

Занятие 22

**Микробиологическая диагностика
заболеваний, вызываемых спирохетами и
риккетсиями**

Обсуждаемые вопросы

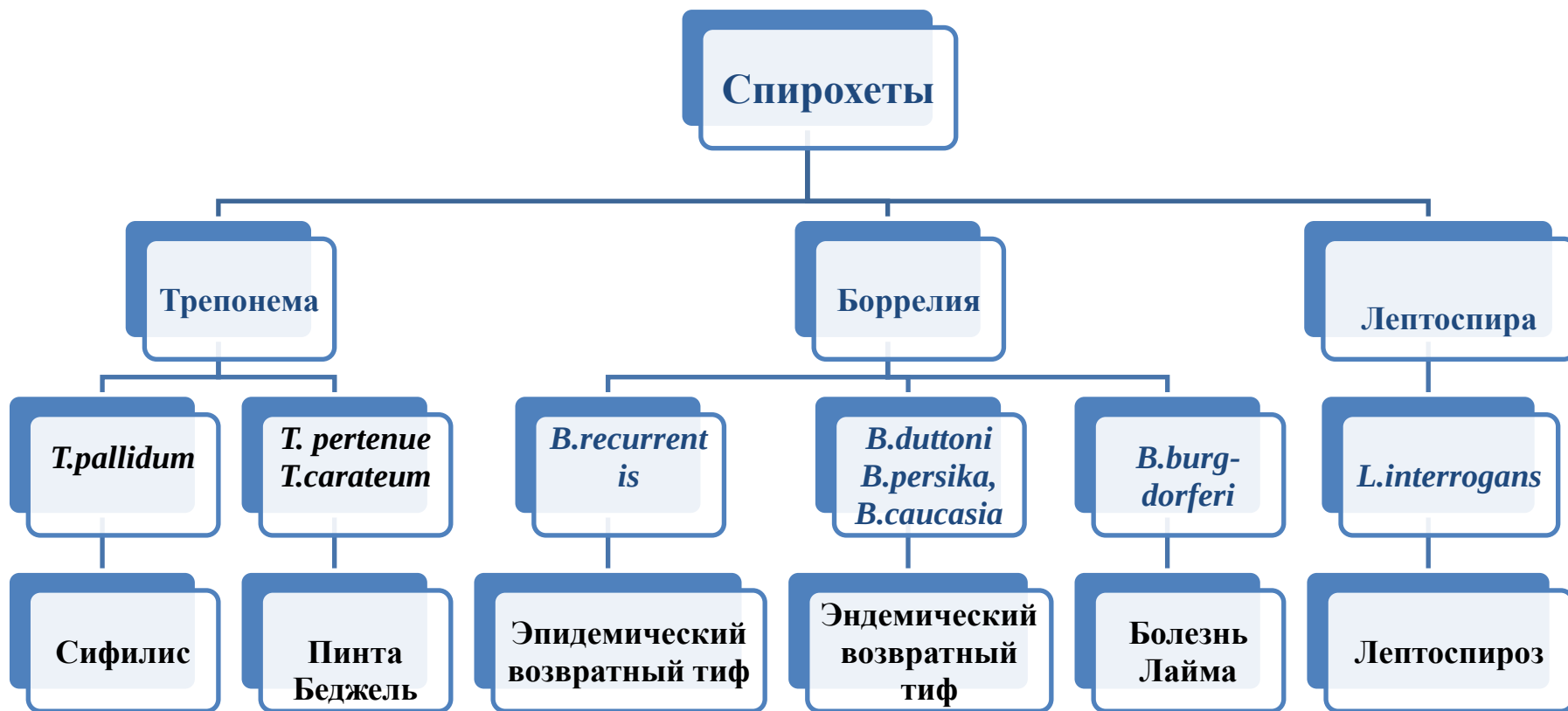
- Морфобиологические особенности возбудителя сифилиса, патогенез заболевания, особенности иммунитета, врожденный сифилис
- • Микробиологическая диагностика сифилиса: микроскопические и серологические методы (исследование трепонемных и нетрепонемных антител (RPR, ИФР, РПГА и др.) и их диагностическое значение)
- 1. Морфобиологические особенности, экология, пути заражения возбудителей эпидемического и эндемического тифа (*B. recurrentis*, *B. duttoni*, *B. persica*). Патогенез заболевания, клиника.
- • Микробиологическая диагностика возвратного тифа (микроскопическая, серологическая, биологическая). Принципы специфического лечения и профилактики возвратного тифа
- • *Borrelia burgdorferi*, ее роль в патологии человека, патогенетические особенности болезни Лайма, микробиологическая диагностика.
- 2. Классификация лептоспир, морфобиологические особенности, экология, пути заражения, патогенетическая характеристика болезни.
- • Микробиологическая диагностика лептоспироза (микроскопический, бактериологический, серологический, биологический и др.), принципы специфического лечения и профилактики
- 3. Общая характеристика патогенных риккетсий, классификация риккетсиозов.
- • Морфобиологические особенности, экология, пути заражения риккетсиями эпидемического и эндемического сыпного тифа. Патогенетическая характеристика сыпного тифа. Микробиологическая диагностика сыпного тифа, специфическое лечение и принципы профилактики
- • Болезнь Брилла-Цинссера. Дифференциальная диагностика эпидемического сыпного тифа и болезни Брилла-Цинссера.
- • Патогенез и микробиологическая диагностика заболеваний, вызываемых риккетсиями группы пятнистых лихорадок (пятнистая лихорадка скалистых гор - *R. rickettsii*, марсельская лихорадка - *R. conorii*, везикулезный риккетсиоз - *R. akari*, североазиатский клещевой риккетсиоз - *R. sibirica*).
- • *Orientia tsutsugamushi* – кустарниковый тиф, патогенез и микробиологическая диагностика.
- • Род *Ehrlichia* (моноцитарный эрлихиоз – *E. sennetsu*, *E. chaffeensis*, гранулоцитарный эрлихиоз – *E. ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum*), патогенез и микробиологическая диагностика вызываемых ими заболеваний.
- • Возбудитель Ку-лихорадки (*Coxiella burnetii*), морфобиологические особенности, экология, устойчивость к факторам окружающей среды, пути заражения. Патогенетические особенности Ку-лихорадки. Микробиологическая диагностика Ку-лихорадки, принципы специфического лечения и профилактики

Цель занятия:

- дать информацию студентам о морфобиологических особенностях патогенных спирохет (возбудителей сифилиса, возвратного тифа, болезни Лайма и лептоспироза) и риккетсий (группы сыпного тифа и пятнистой лихорадки, кустарниковой лихорадки, моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиоза и Ку-лихорадки), патогенезе, принципах микробиологической диагностики, специфического лечения и профилактики вызываемых ими заболеваний.

Спирохеты

- Спирохеты (speria-за́виток, chaite-во́лос) — спиралевидные, скрученные, подвижные микроорганизмы. По своим морфологическим и некоторым биологическим признакам спирохеты занимают промежуточное положение между бактериями и простейшими и входят в отряд Spirochetales. Отряд состоит из двух семейств.
- Семейство Spirochaetaceae состоит из свободноживущих непатогенных спирохет.
- Патогенные для человека роды спирохет Treponema, Borrelia и Leptospira относятся к семейству Treponemataceae.



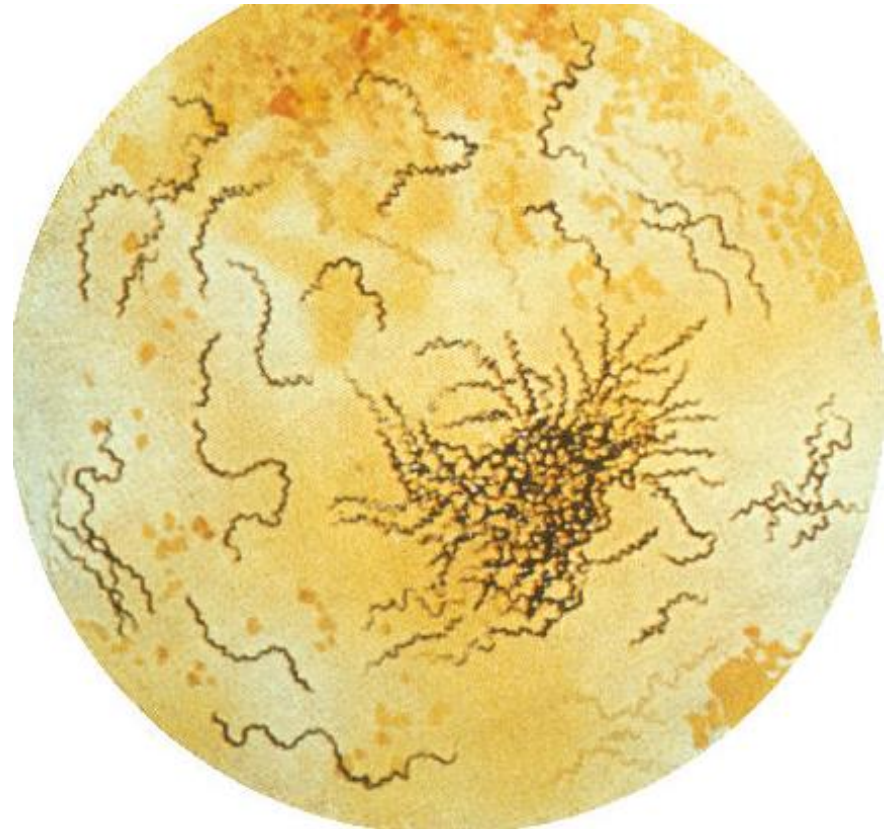
род Трепонема

- Род Трепонема (с латинского *trepo* – изгиб, *nema* – нить) включает множество видов. Свободноживущие в природе формы трепонем не встречаются. Они обитают в полости рта, в желудочно-кишечном тракте и половых органах различных животных.
- Некоторые виды рода *Treponema* – *T. denticola*, *T. macrodenticum*, *T. orale*, *T. vincentii* входят в состав микрофлоры полости рта: *T. vincentii* в сочетании с фузобактериями вызывает некротическую ангину Винсента.
- Важную роль в патологии человека играет вид *T. pallidum*. Вид подразделяется на 3 подвида: подвид *pallidum* – возбудитель сифилиса, подвид *endemicum* – возбудитель эндемического сифилиса или беджели, и подвид *pertenue* – возбудитель фрамбезии. *T. carateum* вызывает у людей болезнь «пинта».

Возбудитель сифилиса (*Treponema pallidum*)

- **Морфо-биологические свойства.** *T.pallidum* –спиралевидные бактерии длиной 5-15 мкм ,толщиной 0,2 мкм , имеющие 8-12 **равномерных** завитков.
- Расстояние между завитками составляет 1 мкм . Это типичные по морфологии трепонемы . Слабо окрашиваются анилиновыми красителями . По Романовскому-Гимзе окрашиваются в бледно-розовый цвет (отсюда название вида бледная спирохета , от лат. *pallidum* - бледный).
- Выявляются при импрегнации серебром(метод серебрения по Морозову)
- Подвижные спирохеты в нативных мазках выявляют с помощью фазово-контрастной и темнопольной микроскопии.

Treponema pallidum



Treponema pallidum

- В свежеприготовленных препаратах спирохеты обладают активной подвижностью – совершают вращательные, поступательные, сгибательные и винтообразные движения, выявляемые при темнопольной микроскопии.
- Сгибательные движения под прямым углом без потери спиралевидной формы является важным дифференциальным признаком рода *Treponema*. Название рода «Трепонема» связано именно с этой особенностью (лат., означает «сгибающаяся нить»).

Treponema pallidum

темнопольная микроскопия

Spirochetes
visualized with
CytoViva™

MAKE GIFS AT GIFSOUP.COM

Treponema pallidum

- Возбудитель сифилиса является микроаэрофилом. Вирулентные штаммы *T.pallidum* не культивируются как на искусственных питательных средах, так и на культуре клеток.
- Невирулентные штаммы (н-р, штамм Рейтера) можно культивировать *in vitro* в анаэробных условиях при температуре 35⁰ С в агаре с **содержанием** аминокислот, витаминов, солей, минералов и сывороточных альбуминов.
- На 3-5-е сутки культивирования появляются мелкие, гладкие колонии.
- Культивирование приводит к потере вирулентных и изменению антигенных свойств.

