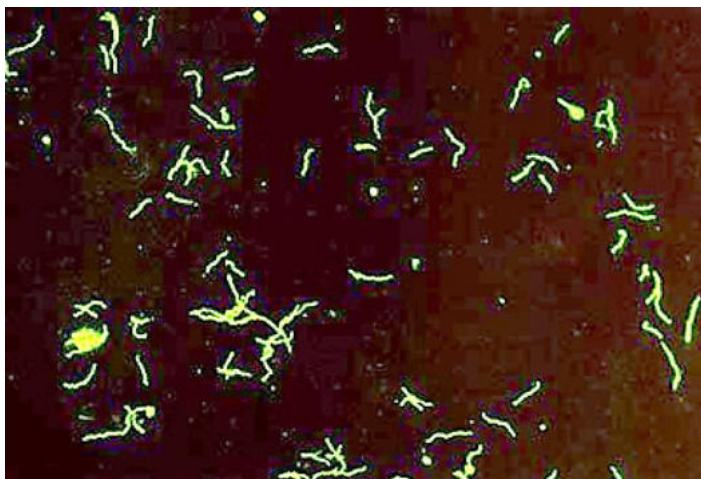


Рис. 144. РИФ при диагностике сифилиса

С помощью РИФ можно обнаруживать небольшие количества бактериальных и вирусных антигенов. Различают прямую и непрямую РИФ.

Прямой метод основан на непосредственном соединении антигена с меченым антителом.

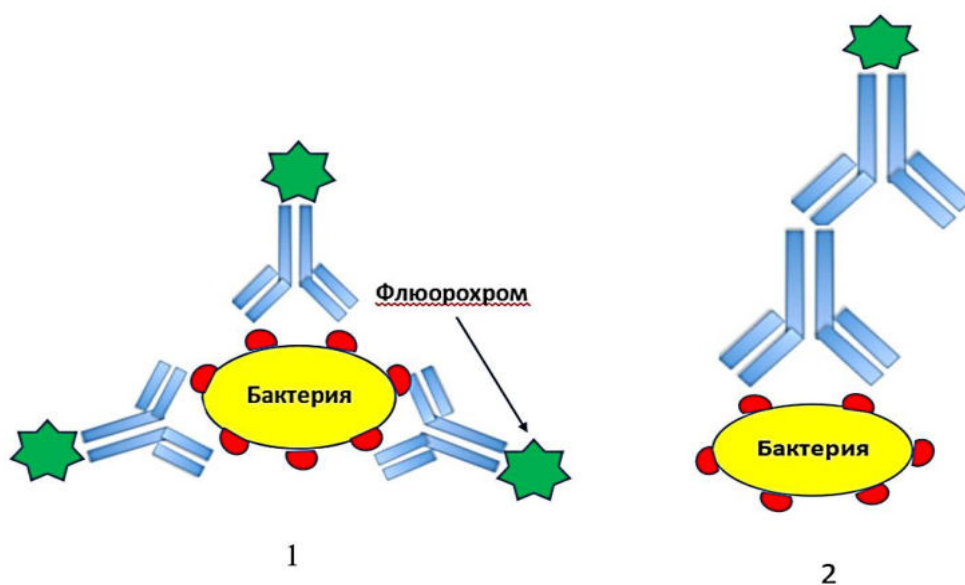


Рис. 145. Реакция иммунофлуоресценции: 1 – прямая РИФ, 2 – непрямая РИФ

Непрямой метод заключается в поэтапном выявлении комплекса АГ–АТ с помощью флуоресцентных красителей. Первый этап заключается в образовании

иммунных комплексов определенного антигена со специфическими антителами. Второй этап – в выявлении этого комплекса путем обработки его меченым антигаммаглобулином (рис. 145).

Преимущество не прямой РИФ в том, что она улучшает выявление слабо выраженных антигенов. Непрямой метод РИФ применяют также и для выявления антител в сыворотке больного.

Простота, высокая чувствительность, скорость получения результата РИФ позволяет использовать её, как метод ранней экспресс-диагностики гриппа, дизентерии, малярии, чумы, туляремии, сифилиса и др. Для проведения такого исследования используется люминесцентный микроскоп.

Иммуноферментный анализ (ИФА)

Метод используется для выявления антигенов или антител с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом-меткой (пероксидазой хрена, β -галактозой или щелочной фосфатазой). После соединения антигена с меченой ферментом иммунной сывороткой в смесь добавляют субстрат и хромоген.

Субстрат расщепляется ферментом, а его продукты деградации вызывают химическую модификацию хромогена. При этом хромоген меняет свой цвет – интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител.

Наиболее распространен твердофазный ИФА, при котором один из компонентов иммунной реакции (антиген или антитело) сорбирован на твердом носителе (рис.146). В качестве твердого носителя используются микропанели из полистирола.

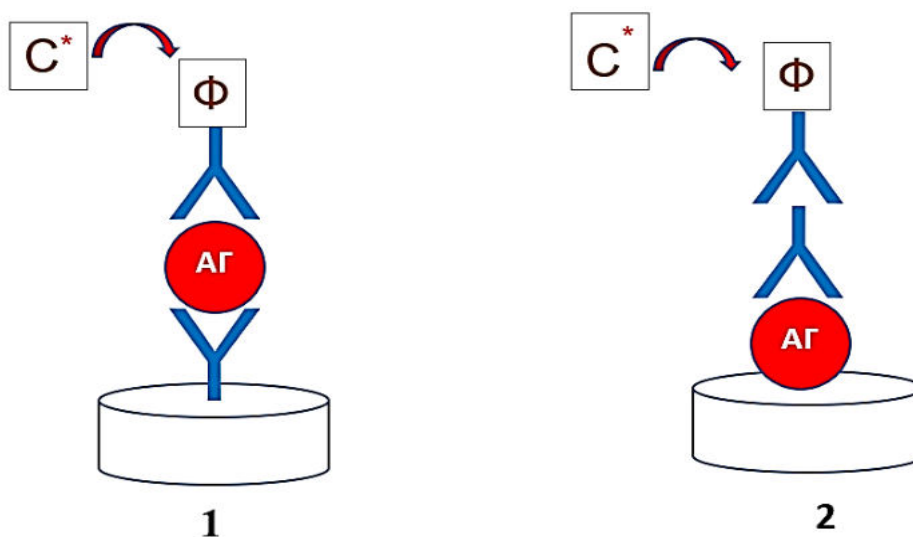


Рис. 146. ИФА: 1 – определение антигена в исследуемом материале; 2 – определение антител в исследуемой сыворотке. АГ-антиген, Ф-фермент, С* – субстрат, меченый хромогеном

При определении антигена твердофазный носитель связывают с антителом. В лунки с сорбированными антителами вносят искомым антиген, добавляют иммунную сыворотку против антигена, меченную ферментом, а за тем – смесь растворов субстрата для фермента и хромогена.

При определении антител в лунки с сорбированным антигеном последовательно добавляют сыворотку крови больных, антиглобулиновую сыворотку, меченную ферментом и смесь растворов субстрата для фермента и хромогена. Каждый раз после добавления очередного компонента из лунок удаляют не связавшиеся реагенты путем тщательного промывывания. При положительном результате изменяется цвет раствора хромогена.

ИФА применяют для диагностики заболеваний, вызванных вирусными и бактериальными возбудителями.

Иммуноблоттинг (ИБ)

Иммуноблоттинг или вестернблоттинг (от англ. *blot* – пятно) – высокочувствительный метод выявления белков-антигенов или антител к ним, сочетает электрофорез и ИФА или радиоиммунный анализ (РИА).

Антигены возбудителя разделяют электрофорезом в полиакриамидном геле, затем переносят на активированную бумагу или нитроцеллюлозную мембрану (пленку), после чего выявляют их или антител к ним с помощью ИФА (рис. 147).

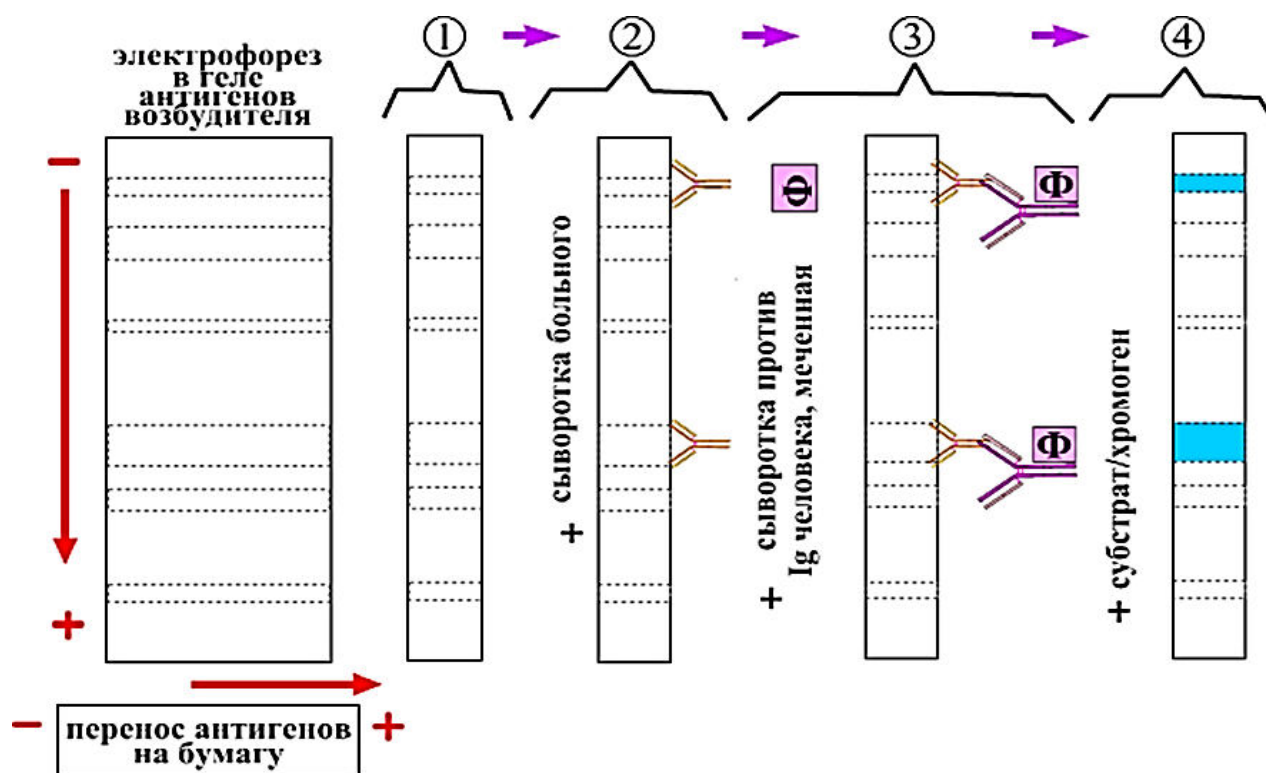


Рис. 147. Иммуноблоттинг: этапы (1–4) выявления антител к антигенам возбудителя в сыворотке больного

11.7. Аллергия

Аллергия (от греч. *allos* – другой) – специфическая повышенная чувствительность к антигенам, возникающая и развивающаяся в результате неадекватной реакции иммунной системы, сопровождающаяся повреждением структуры и функций клеток, тканей, органов. Антигены, вызывающие аллергические реакции, названы *аллергенами*. Выделяют аллергены:

- ингаляционные (пыльца растений, эпидермальные антигены, пыль и др.);
- пищевые (яйца, шоколад, орехи и др.);
- лекарственные (антибиотики, гормоны, витамины и др.);
- инфекционные (антигены бактерий, грибов, простейших);
- промышленные (полимеры, пестициды, металлы и др.).

