



Частное профессиональное образовательное учреждение
«АНАПСКИЙ ИНДУСТРИАЛЬНЫЙ ТЕХНИКУМ»
(ЧПОУ «Анапский индустриальный техникум»)

А.С. Юрова

МИКРОБИОЛОГИЯ

учебно - методическое пособие

Анапа
2023

Практическая работа №1

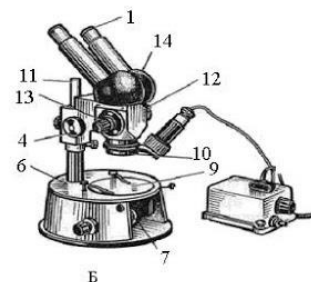
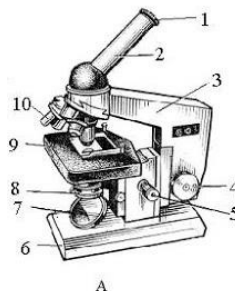
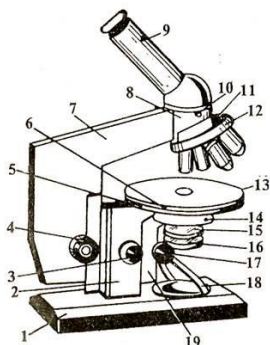
Устройство микроскопа

Цель работы: изучить устройство микробиологической лаборатории; правила работы в микробиологической лаборатории, аппараты, приборы, посуду, материал, инвентарь; изучить устройство микроскопа, освоить приемы работы с микроскопом и технику рассмотрении микропрепаратов. Соблюдать правила работы в микролаборатории и личную гигиену.

Оборудование: световой микроскоп, микропрепараты.

Ход работы

1. Изучение устройства, оснащения, правил работы микробиологической лаборатории.
2. Микроскоп: устройство, правила работы.



3. Рассмотрение микропрепарата.



Наблюдение: при большом увеличении можно рассмотреть плотную прозрачную оболочку с более тонкими участками — порами. Внутри клетки находится бесцветное вязкое вещество — цитоплазма (окрашена).

В цитоплазме находится небольшое плотное ядро, в котором находится ядрышко.

Почти во всех клетках, особенно в старых, хорошо заметны полости — вакуоли.

Контрольные вопросы

1. Что является источником освещения в учебных микробиологических лабораториях?
2. Перечислите важнейшие правила работы с сухими объективами?
3. Перечислите важнейшие правила работы с иммерсионным объективом?
4. Назовите и охарактеризуйте виды микроскопии. Оформите отчет в виде таблицы.

| Вид микроскопии | Описание метода | Область применения метода |
|-----------------|-----------------|---------------------------|
| | | |

5. Назовите этапы приготовления препаратов живых клеток.
6. Назовите этапы приготовления препаратов фиксированных клеток.
7. Какие применяют красители для окрашивания микропрепаратов?

ПРИЛОЖЕНИЕ

Техника безопасности и правила поведения при проведении практических работ по микробиологии.

Работа со студентами в лаборатории микробиологии начинается с проведения инструктажа по технике безопасности. Студенты расписываются в специальном журнале о том, что ознакомлены с техникой безопасности. Рядом расписывается преподаватель, проводивший инструктаж.

ПРАВИЛА РАБОТЫ В УЧЕБНОЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

1. Работать в лаборатории следует в халате и шапочке на постоянно закрепленном месте.
2. На рабочем месте не должно быть ничего лишнего.
3. Во время работы необходимо соблюдать чистоту, не допускать разлива и разбрызгивания культур.
4. При работе со спиртовкой зажигают её только с помощью спичек, предварительно выпустив пары спирта. Гасить спиртовку следует только колпачком, который завертывают на горловине спиртовки после окончания работы.
5. В пробирки и чашки Петри материал высевают вблизи от спиртовки с обжиганием петли, краев пробирки.
6. В помещении лаборатории нельзя принимать пищу, пить воду, допускать излишние разговоры, брать использованные пипетки в рот.
7. Использованные предметные стекла, шпатели помещают в эксикатор с дезинфицирующим раствором (3%-й раствор фенола или 1%-й раствор хлорамина). Пинцеты, бактериологические петли и другие металлические предметы перед тем, как использовать или поставить на место, необходимо прожечь в пламени спиртовки.
8. Чашки Петри и пробирки, засеянные культурами микроорганизмов, ставят в термостат, предварительно написав на них восковым карандашом фамилию исследователя, номер группы и дату посева.
9. При случайном попадании культуры микроорганизмов на предметы или одежду необходимо продезинфицировать их 3% -м раствором фенола с помощью ваты и пинцета. Вату после обработки поместить в сосуд с дезинфицирующим раствором, который находится на лабораторном столе.
10. После окончания работы необходимо навести на своем столе порядок: микроскоп закрыть чехлом, халат и шапочку убрать в полиэтиленовый пакет, а руки тщательно вымыть с мылом.
11. Перед уходом из лаборатории сдают свой стол дежурному студенту, который сдает лабораторию дежурному лаборанту.
12. Уходя, убедитесь в том, что все электроприборы выключены. Исключение составляют холодильники и термостаты.
13. Полученные результаты студенту необходимо подробно описать, цифровой материал свести в таблицы, если необходимо, в графики, диаграммы, рисунки.
14. Каждая лабораторная работа должна заканчиваться собственными наблюдениями и выводами, занесенными в рабочую тетрадь.

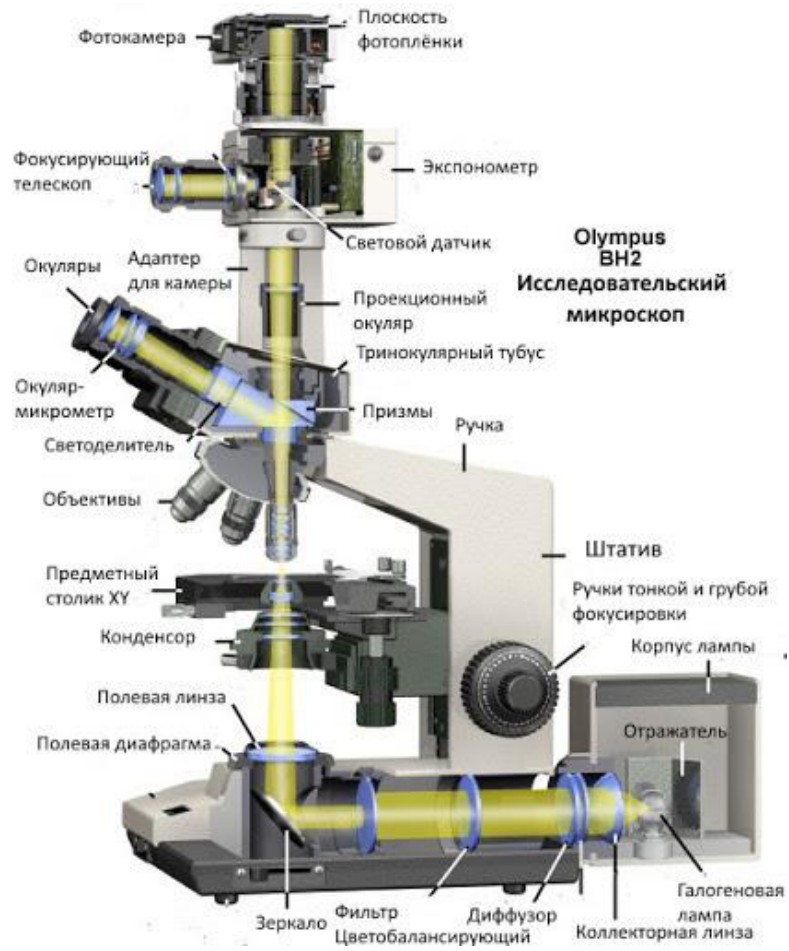
Тетрадь для лабораторных работ служит документом, позволяющим контролировать правильность полученных данных. В нее должны быть внесены сведения, имеющие отношения к выполнению данной работы.

Запись необходимо вести аккуратно, четко и в определенном порядке, например:

- 1) название опыта, дата его постановки и окончания;
- 2) объект исследования;
- 3) условия проведения опыта;
- 4) основной принцип используемого метода анализа;
- 5) результаты опыта.

В конце каждого занятия необходимо получить подпись преподавателя, проводившего занятие.

Электронный микроскоп



Световой микроскоп



Практическая работа №2 Строение бактериальной клетки

Цель работы: проанализировав физиологические особенности микроорганизмов, их химический состав, культуральные и биохимические свойства, изучить строение бактериальной клетки.