Антигенная структура

- Антигенная структура недостаточно изучена
- В организме к возбудителю образуются специфические антитела, которые выявляют методом непрямой иммунофлюоресценции, а также реакцией иммобилизации.
- Антитела обладают способностью разрушать бактерии и связывать комплемент при участии трепонем.
- В ходе заболевания также образуются неспецифические антитела – **реагины**, которые можно выявить в реакции флоккуляции с кардиолипином, эстрагированным из бычьего сердца. Эта реакция применяется при диагностике сифилиса.

Резистентность к факторам внешней среды

- *T. pallidum* чувствителен к высыханию, солнечным лучам, дезинфицирующим веществам.
- При нагревании мгновенно гибнет.
- В препаратах крови при температуре 4⁰С в течение 24 часов сохраняет **жизнеспособность**.
- При неблагоприятных условиях образует цисты и L-формы.

Факторы патогенности

- Патогенность *T.pallidum* связана с активной подвижностью. Благодаря этому возбудитель с легкостью проходит через кожные покровы и слизистые оболочки, и **проникают** в кровоток.
- **Рецепторы к фибронектину и коллагену** обеспечивают его адгезию к интерстициальной ткани.
- Не образует токсин.
- **Липопротеины** участвуют в развитии иммунопатологических процессов

Источник инфекции и пути передачи

- В естественных условиях болеет только человек.
- Заражение происходит , как правило , контактно-половым , реже – контактно-бытовым путями.
- При беременности инфицирование сифилисом происходит трансплацентарным путем (от матери плоду), в результате наступает внутриутробная гибель или ребенок рождается с признаками сифилиса.
- Возможно заражение в результате переливания крови, в особенности при переливании свежих образцов.

Патогенез и клинические проявления сифилиса

- Входными воротами инфекции являются кожные покровы и слизистые оболочки.
- Возбудитель может проникать через неповрежденную кожу, через микротравмы слизистых оболочек или кожных покровов, и размножаться в тканях и частично в регионарных лимфатических узлах
- Сифилис – заболевание с циклическим течением, протекает в несколько периодов.

Первичный период сифилиса.

- В связи с тем, что при сифилисе основание язвы имеет твердую консистенцию, ее называли «**твердый шанкр**» (франц., *chancre* – рана).
- Твердый шанкр развивается в результате реактивного васкулита, который сопровождается массивной гибелью эпителиальных клеток в следствие закупорки микрокапилляров.
- Плотная консистенция шанкра является следствием продуктивного инфильтративного процесса с участием лимфоцитов и плазматических клеток. Гноя в ране нет, дно раны чистое с лаковой поверхностью, края зазубрены.
- В связи с тем, что в шанкре содержится большое количество спирохет, пациенты в этот период наиболее заразны. Несмотря на то, что через некоторое время происходит заживление твердого шанкра, через 2-10 недель начинается вторая стадия заболевания.

Сифилис – II период

- На различных участках тела, в том числе на руках и ногах, развивается красная **макулопапулезная сыпь**, на аногенитальных органах и слизистой оболочке полости рта появляются бледные кондиломы. В этот период возможно развитие сифилитического менингита, хориоретинита, гепатита, иммунокомплексного типа нефрита, периостита.
- Поскольку сыпь богата спирохетами, в этот период пациенты являются заразными. Хотя эти элементы заживают самостоятельно, они могут вновь появиться через 3-5 лет, однако после этого периода начинается третичный период заболевания.
- Примерно в 30% случаев может происходить самопроизвольное излечение, в 30% случаев заболевание сохраняется в латентной форме и выявляется только в положительных серологических реакциях. В остальных случаях заболевание переходит в третичный период.
- Следует отметить, что как первичный, так и вторичный период сифилиса, могут протекать бессимптомно – иметь субклиническое течение. В таких случаях болезнь проявляется признаками третичного периода.

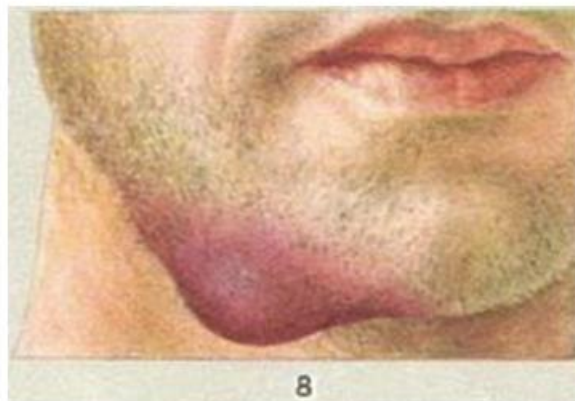
Сифилис (твердый шанкр)



Сифилис – II период



Сифилис – III период



Сифилис – III период

- Проявляется образованием сифилитических гранул – **гумм** на коже, костях и в печени. Они являются результатом развития иммунопатологического процесса и ответной реакции на трепонемы, сохраняющиеся в организме.
- Гуммы имеют тенденцию распадаться с последующими общими деструктивными изменениями в поврежденных органах и тканях.
- Могут наблюдаться дегенеративные изменения в центральной нервной системе (менингovasкулярный сифилис, парезы, спинная сухотка – tabes dorsalis), а также изменения в сердечно-сосудистой системе, проявляющиеся аортитом, аневризмой аорты, недостаточностью аортального клапана.
- На третьем этапе заболевание не заразно, в некоторых случаях трепонемы **обнаруживаются** в центральной нервной системе.

Врожденный сифилис

- Трепонемы, циркулирующие в крови больной матери, во втором триместре беременности могут инфицировать плод через плаценту.
- Исход внутриутробной инфекции зависит от **количества** трепонем, инфицировавших плод.
- Высокая инфицирующая доза может привести к мертворождению и абортам.
- В **иных** случаях возникает врожденный сифилис.
- Поскольку возбудитель через плаценту попадает непосредственно в кровоток плода, симптомы врожденного сифилиса схожи с симптомами второй стадии сифилиса у взрослых. Очаги поражения на коже богаты трепонемами, внешность новорожденного похожа на старческую – кожа лица морщинистая, наблюдается нехватка веса и гипотрофия.
- Иногда наблюдаются **триада Гетчинсона** – кератит, бочкообразные зубы, признаки глухоты.

Врожденный сифилис



Иммунитет

- Как и при всех венерических заболеваниях, иммунитет, который формируется после сифилиса, не защищает от рецидивов. В случае повторного заболевания сифилисом твердый шанкр не наблюдается, заболевание начинается с признаков второго периода. Поэтому иммунитет, сформированный во время сифилиса, иногда называют и «иммунитетом к шанкру».
- Суперинфекция *T. pallidum* невозможна как в активном периоде заболевания, так и при латентном сифилисе. Однако после эффективного лечения, переболевшие повторно могут заболеть сифилисом.

Иммунитет

- Гуморальный иммунитет проявляется образованием в организме антител к возбудителю. Образуются **неспецифические антитела (нетрепонемальные антитела)**, называемые «реагинами», **представленные** IgM- и IgG-антителами, образующимися первично к липоидному антигену возбудителя. По мере уменьшения числа трепонем в организме титр этих антител уменьшается.
- Позже образуются **специфические антитела (трепонемальные антитела)** к белковому антигену. Независимо от наличия трепонем в организме, они сохраняются в течение длительного времени.
- Клеточный иммунитет – **реакция гиперчувствительности замедленного типа**, обуславливает образование сифилитических гумм.

Микробиологическая диагностика

- Используют различные методы исследования в зависимости от стадии заболевания, в основном – микроскопический и серологический.
- **Микроскопический метод.** Основывается на выделении трепонем из отделяемого твердого шанкра при первичном и высыпаний - при вторичном сифилисе.

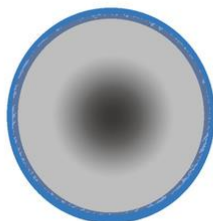
Нативные препараты исследуют в темнопольной микроскопии, препараты, окрашенные методом Гимзы и серебрением – под световым микроскопом. Следует помнить, что **через несколько часов после начала лечения антибиотиками трепонемы микроскопически не выявляются.**

- Трепонемы также могут быть выявлены при помощи реакции иммунофлюоресценции. Для этого мазки, обработанные антитрепонемными антителами, **мечеными** флюорохромами, исследуют под люминесцентным микроскопом.

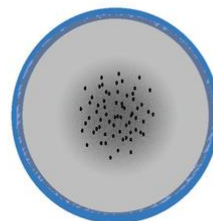
Серологический метод исследования направлен на выявление трепонемальных и нетрепонемальных антител в сыворотке больного.

- В качестве антигена чаще всего используется кардиолипин, полученный из сердечной мышцы быка. Очищенный кардиолипин с химической точки зрения представляет собой дифосфатидилглицерин. Добавление лецитина и холестерина ускоряет реакцию кардиолипинового антигена с неспецифическими реагентами.
- Чаще всего используют тест VDRL (англ., *veneral disease research laboratory*) и тест RPR (англ., *rapid plasma reagin*), иногда тест TRUST (англ., *toluidine red unheated serum test*).
- Принцип этих тестов основан на преципитации (флокуляции) кардиолипинового антигена реагинами сыворотки пациента. Результаты теста VDRL оцениваются микроскопически, а в тестах RPR и TRUST реакция преципитации видна невооруженным глазом, поскольку антигены адсорбируют на цветные частицы.

Исследование нетрепонемальных антител



Negative



Positive

Исследование нетрепонемальных антител

- RPR-тест положителен при высоких титрах, начиная со 2-3-й недели заболевания, особенно на второй стадии заболевания. Эти тесты отрицательны через 6-18 месяцев после эффективного лечения сифилиса.
- Тест RPR может быть поставлен и со спинномозговой жидкостью пациента, и в этом случае он положителен, начиная с 4-8-й недели заболевания. Реагины не могут преодолеть гематоэнцефалический барьер, поэтому предполагается, что эти антитела также образуются и в центральной нервной системе.
- Тест RPR может оказаться положительным примерно у 1% здоровых людей, кроме этого, при малярии, проказе, кори, инфекционном мононуклеозе, коллагенозах (системной красной волчанке, ревматоидном полиартрите и др.), а также после вакцинации (ложноположительная реакция).