Для формирования аллергии необходима предварительная сенсibilизация макроорганизма аллергеном. *Сенсibilизация* – это процесс приобретения организмом повышенной чувствительности к аллергену. Доза аллергена, вызывающая сенсibilизацию, называется *сенсibilизирующей*. Повторное введение того же антигена через определенный промежуток времени вызывает аллергическую реакцию. Дозу антигена, вызывающую аллергическую реакцию, называют *разрешающей*.

Аллергия может проявляться по типу *гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ)* и *гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)*.

Гиперчувствительность немедленного типа обусловлена антителами IgE, IgG, IgM. Развивается в течение нескольких минут, часов. Десенсibilизация возможна.

Гиперчувствительность замедленного типа обусловлена макрофагами и Th1-лимфоцитами, которые отвечают за стимуляцию клеточного ответа. Развивается главным образом в течение 1–3 сут. после контакта с аллергеном. Десенсibilизация невозможна.

По механизму выделяют следующие типы аллергических реакций (классификация по P. Gell и R. Coombs, 1963):

- I. Анафилактический.
- II. Цитотоксический.
- III. Иммунокомплексный.
- IV. Клеточно-опосредованный.

I, II и III типы гиперчувствительности относятся к ГНТ, IV – к ГЗТ.

В развитии аллергических реакций развиваются выделяют следующие стадии:

1. Иммунологическая стадия.
2. Патохимическая стадия.

3. Патофизиологическая стадия.

Иммунологическая стадия. Во время этого этапа происходит ответ на внедрение аллергена (образование антител и/или сенсibilизированных лимфоцитов и соединение их с повторно поступившим или персистирующим в организме аллергеном).

Патохимическая стадия (биохимическая) характеризуется выделением биологически активных веществ (БАВ), медиаторов аллергии: гистамина, серотонина, брадикинина, ацетилхолина, гепарина.

Патофизиологическая стадия (стадия функциональных и структурных нарушений) является результатом действия БАВ на ткани-эффекторы. Данная стадия характеризуется расстройством кроветворения, спазмом гладкой мускулатуры бронхов, кишечника, изменением состава сыворотки крови, нарушением ее свертываемости, цитолизом клеток и др. Патофизиологическая стадия обуславливает клиническое проявление аллергической реакции

I тип аллергических реакций (анафилактический, реактивный)

Механизм развития аллергической реакции I типа опосредован АТ-реактивами, относящимся к классам IgE и IgG4, которые образуются при первичном контакте с аллергеном. Они прикрепляются Fc-фрагментом к тучным клеткам и тканевым базофилам. При повторной встрече организма и аллергена происходит перекрестное связывание аллергена с IgE, IgG4. Это приводит к дестабилизации цитоплазматической мембраны клеток и выбросу биологически активных веществ: гистамина, гепарина, простагландинов, цитокинов, ферментов и т.д. (рис. 148). Ответ на аллерген развивается стремительно, в течение 5–10 мин.

Биологически активные медиаторы вызывают сокращение гладких мышц, ослабление сердечной деятельности, развитие коллапса, повышение проницаемости кровеносных сосудов, отек, зуд и др.

Клинические проявления. Важнейшей особенностью клинических проявлений аллергической реакции I типа является то, что они развиваются, как правило, на фоне атопии.

Атопия (от греч. *atopia* – странность, необычность) – наследственная предрасположенность к развитию ГНТ. Атопия обусловлена:

- повышенной выработкой IgE к аллергенам;
- повышенным количеством Fc-рецепторов для этих антител на тучных клетках;
- повышенной проницаемостью тканевых барьеров.

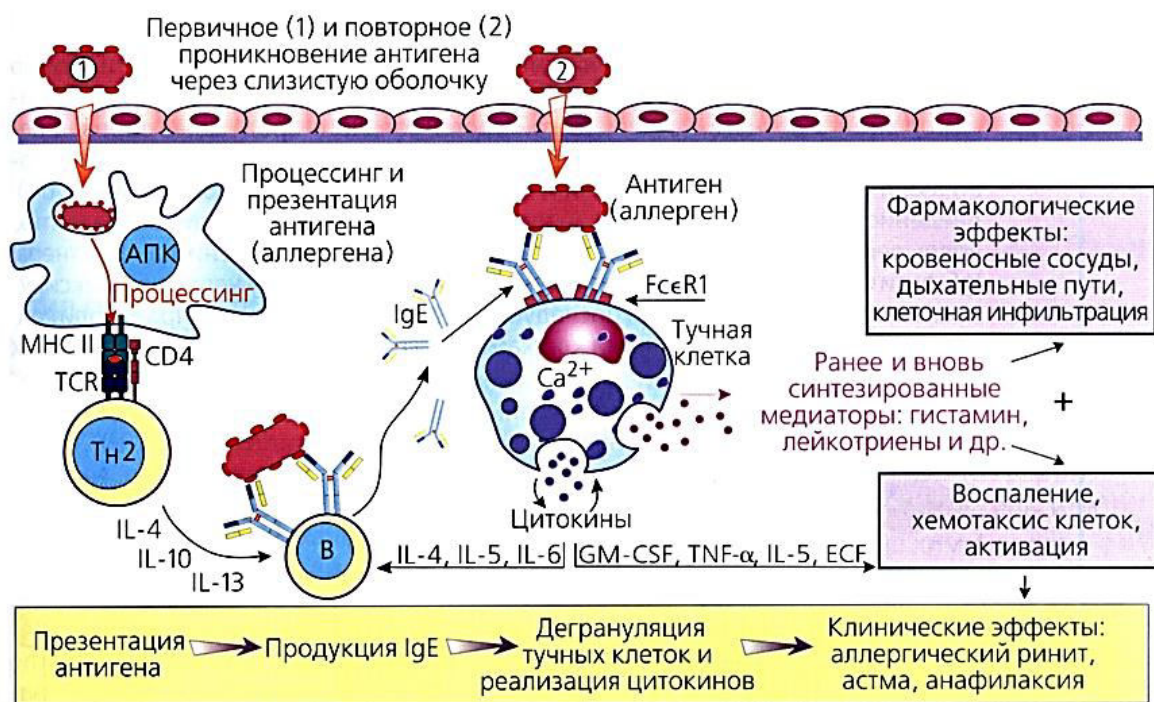


Рис. 148. Механизм I типа гиперчувствительности

Аллергия I типа проявляется в виде крапивницы, ринита, риноконъюнктивита, поллинозов, пищевой аллергии. Может появиться бронхиальная астма. Самое опасное развитие аллергической реакции – анафилактический шок, который протекает остро с развитием коллапса, отеков, спазма гладкой мускулатуры. Часто заканчивается смертью.

Анафилаксия может пассивно переноситься от больного человека к здоровому с помощью IgE-антител к аллергену. Этот феномен получил название реакция Прауснитца-Кюстнера.

Лабораторная диагностика. Определение в сыворотке: общего IgE; IgE и IgG к предполагаемым аллергенам; уровня гистамина, интерлейкинов (ИЛ-4, 5). Постановка провокационных назальных, ингаляционных тестов. Кожные тесты (скарификационные пробы) проводят с атопическими аллергенами (бытовыми, пищевыми, пылевыми и др.).

II тип аллергических реакций (цитотоксический или цитолитический)

Цитотоксический тип обусловлен фиксированными на мембране клетки эндогенными антигенами или экзогенными антигенами (химические вещества, лекарственные препараты), которые взаимодействуют с антителами (IgG или IgM). Затем происходит цитолиз клеток в результате:

- активации системы комплемента (комплементзависимый цитолиз),
- иммунного фагоцитоза,

- развития антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ), которая осуществляется НК-клетками.

Комплементзависимый цитолиз. Антитела взаимодействуют с антигенами на поверхности клеток. Затем к Fc-фрагменту антител присоединяются компоненты комплемента, происходит активация по классическому пути с образованием анафилатоксинов (C3a, C5a) и мембранатакующего комплекса (МАК). Происходит комплементзависимый лизис клетки.

Иммунный фагоцитоз. В результате взаимодействия антител с антигенами клетки-мишени, участия комплемента (опсонина C3b) происходит ее опсонизация, что усиливает поглощение такого объекта фагоцитами (рис. 149).

Антителозависимая клеточная цитотоксичность. Опсонизированные антителами клетки-мишени взаимодействуют с НК-клетками через Fc-фрагмент антител. После этого НК «высвобождают» перфорины и гранзимы, с помощью которых происходит лизис клетки-мишени (рис. 150).

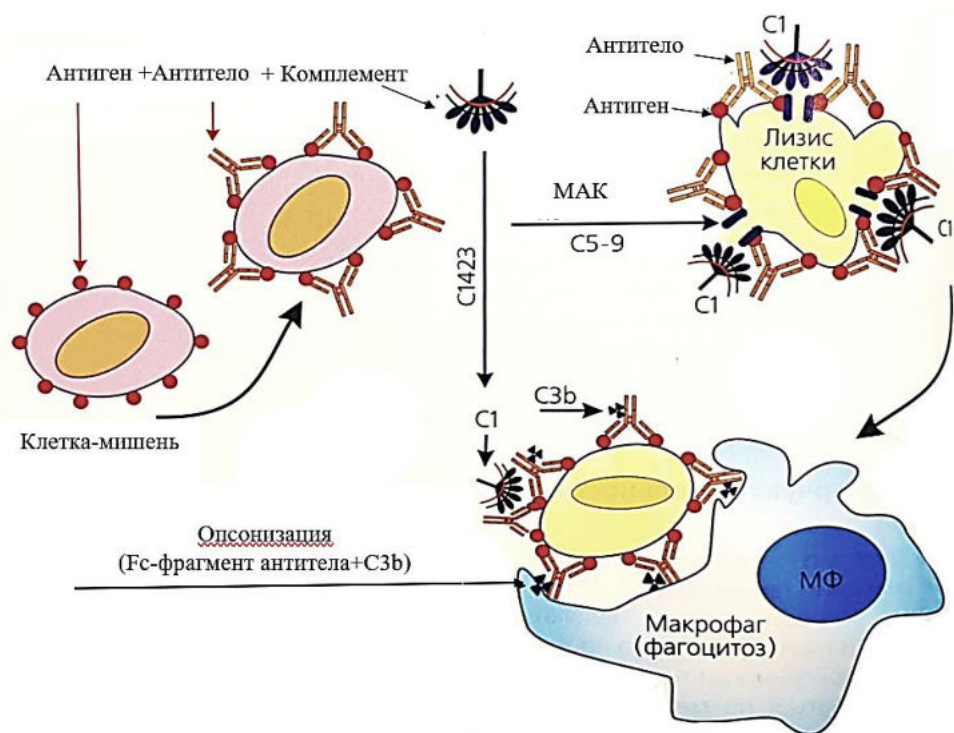


Рис. 149. Комплементзависимый цитолиз и фагоцитоз

Клинические проявления. По цитотоксическому типу могут развиваться лекарственно-индуцируемая гемолитическая анемия и тромбоцитопения, так как появляющиеся антитела лизируют клетки (эритроциты, тромбоциты), которые содержат этот антиген. II тип аллергической реакции лежит в основе некоторых аутоиммунных болезней: злокачественная миастения, вульгарная пузырчатка, синдром Гудпасчера, аутоиммунный гипертериоз.