Ход работы

| Вариант I | Вариант II |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Задание №1 Зарисовать и обозначить структурные компоненты клеток бактерий | |
|  |  |
| <p>Задание №2 Зарисовать клеточные стенки грамположительных, кислотоустойчивых бактерий и подписать все структурные компоненты бактерий</p> | <p>Задание №2 Зарисовать клеточные стенки грамотрицательных бактерий, грибов и подписать все структурные компоненты бактерий</p> |
| Грамположительные бактерии | Грамотрицательные бактерии |
| Кислотоустойчивые бактерии | Грибы прокариоты |

Задание №3 Структура бактериальной клетки

Заполнить таблицу

| Органоид | Функции | Метод выявления |
|---------------------------------|---------|-----------------|
| Обязательные органоиды | | |
| Клеточная стенка | | |
| Цитоплазматическая мембрана | | |
| Нуклеотид | | |
| Рибосомы | | |
| Необязательные органоиды | | |
| Пили | | |
| Жгутики | | |
| Капсула | | |
| Эндоспоры | | |
| Плазмиды | | |
| Включения | | |
| Мезосомы | | |

Контрольные вопросы

1. Прокариотическая клетка как система. Химический состав одноклеточных организмов.
2. Сравнительная характеристика строения прокариотической и эукариотической клетки
3. Цитоплазма прокариот. Строение, химический состав и функции.
4. Цитоплазматическая мембрана. Строение, химический состав и функции. Методы выявления.
5. Жгутики и ворсинки (пили и фибрии). Строение и основные функции. Подвижность бактерий.
6. Классификация бактерий в зависимости от расположения жгутиков. Примеры. Методы выявления.
7. Строение спирохет, особенности подвижности, методы изучения морфологии.
8. Слизи и капсулы. Химический состав и функции. Виды капсул. Примеры.
9. Техника и механизм окраски по Бурри-Гинсу.
10. Эндоспоры. Индукция спорообразования, стадии. Классификация бактерий в зависимости от расположения спор. Примеры.
11. Техника и механизм окраски по Ожешко и Пешкову.
12. Некультивируемые формы, определение понятие, функции. Примеры.
13. Внутрицитоплазматические включения бактерий (жироподобные вещества, нейтральные жиры, полифосфаты и др.). Химический состав и функции. Методы выявления.
14. Классификация и размножение грибов, морфологические особенности. Диморфизм грибов и роль в патологии человека. Примеры.
15. Негативный способ окраски, цель, достоинства и недостатки. Примеры.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Теоретическая часть

Клетки **прокариот** не имеют ядерной оболочки (греч. «про» — до, «карион» — ядро), отличаются мелкими размерами (обычно 1 — 5 мкм) и простотой строения.

Поверхностный аппарат

Все клетки, в том числе и клетки прокариот, окружены **цитоплазматической мембраной**. Она изолирует содержимое клетки от окружающей среды, осуществляет транспорт веществ из клетки и в клетку, воспринимает сигналы из окружающей среды. Таким образом, мембрана обеспечивает поддержание постоянства внутриклеточной среды.

Поверх мембраны у прокариот (за исключением некоторых паразитических групп) находится **клеточная стенка**. Она выполняет функцию механической защиты клетки от внешних повреждений и давления воды изнутри клетки (в результате осмоса). У настоящих бактерий в основе клеточной стенки лежит муреин.

Муреин — пептидогликан, который представляет собой длинные полисахаридные цепи, сшитые короткими пептидными мостиками. В результате формируется непрерывная молекулярная сетка, окружающая всю бактериальную клетку.

По строению поверхностного аппарата бактерии делятся на две большие группы — **грамположительные** (Грам+) и **грамотрицательные** (Грам-).

Эти названия даны из-за разной способности таких клеток окрашиваться по Граму (определенный метод окрашивания).

1. У грамположительных бактерий муреиновый слой достаточно толстый. Также в их клеточной стенке содержатся особые соединения — *тейхоевые кислоты*.
2. У грамотрицательных бактерий тонкий муреиновый слой сверху покрыт второй мембраной. Между мембранами имеется **периплазматическое пространство** (рис.1 и рис.2).

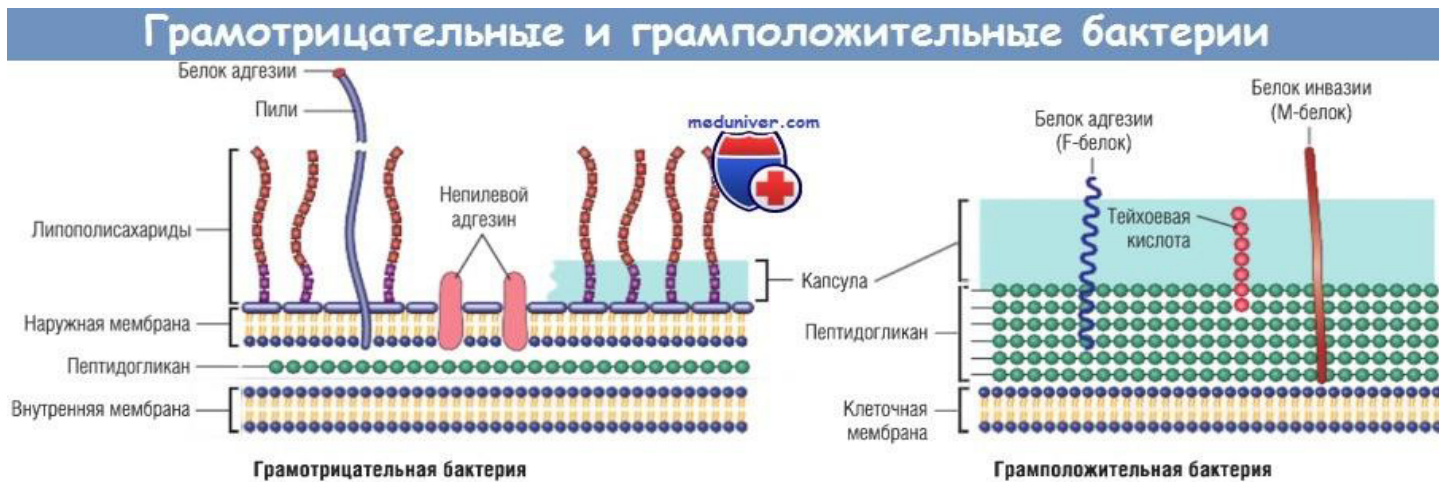


Рис. 1. Грамотрицательные и грамположительные бактерии



Рис.2. Строение поверхностного аппарата бактерии

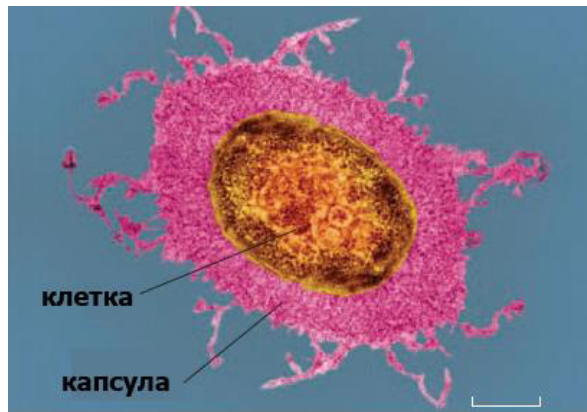


Рис. 3. Капсула бактерии. Раскрашенная электронная микрофотография

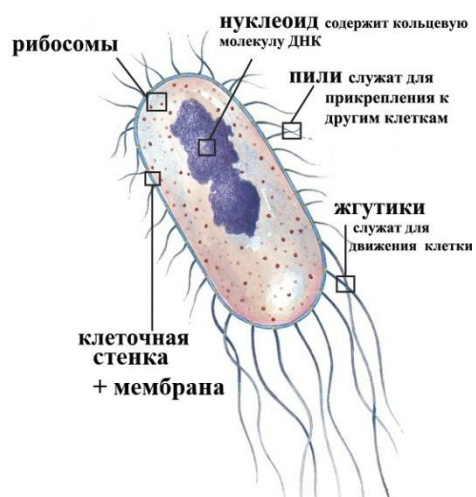
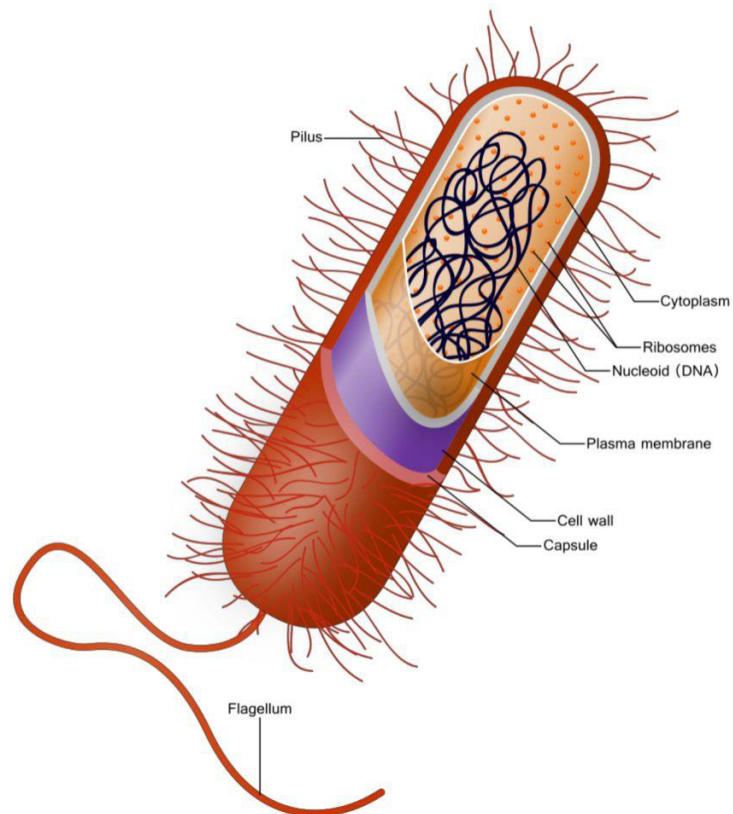


Рис. 4. Строение бактериальной клетки

Строение клеточной стенки и цитоплазматической мембраны

Клеточная стенка — упругое ригидное образование толщиной 150–200 ангстрем.

Выполняет следующие функции:

- 1) защитную, осуществление фагоцитоза;
- 2) регуляцию осмотического давления;
- 3) рецепторную;
- 4) принимает участие в процессах питания деления клетки;
- 5) антигенную (определяется продукцией эндотоксина — основного соматического антигена бактерий);
- 6) стабилизирует форму и размер бактерий;
- 7) обеспечивает систему коммуникаций с внешней средой;
- 8) косвенно участвует в регуляции роста и деления клетки.

Клеточная стенка при обычных способах окраски не видна, но если клетку поместить в гипертонический раствор (при опыте плазмолиза), то она становится видимой.