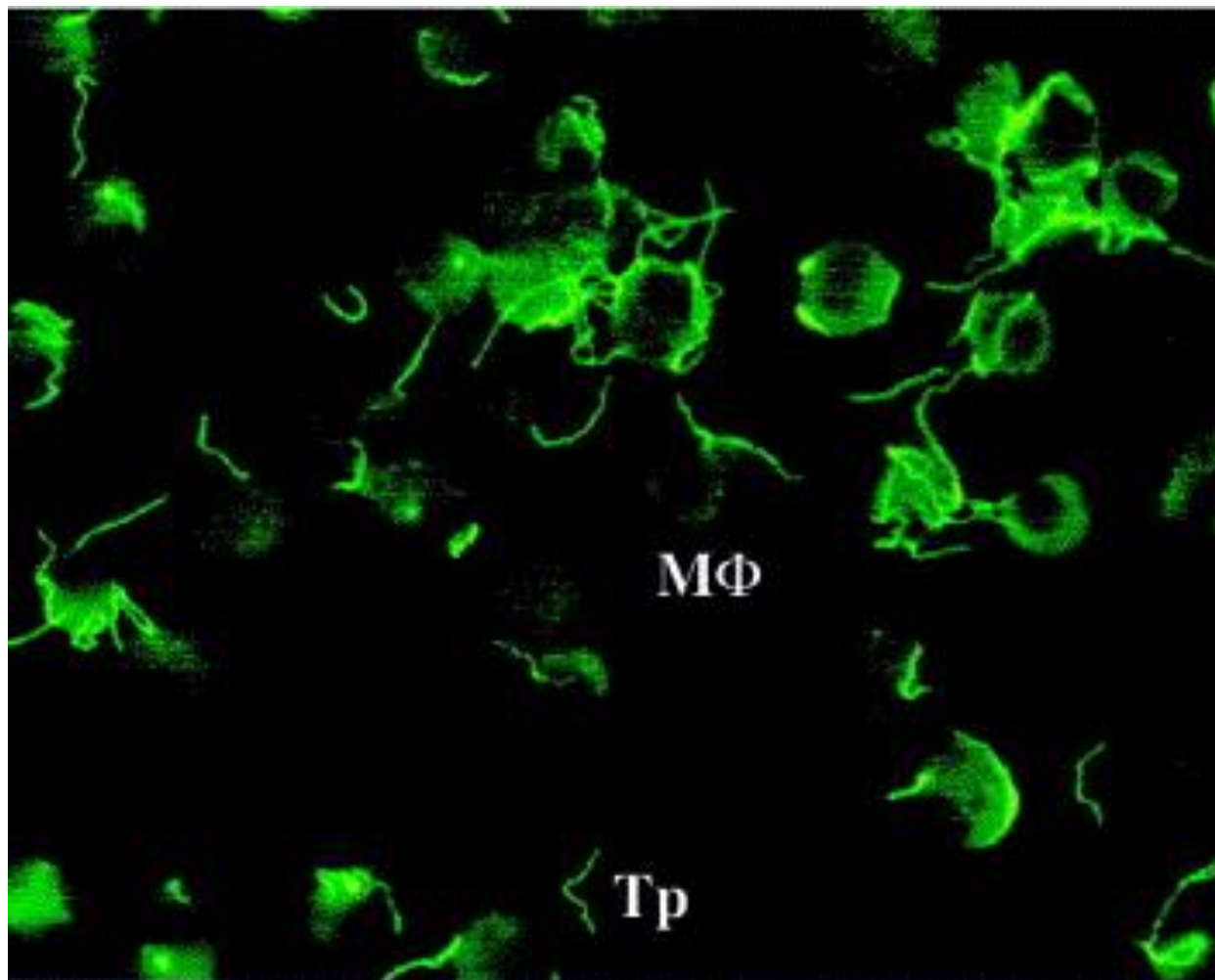
Исследование трепонемальных антител

- Выявление трепонемальных антител в сыворотке крови считается специфическим тестом.
- Они имеют высокую чувствительность и специфичность и относятся к **подтверждающим тестам** с диагностической точки зрения.

Реакция непрямой иммунофлюоресценции

- **Реакцию непрямой иммунофлюоресценции** проводят с использованием убитых *T. pallidum*, сыворотки крови пациента и меченой антииммуноглобулиновой сыворотки.
- Если в сыворотке крови присутствуют антитела к трепонемам, они взаимодействуют с трепонемами, и полученный комплекс, в свою очередь, связывается с мечеными антителами к человеческим иммуноглобулинам, что можно наблюдать в виде свечения в люминесцентном микроскопе
- Эта реакция отличается **высокой чувствительностью и специфичностью**, положительна с **первого периода** заболевания и обычно положительна даже через много лет после эффективного лечения сифилиса. Поэтому эта реакция не используется для оценки эффективности лечения.

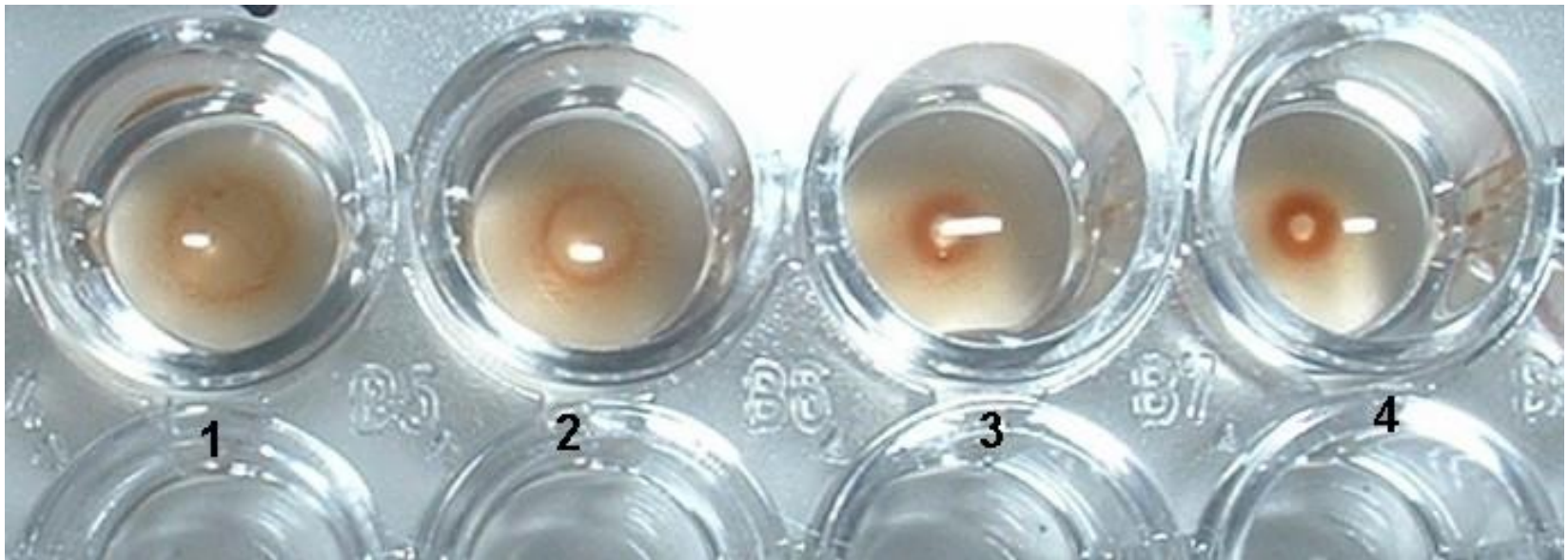
Реакция непрямой иммунофлюоресценции при диагностике сифилиса



Реакции пассивной агглютинации (гемагглютинации)

- Используют реакции гемагглютинации *T. pallidum* (ТРНА) и микрогемагглютинации *T. pallidum* (МНА-ТР).
- Эритроциты, на поверхности которых адсорбируют антигены *T. pallidum*, вступают в реакцию с разбавленной сывороткой пациента, содержащей антитела, в результате происходит агглютинация эритроцитов
- Чувствительность и специфичность этих тестов так же высока, как у реакции непрямо́й иммунофлюоресценции.

Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) в диагностике сифилиса



Лечение

- *T. pallidum* чувствителен к бензилпенициллину (пенициллин G), его концентрация в 0,003 ТИ/мл обладает антитрепонемальной активностью. Поэтому **пенициллин является препаратом выбора при лечении сифилиса.**
- заболевание **продолжительностью** менее одного года можно лечить бензатин-пенициллином или бициллином – вводя внутримышечно 3 раза в неделю.
- В некоторых случаях также используются эритромицин и тетрациклин.

Род Borrelia

- К роду *Borrelia* относятся спирохеты размером 10-30 x 0,3-0,6 мкм с 3-10 крупными не**равномерными** завитками.
- Двигательный аппарат состоит из 15-20 жгутиков.
- Интенсивно окрашиваются анилиновыми красителями, грамотрицательны, по методу Гимзы окрашиваются в сине-фиолетовый цвет.
- Темнопольная микроскопия позволяет легко выявить движущиеся спирохеты.

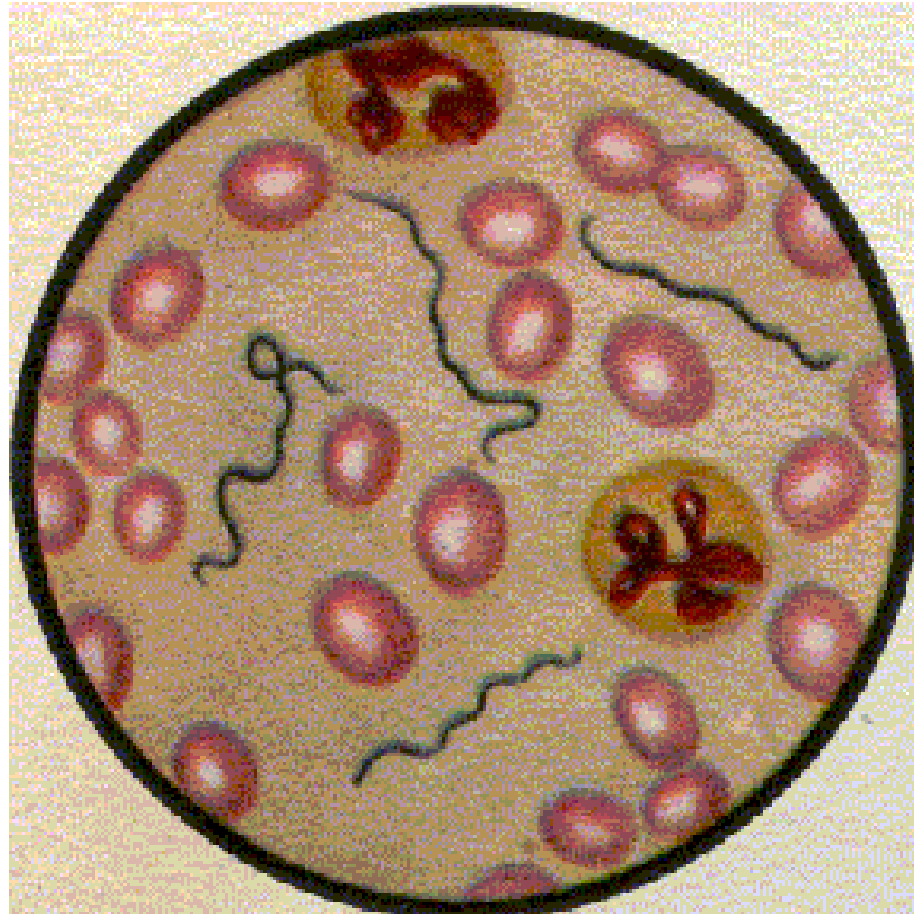
Род Borrelia

- Некоторые из них выявляются в нормальной микрофлоре организма человека – в полости рта (*B. buccalis*), в слизистых оболочках гениталий (*B. refringens*).
- Патогенные для человека виды вызывают возвратный тиф (*typhus recurrentis*) и болезнь Лайма.
- *Borrelia* являются строгими анаэробами,
- Культивируются в сложных питательных средах, содержащих сыворотку, асцит, экстракты тканей в атмосфере 5-10% CO₂, при температуре 20-37⁰С, а также в желточном мешке куриных эмбрионов.

Возбудители возвратного тифа

- **Эпидемический возвратный тиф** – возбудитель *B. recurrentis*. Источник инфекции – больные люди. Болезнь передается через вшей. Вши становятся заразными через 1-4 недели после высасывания крови у больного человека.
Боррелиями заражаются при втирании гемолимфы раздавленных вшей в кожу при расчесывании в месте зуда.
- **Эндемический возвратный тиф**, являясь природно-очаговым зоонозным заболеванием, встречается спорадически, главным образом, в субтропических и тропических районах и вызывается многими видами боррелий. Среди них наиболее часто встречаются *B. duttoni* и *B. persica*. Боррелии, резервуарами которых в природе являются грызуны, передаются от больных животных людям через укусы клещей рода *Ornithodoros*. Возбудители находятся в слюне клещей и передаются трансовариальным путем от поколения к поколению.