Лабораторная диагностика включает: определение циркулирующих противотканевых антител, определение при помощи РИФ наличия антител и комплемента в поврежденных участках (биопсия).

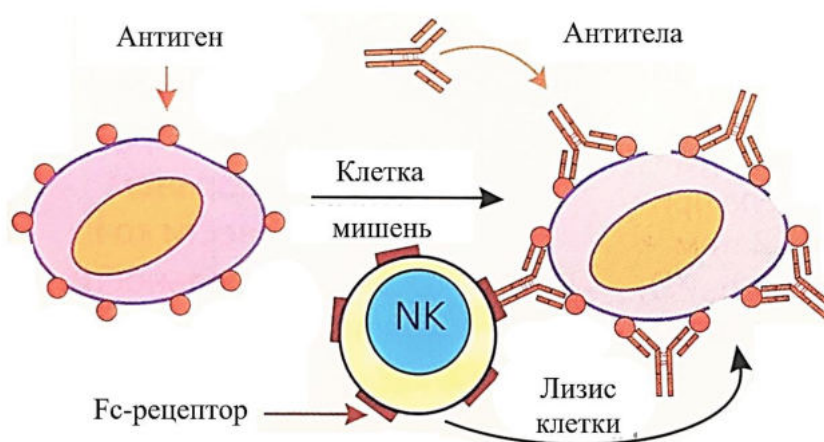


Рис. 150. Антителзависимая клеточная цитотоксичность

III тип аллергических реакций (иммунокомплексный)

Механизм развития основан на образовании растворимых иммунных комплексов (антиген-антитело-комплемент) с участием IgG, реже – IgM. III тип аллергии инициируется избытком антигенов или недостатком комплемента. Антигены могут быть экзогенными (хронические бактериальные, вирусные, грибковые, протозойные инфекции) или эндогенными. Образовавшиеся иммунные комплексы откладываются на структурах, которые имеют Fc-рецепторы (стенки сосудов, базальные мембраны и др.) (рис. 151).

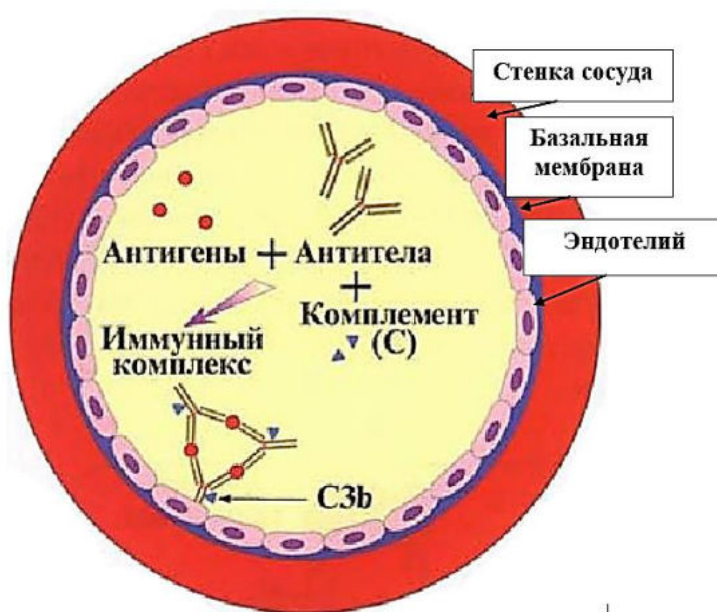


Рис. 151. Отложение иммунных комплексов в стенках кровеносных сосудов

В условиях значительного избытка антигенов такие иммунные агрегаты обладают токсическим действием. Активация комплемента в местах отложения комплексов приводит к появлению анафилотоксинов (C3a, C3b, C5a), которые меняют проницаемость сосудов, привлекают полиморфноядерные лейкоциты, способствуют развитию воспаления. При повреждении гранулоцитов высвобождаются протеолитические ферменты, разрушающие ткани организма, вазоактивные амины (гистамин и др.) (рис. 152). Появляются противовоспалительные противовоспалительные цитокины, включая ФНО-α и хемокины. На поздних стадиях в процесс вовлекаются макрофаги

Клинические проявления. Реакция может общей (сывороточная болезнь) или ограничиться отдельными органами (волчаночный нефрит, васкулит, аспергиллез), тканями (системная красная волчанка, реакция Артюса).

Лабораторная диагностика. Определяют с помощью РИФ отложения иммуноглобулинов и комплемента в биоптатах тканей. В иммунных комплексах, осажденных полиэтиленгликолем из крови, определяют IgG.

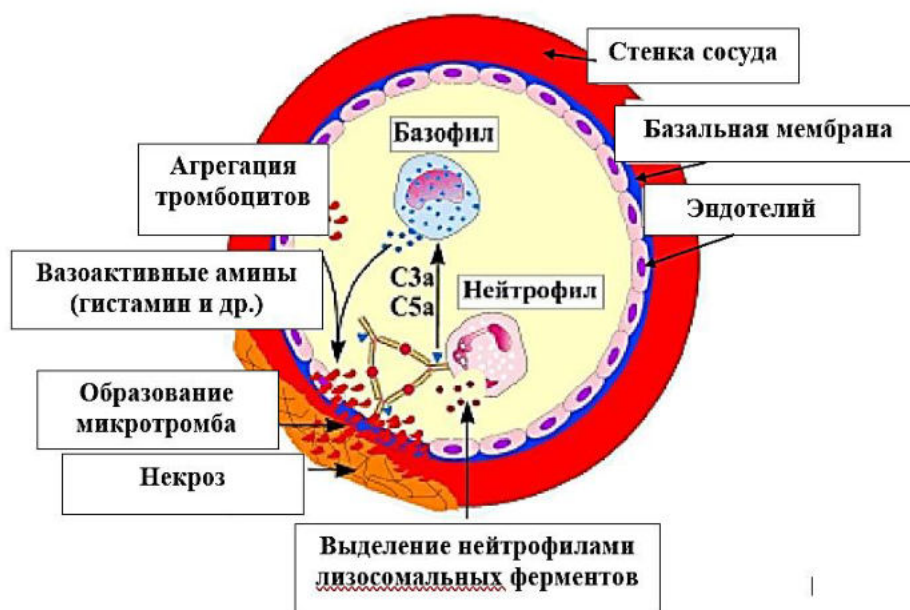


Рис. 152. Повреждение стенок кровеносных сосудов

IV тип аллергических реакций (клеточно-опосредованные)

Механизм развития IV типа аллергии, в отличие от реакций I, II и III типов, не связан с антителами, а обусловлен *Th1-лимфоцитами и макрофагами*, а также цитокинами, секретируемыми этими клетками. Реакция развивается через 1–3 сут. после повторного воздействия аллергена: происходит уплотнение и воспаление ткани в результате инфильтрации Т-лимфоцитами (Th1) и макрофагами.

Известны три типа реакции гиперчувствительности замедленного типа: *туберкулиновая, контактная и гранулематозная*. Первые две развиваются в течение 2–3-х суток, то гранулематозная реакция – через 21–28 суток.

Вариант гиперчувствительности во многом определяется химической природой антигена.

Контактная гиперчувствительность развивается, как правило, при попадании в организм липофильных гаптенов (химические вещества, ионы металлов), водорастворимые иммуногены будут вызывать развитие гиперчувствительности туберкулинового типа. При неспособности макрофагов разрушить поглощенный антиген развивается гранулематозная гиперчувствительность (возбудители туберкулеза, некоторые грибки и др.).

Механизм развития ГЗТ можно рассмотреть на примере контактной гиперчувствительности, где аллергены - синтетические соединения, в состав которых входят хром, никель, кобальт, динитрохлорбензол и др., являющиеся гаптенами, которые не могут самостоятельно вызвать иммунный ответ (рис. 153).

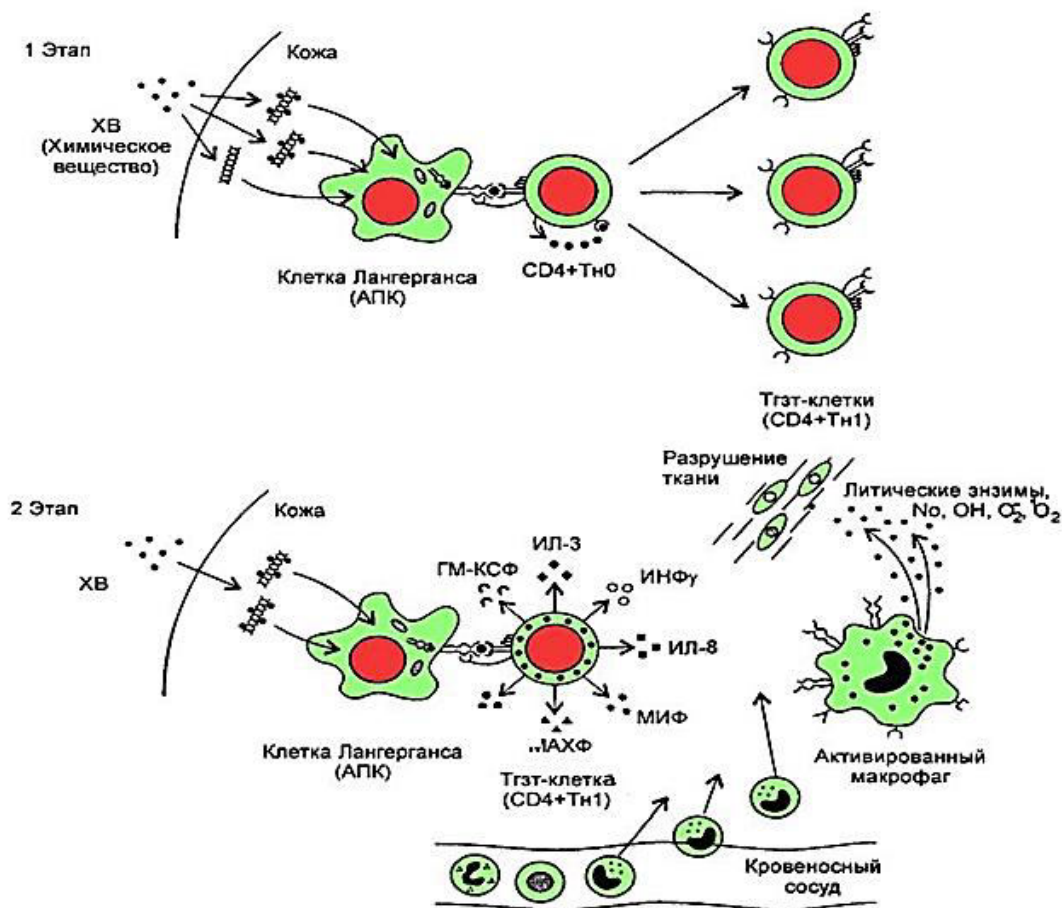


Рис. 153. Развитие ГЗТ на примере контактной гиперчувствительности (<https://konspekta.net>)

Проникая через кожу, они связываются с белками и формируют макромолекулы со свойствами полноценного антигена. В результате первой встречи аллергена с организмом происходит поглощение его макрофагами, и последующая презентация приводит к активации Т-лимфоцитов, формированию пула сенсibilизированных Т-лимфоцитов (пролиферации и дифференцировки этих клеток).