Клеточная стенка вплотную примыкает к цитоплазматической мембране у грамположительных бактерий, у грамотрицательных бактерий клеточная стенка отделена от цитоплазматической мембраны периплазматическим пространством.

Клеточная стенка имеет два слоя:

- 1) наружный — пластичный;
- 2) внутренний — ригидный, состоящий из муреина.

В зависимости от содержания муреина в клеточной стенке различают грамположительные и грамотрицательные бактерии (по отношению к окраске по Грамму).

У *грамположительных* бактерий муреиновый слой составляет 80 % от массы клеточной стенки.

По Грамму, они окрашиваются в синий цвет. У грамположительных бактерий муреиновый слой составляет 20 % от массы клеточной стенки, по Грамму, они окрашиваются в красный цвет.

У грамположительных бактерий наружный слой клеточной стенки содержит липопротеиды, гликопротеиды, тейхоевые кислоты, у них отсутствует липополисахаридный слой. Клеточная стенка выглядит аморфной, она не структурирована. Поэтому при разрушении муреинового каркаса бактерии полностью теряют клеточную стенку (становятся протопластами), не способны к размножению.

У *грамотрицательных* бактерий наружный пластический слой четко выражен, содержит липопротеиды, липополисахаридный слой, состоящий из липида А (эндотоксина) и полисахарида (О-антигена). При разрушении грамотрицательных бактерий образуются сферопласты — бактерии с частично сохраненной клеточной стенкой, не способные к размножению.

К клеточной стенке прилегает цитоплазматическая мембрана. Она обладает избирательной проницаемостью, принимает участие в транспорте питательных веществ, выведении экзотоксинов, энергетическом обмене клетки, является осмотическим барьером, участвует в регуляции роста и деления, репликации ДНК, является стабилизатором рибосом.

Имеет обычное строение: два слоя фосфолипидов (25–40 %) и белки.

По функции мембранные белки разделяют на:

- 1) структурные;
- 2) пермиазы — белки транспортных систем;
- 3) ферменты.

Липидный состав мембран непостоянен. Он может меняться в зависимости от условий культивирования и возраста культуры. Разные виды бактерий отличаются друг от друга по липидному составу своих мембран.

Внутреннее строение

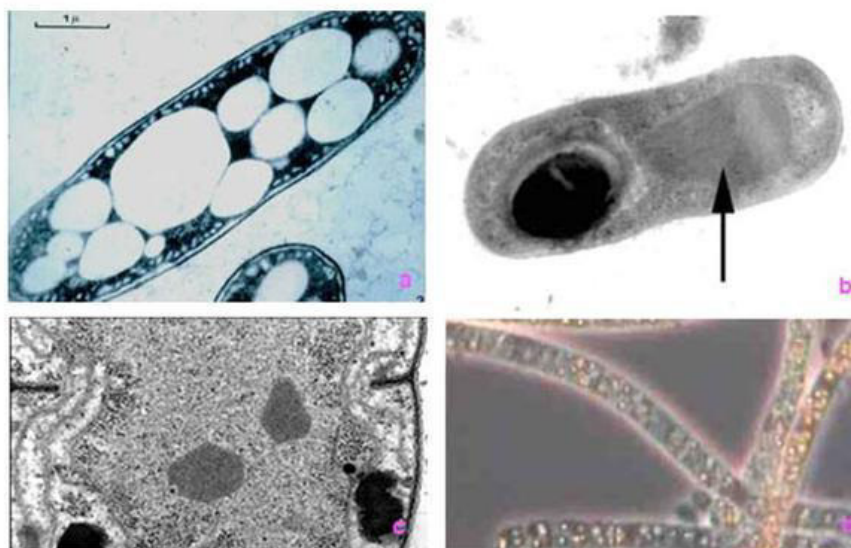
На электронной микрофотографии внутри бактериальной клетки в электронный микроскоп можно увидеть области разной плотности (рис.5).

Более прозрачная для электронов (светлая) часть содержит ДНК и называется **нуклеоидом** (греч. «нуклеус» — ядро, «ойдес» — подобный). Она не отделена от остальной части клетки, называемой цитоплазмой, и имеет примерно такой же состав. ДНК у прокариот представлена, как правило, одной кольцевой молекулой, в определенной точке прикрепленной к цитоплазматической мембране.



Рис. 5. Области разной плотности внутреннего пространства клетки бактерий
 По всему внутреннему пространству клетки бактерий разбросаны рибосомы, количество которых может достигать 10 000 на клетку. Из-за этого цитоплазма выглядит на электронной микрофотографии более темной, гранулярной. Кроме этого, внутри клетки имеются немногочисленные впячивания цитоплазматической мембраны, называемые **мезосомами**. Ранее считалось, что они являются местом синтеза АТФ; согласно новым данным, скорее всего, это артефакты фиксации, и дыхание происходит и в других участках мембраны. Иногда в клетках некоторых бактерий наблюдаются гранулы каких-либо веществ. Они могут содержать запасные питательные вещества (полисахариды, капли жира, полифосфаты) или отходы обмена веществ, которые клетки не могут вывести наружу (сера, окислы железа и др.). Такие гранулы называются **включениями** (рис. 6).

Включения бактериальной клетки



Bacterial Inclusions. A. PHB granules; b. a parasporal BT crystal in the sporangium of *Bacillus thuringiensis*; c. carboxysomes in *Anabaena viridabilis*, showing their polyhedral shape; d. sulfur globules in the cytoplasm of *Beggiatoa*.



Рис. 6. Включения бактериальной клетки

Снаружи от оболочки бактериальной клетки могут располагаться длинные нитевидные структуры двух типов. Первые из них — **жгутики** — представляют собой белковые спирали, способные вращаться относительно мембраны бактериальной клетки и обеспечивать движение бактерий за счет «завинчивания» бактерии в среду.

Жгутики есть не у всех бактерий.

Вторая группа нитей — **пили** — не способна к движению, но обеспечивает прикрепление бактерий к другим клеткам.

Клеточная стенка придает бактериям постоянную форму.

По форме клеток бактерии делятся на:

1. Палочковидные (**бациллы**), к которым относятся бактерии, вызывающие гниение продуктов, возбудители туберкулеза (палочка Коха), чумы (чумная палочка), гангрены (клостридии), а также кишечная палочка (обычный симбионт кишечника человека).
2. Шаровидные (**кокки**), например: золотистый стафилококк, вызывающий нагноение ран, и стрептококки, вызывающие ангины.
3. Имеющие форму запятой (**вибрионы**), например, возбудитель холеры — холерный вибрион.
4. Спиральные — **спириллы**, например: азоспириллы, обеспечивающие фиксацию атмосферного азота на рисовых полях, и **спирохеты**, например трепонема бледная — возбудитель сифилиса.

Особенности строения бактериальной клетки. Основные органеллы и их функции

Отличия бактерий от других клеток

1. Бактерии относятся к прокариотам, т. е. не имеют обособленного ядра.
2. В клеточной стенке бактерий содержится особый пептидогликан — муреин.
3. В бактериальной клетке отсутствуют аппарат Гольджи, эндоплазматическая сеть, митохондрии.
4. Роль митохондрий выполняют мезосомы — инвагинации цитоплазматической мембраны.
5. В бактериальной клетке много рибосом.
6. У бактерий могут быть специальные органеллы движения — жгутики.
7. Размеры бактерий колеблются от 0,3–0,5 до 5–10 мкм.

По форме клеток бактерии подразделяются на кокки, палочки и извитые (рис.7).

В бактериальной клетке различают:

1) основные органеллы:

- а) нуклеотид;
- б) цитоплазму;
- в) рибосомы;
- г) цитоплазматическую мембрану;
- д) клеточную стенку;

2) дополнительные органеллы:

- а) споры;
- б) капсулы;
- в) ворсинки;
- г) жгутики.

Цитоплазма представляет собой сложную коллоидную систему, состоящую из воды (75 %), минеральных соединений, белков, РНК и ДНК, которые входят в состав органелл нуклеоида, рибосом, мезосом, включений.

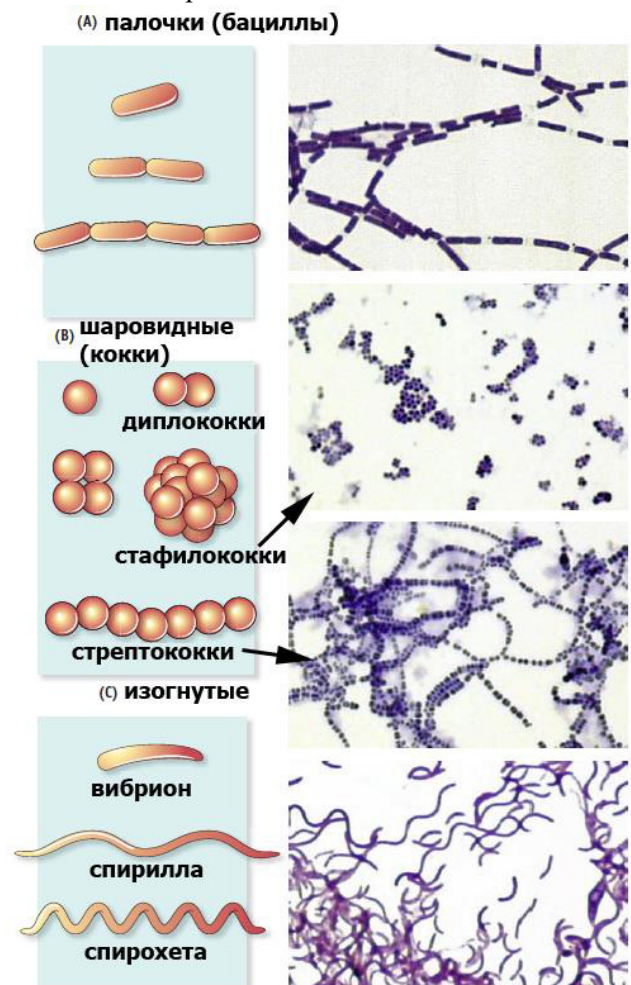


Рис. 7. Формы бактериальных клеток

Нуклеоид — ядерное вещество, расплывенное в цитоплазме клетки. Не имеет ядерной мембраны, ядрышек. В нем локализуется ДНК, представленная двухцепочечной спиралью. Обычно замкнута в кольцо и прикреплена к цитоплазматической мембране. Содержит около 60 млн. пар оснований. Это чистая ДНК, она не содержит белков гистонов. Их защитную функцию выполняют метилированные азотистые основания. В нуклеотиде закодирована основная генетическая информация, т. е. геном клетки.