Borrelia recurrentis



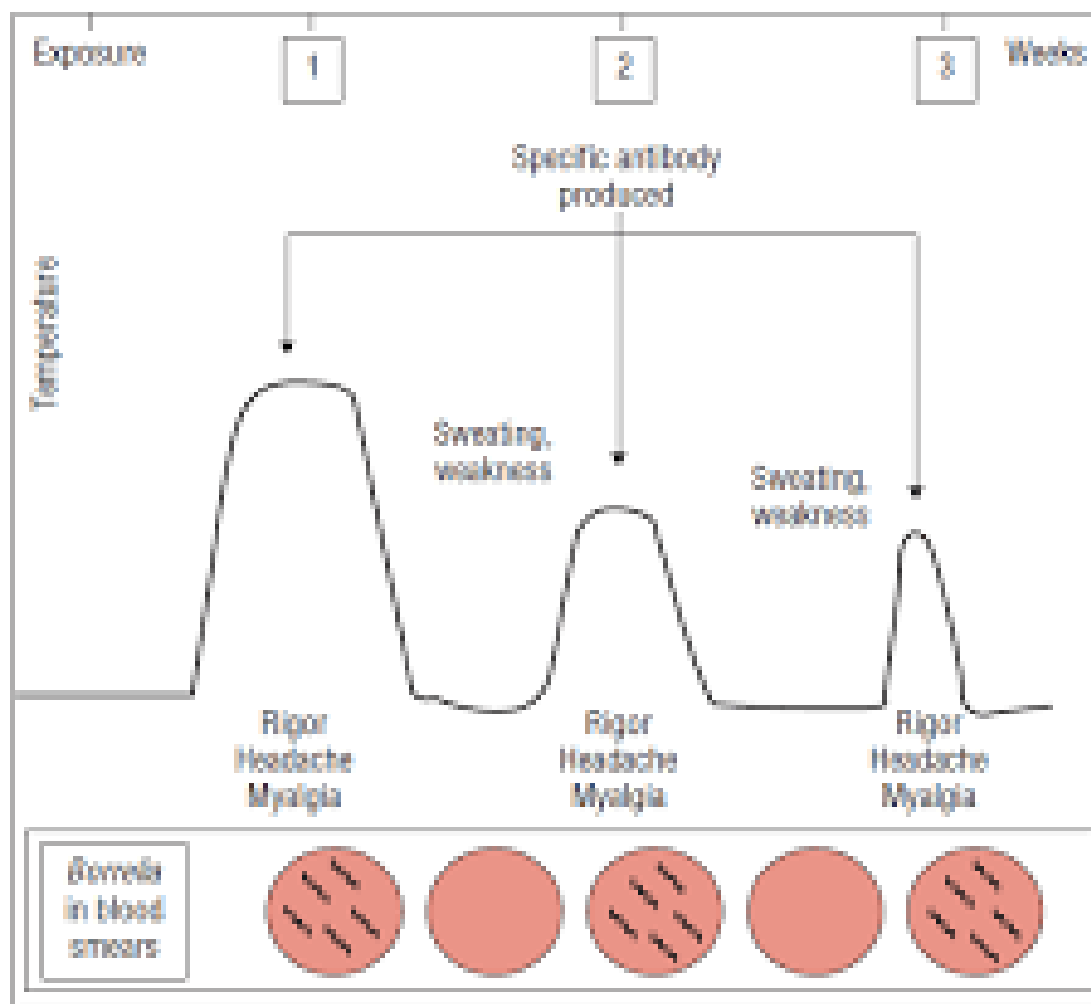
Переносчики возвратного тифа



Патогенез возвратного тифа

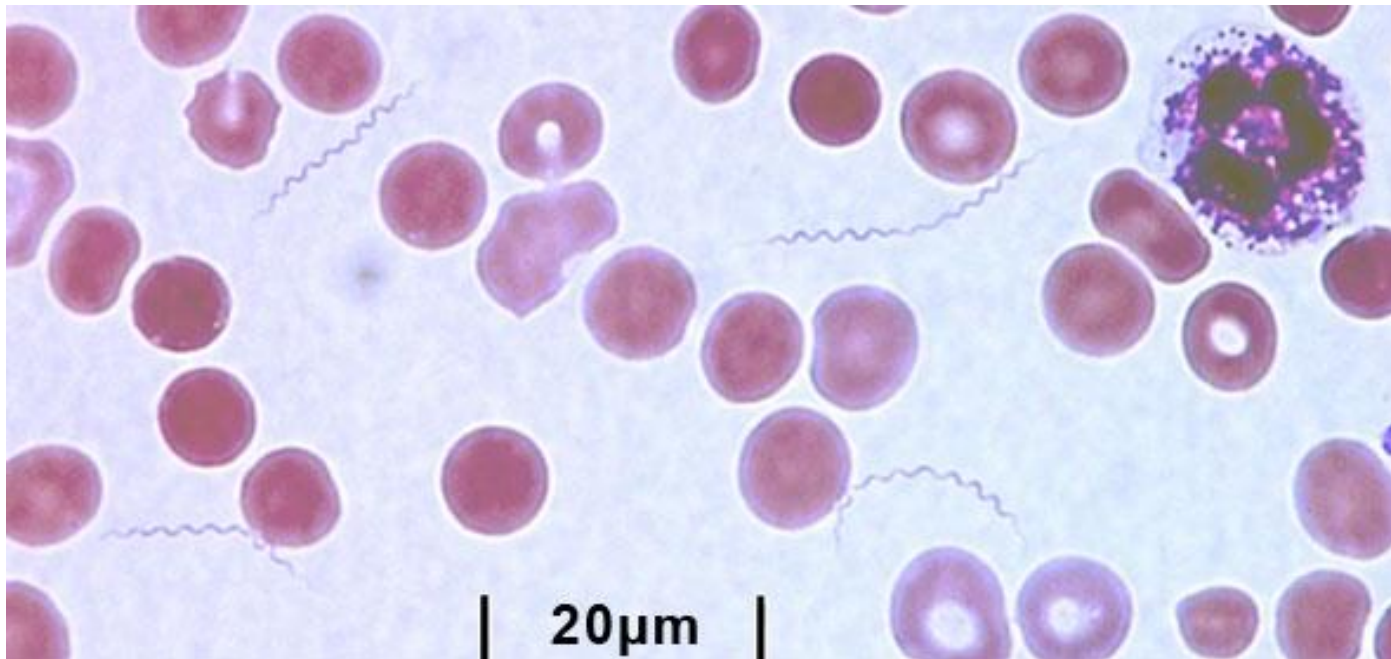
- Инкубационный период заболевания составляет 5-10 дней. Попадая в организм, боррелии размножаются внутри фагоцитов и попадают в кровь, что опровождается лихорадкой, ознобом и сильными головными болями. Лихорадочный период (пирексия) длится 3-5 дней. В этот период антитела, образующиеся против возбудителей, лизируют их, в результате чего лихорадка спадает и начинается период болезни без лихорадки (апирексия) длительностью 4-10 дней. В период апирексии происходит образование резистентных к антителам боррелий, которые размножаются и снова попадают в кровь, и снова начинается лихорадочный период. В течение болезни фебрильные судороги могут повторяться 3-10 раз (с этим связано и название болезни).

Патогенез возвратного тифа



Микробиологическая диагностика

Основана на исследовании образцов крови, взятых во время в **лихорадочного периода**. Возбудитель можно обнаружить **микроскопически** в толстых и тонких мазках крови, окрашенных по методу Гимзы.



Микробиологическая диагностика

- Дифференциацию возбудителей эпидемического и эндемического возвратного тифа можно провести посредством **биологической пробы**. Кровь, взятая у пациентов, вводится в брюшную полость лабораторных животных.
- Морские свинки чувствительны к возбудителям эндемического возвратного тифа, а белые мыши чувствительны к *B. recurrentis*.
- Через 2-4 дня в крови зараженных животных можно выявить возбудителей микроскопическим методом.



Лечение и профилактика

- **Лечение.** Используются тетрациклин, эритромицин и пенициллин.
- **Профилактика.** Неспецифическая профилактика эпидемического возвратного тифа основана на борьбе с вшами, а эндемического возвратного тифа – на борьбе с клещами и грызунами в их естественной среде обитания.
- Специфическая профилактика не разработана.

Возбудители болезни Лайма

- Болезнь Лайма - хроническая мигрирующая эритема или лаймоборрелиоз, является хронической инфекцией, сопровождающейся повреждением кожи, сердечно-сосудистой и нервной систем, артралгией и артритом.
- Заболевание в Америке вызывается *Borrelia burgdorferi*, а на Евразийском континенте – *B. garini* и *B. afzelii*.

Borrelia burgdorferi

- **Морфо-биологические особенности.**
B.burgdorferi, является наиболее крупной боррелией, средние размеры которой составляют 20-30x0,2-0,3 мкм. По своим морфологическим и тинкториальным свойствам схожи с другими боррелиями, обладают 7-11 парами завитков и очень подвижны. Легко выявляются посредством анилиновых красителей и импрегнацией серебром.
- *B.burgdorferi* быстро развиваются в комплексных жидких средах (в среде *Barbour-Stoenner-Kelli*), с легкостью выделяются из участков эритемы на коже, из других материалов *B. burgdorferi* выделяются в редких случаях.



Borrelia burgdorferi

- **Антигенная структура и факторы патогенности. *Osp*-протеины** (англ. *outer surface protein*) – белки наружной мембраны, состоящей из липопротеинов, обладают протективной активностью.
- В цикле развития антигенный состав боррелий подвергается изменениям.
- Во время культивирования на питательных средах и на поздних стадиях заболевания в организме людей преобладает антиген ***OspA***, а у клещей и на ранних стадиях заболевания в организме людей преобладает антиген ***OspC***.
 - *Osp*-белки обеспечивают адгезивную способность боррелий к клеткам-хозяевам.
 - В результате взаимодействия боррелий с макрофагами секреция цитокинов (ИЛ-1 и др.) индуцирует воспалительные процессы.
 - *OspA*-белок участвует в развитии иммунопатологических реакций, приводящих к развитию артритов.

Borrelia burgdorferi

Экология, источники инфекции и пути заражения. В естественных условиях возбудители в основном встречаются у мелких грызунов, особенно у лесных мышей. Клеши рода *Ixodes* заражают людей через слюну при укусе, или при срыгивании содержимого средней кишки.



Патогенез и клинические проявления болезни Лайма

Попавшие в организм со слюной клещей боррелии, в течение инкубационного периода, мигрируют в окружающие ткани, что приводит к возникновению на коже характерной мигрирующей эритемы (*erythema migrans*).



Патогенез и клинические проявления болезни Лайма

- Подобно другим спирохетозам, болезнь Лайма также обладает **стадийным течением**.
- **Первая стадия** характеризуется гриппоподобными симптомами, лимфаденитом, миалгией и образованием быстрорастущей кольцевидной эритемы – мигрирующей эритемы в месте укуса клеща.
- **Вторая стадия** сопровождается артралгией и артритом, менингитом, параличом лицевого нерва, радикулопатией, а также миоперикардитом через 1-4 недели после начала заболевания.
- **Третья стадия** проявляется развитием хронических процессов на коже, в нервной системе и суставах через несколько месяцев после начала заболевания.

Микробиологическая диагностика

- Симптоматическое заболевание может быть распознано по эритеме на коже. При отсутствии кожных симптомов, а также на более поздних стадиях заболевания используются микробиологические методы диагностики.
- В качестве материала для исследования берутся биоптаты кожи, взятые с области эритемы, синовиальная жидкость, спинномозговая жидкость (ликвор), сыворотка крови. В зависимости от стадии заболевания используются различные методы. В этих материалах *B. burdorferi* можно выявить с помощью ПЦР.
- Серологические тесты проводятся, начиная со второй стадии заболевания. Антитела (IgM и IgG) к возбудителю в сыворотке крови могут быть определены с помощью ИФР, ИФА и иммуноблоттинга.
- Антитела к возбудителю в организме образуются постепенно. Острая фаза заболевания серопозитивна только в 30-40% случаев, через 2-4 недели серологические реакции положительны у 60-70% пациентов. Через 4-6 недель антитела IgG к *B. burdorferi* выявляются у 90% больных. Хотя титр антител после лечения постепенно уменьшается, он остается в сыворотке крови пациентов годами.