Эти клетки являются субпопуляцией Th1-клеток и формируются из Th0-клеток (CD4+-клетки). В ряде случаев пул сенсibilизированных Т-клеток включает Т-цитотоксические лимфоциты (CD8+-клетки).

Повторный контакт сенсibilизированных Т-лимфоцитов ГЗТ с тем же аллергеном приводит к их активации и продукции большого спектра цитокинов: ИНФγ, ИЛ-2, ФНОβ, ИЛ-3, ГМ-КСФ и хемокинов: ИЛ-8, МИФ (фактор ингибции миграции макрофагов), МАХФ (факторы активации и хемотаксиса макрофагов). Под влиянием этих факторов происходит концентрация макрофагов в месте нахождения аллергена и стимуляция их функциональной (фагоцитарной и антигенпрезентирующей) способности и метаболической активности. Под влиянием аллергена и цитокинов макрофаги продуцируют в окружающую ткань литические ферменты, кислородные радикалы, оксид азота, активные формы кислорода и другие биологические активные вещества. Воздействие этих веществ на ткань (кожу) приводит к развитию воспаления и местного дегенеративно-деструктивного процесса.

Известны три формы гиперчувствительности IV типа. Это туберкулиновая, контактная и гранулематозная (табл. 5).

Вариант гиперчувствительности во многом определяется химической природой антигена. Контактная гиперчувствительность развивается, как правило, при попадании в организм липофильных гаптенов, водорастворимые иммуногены, наоборот, будут вызывать развитие гиперчувствительности туберкулинового типа. При неспособности макрофагов разрушить поглощенный антиген развивается гранулематозная гиперчувствительность. К важнейшим заболеваниям с гранулематозными реакциями относятся туберкулез, бруцеллез, туляремия, болезнь Крона и др. Активация макрофагов лимфоцитами может способствовать ограничению инфекции, но постоянная стимуляция способна приводить к повреждению тканей.

Таблица 5

Формы гиперчувствительности IV типа

Форма ГЗТ	Время реакции	Гистология	Клиника
Контактная	48–72 ч	Лимфоциты, позднее – макрофаги	Экзема, отеки
Туберкулиновая	48–72 ч	Лимфоциты, моноциты, макрофаги	Местная индукция (уплотнение)
Гранулематозная	21–28 сут	Макрофаги, эпителиоидные клетки, гигантские клетки; фиброз	Уплотнение (образование гранулем) в коже, легких и др.

Лабораторная диагностика заключается в постановке кожных тестов (внутрикожные пробы с аллергенами). Для инфекционных болезней с развитием клеточно-опосредованного типа аллергической реакции при диагностике используют кожно-аллергические пробы с аллергенами возбудителей: туберкулином, бруцеллином, тулярином и др. Возможно, гистологическое изучение кожи.

Раздел 12. ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Иммунопрофилактика – создание искусственного активного или пассивного иммунитета к возбудителю инфекционной болезни, его антигену с целью предупреждения возможного соответствующего заболевания.

Иммунотерапия инфекционных заболеваний – введение с лечебными целями иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП).

Иммунобиологические лекарственные препараты – лекарственные препараты биологического происхождения, предназначенные для формирования активного или пассивного иммунитета или для диагностики инфекционных заболеваний. Их подразделяют на:

- профилактические;
- лечебно-профилактические;
- лечебные;
- диагностические.

ИЛП могут содержать живые или инактивированные микробы (бактерии, вирусы), их антигены; специфические антитела; цитокины; бактериофаги; микроорганизмы нормальной микрофлоры человека.

По составу все иммунобиологические препараты можно подразделить на две группы.

Препараты, содержащие антигены:

- вакцины;
- анатоксины;
- диагностикумы, эритроцитарные диагностикумы;
- пробиотики, симбиотики, синбиотики;
- аллергены;
- бактериофаги.

Препараты, содержащие антитела:

- лечебно-профилактические сыворотки;
- лечебно-профилактические иммуноглобулины;
- диагностические сыворотки.

Отличительной чертой всех перечисленных препаратов, кроме пробиотиков и иммуномодуляторов, является их специфичность, что отличает иммунобиологические препараты от других лекарственных средств.

12.1. Вакцины

Вакцины относятся к наиболее распространенным и широко применяемым иммунобиологическим препаратам. Вакцинация основана на способности организма формировать приобретенный иммунитет и иммунологическую память в отношении возбудителя.

Вакцины относятся к сложным иммунобиологическим препаратам. В их состав, кроме активного начала – антигена, входят его стабилизаторы, вещества, активирующие действие антигена, адъюванты, а также консерванты. В качестве действующего начала в вакцинах используют:

- живые ослабленные возбудители;
- инаktivированные тем или иным способом цельные возбудители;
- отдельные антигенные компоненты возбудителей, так называемые *протективные антигены*;
- вторичные, продуцируемые микробной клеткой метаболиты, играющие патогенетическую роль в инфекционном процессе и иммунитете, например, токсины и их обезвреженные дериваты – *анатоксины*;
- полученные генно-инженерным способом или химическим синтезом молекулярные антигены – аналоги природных антигенов бактерий и вирусов.

Живые ослабленные (аттенуированные) вакцины возбудителей инфекционных заболеваний, которые потеряли вирулентные свойства, но сохранили способность индуцировать выработку иммунитета (вакцинные штаммы). Снижение вирулентности осуществляется следующими основными методами:

- а) культивирование бактерий на средах с измененным составом или температурой (вакцины против туберкулеза, сибирской язвы, чумы, туляремии);
- б) пассаж микроорганизма в организме невосприимчивых или мало восприимчивых животных (антирабическая вакцина);
- в) создание в лабораторных условиях штаммов – рекомбинантов.

Кроме этих методов используется выявление и селекция штаммов возбудителей, потерявших в естественных условиях вирулентность для человека. Живые вакцины вызывают субклиническое заболевание и обеспечивают эффективную защиту. В тоже время они могут стать причиной тяжелых персистентных инфекций, вызывать поражение генетического аппарата клеток. Поэтому при иммунизации людей с иммунодефицитными состояниями необходима максимальная осторожность.

Живые дивергентные вакцины созданы на основе дивергентных штаммов. Такие штаммы микроорганизмов находятся в близком антигенном родстве с возбудителями инфекционных заболеваний. Антигены таких микроорганизмов

формируют иммунный ответ, перекрестно направленный на антигены возбудителя. Наиболее известны и длительно применяются дивергентная вакцина против натуральной оспы, полученная впервые Дженнером из вируса коровьей оспы.

Живые вакцины, не обладающие патогенностью, но сохранившие специфическую антигенность при введении в организм, вызывают так называемый *вакцинальный процесс*. Этот процесс заключается в размножении в организме вакцинного штамма и воздействии его на иммунокомпетентные клетки. Результатом этого является формирование специфического иммунитета к возбудителю данной инфекционной болезни. Иммунитет, развивающийся после прививок большинством живых вакцин, сохраняется значительно дольше, чем после инаktivированных. Так, после однократного введения коревой, краснушной и паротитной вакцин, продолжительность иммунитета достигает 20 лет, вакцины желтой лихорадки – 10, туляреминой – 5 лет.

Живые вакцины получают путем культивирования вакцинного штамма в производственных условиях на питательных средах и субстратах, обеспечивающих культивируют на жидких или плотных искусственных питательных средах, вирусные вакцинные штаммы – на куриных эмбрионах или в культурах клеток. Полученную таким образом чистую культуру вакцинного штамма дозируют по числу бактерий или вирусов и подвергают лиофильной сушке вместе со стабилизатором для предотвращения инаktivации в процессе сушки и хранения вакцины. Исключением является живая полиомиелитная вакцина, выпускаемая в жидком виде.

В качестве стабилизаторов используют человеческий альбумин, сахарозу с желатиной или другие неантигенные и безвредные вещества. Вакцину контролируют по основным показателям: содержанию (концентрации) живых бактерий или вирусов вакцинного штамма, остаточной влажности, безвредности, аллергенности, иммуногенности и др.

Убитые корпускулярные вакцины (инаktivированные) получают из свежeweделенных вирулентных и иммуногенных штаммов возбудителей, инаktivированных температурой либо с помощью химических веществ. Убитые вакцины безопаснее живых, но менее эффективны и требуют повторного введения (ревакцинаций). В настоящее время применяются убитые вакцины против коклюша, холеры, лептоспирозов, клещевого энцефалита и др. Убитые вакцины могут быть профилактическими (их большинство) и лечебными (гонококковая, бруцеллезная). Их применяют для стимуляции специфического иммунитета при хронических, вялотекущих формах инфекционного процесса. Убитые вакцины получают путем культивирования вакцинного штамма в производственных условиях на питательных средах или субстратах, обеспечивающих достаточное накопление

вакцинного штамма. Чистую культуру вакцинного штамма инактивируют, очищают от балластных компонентов, дозируют по числу бактерий или вирусов.

Убитые субъединичные (субклеточные, субвирионные) вакцины содержат антигены, извлеченные из микроорганизмов с помощью химических веществ или ультразвука. Они включают в себя различные антигенные компоненты бактерий (антигены клеточной стенки, Vi-антигены, К-антигены) и вирусов (поверхностные антигены). Использование очищенных антигенов снижает сенсibilизацию макроорганизма, большую нагрузку на иммунную систему, реактогенность и токсичность, обусловленную наличием липидов и других химических соединений. Для получения субъединичных вакцин из бактерий или вирусов, после их культивирования в производственных условиях, извлекают протективные антигены, являющиеся белковыми, липополисахаридно-белковыми комплексами. Выделение из бактерий или вирусов протективных антигенных комплексов осуществляют различными физико-химическими методами: осаждением спиртами, высаливанием нейтральными солями, хроматографическими способами, ультрацентрифугированием. В связи с этим субклеточные вакцины раньше называли химическими вакцинами.