Наряду с нуклеоидом в цитоплазме могут находиться автономные кольцевые молекулы ДНК с меньшей молекулярной массой — плазмиды. В них также закодирована наследственная информация, но она не является жизненно необходимой для бактериальной клетки.

Рибосомы представляют собой рибонуклеопротеиновые частицы размером 20 нм, состоящие из двух субъединиц — 30 S и 50 S. Рибосомы отвечают за синтез белка. Перед началом синтеза белка

происходит объединение этих субъединиц в одну — 70 S. В отличие от клеток эукариотов рибосомы бактерий не объединены в эндоплазматическую сеть. Мезосомы являются производными цитоплазматической мембраны. Мезосомы могут быть в виде концентрических мембран, пузырьков, трубочек, в форме петли. Мезосомы связаны с нуклеоидом. Они участвуют в делении клетки и спорообразовании. Включения являются продуктами метаболизма микроорганизмов, которые располагаются в их цитоплазме и используются в качестве запасных питательных веществ (рис.8). К ним относятся включения гликогена, крахмала, серы, полифосфата (волютина) и др.

Включения волютина

| | метод Нейссера (цитохимический) |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| цель метода | Выявление включений - зёрен волютина |
| основной краситель | раствор уксуснокислой синьки |
| протрава | раствор Люголя |
| дифференцирующее вещество | - |
| дополнительный краситель | раствор везувина |
| способ фиксации препарата-мазка | в пламени спиртовки до окрашивания |
| этапы окраски | Окрасить уксуснокислой синькой 1 мин.; Промыть водой; Обработать раствором Люголя 30 сек.; Окрасить везувином 30 сек.; Промыть водой Высушить |
| сущность метода | Включения волютина содержат полифосфаты и имеют слабощелочной pH и окрашиваются синькой, которая закрепляется Люголем, цитоплазма имеет кислый pH и окрашивается везувином |

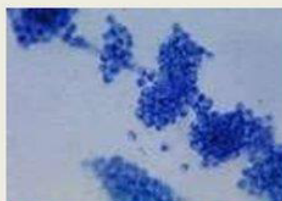
Включения волютина постоянно имеют возбудитель дифтерии-*Corynebacterium diphtheriae*, дрожжеподобные грибы рода *Candida*, что является таксономическим признаком

Метод Леффлера (простой метод)

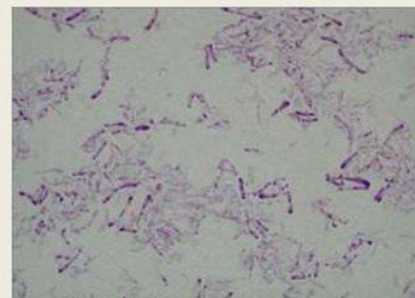
- ❑ Для окраски используют щелочной р-р метиленового синего, который наносят на 3 - 5 мин на фиксированный мазок, после чего смывают водой, мазок высушивают и микроскопируют.
- ❑ Протоплазма бактерий окрашивается в голубой цвет, волютиновые зерна - в темно-синий.



C. diphtheriae окраска по Нейссеру



Candida albicans окраска по Леффлеру: в голубой цитоплазме видны глыбки волютина



C. diphtheriae окраска по Леффлеру: на полюсах палочек утолщения - зерна волютина

Рис.8. Включения волютина

Дополнительные органеллы бактерий

Ворсинки (пили, фимбрии) — это тонкие белковые выросты на поверхности клеточной стенки. Функционально они различны. **Различают комон-пили и секс-пили.**

Комон-пили отвечают за адгезию бактерий на поверхности клеток макроорганизма. Они характерны для грамположительных бактерий.

Секс-пили обеспечивают контакт между мужскими и женскими бактериальными клетками в процессе конъюгации. Через них идет обмен генетической информацией от донора к реципиенту. Донор — мужская клетка — обладает секс-пили.

Женская клетка — реципиент — не имеет секс-пили. Белок секс-пили кодируется генами F-плазмиды.

Жгутики — органеллы движения. Есть у подвижных бактерий. Это особые белковые выросты на поверхности бактериальной клетки, содержащие белок — флагелин. Количество и расположение жгутиков может быть различным.

Различают:

- 1) монотрихи (имеют один жгутик);
- 2) лофотрихи (имеют пучок жгутиков на одном конце клетки);
- 3) амфитрихи (имеют по одному жгутику на каждом конце);
- 4) перитрихи (имеют несколько жгутиков, расположенных по периметру).

О подвижности бактерий судят, рассматривая живые микроорганизмы, либо косвенно — по характеру роста в среде Пешкова (полужидком агаре). Неподвижные бактерии растут строго по уколу, а подвижные дают диффузный рост.

Капсулы. Капсулы представляют собой дополнительную поверхностную оболочку. Они образуются при попадании микроорганизма в макроорганизм. Функция капсулы — защита от фагоцитоза и антител.

Различают макро — и микрокапсулы. Макрокапсулу можно выявить, используя специальные методы окраски, сочетая позитивные и негативные методы окраски. Микрокапсула — утолщение верхних слоев клеточной стенки. Обнаружить ее можно только при электронной микроскопии. Микрокапсулы характерны для вирулентных бактерий.

Среди бактерий различают:

1) истиннокапсульные бактерии (*pod Klebsiella*) — сохраняют капсулообразование и при росте на питательных средах, а не только в макроорганизме;

2) ложнокапсульные — образуют капсулу только при попадании в макроорганизм.

Капсулы могут быть полисахаридными и белковыми. Они играют роль антигена, могут быть фактором вирулентности.

Споры — это особые формы существования некоторых бактерий при неблагоприятных условиях внешней среды. Спорообразование присуще грамположительным бактериям. В отличие от вегетативных форм споры более устойчивы к действию химических, термических факторов. Чаще всего споры образуют бактерии рода *Bacillus* и *Clostridium*.

Процесс спорообразования заключается в утолщении всех оболочек клетки. Они пропитываются солями дипикалината кальция, становятся плотными, клетка теряет воду, замедляются все ее пластические процессы. При попадании споры в благоприятные условия она прорастает в вегетативную форму.

У грамтрицательных бактерий также обнаружена способность сохраняться в неблагоприятных условиях в виде некультивируемых форм. При этом нет типичного спорообразования, но в таких клетках замедлены метаболические процессы, невозможно сразу получить рост на питательной среде. Но при попадании в макроорганизм они превращаются в исходные формы.

Спорообразование

Некоторые бактерии способны образовывать **споры**. Споры у бактерий (рис.9) служат не для размножения, а для перенесения неблагоприятных условий. Спора образуется внутри клетки (одна в каждой клетке). В ее состав обязательно входит генетический материал бактерии. Спора одевается плотной оболочкой, после чего все оставшиеся внешние части клетки отмирают. Споры бактерий, как правило, выдерживают кипячение. Уничтожить их можно только путем автоклавирования (обработка паром под давлением, обычно при температуре 120° С), прокаливанию. Уничтожение всех бактерий и их спор называется **стерилизацией**.

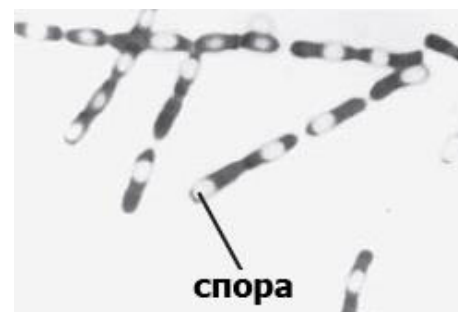


Рис.9. Спорообразование

Экология бактерий

Бактерии способны существовать в самых разнообразных условиях. Их находят в атмосфере на высоте нескольких километров и на дне океанов. Некоторые виды бактерий живут даже на глубине нескольких километров под землей в нефтяных и угольных пластах.

Бактерии, несмотря на свои малые размеры, осуществляют крупномасштабные процессы в биосфере.

1. Бактерии являются одной из важнейших групп **редуцентов** — организмов, осуществляющих разложение мертвого органического вещества.

2. Многие бактерии способны осуществлять образование органических веществ из неорганических, то есть являются **автотрофами**. Они могут делать это за счет **фотосинтеза** с использованием энергии света (фотоавтотрофы, прежде всего **цианобактерии** — зеленые, содержат хлорофилл, являются предками хлоропластов) или **хemosинтеза** — окисления неорганических веществ (хемоавтотрофы) (рис.10).