- **Лечение.** Этиотропное лечение доксициклином или амоксициллином проводится в течение 20-30 дней. Доксициклин более эффективен. Хорошие результаты при артрите дает применение больших доз пеницилина.
- **Профилактика.** Неспецифическая профилактика состоит из мер по борьбе и защите от клещей.
- Специфическая профилактика не разработана.

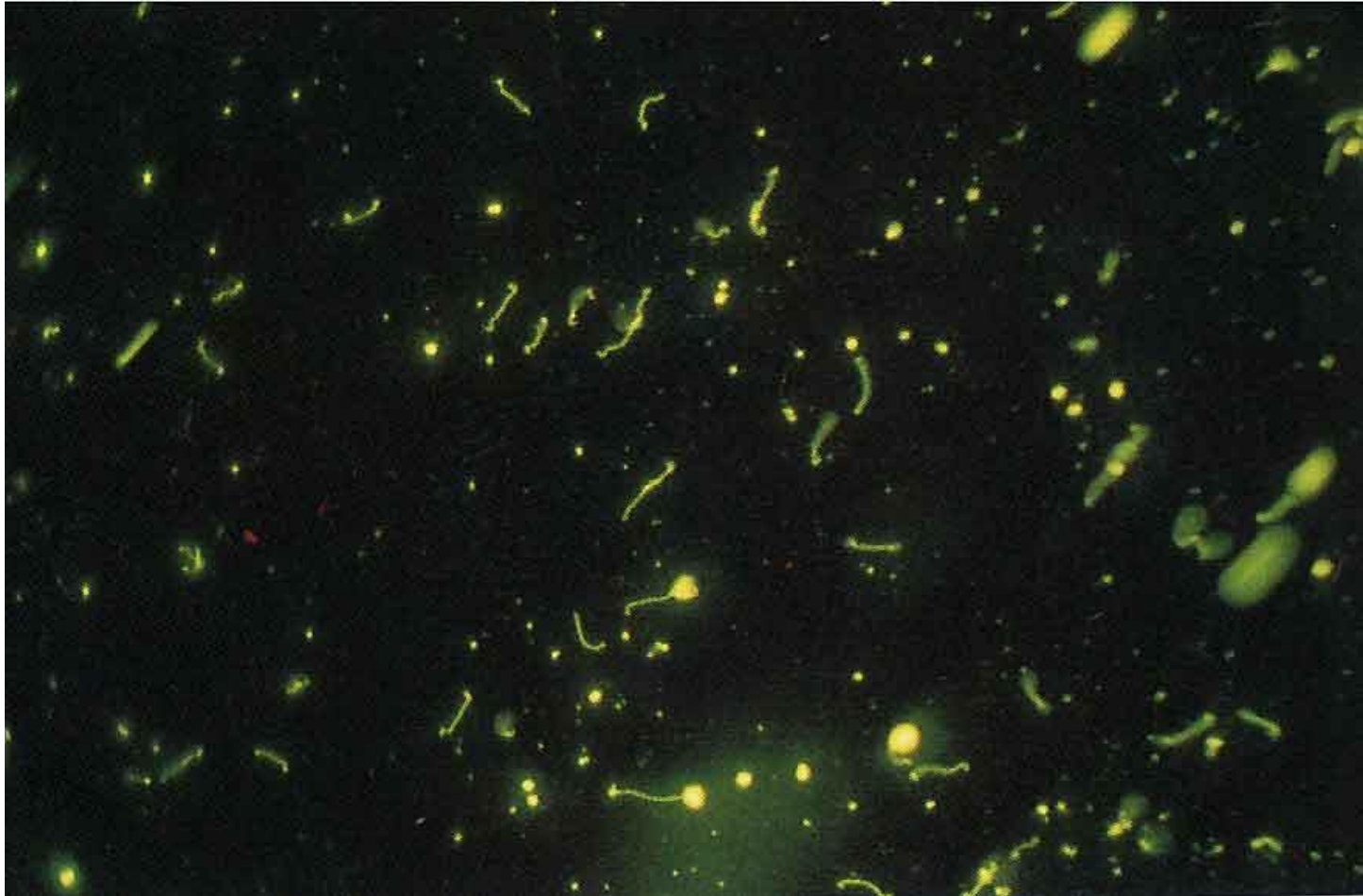
Род Leptospira

- **Таксономия.** Лептоспиры относятся к семейству *Leptospiraceae*, роду *Leptospira*. Их традиционная классификация основана на их биохимических и серологических особенностях.
- Род *Leptospira* включает патогенные вид *L.interrhogans* и непатогенный вид *L.biflexa*.
- Вид *L.interrhogans* насчитывает более 200, а *L.biflexa* – более 60 серотипов.
- В отличие от других микроорганизмов, серотипы лептоспир имеют видовые названия. Например, *L.bovis*, *L.grippotyphosa*, *L.hebdomadis*, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.mitis*, *L.pamona* и *L. interrhogans* являются одними из наиболее распространенных серотипов.

Род Leptospira

- **Морфобиологические особенности.** Лептоспиры представляют собой тонкие спирохеты длиной 5-15 мкм и толщиной 0,1-0,2 мкм с 20-40 завитками. Один из концов часто изгибается, образуя крючок. Двигательный **аппарат** состоит из жгутиков, **расположенных** на обоих полюсах клетки.
- **В препаратах трудноразличимы, т.к. слабо окрашиваются в розовый цвет по методу Гимзы.** Хорошо окрашиваются при импрегнации серебром. Активную подвижность лептоспир можно наблюдать в темном поле и фазово-контрастной микроскопии нативных препаратов.

Leptospira interrogans



Leptospira interrogans

- Лептоспиры культивируют в аэробных условиях на жидких и полужидких средах (*Fletcher, Stuart* и др. среды) с добавлением сыворотки при 28-30⁰ С.
- Они не образуют помутнения при выращивании (**росте**) на жидких питательных средах. Через 1-2 недели на полужидких средах ближе к поверхности питательной среды образуется диффузная зона роста, а затем в **участках** среды, оптимально **снабженных** кислородом, **наблюдается рост** в виде кольца

Leptospira interrogans

- **Антигенная структура.** Наружная мембрана *L. interrogans* богата липополисахаридами (ЛПС).
- У различных штаммов наблюдается антигенное разнообразие ЛПС. Это разнообразие ЛПС лежит в основе серологической классификации *L. interrogans*, обуславливает их разделение на многочисленные (более 200) серовары.
- схожие по антигенной структуре серовары *L. interrogans* дают перекрестные реакции в серологических тестах.

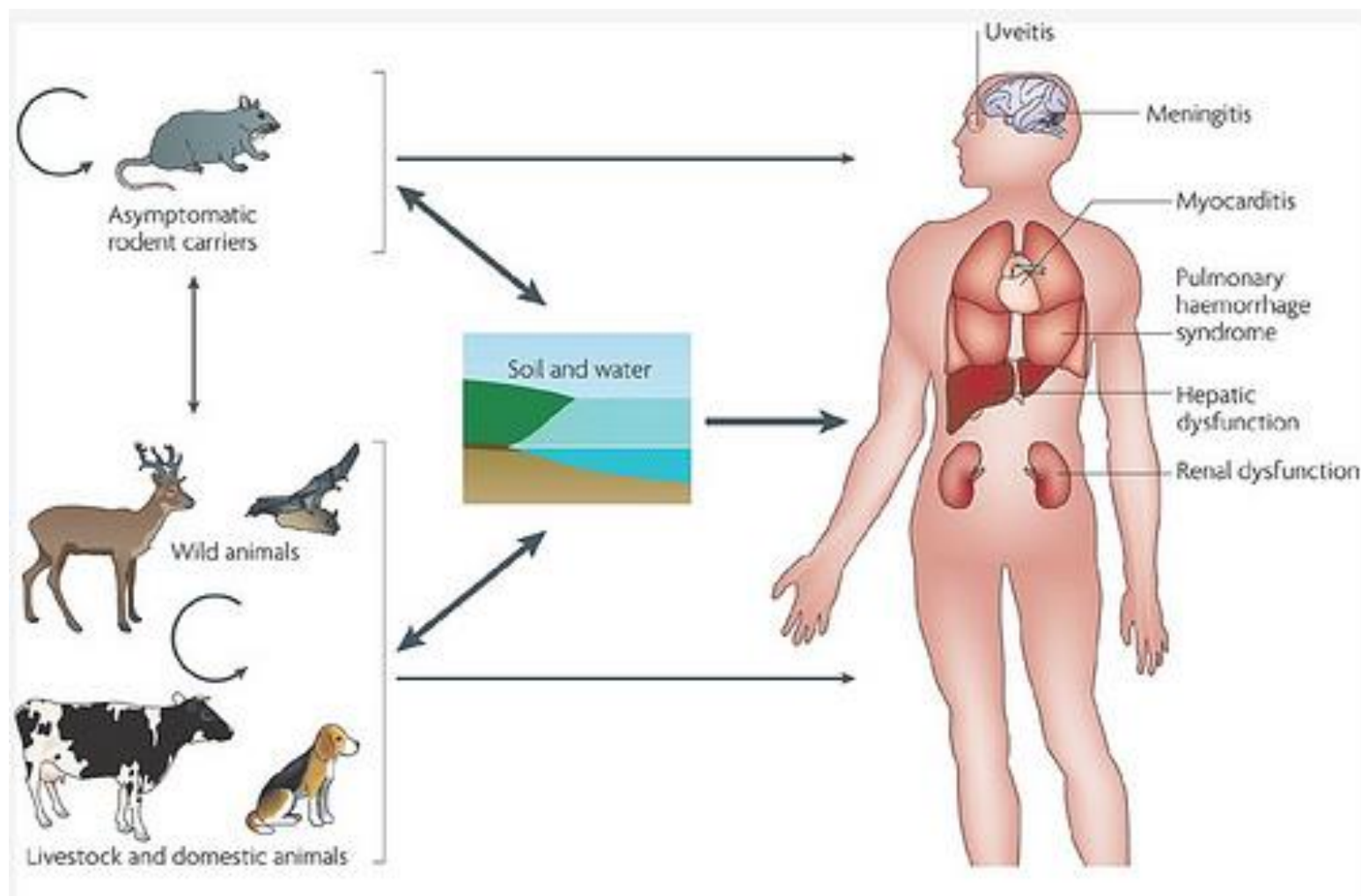
Экология, источник инфекции и пути заражения

- *L.interrhogans* широко распространены в природе, вызывают **лептоспироз** у людей и животных.
- Лептоспироз зоонозная инфекция. Источником инфекции являются в основном грызуны (синантропные и дикие грызуны), а также домашние животные (крупный рогатый скот, свиньи, собаки и т.д.).
- **У животных инфекция протекает в виде нефрита**, имеет хроническое течение, в основном без клинических проявлений; выделяя патогенные микроорганизмы с мочой, они загрязняют водоемы, пищу и почву.
- Люди заражаются в основном при контакте с водой, загрязненной экскрементами больных животных (предыдущее название болезни «водная лихорадка» было связано именно с этим).
- Воротами для инфекции являются повреждения кожи и слизистых оболочек (слизистых оболочек рта и полости носа, конъюнктивы).
Употребление воды, содержащей лептоспиры малоопасно для заражения.

Патогенез и клинические проявления лептоспироза

- Лептоспироз - острое инфекционное заболевание, характеризующееся лихорадкой, интоксикацией, повреждением капилляров печени, почек и центральной нервной системы.
- Патогенные микроорганизмы, проникающие в организм через кожу и слизистые оболочки, после 1-2-недельного инкубационного периода попадают в кровоток, вызывая бактериемию (спирохетемию), сопровождающуюся различными фебрильными реакциями. Возбудитель попадает в обильно снабжаемые кровью паренхиматозные органы (особенно почки и печень), где вызывает геморрагии и некроз, что приводит к гепатитам, проявляющимся нефритом и желтухой.
- Заболевание часто протекает двухфазно, повышение титра антител IgM, наступающее после улучшения после первой фазы, приводит к развитию «асептического менингита», проявляющегося интенсивными головными болями, менингеальными синдромами, плеоцитозом в спинномозговой жидкости. В то же время может наблюдаться повреждение кожи, мышц и глаз.
- В клинике заболевания чаще встречаются **гепатиты**, которые сопровождаются увеличением фермента креатин фосфокиназы в сыворотке крови (при вирусных гепатитах количество этого фермента остается нормальным!).