В состав вакцин на основе протективных антигенов вводят консервант (мертиолят в концентрации 1:10 000) и адьюванты. Вакцины из протективных антигенов разработаны против многих бактериальных и вирусных инфекций (брюшнотифозная, дизентерийная, гриппозная, бруцеллезная и др.).

Убитые вакцины контролируют по основным показателям: остаточной вирулентности, содержанию бактерий или вирусов вакцинного штамма, остаточной влажности, стерильности, безвредности, аллергенности, иммуногенности и др.

Анатоксины представляют собой обезвреженные бактериальные экзотоксины. Токсин обезвреживают формальдегидом (0,4%) при 37–40 °С в течение 4-х недель. При таком режиме полностью утрачивается токсичность, но сохраняются антигенность и иммуногенность токсинов. Анатоксины получают путем культивирования токсигенного штамма соответствующего микроорганизма в производственных условиях на жидких питательных средах, обеспечивающих его достаточное накопление. При этом микроорганизм выделяет в среду экзотоксин. Полученную чистую культуру отфильтровывают через бактериальные фильтры и отделяют токсин, который обезвреживают формалином. Обезвреженный токсин, который называют анатоксином, подвергают очистке от балластных веществ питательной среды, компонентов микробных клеток и концентрации. К очищенному анатоксину для усиления его иммуногенных свойств добавляют адьювант.

Анатоксины контролируют по основным показателям: остаточной токсичности, концентрации, стерильности, безвредности, аллергенности, иммуногенности и др. Анатоксины выпускают в виде моно- и ассоциированных препаратов. В практике применяются анатоксины против столбняка, дифтерии, ботулизма, стафилококковой инфекции. Важной особенностью анатоксинов является то, что они обеспечивают сохранение в организме привитого стойкой иммунологической памяти. *Адъюванты* (*adjuvant* – помощник) – это неспецифические иммуностимуляторы неорганической и органической природы, обладающих свойством повышать иммуногенность при добавлении их к вакцинам. Необходимость применения адъювантов связана и с высокой степенью очистки вакцинного антигена, поскольку это уменьшает его иммуногенность. Адъювантами могут быть: минеральные соединения; микробные структуры (белки, нуклеиновые кислоты, липополисахариды); синтетические вещества (полинуклеотиды, гликопептиды, полиоксидоний); цитокины и пептиды. В качестве адъювантов для вакцин массового применения во всем мире разрешены лишь соли алюминия и масляный адъювант. Соединения алюминия сорбируют антиген, длительно удерживают его вблизи от места инъекции, что обеспечивает лучшее взаимодействие с представляющими антиген клетками. Минеральные адъюванты стимулируют, в основном, Th2 иммунный ответ.

Механизм действия адъювантов сводится к:

- а) созданию «депо» антигена в месте введения вакцин, в результате чего пролонгируется действие антигена, и он длительно действует на иммунную систему;
- б) воспалительной реакции, активирующей иммунокомпетентные клетки;
- в) активации процесса захвата антигена и его переработки фагоцитирующими клетками.

Рекомбинантные (генно-инженерные) вакцины созданы на основе рекомбинантных штаммов бактерий и вирусов. Потенциальным преимуществом этих вакцин является использование только тех антигенов, которые необходимы для формирования иммунитета. К достоинствам генно-инженерных вакцин следует также отнести относительную дешевизну, безопасную технологию приготовления. В ряде случаев, когда возбудитель инфекции не может быть культивирован в необходимых количествах, генно-инженерный подход является единственно приемлемым.

Общий принцип создания генно-инженерных вакцин состоит в том, что ген или гены, кодирующие протективные антигены возбудителя «встраиваются» в геном вирусов, бактерий или эукариотов таким образом, чтобы не нарушалась их биологическая активность. Клетка – хозяин синтезирует необходимый для по-

лучения вакцины протективный антиген. Примером такой вакцины служит вакцина против гепатита В, состоящая из протективного HBs-антигена, полученного генно-инженерным путем (в геном дрожжевой клетки был встроен ген HBs-антигена и клетка получила способность его продуцировать).

Получены рекомбинантные штаммы кишечной палочки, аденовируса, дрожжевых клеток и других микробов со встроенными в их геном генами антигенов разнообразных возбудителей.

Ассоциированные вакцины. Организм способен формировать полноценный иммунитет при одновременном введении нескольких антигенов. Это послужило основанием для создания единых комплексных, так называемых ассоциированных вакцин для одновременной иммунизации против нескольких инфекций. Принципы конструирования ассоциированных вакцин сводятся к определению совместимости разнородных антигенов в едином препарате вакцины, соотношения дозировок антигенов, входящих в препарат, их влияния на процессы формирования иммунитета и реактогенность вакцины.

Ассоциированные вакцины широко применяют в практике для иммунизации против коклюша, дифтерии и столбняка (АКДС – адсорбированная на гидроокиси алюминия убитая корпускулярная коклюшная вакцина в ассоциации с дифтерийным и столбнячным анатоксином), против полиомиелита (вакцина, составленная из двух штаммов вируса I и III типов). За рубежом выпускают также ассоциированные вакцины против коклюша, дифтерии, столбняка и полиомиелита (тетракок); против кори, паротита и краснухи (MMR); АКДС-вакцину с полисахаридной вакциной *Haemophilus influenzae* В, вакцину против гепатитов А и В, вакцину против гепатита В и *Haemophilus influenzae* В и др.

Синтетические пептидные вакцины. Если известна химическая структура природного специфического протективного антигена можно получить вакцины методом химического синтеза. В настоящее время возможно химически синтезировать короткие пептиды, в том числе антигенные детерминанты, которые могут служить основой для конструирования вакцинных и диагностических препаратов, а также полусинтетических вакцин. Полусинтетические вакцины представляют собой сложный комплекс, состоящий из антигена или его детерминанты, носителя в виде высокомолекулярного полимера и адьюванта.

ДНК-вакцины получают из плазмидных ДНК, кодирующих протективные антигены возбудителей инфекционных болезней. Такая ДНК, введенная животному, проникает в ядро клетки, длительное время существует вне хромосом без репликации, транскрибируется и экспрессирует соответствующие антигены, вызывающие в организме привитого формирование иммунитета. ДНК-вакцины могут быть получены в большом количестве, они стабильны и лишены инфекцион-

ных агентов. Перспективным направлением является разработка многокомпонентных вакцин, содержащих две или несколько плазмидных форм, которые кодируют разные антигены.

На животных изучены вакцины из ДНК вирусов ВИЧ, гриппа, бешенства, лимфоцитарного хориоменингита, гепатитов В и С, простого герпеса, папилломы, а также возбудителей малярии, лейшманиоза, туберкулеза.

Растительные вакцины – вакцины, разработанные на основе трансгенных растений. Структурный ген, кодирующий вирусный или бактериальный антиген при помощи растительного вектора, встраивается в ядерную хромосому растительной клетки. Полученное таким путем трансгенное растение содержит инфекционный антиген и при использовании в пищу происходит естественная оральная иммунизация.

Схема применения вакцин. Вакцины могут быть жидкими, сорбированными, сухими, таблетированными, в виде драже и капсул. Большинство вакцин вводят в организм парентерально, т.е. инъекционным способом: подкожно, внутримышечно, внутрикожно, орально.

Вакцинацию проводят однократным или многократным введением вакцины. Живые вакцины, как правило, применяют однократно, инактивированные – многократно. Различают *первичную иммунизацию и ревакцинацию* (повторное введение вакцины). При первичной вакцинации создаются граунд-иммунитет, и повышенная способность реагировать на антиген (иммунореактивность, иммунологическая память), в результате чего при повторном введении вакцины организм более активно и быстро отвечает на антиген. Ревакцинации обеспечивают длительное поддержание иммунитета на защитном уровне.

Вакцинопрофилактика инфекционных болезней проводится в рамках плановых прививок и прививок по эпидемическим показаниям. Плановые прививки можно подразделить на две группы.

К первой группе относятся вакцинации, проводимые во всех регионах страны в рамках календаря прививок. В календарь профилактических прививок России включена вакцинация против гепатита В, туберкулеза, пневмококковой инфекции, полиомиелита, коклюша, дифтерии, столбняка, кори, паротита и краснухи. В календаре указаны схемы и сроки прививок с момента рождения и в определенные периоды жизни каждого человека.

Ко второй группе относятся прививки, проводимые населению, проживающему на территориях, эндемичных по природно-очаговым и зоонозным инфекциям, группам с высоким риском заражения (профессиональным, социальным и др.), а также лицам, представляющим опасность для окружающих в случае заболевания. К этой группе плановых прививок относится вакцинация против гриппа,

клещевого и японского энцефалитов, гепатита В (взрослые), гепатита А, бешенства, желтой лихорадки, бруцеллеза, туляремии, сибирской язвы, чумы, холеры, лептоспироза, брюшного тифа, менингококковой инфекции, риккетсиозов.

Прививки по эпидемическим (экстренным) показаниям проводят в случае возникновения неблагоприятной эпидемиологической ситуации, а также в случае контакта восприимчивого (непривитого) лица с источником инфекции. К первой группе могут быть отнесены прививки против гриппа, менингококковой инфекции, особо опасных инфекций. Ко второй – прививки в очагах, а также экстренная профилактика столбняка, антирабические прививки.

Противопоказания к вакцинации. Противопоказания к вакцинации предусмотрены инструкциями и обязательно учитываются при проведении вакцинации. К ним, прежде всего, относятся острые заболевания сердечно-сосудистой системы, почек, печени, дыхательной и нервной систем, некоторые хронические болезни, иммунодефициты, выраженные явления аллергии и др. Перечень противопоказаний изложен в инструкциях, прилагаемых к каждой вакцине.

12.2. Препараты для пассивной иммунизации

Для лечения и экстренной профилактики инфекционных заболеваний используются иммунные сыворотки и иммуноглобулины (извлекаемые из сывороток специфические активные фракции) – препараты, которые содержат антитела и используются для создания пассивного иммунитета в наиболее короткие сроки. После внутримышечного и подкожного введения состояние невосприимчивости наступает по мере всасывания препарата из места инъекции, концентрация антител в крови достигает максимума через 12–24 ч после инъекции. В случае внутривенного введения сывороток иммунитет формируется практически сразу после инъекции.

Производство лечебно-профилактических препаратов представляет собой сложный процесс с длительной технологией. Существует два способа получения специфических сывороток:

- первый – гипериммунизация животных (*гетерологичные* сывороточные препараты);
- второй – вакцинация людей-доноров (*гомологичные* сывороточные препараты).