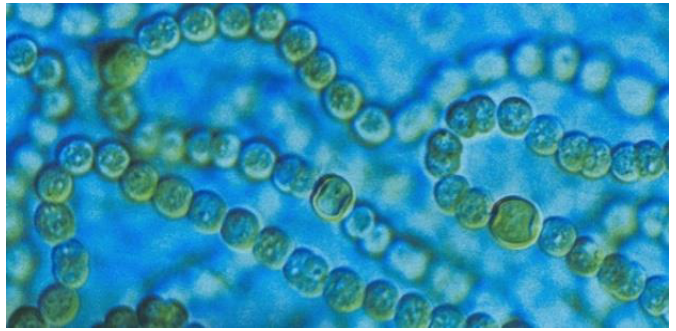
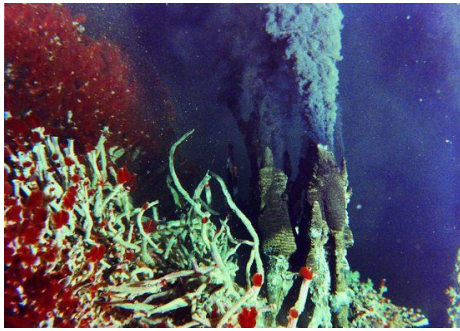


Рис. 10. Цианобактерии (фотосинтетики)

Таким образом, прокариоты могут являться производителями биомассы — **продуцентами**, в некоторых биоценозах важнейшими или единственными. Так, бактерии-хемосинтетики, прежде всего, окисляющие сероводород, являются единственными продуцентами в глубоководных экосистемах *черных и белых курильщиков* — океанических геотермальных источников.

3. Только бактерии способны превращать молекулярный азот атмосферы в азот органических соединений, т. е. осуществлять **азотфиксацию**. Фиксируют азот, например, клубеньковые бактерии — симбионты бобовых растений, а также цианобактерии.

Бактерии и человек

Бактерии играют важную роль в жизни человека.

1. Прежде всего надо сказать о *болезнетворных бактериях*, вызывающих различные заболевания человека, домашних животных и культурных растений (см. тему «Бактериальные и вирусные заболевания человека»).
2. Кроме того, бактерии вызывают порчу продуктов питания и разрушение различных материалов.
3. Ряд бактерий используется человеком в его хозяйственной деятельности. Бактерии используются в пищевой промышленности для получения йогуртов, простокваши, сыров и ряда других молочнокислых продуктов. Благодаря бактериям осуществляются процессы квашения капусты, засолки огурцов, силосования кормов.
4. Осуществляемые бактериями процессы брожения являются промышленным источником ряда веществ, таких как ацетон, молочная и масляная кислота.
5. Некоторые бактерии и близкие к ним актиномицеты вырабатывают *антибиотики*, используемые в медицине. Бактерии являются источником для получения ряда *ферментов*, используемых в пищевой промышленности, медицине и других отраслях.

Археи

Безъядерные, то есть прокариотные, клетки, имеет и совершенно особая группа живых организмов, отличающаяся и от бактерий, и от эукариот, — **археи** (см. тему «Основные царства живых организмов»). По размерам и строению клетки архей очень похожи на клетки бактерий, но сильно отличаются по биохимическим и молекулярно-биологическим признакам. Например, у части архей мембрана совершенно не похожа на мембраны всех остальных организмов — она состоит не из фосфолипидов, а из простых эфиров полиизопреноидных спиртов (то есть спиртов, образованных единицами изопрена, как, например, натуральный каучук). Клеточная стенка архей состоит либо из **псевдомуреина**, напоминающего муреин, либо из белков, что также не встречается у других организмов. Археи, в отличие от других бактерий, никогда не образуют спор.



Рис. 11. Клетки метаногенных архей (раскрашенная электронная микрофотография)

Изначально считалось, что все археи — экстремофилы, то есть обитают в экстремальных условиях. Археи живут в насыщенных солью озерах, таких как Мертвое море. Также они обитают в горячих источниках, где температура может превышать 100°C.

Однако впоследствии археи были обнаружены и в других местообитаниях, включая почву, океаны, болота и толстую кишку человека. Многочисленны археи среди океанического планктона. Археи играют важную роль в круговоротах углерода и азота. Ни один из известных

представителей архей не является паразитом или болезнетворным организмом, однако для них часто характерен симбиоз или комменсализм. Метанообразующие археи обитают в пищеварительном тракте человека и жвачных, где многочисленны и участвуют в процессах пищеварения. Метаногенные археи используются в производстве биогаза и очистке канализационных сточных вод. Ферменты архей-экстремофилов, сохраняющие активность при высоких температурах и в контакте с органическими растворителями, находят свое применение в биотехнологии.



Рис. 12. Редвуд-Сити, Калифорния. Вид с воздуха. В соленых водоемах живут пурпурные археи

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

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

Рис. 3.2. Основные формы бактерий

Рис. 13. Основные формы грамотрицательных и грамположительных бактерий

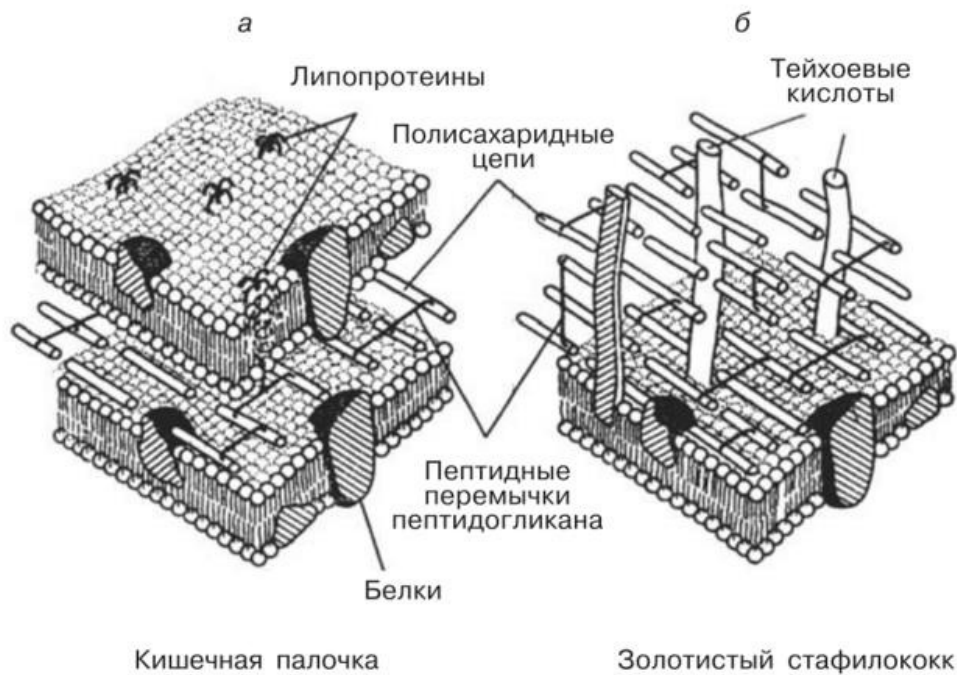


Рис. 14. Стенки бактерий Кишечной палочки (*Escherichia coli*) и Золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*)