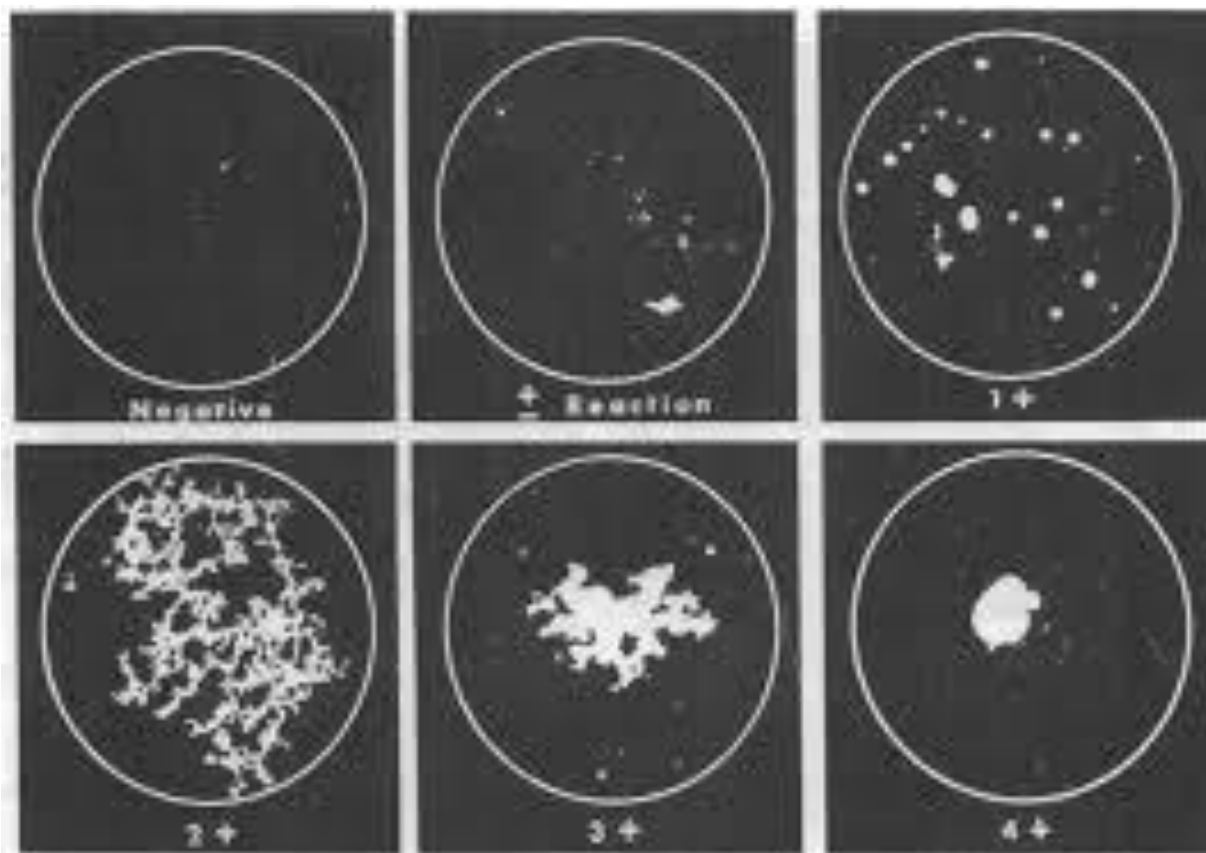
Патогенез и клинические проявления Лептоспироза



Микробиологическая диагностика

- Для исследования берется кровь, спинномозговая жидкость, моча и сыворотка крови.
- **Микроскопический метод.** На ранних стадиях заболевания лептоспиры иногда можно выявить в тонком мазке крови, окрашенном методом Гимзы а также в темнопольном микроскопе. Темнопольная микроскопия осадка мочи также позволяет выявить возбудителя.
- **Бактериологический метод.** Культуру возбудителя можно получить и идентифицировать путем культивирования на полужидкой среде (Флетчера, Стюарта и др.) образцов свежей крови, мочи, а также спинномозговой жидкости больных. Лептоспиры развиваются постепенно, культуру можно получить только через 1-2 недели. Для идентификации используется *реакция микроагглютинации*.
 - реакция представляет собой реакцию агглютинации на стекле в присутствии специфических антител к серотипам *L. interrogans*, результат которой оценивается микроскопически. Положительная реакция сопровождается агглютинацией лептоспир – образованием конгломератов в виде «паучков».

Реакция микроагглютинации



Микробиологическая диагностика

- **Биологическая проба** считается чувствительным методом в диагностике лептоспироза. Сыворотка крови или моча пациента вводится внутривенно мышам и морским свинкам. Через несколько дней лептоспиры можно выявить в **перитонеальной** жидкости. Через 1-2 недели во внутренних органах **погибших** животных выявляются геморрагические поражения.
- **Серологический метод.** При лептоспирозе титры агглютинирующих антител на 5-8 неделе болезни достигают максимума (1: 10000 и выше). Для выявления этих антител используется реакция микроагглютинации с использованием контрольных (**референсных**) штаммов лептоспир. Реакция очень чувствительна, и при использовании соответствующих серотипов она также обладает высокой специфичностью.
 - Для определения антител также используются реакция непрямой гемагглютинации и ИФА.

Лептоспироз

- **Лечение.** Лечение легких форм заболевания проводится пероральным использованием доксициклина, ампициллина или амоксициллина. При лечении тяжелых форм пенициллин или ампициллин назначают внутривенно.
- **Профилактика:**
 - **Неспецифическая профилактика** включает борьбу с грызунами, вакцинацию сельскохозяйственных и домашних животных и зооветеринарные меры.
 - При эпидемиологических показаниях проводится **специфическая профилактика** термически обработанной инактивированной корпускулярной вакциной, состоящей из различных серотипов возбудителя.

Риккетсии

- В современной классификации все риккетсии включены в семейство *Rickettsiaceae*. По своим морфологическим и многим биологическим особенностям риккетсиоподобные микроорганизмы включены в семейство *Bartonellaceae*.
- В семейство *Rickettsiaceae* входят мелкие грамотрицательные бактерии рода *Rickettsia*, *Orientia*, *Ehrlichia* и *Coxiella*. За исключением возбудителя Q-лихорадки, все риккетсии являются облигатными внутриклеточными паразитами, которые заражают людей через укусы членистоногих. Вызывают у людей заболевания, называемые **риккетсиозами**.

Риккетсии

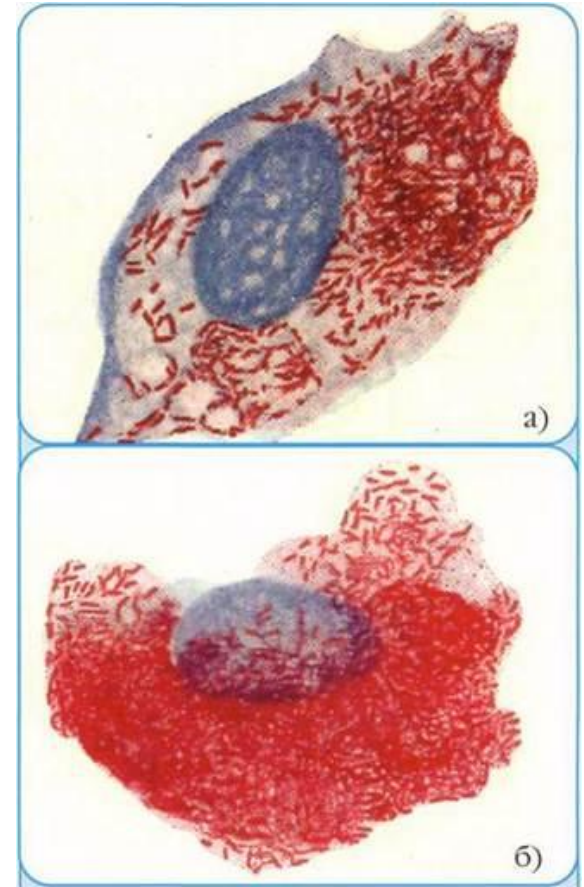
Морфо-биологические особенности. Риккетсии – это палочковидные или кокковидные микроорганизмы размером 0,3х1-2 мкм. Для риккетсий характерны плотные и слизистые микрокапсулы. Они неподвижны, не образуют спор, имеют фимбрии и пили. Все морфологические формы риккетсий имеют тройную клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, цитоплазматические **включения**, вакуоли и нуклеоиды. Нуклеоид состоит из 1-4 частиц. Клеточная стенка содержит пептидогликан, мурамин и диаминопимелиновые кислоты.



© CDC/PHANIE
PHA-082910 - agefotostock

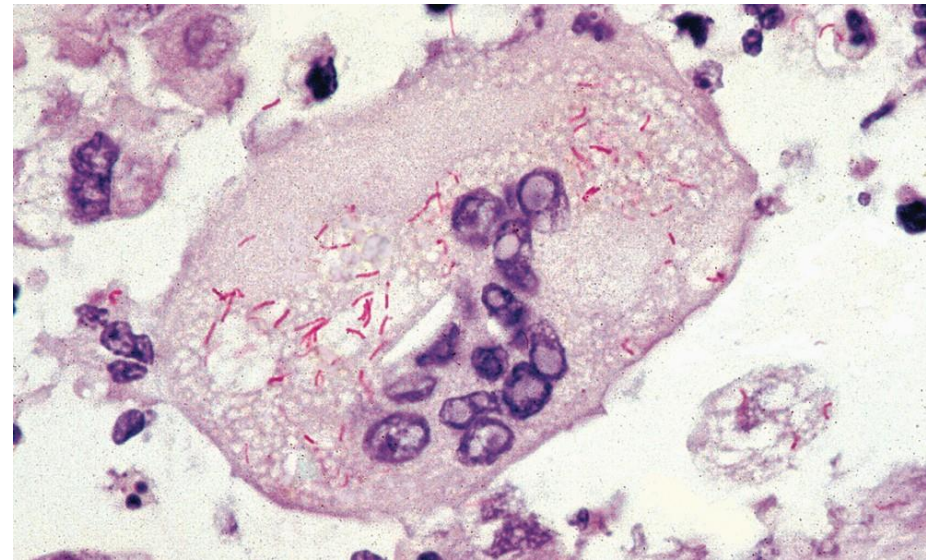
Риккетсии

- Риккетсии сыпного тифа и пятнистой лихорадки имеют липополисахарид (ЛПС). Поверхностные белки клеточной стенки – **Отр-белки** (по-английски, *outer membrane protein*) индуцируют гуморальный иммунный ответ, **на основании этих белков риккетсии** делятся на серотипы.
- Строение клеточной стенки риккетсий аналогично таковому грамотрицательных бактерий**, хорошо окрашиваются по методу Гимзы и Здродовского, а также акридиновым оранжевым. **При окрашивании методом Гимзы они приобретают вид пурпурно-голубых гранул, расположенных в протоплазме клеток.** При окрашивании по методу Здродовского выглядят в виде **светло-красных гранул на синем фоне**



Риккетсии

- Риккетсии размножаются простым делением и не растут на искусственных питательных средах.
- Для их культивации используются развивающиеся куриные эмбрионы, клеточные культуры, членистоногие или чувствительные лабораторные животные.