Сывороточные препараты получают путем специальной обработки крови иммунизированных животных, а также сыворотки людей, вакцинированных соответствующим антигеном либо перенесших определенное инфекционное заболевание.

Гетерологичные сывороточные препараты. С целью получения лечебно-профилактических гетерологичных сывороточных препаратов в производственных условиях используют, в основном, крупных животных – лошадей, волов, быков, коров, мулов, в связи с тем, что от них можно получать большие количества крови. Наиболее часто используют лошадей как вид животных, обладающих высокой иммунологической реактивностью, от которых в сравнительно небольшой срок можно получить сыворотку, содержащую специфические антитела в достаточно высоком титре. Схемы гипериммунизации обычно индивидуальны для каждой лошади-продуцента. В период максимального нарастания титра специфических антител проводят забор крови. Полученная от лошадей-продуцентов кровь освобождается от форменных элементов крови и дефибрируется раствором хлористого кальция. Полученную сыворотку разливают в бутылки и консервируют.

Для уменьшения побочных реакций, а также повышения эффективности сывороточных препаратов является их очистка и концентрация, т.е. выделение иммунологически активных фракций сывороточных белков. В зависимости от специфичности антител (антитоксические, антибактериальные или противовирусные) для очистки сывороток применяются разные методы.

Гомологичные сывороточные препараты. Иммуноглобулины, получаемые из крови людей (доноров-добровольцев), специально вакцинированных против того или иного возбудителя (его токсинов), выгодно отличаются от сывороточных препаратов животного происхождения тем, что, не являясь для организма человека гетерологичными, практически не реактогенны. При введении таких препаратов пациенту антитела циркулируют в организме более длительное время, чем иммуноглобулины гетерологичных препаратов, обеспечивая пассивный иммунитет (лечебный эффект) в течение 4–5 недель.

Из собранной донорской крови готовят препараты. В настоящее время применяют донорские сыворотки, очищенные концентрированные с использованием спиртового метода осаждения (противостолбнячная, противоботулиническая), и донорские иммуноглобулины (антистафилококковый, противогриппозный, против клещевого энцефалита), а также иммуноглобулин человеческий нормальный, используемый для профилактики и лечения, паротитов, кори, полиомиелита и др. инфекций.

Применение сывороточных препаратов. Своевременное применение препаратов может предотвратить развитие болезни, удлиняется инкубационный период, заболевание имеет более легкое течение, уменьшается летальность. Гетерологичные сывороточные препараты нашли широкое применение для лечения и профилактики многих инфекционных заболеваний, особенно вызываемых ток-

синами бактерий и вирусами. Основная их ценность заключается в том, что индуцируемый ими пассивный иммунитет (лечебный эффект) наступает почти сразу же после введения. Гомологичные иммуноглобулины и очищенные сыворотки практически ареактогенны. Однако, они содержат смесь молекул IgG, принадлежащих к различным аллотипическим вариантам и, поэтому, в результате введения препарата возможны явления изоиммунизации и образования антител – анти-гаммаглобулинов, а в случаях применения обогащенных IgM и IgA препаратов – появление изоантител и к ним. В связи с этим весьма редко, но все же могут возникать реакции анафилактического типа при повторных введениях гомологичных сывороточных препаратов.

Реакции на введение гетерогенных сывороток. Анафилактические реакции. При введении чужеродной сыворотки формируется сенсibilизация организма к гетерогенному белку, и повторная инъекция этой же сыворотки может сопровождаться анафилактической реакцией, вплоть до шокового состояния больного. Анафилактические реакции могут развиваться в течение нескольких минут после введения аллергена, реже через несколько часов.

Для предупреждения анафилактических осложнений создается состояние десенсибилизации путем введения в организм небольших разрешающих доз специфического антигена (например, лошадиного белка). А.М. Безредка предложено вводить сначала небольшое количество сыворотки (0,5–1,0 мл) подкожно или несколько более мелких, но постепенно возрастающих доз внутривенно с интервалом 15–30 мин (дробное введение), затем большая, оставшаяся доза сыворотки.

Сывороточная болезнь развивается при введении чужеродной сыворотки в больших дозах через 7–12 дней даже при первичном введении препарата. В основе ее формирования лежит образование иммунных комплексов, образованных антигенами с преципитирующими антителами. Эти комплексы оседают вокруг мелких кровеносных сосудов, повреждают их эндотелий, вызывая местные и общие тромбозы, нарушающие трофику тканей. Продромальный период характеризуется гиперемией, увеличением лимфатических узлов, в разгаре болезни наблюдаются кожные высыпания, лихорадка, острая эмфизема легких, артралгии, отеки слизистых оболочек, альбуминурия, лейкопения, увеличение СОЭ. Симптомы заболевания отмечаются 6–7 суток. Перенесенное состояние не приводит к десенсибилизации организма.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов.

1. ПЕРВОЕ СЛОВО В БИНАРНОМ НАИМЕНОВАНИИ МИКРООРГАНИЗМОВ – ЭТО НАЗВАНИЕ
 - 1) вида
 - 2) рода
 - 3) семейства
 - 4) класса

2. ПО МОРФОЛОГИЧЕСКИМ СВОЙСТВАМ К КОККАМ ОТНОСЯТ-СЯ
 - 1) клостридии
 - 2) бациллы
 - 3) сарцины
 - 4) боррелии

3. К СПИРОХЕТАМ ОТНОСЯТСЯ
 - 1) вибрионы
 - 2) кампилобактерии
 - 3) сарцины
 - 4) боррелии

4. К ПОСТОЯННЫМ КОМПОНЕНТАМ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ ОТНОСИТСЯ
 - 1) цитоплазматическая мембрана
 - 2) капсула
 - 3) спора
 - 4) жгутики

5. В СОСТАВ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ВХОДЯТ
 - 1) белки и липополисахариды
 - 2) липополисахариды и фосфолипиды
 - 3) белки и фосфолипиды
 - 4) белки и тейхоевые кислоты

6. В ПРОКАРИОТИЧЕСКОЙ КЛЕТКЕ РИБОСОМЫ РАСПОЛАГАЮТСЯ В
 - 1) составе эндоплазматической сети
 - 2) аппарате Гольджи

- 3) цитоплазме
 - 4) цитоплазматической мембране
7. ОСНОВНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ ПЕПТИДОГЛИКАНА ЯВЛЯЮТСЯ
- 1) N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамовая кислота
 - 2) N-ацетилглюкозамин и тейхоевые кислоты
 - 3) N-ацетилмурамовая кислота и тейхоевые кислоты
 - 4) N-ацетилглюкозамин и липополисахарид
8. ПО МЕТОДУ ГРАМА ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ ОКРАШИВАЮТСЯ В
- 1) розовый цвет
 - 2) малиновый цвет
 - 3) рубиново-красный цвет
 - 4) фиолетовый цвет
9. ОКРАСКА ПО МЕТОДУ НЕЙССЕРА ПРИМЕНЯЕТСЯ С ЦЕЛЬЮ ВЫЯВЛЕНИЯ
- 1) включений
 - 2) спор
 - 3) кислотоустойчивых бактерий
 - 4) капсулы
10. КИСЛОТОУСТОЙЧИВЫЕ БАКТЕРИИ ПО МЕТОДУ ЦИЛЯ-НИЛЬСОНА ОКРАШИВАЮТСЯ В ЦВЕТ
- 1) фиолетовый
 - 2) голубой
 - 3) красный
 - 4) синий
11. В КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКЕ КИСЛОТОУСТОЙЧИВЫХ БАКТЕРИЙ СОДЕРЖАТСЯ В БОЛЬШОМ КОЛИЧЕСТВЕ
- 1) миколовые кислоты
 - 2) тейхоевые кислоты
 - 3) диаминопимелиновая кислота
 - 4) белки
12. ОСНОВНАЯ ФУНКЦИЯ СПОР БАКТЕРИЙ – ЭТО
- 1) размножение
 - 2) движение

- 3) сохранение в неблагоприятных условиях
- 4) защита от иммунных механизмов организма

13. ОСНОВНЫМ МЕТОДОМ ОКРАСКИ СПОР ЯВЛЯЕТСЯ ОКРАСКА ПО

- 1) Граму
- 2) Ожешко
- 3) Бурри–Гинсу
- 4) Нейссеру

14. ОСНОВНЫМ МЕТОДОМ ВЫЯВЛЕНИЯ КАПСУЛЫ БАКТЕРИЙ ЯВЛЯЕТСЯ ОКРАСКА ПО

- 1) Граму
- 2) Ожешко
- 3) Бурри–Гинсу
- 4) Нейссеру

15. КЛЕТКИ АКТИНОМИЦЕТОВ НАЗЫВАЮТСЯ

- 1) спорангии
- 2) гифы
- 3) цисты
- 4) канидии

16. В ПОРАЖЕННЫХ ТКАНЯХ АКТИНОМИЦЕТФ ОБРАЗУЮТ

- 1) зерна
- 2) гранулы
- 3) друзы
- 4) цисты

17. ЖГУТИКИ БАКТЕРИЙ

- 1) участвуют в передаче генетического материала
- 2) состоят из белка флагеллина
- 3) характерны, в основном, для Гр⁺ бактерий
- 4) обязательная структура клетки

18. БАКТЕРИЯ С РАСПОЛОЖЕНИЕМ БОЛЬШОГО КОЛИЧЕСТВА ЖГУТИКОВ ПО ВСЕЙ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТКИ НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) монотрих
- 2) лофотрих
- 3) амфитрих
- 4) перитрих

19. ОБЩЕЕ НАЗВАНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ РИККЕТСИЯМИ
- 1) микозы
 - 2) хламидиозы
 - 3) риккетсиозы
 - 4) актиномикозы
20. МИКРОКОЛОНИИ ХЛАМИДИЙ В ИНФИЦИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ НАЗЫВАЮТСЯ
- 1) ретикулярные тельца
 - 2) хламидийные включения
 - 3) элементарные тельца
 - 4) тельца Гварниери
21. НИЗШИЕ ГРИБКИ
- 1) имеют несептированный мицелий
 - 2) имеют септированный мицелий
 - 3) не имеют полового размножения
 - 4) размножаются половым путём
22. СОВЕРШЕННЫЕ ГРИБКИ МОГУТ РАЗМНОЖАТЬСЯ
- 1) половым путем
 - 2) бесполом путем
 - 3) половым и бесполом путями
 - 4) бинарным делением
23. ТИП SARCOMASTIGOPHORAE ИМЕЕТ ДВА ВИДА ОРГАНЕЛЛ ДВИЖЕНИЯ
- 1) псевдоподии и жгутики
 - 2) ложноножки и реснички
 - 3) плавники и реснички
 - 4) жгутики и реснички
24. ПРИ ОКРАСКЕ ПРОСТЕЙШИХ ПО РОМАНОВСКОМУ–ГИМЗЕ ЯДРО И ЖГУТИКИ ОКРАШИВАЮТСЯ В
- 1) голубой цвет
 - 2) красный цвет
 - 3) фиолетовый цвет
 - 4) коричневый цвет