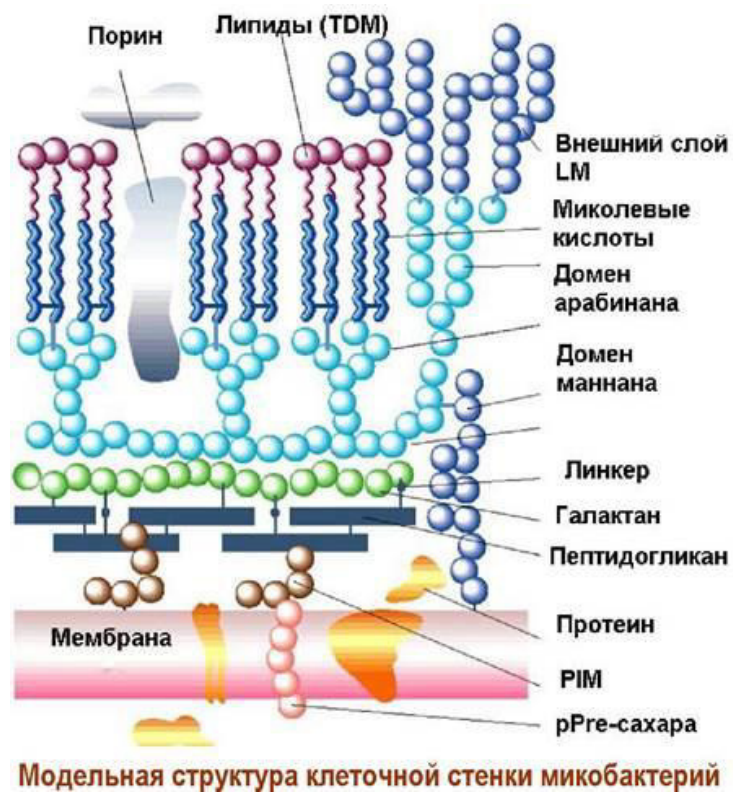


Рис. 15. Модельная структура клеточной стенки микобактерий

Диаграмма структуры грибной стенки

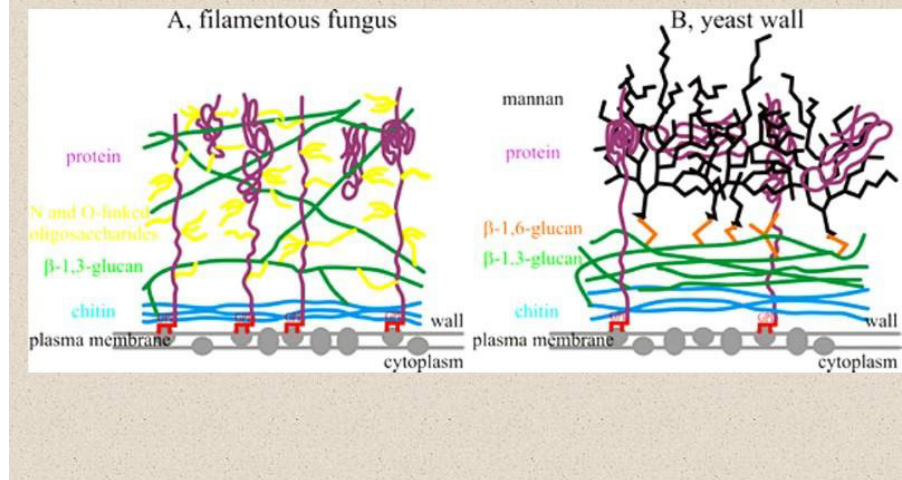


Рис. 16. Диаграмма структуры грибной стенки

Клеточная стенка грибов

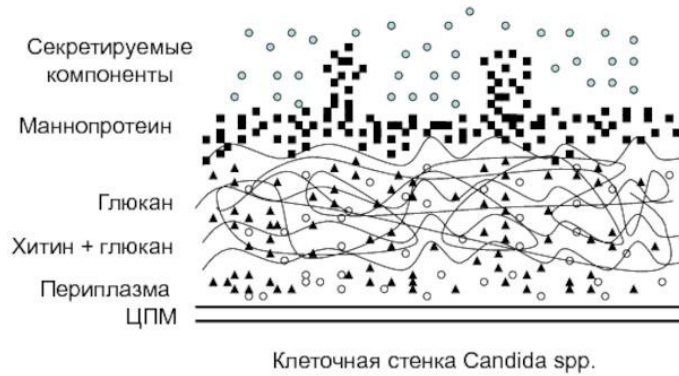


Рис. 17. Клеточная стенка грибов

Строение клеточной стенки кислотоустойчивых бактерий

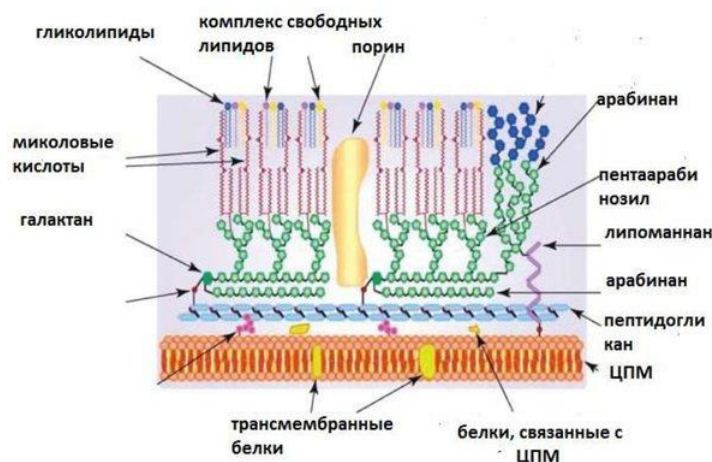


Рис. 18. Строение клеточной стенки кислотоустойчивых бактерий

Порины

Специфические – за перенос определенных субстратов (фосфат – PhoE)
Общие – за перенос мелких молекул (OmpC, OmpF)

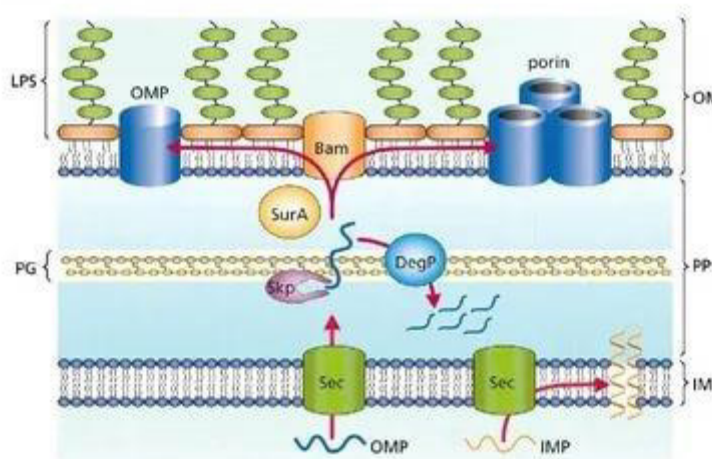


Рис. 19. Порины

Клеточные стенки прокариотов

У большинства прокариот над ЦПМ располагается достаточно жесткая клеточная стенка — сложная многослойная структура, противостоящая высокому осмотическому давлению и определяющая форму клетки. У бактерий, которые подразделяются по строению этой структуры на грамположительные, грамотрицательные и не имеющие клеточной стенки, основным опорным элементом клеточной стенки является пептидогликан (муреин), полностью покрывающий клетку

снаружи. Муреин представляет собой сетчатый полимер, в котором полисахаридные цепи связаны поперечными пептидными мостиками.

У архей клеточные стенки характеризуются своеобразным строением и химическим составом. В основе химической структуры пептидогликана заложена периодическая последовательность двух аминсахаров — N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, сшитых между собой (3-1,4-гликозидными связями).

Поперечные связи представлены пептидными мостиками (рис.20).

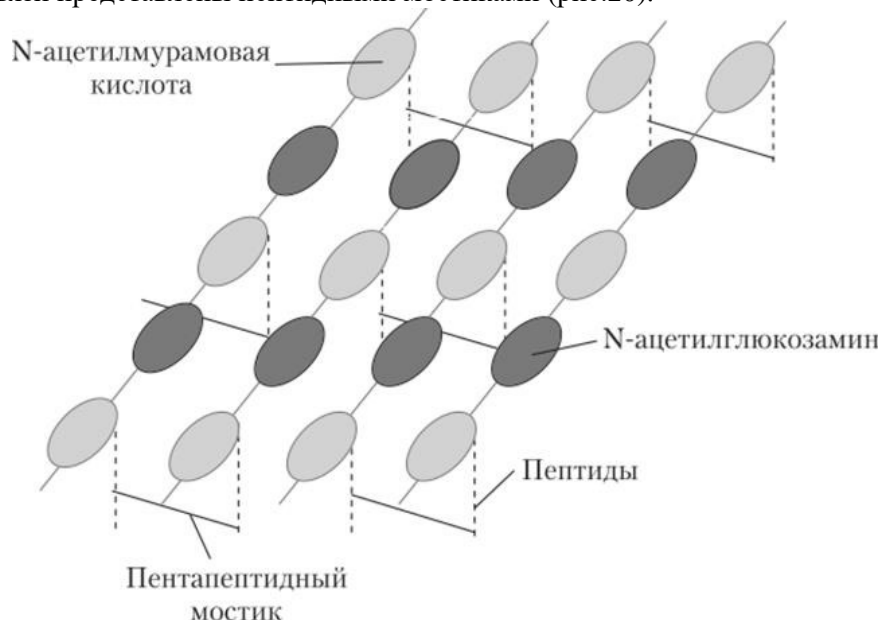


Рис. 20. Схема строения пептидогликана (муреина)

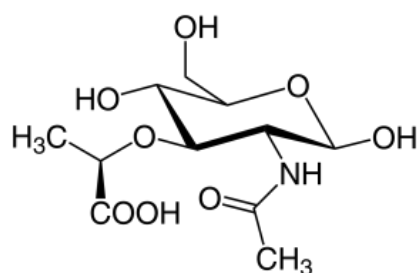
Муреин достаточно эластичен и может под действием внешних факторов растягиваться и сжиматься до 4 раз. Пептидогликановый слой обладает селективностью по отношению к молекулам с большой молекулярной массой. Подсчитано, что наибольший размер отверстия в мешке может достигать 1—4 x 4—5 нм, что позволяет свободно проникать только молекулам сравнительно невысокой молекулярной массы (50—60 кДа), причем размер проникающих молекул не зависит от толщины пептидогликанового слоя (разного у грамположительных и грамотрицательных бактерий). Макромолекулы с большими молекулярными массами не могут преодолеть барьер проницаемости муреина, поэтому для сборки внеклеточных структур (жгутики, пили) или для переноса ДНК при конъюгации необходимо действие специфических гидролаз муреина, которые локально расширяют отверстия для прохода больших молекул.

Пептидогликановый слой клетки прошит в поперечном направлении еще одним полимером — тейхоевыми кислотами, полиолфосфатами, образованными на основе глицерола или рибитола с большим количеством разнообразных заместителей

(D-аланин, L-серин, глицин, глюкоза и N-ацетилглюкозамин).

Через фосфорный диэфир тейхоевые кислоты связаны с C₆-атомом *мурамовой кислоты в муреине. Тейхоевые кислоты придают муреиновому мешку определенную степень свободы при растяжении и сжатии и действуют наподобие пружин в матрасе. Тейхоевые кислоты благодаря своей анионной полиолфосфатной природе прочно связывают ионы Mg²⁺.

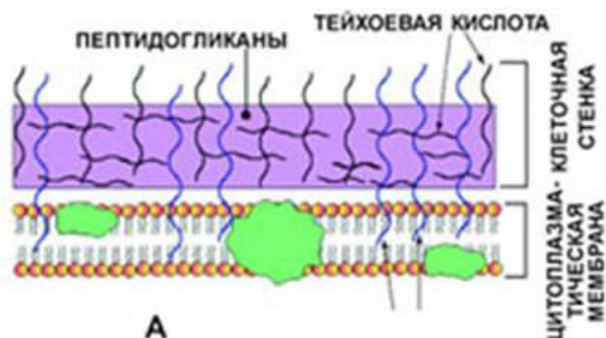
Предполагают, что они могут выполнять в клетке роль своеобразного ионообменника.



* N-Ацетилмурамовая кислота

Органическое вещество, производное моносахарида - простой эфир N-ацетилглюкозамина и молочной кислоты. Вместе с N-ацетилглюкозаминном входит в состав структурного компонента клеточной стенки бактерий гетерополимера муреина.