Риккетсии

- **Антигенная структура.** Гликопротеины и ЛПС, входящие в состав клеточной стенки, обеспечивают антигенность риккетсий. Белки поверхности клеточной стенки – *Отр-белки* определяют антигенную специфичность риккетсий, на основании которой риккетсии делятся на серотипы.
- ЛПС некоторых риккетсий (например, возбудитель эпидемического сыпного тифа – риккетсии Провачека), сходны с протеями. Э. Вейль и А. Феликс определили, что сыворотка крови пациентов с сыпным тифом дает реакцию агглютинации со штаммами *Proteus vulgaris* OX19. Эта реакция, называемая реакцией **Вейля-Феликса**, в течение долгого времени использовалась в диагностических целях. Исследователи ошибочно полагали, что эта бактерия является причиной сыпного тифа. Позднее было установлено, что реакция Вейля-Феликса не была специфической для сыпного тифа, она была положительной так как риккетсии Провачека обладали схожими с протеями антигенами.

Риккетсии

- **Устойчивость к внешним факторам окружающей среды.** Большинство риккетсий вне организма хозяина и вектора (переносчика) могут сохраняться в течение короткого времени. Они неустойчивы к высоким температурам, ультрафиолетовым лучам и бактерицидным химическим агентам. Однако в высушенном состоянии они могут месяцами сохраняться в организме вектора (клещи, вши), а также в их выделениях.
- Возбудитель Q-лихорадки (*Coxiella burnetii*) более устойчив к воздействию факторов окружающей среды. Выживает после 30-минутной пастеризации при температуре 60⁰С, также сохраняется в молоке в течение нескольких месяцев. Такая устойчивость объясняется способностью *Coxiella burnetii* образовывать **эндоспороподобные структуры.**

Факторы патогенности риккетсий

- Патогенность риккетсий обеспечивается в основном их клеточными структурами – пилиями, белками **наружной** мембраны (**клеточной стенки**) – *Отр-белками* и *ЛПС*.
- Риккетсии Провачека и Риккетса содержат фосфолипазу A2, которая играет важную роль при **инфицировании клеток**. Риккетсии не вырабатывают экзотоксины.

Патогенез риккетсиозов

- Риккетсии, попадающие в организм, прикрепляются к клеткам-мишеням с помощью пилей и *Отр*-белков, а затем с помощью фосфолипазы А2 воздействуют на липиды внешней мембраны клетки-хозяина и через сформированные дефекты попадают внутрь клетки.
- В клетках-хозяевах формируется фагосома (вакуоль) с риккетсиями. Здесь риккетсии активно размножаются, и после разрыва вакуоли освобожденные риккетсии попадают в лимфу и кровь и, таким образом, распространяются по всему организму.

Патогенез риккетсиозов

- Процесс и механизм повреждения отдельных типов клеток-мишеней, зараженных риккетсиями в организме человека различны. Весьма характерно повреждение эндотелия сосудов риккетсиями. За исключением *C. burnetii*, риккетсии размножаются в эндотелии мелких кровеносных сосудов и вызывают **васкулит**. Эти клетки набухают и некрозируются, закупорка **тромбами** кровеносных сосудов приводит к некрозу тканей.
- **Хотя развитие васкулитов главным образом проявляется на коже, он** также наблюдается во многих внутренних органах, что сопровождается нарушением кровообращения, синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания и закупоркой сосудов.
- В результате агрегации лимфоцитов, полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов на стенках кровеносных сосудов серого вещества мозга развивается менингоэнцефалит с образованием **тифоидных узлов**. Тифоидные узлы также могут формироваться и во внутренних органах – на сердечных сосудах и щитовидной железе.

Патогенез риккетсиозов

В некоторых случаях после перенесенного заболевания, риккетсии могут длительно сохраняться (персистировать) в организме, не вызывая патологического процесса.

Эта способность обеспечивается переходом риккетсий в L-формы, антигенной мимикрией или за счет экранирования иммуноглобулинами. Например, патогенез болезни Брилля-Цинссера - рецидива сыпного тифа связан с длительной персистенцией возбудителя в лимфатических узлах.

Возбудитель эпидемического сыпного тифа и болезни Брилля-Цинссера (*Rickettsia prowazekii*)

- Эпидемический или вшивый сыпной тиф является острым антропонозным заболеванием. Возбудитель болезни – *R. prowazekii* относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae*.
- *R. prowazekii* легко культивируется в организме вшей, в тканевых культурах, в желточных мешках развивающихся куриных эмбрионов. Размножается в цитоплазме чувствительных клеток.

Источник инфекции и механизмы заражения эпидемическим сыпным тифом

- Источником инфекции являются больные люди, болезнь передается от вшей. Вши становятся заразными через 4-5 дней после кровососания у больного человека. В течение этого времени риккетсии размножаются в кишечном эпителии вшей.
- После разрушения эпителиальных клеток риккетсии попадают в кишечную полость и выводятся с выделениями вшей. На месте укуса и кровососания развивается зуд. Заражение происходит в результате втирания фекалий зараженных вшей при расчесывании кожи
- Заражение также может происходить в результате попадания в дыхательные пути пылевых аэрозолей содержащих высохшие фекалии инфицированных вшей

Клинические проявления эпидемического сыпного тифа

Инкубационный период составляет в среднем 1-2 недели.

Эпидемический сыпной тиф проявляется лихорадкой, поражением эндотелия кровеносных сосудов жизненно важных органов (мозг, сердце, почки), розеолезно-петехиальной сыпью. Летальность без лечения - до 20%.



Микробиологическая диагностика эпидемического сыпного тифа

- Диагноз осуществляется на основании клинико-эпидемиологических данных.
- Уточняется диагноз лабораторным исследованием на специфические антитела при помощи РСК, РНГА, ИФА и др.

Эпидемический сыпной тиф

- **Лечение.** Этиотропное лечение проводят приемом доксициклина и препаратами тетрациклинового ряда.
- ***Неспецифическая профилактика*** осуществляется комплексом мер, включающих изоляцию завшивленных больных, дезинсекцию и дезинфекцию в очаге.
- ***Для специфической профилактики*** разработана химическая вакцина из растворимого антигена клеточной стенки риккетсий Провачека

Болезнь Брилля-Цинссера

- **Болезнь Брилля-Цинссера** представляет собой **рецидив** ранее перенесенного эпидемического сыпного тифа . Болезнь получила название по фамилии нью-йоркского врача Н.Брилля, впервые описавшего данную разновидность риккетсиоза , впоследствии этот же риккетсиоз изучил Цинссер.
- Ранее эпидемический сыпной тиф встречался в районах, где происходила эпидемия. Болезнь Брилля-Цинссера связана с длительной персистенцией в лимфатических узлах возбудителя – *R.prowazekii*. Проявляется на фоне ослабления резистентности организма через 10-30 лет после перенесенного заболевания.
- Клинически проявляется легкой или средней степенью эпидемического сыпного тифа.

Отличие болезни Брилля-Цинссера от первичного эпидемического сыпного тифа

- Для дифференцирования болезни Брилля-Цинссера от первичного эпидемического сыпного тифа исследуются антитела IgM и IgG к возбудителю.
- При эпидемическом сыпном тифе главным образом, появляются IgM, при болезни Брилля-Цинссера в основном обнаруживаются IgG антитела. Титр IgG достигает максимума в течение первых десяти дней болезни.

Возбудитель эндемического (крысиного) сыпного тифа (*Rickettsia typhi*)

- Относится к роду *Rickettsia* семейства *Rickettsiaceae*
- Как и все риккетсии являются внутриклеточными паразитами.
- Морфологические, тинкториальные и прочие характеристики идентичны таковым у возбудителя эпидемического сыпного тифа.

Клинические проявления:

- Первичный аффе́кт на входных воротах инфекции отсутствует. Заболевание начинается после инкубационного периода продолжительностью 1-2 недели с острых головных болей, болей в суставах и лихорадки, достигающей 38-40°C к концу 1-й недели болезни. Для болезни характерны макуло-папулезные высыпания на поверхности тела. Рецидивов и повторных случаев болезни не зафиксировано. Летальность не превышает 2-3%.

Источник инфекции и механизм заражения эндемическим сыпным тифом

- Эндемический сыпной тиф – зоонозное заболевание. Основным источником возбудителя в природе являются крысы и мыши, которые инфицируются посредством блох, вшей, и возможно клещей.
- В организм человека возбудитель попадает через укусы переносчиков (блохи, вши, клещи), возможен алиментарный или контактный пути передачи.
- Это природно-очаговое эндемичное заболевание, человек не является источником инфекции.

Микробиологическая диагностика эндемического сыпного тифа

- Диагноз устанавливается на основании клинико-эпидемиологических данных, подкрепляется исследованием сыворотки крови больного в серологических реакциях (РСК, РНГА, РИФ, ИФА и др.)
- Для дифференциации с эпидемическим сыпным тифом заражают самцов морских свинок кровью больных. *R. typhi* у морских свинок вызывает воспаление яичка – риккетсиозный периорхит (скротальный феномен). *R. prowazekii* у морских свинок вызывает только лихорадку.
- Дифференциация от эпидемического сыпного тифа основана на различии (в 2-4 раза) титров антител при постановке реакций с корпускулярными антигенами обоих возбудителей: *R. typhi* и *R. prowazekii*.

Лечение и профилактика эндемического сыпного тифа

- **Лечение** проводят антибиотиками тетрациклинового ряда
- **Неспецифическая профилактика** осуществляется комплексом дератизационных и дезинсекционных мероприятий в очагах.
- **Специфическую профилактику** в эндемических очагах проводят убитой вакциной.

Возбудитель лихорадки Ку (*Coxiella burnetii*)

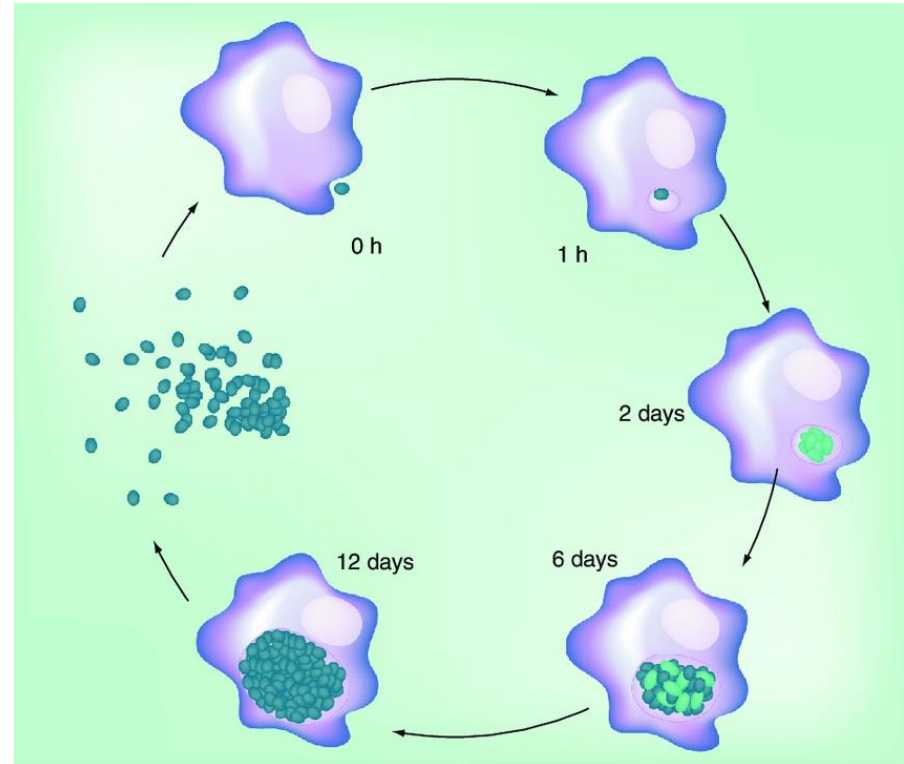
- Заболевание получило название Ку лихорадки от начальной буквы английского слова «*query*», означающей неясный, неопределенный.
- Рода и вид были названы в честь исследователей Кокса и Бернетта

Coxiella burnetii

- *C.burnetii* представляют мелкие, полиморфные ланцетовидные микроорганизмы размером 0,2-0,4x0,4-1 мкм, могут иметь форму палочек или коккобацилл. Могут образовывать фильтрующиеся формы. Окрашиваются по Здродовскому и Романовскому –Гимзе в красный цвет.
- Как и бактериям им присущи R-S диссоциации. соответствующая, обладает изменчивостью. Возбудители образующие в естественных условиях фазу I, в результате длительных пассажей в тканевых культурах и куриных эмбрионах переходят в фазу II. Фаза I отличается от фазы II наличием **структурных липополисахаридов** в клеточной стенке.