25. ОСНОВНЫМ ТРЕБОВАНИЕМ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫМ К ПИТАТЕЛЬНЫМ СРЕДАМ, ЯВЛЯЕТСЯ
- 1) высокое содержание солей
 - 2) стерильность
 - 3) наличие ферментов
 - 4) наличие липидов
26. ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИМИ СРЕДАМИ НЕ ЯВЛЯЕТСЯ
- 1) МПА
 - 2) среда Эндо
 - 3) среда Плоскирева
 - 4) среда Гисса
27. ГЕТЕРОТРОФЫ – ЭТО МИКРООРГАНИЗМЫ, КОТОРЫЕ
- 1) используют органический углерод
 - 2) используют для построения клеток CO_2
 - 3) используют для питания свет
 - 4) используют в качестве доноров электронов органические соединения
28. ФОТОТРОФЫ – ЭТО МИКРООРГАНИЗМЫ, КОТОРЫЕ
- 1) в качестве источника энергии используют свет
 - 2) получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций
 - 3) питаются инертным органическим материалом
 - 4) зависят от питательных веществ макроорганизма
29. АУТОТРОФЫ – ЭТО БАКТЕРИИ, КОТОРЫЕ
- 1) используют органический углерод
 - 2) используют для построения клеток CO_2
 - 3) используют для питания свет
 - 4) используют в качестве доноров электронов органические соединения
30. ФАКТОРАМИ РОСТА НЕ ЯВЛЯЮТСЯ
- 1) аминокислоты
 - 2) пуриновые и пиримидиновые основания
 - 3) витамины
 - 4) липиды

31. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ В БАКТЕРИАЛЬНУЮ КЛЕТКУ НЕ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ
- 1) простой диффузией
 - 2) облегченной диффузией
 - 3) активным транспортом
 - 4) эндоцитозом
32. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ АНАЭРОБОВ ПРОИСХОДИТ В УСЛОВИЯХ
- 1) повышенного давления
 - 2) повышенного содержания O_2
 - 3) повышенного содержания CO_2
 - 4) пониженной температуры
33. ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ АНАЭРОБОВ ПРИМЕНЯЕТСЯ СРЕДА
- 1) Левенштейна–Йенсена
 - 2) Китта–Тороцци
 - 3) Эндо
 - 4) Клиглера
34. ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПРОВОДЯТ НА
- 1) среде Ру
 - 2) среде Гисса
 - 3) агаре Цейссlera
 - 4) МПБ
35. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ИСПОЛЬЗУЮТ ДЛЯ
- 1) синтеза витаминов
 - 2) переноса наследственной информации
 - 3) подвижности микробной клетки
 - 4) идентификации бактерий
36. СРЕДИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ НАИБОЛЕЕ ЧАСТО ВСТРЕЧАЮТСЯ
- 1) облигатные аэробы
 - 2) облигатные анаэробы
 - 3) факультативные анаэробы
 - 4) микроаэрофиллы
37. ПО ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЕ ФЕРМЕНТЫ БАКТЕРИЙ – ЭТО
- 1) углеводы

- 2) белки
- 3) липиды
- 4) нуклеиновые кислоты

38. ТРАНСФЕРАЗЫ – ЭТО

- 1) ферменты-переносчики
- 2) ферменты сшивки
- 3) осуществляют внутримолекулярные перестройки в субстрате
- 4) ферменты патогенности

39. ПОЛНОЕ УНИЧТОЖЕНИЕ ВСЕХ МИКРООРГАНИЗМОВ В МАТЕРИАЛЕ НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) дезинфекция
- 2) стерилизация
- 3) антисептика
- 4) асептика

40. ХОЛОДНАЯ СТЕРИЛИЗАЦИЯ – ЭТО

- 1) тиндализация
- 2) автоклавирование
- 3) фильтрация
- 4) пастеризация

41. КОМПЛЕКС МЕР, НАПРАВЛЕННЫХ НА СНИЖЕНИЕ ЧИСЛА ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ОБЪЕКТАХ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ, НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) стерилизация
- 2) асептика
- 3) дезинфекция
- 4) химиотерапия

42. ПРИ БАКТЕРИЦИДНОМ ЭФФЕКТЕ АНТИБИОТИКА БАКТЕРИЯ

- 1) прекращает расти
- 2) прекращает делиться
- 3) погибает

43. АНТИБИОТИКИ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПУТЕМ БИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА, НАЗЫВАЮТСЯ

- 1) природные

- 2) синтетические
- 3) полусинтетические

44. ОСНОВНОЙ МИШЕНЬЮ ДЛЯ АНТИБИОТИКОВ, УГНЕТАЮЩИХ СИНТЕЗ БЕЛКА, ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) клеточная стенка
- 2) нуклеоид
- 3) рибосомы
- 4) цитоплазматическая мембрана

45. МИКОПЛАЗМЫ УСТОЙЧИВЫ К ПЕНИЦИЛЛИНУ ИЗ-ЗА ОТСУТСТВИЯ У НИХ

- 1) цитоплазматическая мембрана
- 2) клеточная стенка
- 3) жгутиков
- 4) включений

46. ПЛАЗМИДА, КОНТРОЛИРУЮЩАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ, НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) R-фактор
- 2) S-фактор
- 3) J-фактор
- 4) A-фактор

47. ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ФОРМОЙ ВИРУСА НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) капсид
- 2) профаг
- 3) вирион
- 4) элементарное тельце

48. РАЗМЕР ВИРУСНОЙ ЧАСТИЦЫ ИЗМЕРЯЕТСЯ В

- 1) мкм
- 2) нм
- 3) кДа
- 4) см

49. ВИРУСЫ ОТНОСЯТСЯ К ЦАРСТВУ

- 1) Fungi
- 2) Animalia

- 3) Protista
- 4) Vira

50. БАКТЕРИОФАГИ – ЭТО

- 1) вирусы животных
- 2) вирусы человека
- 3) вирусы растений
- 4) вирусы бактерий

51. НУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА ВИРУСА ВМЕСТЕ С КАПСИДОМ НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) суперкапсид
- 2) пеплос
- 3) нуклеокапсид
- 4) капсомер

52. ЛУЧШЕЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МОДЕЛЬЮ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВИРУСОВ ЯВЛЯЕТСЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ В

- 1) лабораторных животных
- 2) куриных эмбрионах
- 3) органах
- 4) культуре клеток

53. СКОПЛЕНИЯ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ ИЛИ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ ВИРУСОВ В ЦИТОПЛАЗМЕ ИЛИ ЯДРЕ КЛЕТОК, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ ПОД МИКРОСКОПОМ ПРИ СПЕЦИАЛЬНОМ ОКРАШИВАНИИ НАЗЫВАЮТСЯ

- 1) вирусные гранулы
- 2) вирусные частицы
- 3) вирусные включения
- 4) вирусные бляшки

54. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ УМЕРЕННОГО ФАГА С БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТОКой НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) фаговая конверсия
- 2) лизогения
- 3) адсорбция
- 4) бактериофагия

55. ОБЩЕЕ МИКРОБНОЕ ЧИСЛО ВОЗДУХА – ЭТО
- 1) общее количество микроорганизмов, содержащихся в 1 м³ воздуха
 - 2) минимальное количество микроорганизмов, содержащихся в 1 м³ воздуха.
 - 3) общее количество микроорганизмов, содержащихся в 10 м³ воздуха.
 - 4) количество стафилококков в 1 м³ воздуха
56. САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ГРУППЫ А ВКЛЮЧАЮТ
- 1) обитателей верхних дыхательных путей и носоглотки
 - 2) сапрофиты, обитателей воды
 - 3) сапрофиты, обитателей почвы
 - 4) обитателей кишечника человека и животных
57. ДЛЯ ОЦЕНКИ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДЫ ИСПОЛЬЗУЮТ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
- 1) ОМЧ
 - 2) коли-титр
 - 3) перфрингенс-титр
 - 4) все вышеперечисленные показатели
58. МЕТОД ОТБОРА ПРОБ ВОЗДУХА ОСНОВАННЫЙ НА ОСЕДАНИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЧАСТИЦ И КАПЕЛЬ ПОД ВЛИЯНИЕМ СИЛЫ ТЯЖЕСТИ НАЗЫВАЕТСЯ
- 1) аспирационный
 - 2) седиментационный
 - 3) титрационный
 - 4) метод мембранных фильтров
59. МИКРОФЛОРА, МАКСИМАЛЬНО ПРИСПОСОБИВШАЯСЯ К СУЩЕСТВОВАНИЮ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА, НАЗЫВАЕТСЯ
- 1) облигатная
 - 2) транзиторная
 - 3) факультативная
 - 4) нет верного ответа
60. НАРУШЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА МИКРОФЛОРЫ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА НАЗЫВАЕТСЯ
- 1) биоценоз

- 2) дисбиоз
- 3) анабиоз
- 4) энтеробиоз

61. ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ ВЫЗЫВАТЬ ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) инфекционное заболевание
- 2) патогенность
- 3) вирулентность
- 4) экзоинфекция

62. ФОРМА ИНФЕКЦИИ, ПРИ КОТОРОЙ ВОЗБУДИТЕЛЬ НАХОДИТСЯ В МАКРООРГАНИЗМЕ И ВЫДЕЛЯЕТСЯ ПРИ ОТСУТСТВИИ КЛИНИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ У ПАЦИЕНТА, НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) носительство
- 2) микстинфекция
- 3) сепсис
- 4) локализованная

63. ФЕРМЕНТОМ ПАТОГЕННОСТИ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИМ БАКТЕРИЯМ ИНВАЗИЮ В ПОДЛЕЖАЩИЕ ТКАНИ, ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) гиалуронидаза
- 2) гемолизин
- 3) интерферон
- 4) ДНКаза

64. ЭКЗОТОКСИНЫ ПО ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЕ ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) белками
- 2) углеводами
- 3) липидами
- 4) полисахаридами

65. К КЛЕТОЧНЫМ ФАКТОРАМ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ОТНОСИТСЯ

- 1) лизоцим
- 2) комплемент
- 3) фагоциты
- 4) интерферон

66. К ГУМОРАЛЬНЫМ ФАКТОРАМ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ОТНОСИТСЯ
- 1) комплемент
 - 2) фагоциты
 - 3) воспалительная реакция
 - 4) ЕК (NK)
67. АКТИВАЦИЮ КОМПЛЕМЕНТА ПО КЛАССИЧЕСКОМУ ПУТИ ИНДУЦИРУЕТ
- 1) антиген
 - 2) антитело
 - 3) микроорганизм
 - 4) комплекс антиген-антитело
68. К СЕРОЛОГИЧЕСКИМ РЕАКЦИЯМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТКИ ОТНОСЯТСЯ
- 1) ИФА, РИФ
 - 2) РНГА, РЛА
 - 3) РИФ, РА
 - 4) РП
69. ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ МИКРОСКОП
- 1) световой
 - 2) темнопольный
 - 3) фазовоконтрастный
 - 4) люминесцентный
70. ПРИ ПОСТАНОВКЕ НЕПРЯМОЙ РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ КРАСИТЕЛЕМ МЕТЯТ
- 1) антиген
 - 2) специфические антитела
 - 3) антиглобулиновые антитела
 - 4) антигены и антитела
71. НА СТРИПАХ ПЕРЕД ПОСТАНОВКОЙ ИММУНОБЛОТИНГА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИЧ НАХОДЯТСЯ
- 1) антигены возбудителя
 - 2) специфические антитела