Клеточная стенка грамположительных бактерий



Тейхоевые кислоты, ковалентно связанные с пептидогликаном, являются неотъемлемой частью клеточной стенки и, таким образом, находятся в тесной связи со всеми процессами, происходящими при ее участии. К ним относятся – рост и деление клеток, связывание и резервирование катионов, необходимых для функционирования мембранных ферментов, процессы межклеточного узнавания, рецепция фагов, патогенность. Тейхоевые кислоты и другие анионные соединения клеточной стенки, вносят существенный вклад в формирование структуры полиэлектролитного геля и определяют ее механические свойства.

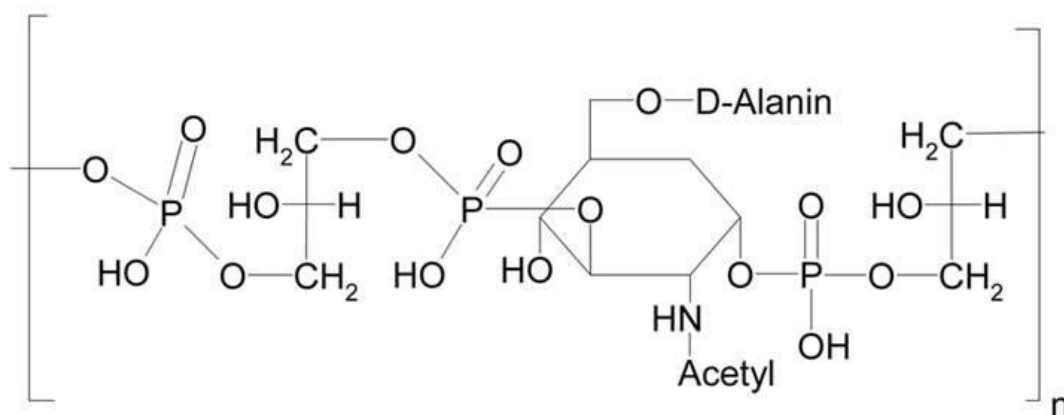


Рис. 21. Клеточная стенка грамположительных бактерий

В условиях фосфорного голодания синтез тейхоевых кислот в клетке прекращается, они заменяются на тейхуроновые кислоты. В последнее время тейхоевые кислоты стали рассматривать в качестве таксономического маркера, в особенности у грамположительных бактерий филума *Actinobactena*. Оказалось, что в сочетании с определением последовательностей молекул 16S рРНК определение состава тейхоевых кислот клеточных стенок актиномицетов — незаменимый метод для дифференцировки на видовом уровне. У грамположительных (рис.21) и грамтрицательных бактерий структура клеточных оболочек различается.

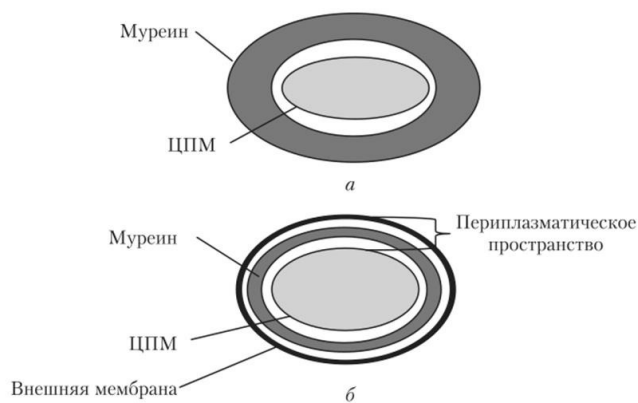


Рис. 22. Структура клеточных оболочек

Строение клеточных стенок:

a — грамположительных; *b* — грамотрицательных бактерий

Типичные **грамположительные микроорганизмы** имеют толстый, многослойный муреиновый мешок, содержащий до 40 слоев пептидогликана, прошитого поперек молекулами тейхоевых кислот (20—50 нм, рис.23).

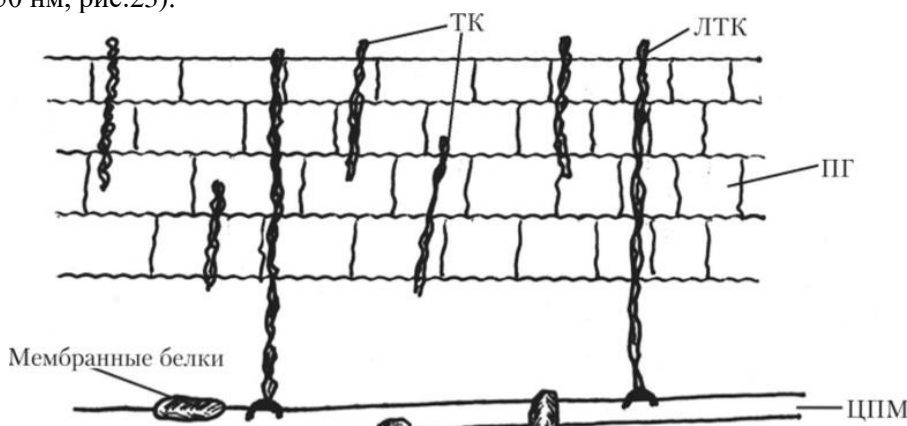


Рис. 23. Строение грамположительной клеточной стенки

Строение грамположительной клеточной стенки:

ТК — тейхоевые кислоты; ЛТК — липотейхоевые кислоты; ПГ — пептидогликан; ЦПМ — цитоплазматическая мембрана

Грамотрицательные бактерии обладают более сложной клеточной оболочкой, имеющей **внешнюю (наружную) мембрану (ВМ, рис.24)**. По сравнению с ЦПМ внешняя мембрана является сильно асимметричным липидным бислоем, в котором внутренний слой состоит из фосфолипидов, а внешний — из **липополисахаридов (ЛПС)**.

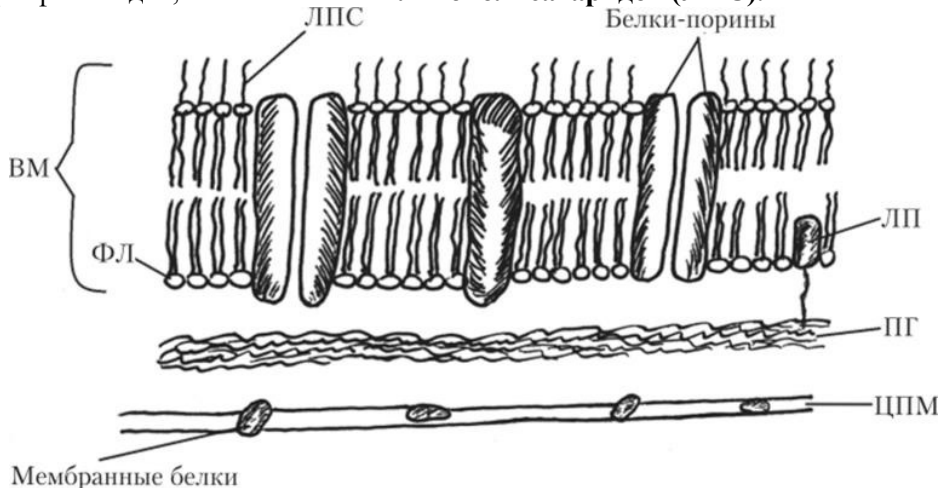


Рис. 24. Строение грамотрицательной клеточной стенки

Строение грамотрицательной клеточной стенки:

ЛИ — липопротеид; ЛПС — липополисахарид; ПГ — пептидогликан; ФЛ — фосфолипиды; ВМ — внешняя мембрана;

ЦПМ — цитоплазматическая мембрана

ЛИС имеют сложную химическую структуру, являются антигенами, обладают токсичностью и придают поверхности клетки отрицательный заряд. ЛИС внешней мембраны энтеробактерий, например, содержит три структурные части: 2-кето-3-дезоксигексозонат-липид А (Kdo- липид А) — уникальный гликолипид, закоряивающий молекулу ЛПС во внешней мембране; центральный олигосахаридный регион (подразделяемый на основную и внешнюю части); периферийные цепи О-антигенов, которые и ответственны, в основном, за иммунологические особенности интактного организма. Структура Kdo-липид А высоко консервативна среди грамотрицательных микроорганизмов. Центральная олигосахаридная область также до некоторой степени консервативна, а у представителей энтеробактерий — похожа, хотя и не идентична.

О-антигены содержат длинные полисахариды, состоящие из повторяющихся олигосахаридных единиц.

Характерные структуры могут содержать дезокси-, дидезокси- и аминсахара. Состав, структура и иммуноспецифичность ЛПС широко варьирует внутри родов и между родами и составляет основу для серологического типирования штаммов.

Штаммы дикого типа с полным О-антигенным ЛПС формируют гладкие колонии, тогда как мутанты или диссоцианты, лишенные О-антигенов, образуют шероховатые колонии. В некоторых шероховатых мутантах О-антиген у энтеробактерий заменен на другой полисахарид, общий антиген энтеробактерий (ОАЭ), широко распространенный в этой группе микроорганизмов. ОАЭ может существовать в двух формах.

Внешняя мембрана тоже обладает избирательной проницаемостью и участвует в контакте клеток между собой и с поверхностью неживых предметов, но по сравнению с ЦПМ она более инертна метаболически и содержит меньше белков, в том числе белки-порины, формирующие поры. Белки внешней мембраны обеспечивают поглощение и выброс различных веществ, участвуют в сборке поверхностных структур и конъюгации, способствуют выделению ферментов в окружающую среду. Внешняя мембрана осуществляет контакт клеток между собой, с поверхностью субстрата, а также с клетками организма-хозяина при патогенезе. Она удерживает ряд внешних структурных образований, например, пили.