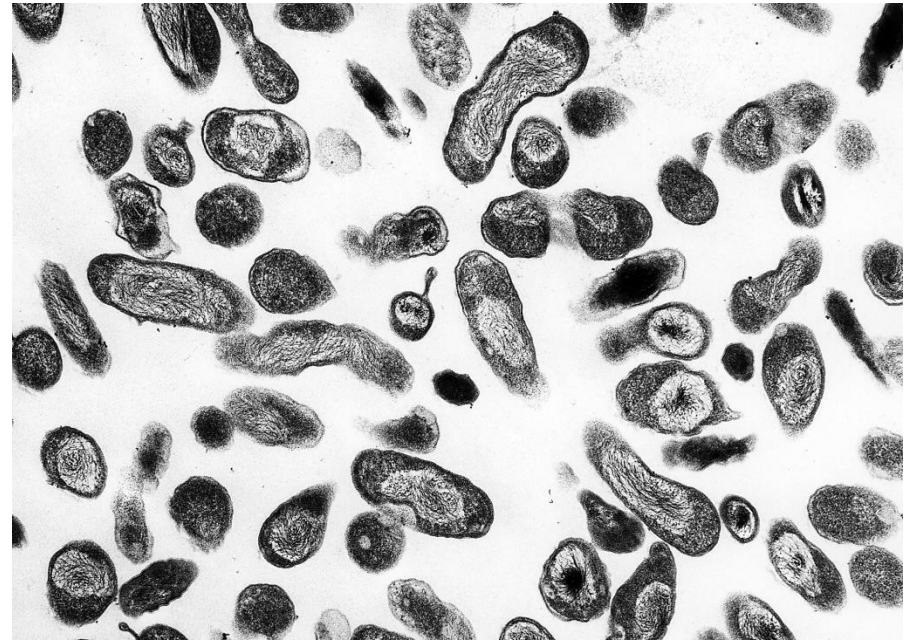
Coxiella burnetii

- *C. burnetii* являются облигатными внутриклеточными паразитами. Коксии размножаются преимущественно в вакуолях и фаголизосомах клеток хозяина.
- Культивируются в желточном мешке куриного эмбриона при температуре 35°



Coxiella burnetii

- Устойчивы к факторам внешней среды, в частности высушиванию и высокой температуре, при температуре 80-90°C в течение 30 мин. сохраняют жизнеспособность.
- Пастеризация молока при температуре 60°C в течение 30 мин. коксиелл не убивает. Они сохраняются в твороге, кефире и др. молочных продуктах.
- Устойчивы к действию желудочного сока, не погибают в 5% растворе формалина и в 1% растворе фенола.
- Образуют спороподобные формы, обеспечивающие высокую устойчивость к факторам внешней среды.



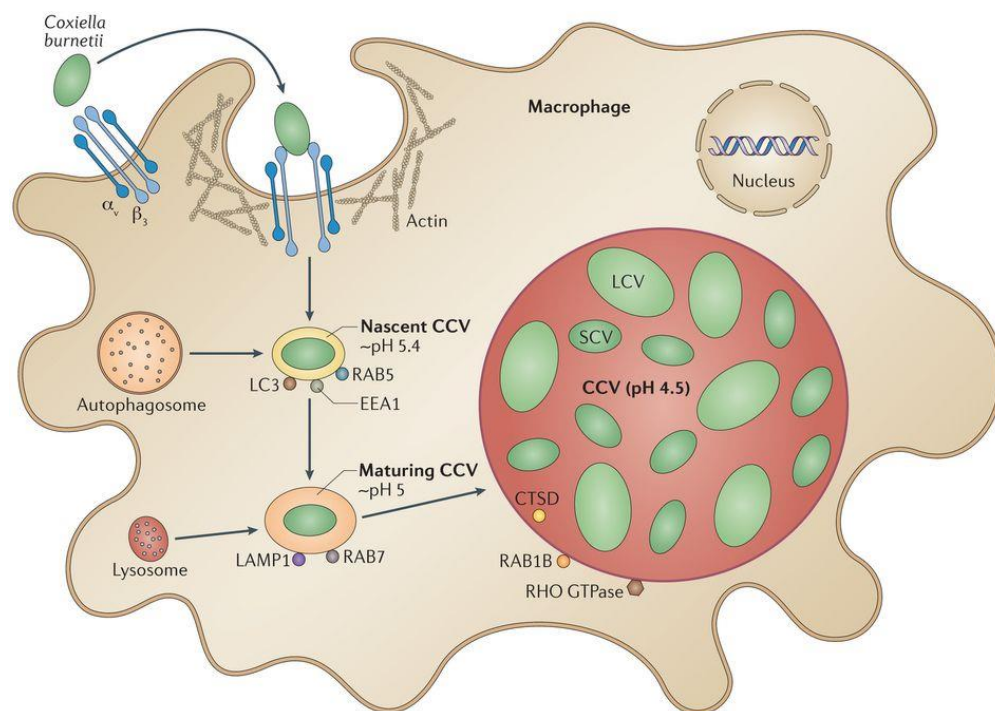
Источник инфекции и механизмы заражения

- Источником инфекции являются животные . Существует несколько путей заражения человека:
 - аэрогенное заражение – в результате вдыхания аэрозолей, содержащих возбудителя
 - пероральное заражение – при употреблении в пищу мясных и молочных продуктов больных животных
 - возможен трансмиссивный путь передачи при укусах клещей.
- *C.burnetii* в естественных условиях вызывают у крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, собак, грызунов, а также птиц хронические заболевания. Риккетсии выделяются от больных животных с молоком, мочой и выделениями, а также с околоплодными водами во время отела.

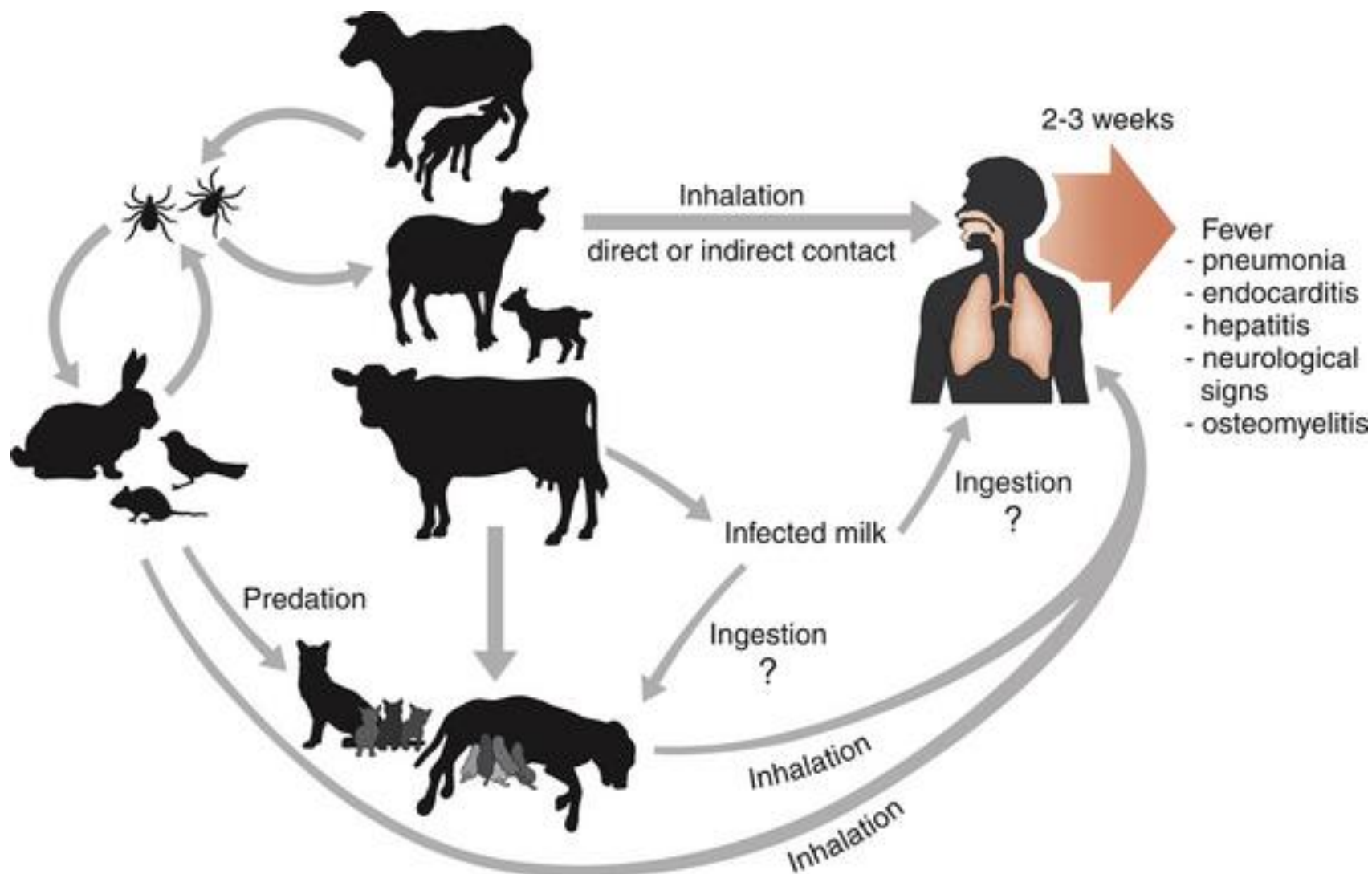
Патогенез лихорадки Ку

Патогенез лихорадки Ку отличается от риккетсиозов. Возбудитель при проникновении в организм человека внедряется в кровь и лимфу, а затем в клетки тканей и органов.

*Фагоцитированные *C.burnetii* не лизируются – за счет незавершенного фагоцитоза они размножаются в лейкоцитах. Коксии поражают клетки эндотелия кровеносных сосудов и обуславливают развитие периваскулитов, но не панваскулитов в отличие от прочих риккетсий.*



Лихорадка -Ку



Клинические проявления лихорадки Ку

- Инкубационный период составляет 1-3 недели. Лихорадка Ку характеризуется полиморфизмом клинических проявлений.
- Заболевание носит характер лихорадки с поражением дыхательной системы (пневмонии) , гепатолиенальным синдромом (гепатиты) или энцефалопатии.
- Сыпь встречается редко, у 5-25% больных в виде розеопапул.
- Лихорадка, которая является постоянным клиническим признаком, начинается на 2-й или 3-й день болезни и длится около 3 недель.

Микробиологическая диагностика

- Антитела выявляют в серологических реакциях (РСК, РНИФ , ИФА) с применением антигенов I и II фаз кокциелл.
- Серологические реакции ставятся с антигенами I и II фазы. Положительная реакция с антигеном II фазы указывает на наличие болезни в настоящем, положительная реакция с антигенами I и II фазы указывает на перенесенное ранее заболевание.
- Обнаружение у больного IgG к антигенам I фазы в титре 1:800 наблюдается при хроническом течении болезни.

Лихорадка Ку

- **Лечение** препаратами тетрациклинового и хинолонового ряда. Лечение хронических форм и осложнений требует длительного применения (несколько месяцев) антибиотиков – тетрациклина.
- **Неспецифическая профилактика** сводится к постоянному эпидемиологическому и санитарно-ветеринарному надзору за коксииеллезом в эндемичных районах с последующей выбраковкой больных сельскохозяйственных животных . Рекомендуется пастеризация молока при температуре $71,5^{\circ}\text{C}$ в течение 15 секунд .
- **Специфическая профилактика.** Проводят вакцинацию сотрудников лабораторий, работающих с *C.burnetii* .