- 3) антиглобулины
- 4) иммуноглобулины класса М

72. ДИАГНОСТИЧЕСКУЮ ДОСТОВЕРНОСТЬ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТОДА ПАРНЫХ СЫВОРОТОК ИМЕЕТ НАРАСТАНИЕ ТИТРА АНТИТЕЛ В

- 1) 2 раза
- 2) 3 раза
- 3) 4 раза
- 4) 5 раз

73. НА ДНЕ ЛУНКИ ПЛАСТИКОВОЙ МИКРОПЛАНШЕТЫ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА СОРБИРУЮТ

- 1) антиген
- 2) атителя
- 3) иммуноглобулины класса А
- 4) антиглобулины

74. К ЦЕНТРАЛЬНЫМ ОРГАНАМ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ОТНОСИТСЯ

- 1) лимфатические узлы
- 2) селезенка
- 3) тимус
- 4) миндалины

75. CD-МАРКЕРЫ ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) цитотоксическими ферментами
- 2) маркерные молекулы иммунных клеток
- 3) маркерами опухолевых клеток
- 4) маркерами антител

76. АНТИГЕНЫ HLA I КЛАССА НАХОДЯТСЯ НА ПОВЕРХНОСТИ

- 1) только эритроцитов
- 2) всех клеток организма
- 3) только антигенпредставляющих клеток
- 4) всех клеток организма кроме эритроцитов

77. АНТИГЕНЫ HLA II КЛАССА НАХОДЯТСЯ НА ПОВЕРХНОСТИ

- 1) только эритроцитов

- 2) всех клеток организма
- 3) только антигенпредставляющих клеток
- 4) всех клеток организма кроме эритроцитов

78. СИНТЕЗ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ЯВЛЯЕТСЯ ФУНКЦИЕЙ

- 1) нейтрофилов
- 2) В-лимфоцитов
- 3) Т-лимфоцитов
- 4) макрофагов

79. ОСНОВНОЙ КЛЕТКОЙ, РЕГУЛИРУЮЩЕЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ, ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) В-лимфоцит
- 2) Т-хелпер
- 3) Т-киллер
- 4) макрофаг

80. ОСНОВНЫМИ ЦИТОКИНАМИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) С3а, С3b
- 2) гистамин, серотонин
- 3) ИЛ-4, ИЛ-6
- 4) ИЛ-12, ИНФ γ

81. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ Е ИГРАЮТ ОСНОВНУЮ РОЛЬ В

- 1) анафилактических аллергических реакциях
- 2) цитотоксических аллергических реакциях
- 3) иммунокомплексных аллергических реакциях
- 4) Т-клеточных аллергических реакциях

82. АНАТОКСИНЫ ПРИМЕНЯЮТ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ

- 1) вирусных инфекций
- 2) токсинемических (токсических, токсигенных) инфекций
- 3) бактериальных инфекций
- 4) смешанных инфекций

83. ШТАММ МИКРООРГАНИЗМА СО СНИЖЕННОЙ ВИРУЛЕНТНОСТЬЮ, КОТОРЫЙ ИСПОЛЬЗУЮТ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЖИВОЙ ВАКЦИНЫ, НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) аттенуированный

- 2) девергентный
- 3) рекомбинантный
- 4) инактивированный

84. ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРИОБРЕТЕННОГО ИСКУССТВЕННОГО АКТИВНОГО ИММУНИТЕТА У ЧЕЛОВЕКА ИСПОЛЬЗУЮТСЯ

- 1) иммуноглобулины
- 2) вакцины
- 3) аллергены
- 4) бактериофаги

85. АДЬЮВАНТЫ ВКЛЮЧАЮТ В СОСТАВ ВАКЦИНЫ ДЛЯ

- 1) увеличения срока годности
- 2) повышения иммуногенности
- 3) снижения реактогенности
- 4) консервации

86. ИНФЕКЦИОННЫЕ АЛЛЕРГЕНЫ ПРИМЕНЯЮТСЯ ДЛЯ

- 1) лечения инфекционных заболеваний
- 2) профилактики инфекционных заболеваний
- 3) диагностики инфекционных заболеваний
- 4) выявления атопических аллергий

87. ДИАГНОСТИКУМ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ

- 1) выявления антител в сыворотке крови
- 2) обнаружения возбудителя
- 3) идентификации возбудителя
- 4) выявления нуклеиновых кислот возбудителя

88. ПРОБИОТИКИ ПРИМЕНЯЮТСЯ ДЛЯ

- 1) лечения вирусных инфекций
- 2) коррекции дисбиоза
- 3) диагностики инфекционных заболеваний
- 4) профилактики инфекционных заболеваний

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ
1.	2	31.	4	61.	2
2.	3	32.	3	62.	1
3.	4	33.	2	63.	1
4.	1	34.	2	64.	1
5.	3	35.	4	65.	3
6.	3	36.	3	66.	1
7.	1	37.	2	67.	4
8.	1	38.	1	68.	1
9.	1	39.	2	69.	4
10.	3	40.	3	70.	3
11.	1	41.	3	71.	1
12.	3	42.	3	72.	3
13.	2	43.	3	73.	1
14.	3	44.	3	74.	3
15.	2	45.	2	75.	2
16.	3	46.	1	76.	4
17.	2	47.	3	77.	3
18.	4	48.	2	78.	2
19.	3	49.	4	79.	2
20.	1	50.	4	80.	3
21.	1	51.	3	81.	1
22.	3	52.	1, 2, 4	82.	2
23.	1	53.	3	83.	1
24.	2	54.	2	84.	2
25.	2	55.	1	85.	2
26.	1	56.	4	86.	3
27.	1	57.	1, 2	87.	1
28.	1	58.	2	88.	2
29.	2	59.	1		
30.	4	60.	2		

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология [Электронный ресурс] : учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по медицинским специальностям / Л. Б. Борисов. - 5-е изд., испр. - Электрон. текстовые дан. - М. : Медицинское информационное агентство, 2016. - 792 с., [3] л. цв. ил., 1 on-line : рис., табл. - Систем. требования: ADOBE ACROBAT READER 7.0 ; Windows 2000 и выше. - Загл. с титул. экрана. - Электрон. версия печ. публикации. - Доступен после авторизации. - Указ.: с. 772-775. - Предм. указ.: с. 776-785. - ISBN 978-5-8948-1969-3 : 00.00.
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов медицинских вузов / А. А. Воробьев [и др.] ; под ред. А. А. Воробьева ; рец.: О. В. Бухарин, В. Н. Царев ; Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова МЗ РФ (М.), кафедра микробиологии с вирусологией и иммунологией. - 2-е изд., испр. и доп. - М. : Медицинское информационное агентство, 2015. - 704 с. : рис., табл. - Предм. указ.: с. 695-702.
3. Медицинская микробиология [Электронный ресурс]: учебник / ред.: В. В. Зверев, М. Н. Бойченко. - Электрон. текстовые дан. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 656 с., 1 on-line. - (Учебник). - Систем. требования: ADOBE ACROBAT READER 7.0; Windows 2000 и выше. - Загл. с титул. экрана. - Электрон. версия печ. публикации. - Доступен после авторизации. - ISBN 978-5-9704-7331-3: 00.00.
4. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта: учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования, обучающихся по специальности 060201.65 "Стоматология" по дисциплине "Микробиология и вирусология полости рта" / В. Н. Царев [и др.] ; под ред. В. Н. Царева ; Московский медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова (М.). - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 576 с. : рис., табл. - (Учебник). - Прил.: с. 558-564. - Библиогр.: с. 565. - Предм. указ.: с. 566-572. - ISBN 978-5-9704-3913-5 (в пер.).
5. Микробиология, вирусология, иммунология полости рта: учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования, обучающихся по специальности 060201.65 "Стоматология" по дисциплине "Микробиология и вирусология полости рта" / М. М. Давыдова [и др.] ; под ред. В. Н. Царева ; Московский медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова (М.), НИ медико-стоматологический институт. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2019. - 720 с. : рис., табл. - (Учебник). - Прил.: с. 700-706. - Библиогр.: с. 707. - Предм. указ.: с. 708-714. - ISBN 978-5-9704-5055-0 :

6. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта [Электронный ресурс] : учебник / под ред. В. Н. Царева. - 2-е изд., перераб. и доп. - Электрон. текстовые дан. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2021. - 720 с., 1 on-line. - (Учебник). - Систем. требования: ADOBE ACROBAT READER 7.0 ; Windows 2000 и выше. - Загл. с титул. экрана. - Электрон. версия печ. публикации. - Доступен после авторизации. - ISBN 978-5-9704-6260-7 : 00.00.
7. Лабораторный практикум по микробиологии полости рта с формируемыми компетенциями: учебное пособие для студентов стоматологических факультетов медицинских вузов / В. Н. Царев [и др.] ; ред. В. Н. Царев ; Московский медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова (М.), кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии. - М. : Практическая медицина, 2017 - Часть 1 : Общая микробиология. Методы микробиологии в стоматологии. - 2017. - 44 с. : табл., рис. - ISBN 978-5-98811-483-3 :
8. Практикум по общей микробиологии: учебное пособие для студентов; ред. М.Р. Карпова. – Томск: СибГМУ, 2016. – 213 с. – Текст: непосредственный.

Учебное издание

Ирина Феликсовна Зверева, Мария Ростиславовна Карпова,
Людмила Степановна Муштоватова, Ольга Петровна Бочкарева,
Инна Владимировна Луцаева

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. ОБЩИЙ КУРС

Под редакцией И.Ф. Зверевой

**УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ
для студентов, обучающихся по направлению подготовки
«Стоматология»**

Редактор Коломийцев А.Ю.
Технический редактор Коломийцева О.В.
Обложка Кривцова Л.Д.

Издательство СибГМУ
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107
тел. +7 (3822) 901–101, доб. 1760
E-mail: otd.redaktor@ssmu.ru

Подписано в печать 20.08.2024 г.

Формат 60х84 $\frac{1}{16}$. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Гарнитура «Times». Печ. л. 16,1. Авт. л. 11,2.
Тираж 200 экз. Заказ № 30

Отпечатано в Издательстве СибГМУ
634050, Томск, ул. Московский тракт, 2
E-mail: lab.poligrafii@ssmu.ru