Между цитоплазматической и внешней мембранами возникает уникальное образование, называемое периплазматическим пространством (периплазмой). Муреиновый мешок таких бактерий встроен в периплазму и состоит всего лишь из одного слоя (« 3 нм толщиной). Внешняя мембрана и муреиновый слой соединены липопротеином (ЛП), который своим N-концом с замещенными жирными кислотами погружен во внешнюю мембрану, а его карбоксильный конец связан с муреином. Наличие дополнительного барьера проницаемости в виде внешней мембраны позволяет уменьшить толщину муреинового слоя и дает возможность эффективно использовать ценные продукты метаболизма муреина, которые накапливаются в периплазматическом пространстве клетки при ее росте. В то же время для достижения действующей внутриклеточной концентрации антибиотиков у грамотрицательных бактерий необходимо применять более высокие минимальные их дозы по сравнению с грамположительными бактериями. В периплазме также находятся экзоферменты и связывающие белки, переносящие вещества от внешней мембраны к цитоплазматической и обратно.

Из-за разницы в структуре клеточных стенок микроорганизмы по-разному выглядят на препаратах при способе окраски, предложенном датским микробиологом Хансом Грамом: грамположительные удерживают генцианвиолет при обработке спиртом, а грамотрицательные обесцвечиваются.

Под действием ряда агентов (антибиотиков, нарушающих синтез пептидогликана, автолизина, некоторых аминокислот, лизоцима, комплемента, иммуноглобулинов) может происходить L-трансформация бактериальных клеток (образование клеток без клеточной стенки).

Грамположительные и грамотрицательные бактерии при этом формируют различные образования.

Так, под действием пенициллина из грамположительных клеток образуется протопласт, не несущий клеточной стенки, а из грамотрицательных — сферопласт, имеющий остатки оболочки на поверхности клетки.

Клетки, утратившие клеточную стенку в результате мутации или разрушающего ее воздействия, также называются L-формами. Они имеют округленную или филаментную форму с хорошо структурированной ЦПМ.

L-формы очень требовательны к питательным средам и могут существовать только в изотонических растворах. Стабильные L-формы не способны к реверсии после удаления L-трансформирующего фактора, в то время как нестабильные L-формы могут после этого восстанавливать клеточную стенку. L-формы способны длительно персистировать в макроорганизмах в фазе хронического заболевания, так как в значительной степени лишены антигенных детерминант.

Практическая работа №3

Вирусы

Цель работы: охарактеризовать морфологические и физиологические особенности в жизнедеятельности вирусов.

Теоретическая часть

Многие организмы, относящиеся к разным систематическим группам, являются паразитами человека и вызывают заболевания.

Заболевания, возбудители которых являются микроскопическими (вирусы, бактерии и простейшие), называются **инфекционными**.

В зависимости от природы возбудителей различают разные типы инфекционных заболеваний:

1. *Вирусные*, например грипп, ОРВИ, корь, оспа, ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты, клещевой энцефалит, желтая лихорадка.
2. *Бактериальные*, например чума, холера, столбняк, сибирская язва, стрептококковая и стафилококковая инфекции, коклюш.
3. *Протозойные* (вызываемые простейшими, то есть одноклеточными эукариотами), например малярия, сонная болезнь, амебная дизентерия, токсоплазмоз.
4. *Грибковые*, например кандидоз, эпидермофития (грибок стопы).
5. *Прионные* (вызываемые особыми инфекционными белками) — «коровье бешенство» (BSE), куру.

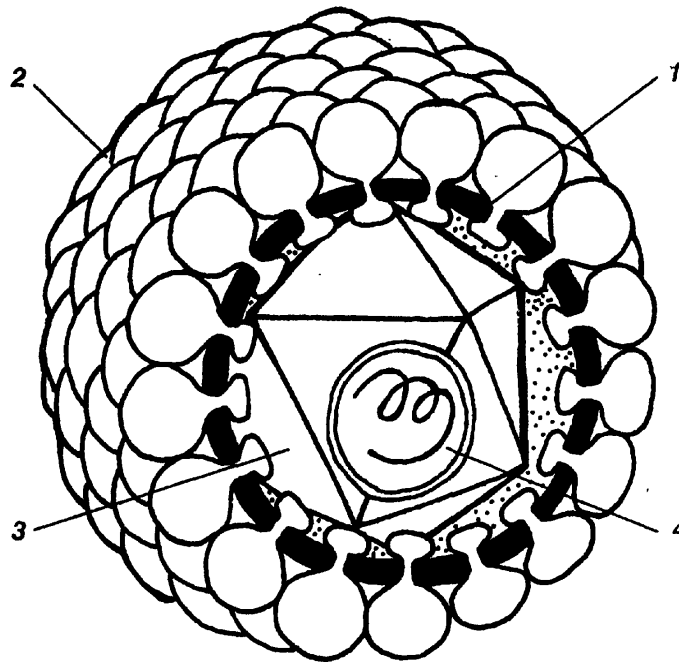
Возбудители разных групп чувствительны к разным лекарственным веществам. Поэтому медикаментозное лечение заболевания может проводиться только после диагностики природы заболевания и понимания природы его возбудителя. Так, большинство антибиотиков действуют на клетки бактерий, тогда как вирусы являются своеобразной неклеточной формой жизни. Поэтому бессмысленно лечить вирусные заболевания антибиотиками. Для борьбы с вирусами применяют противовирусные средства (следует отметить, что высокоспецифичные и эффективные противовирусные средства появились относительно недавно и существуют далеко не для всех вирусных заболеваний).

Ход работы

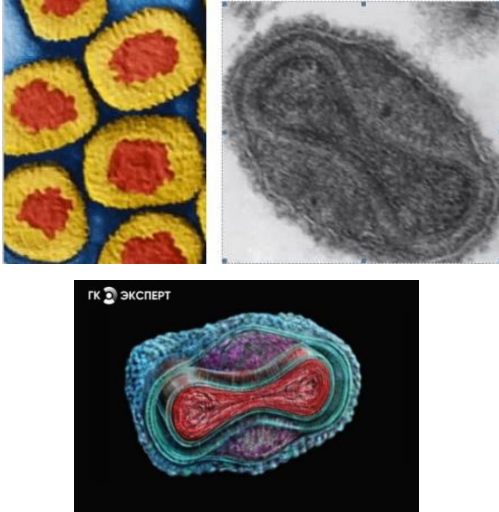
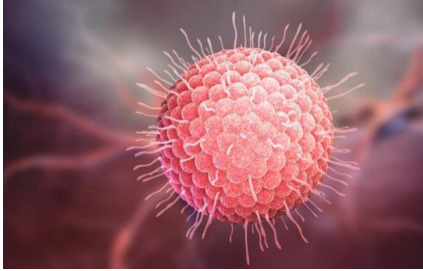
Задание №1 Охарактеризовать морфологические особенности вирусов.

Опишите строение вирусной частицы.

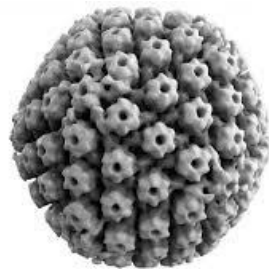
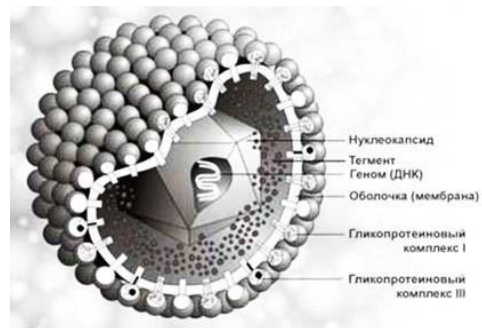
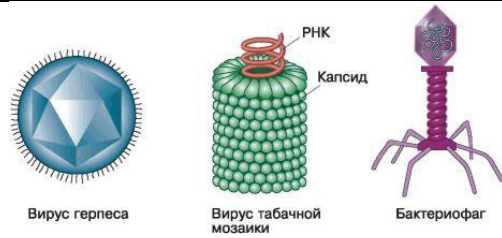
Зарисовать схему микроорганизма и сделать соответствующие обозначения:



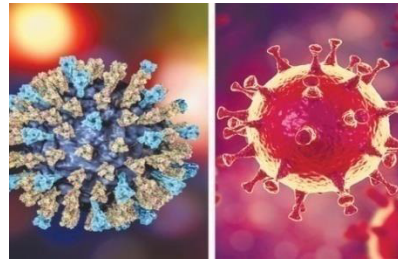
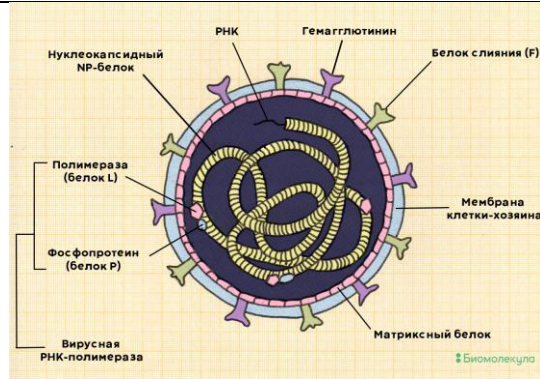
Задание №2 Описать морфологические и физиологические особенности вирусов.

| Вирус | Изображение вируса | Морфологические и физиологические особенности вируса |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Натуральная оспа <i>Variola major</i> |  | |
| Ветряная оспа <i>Varicella Zoster</i> |  | |

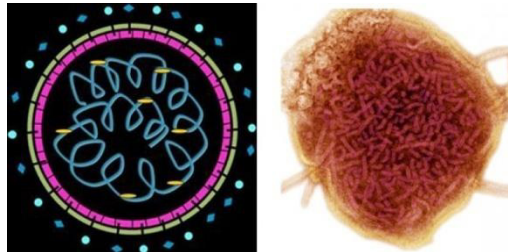
Простой герпес
Herpes simplex



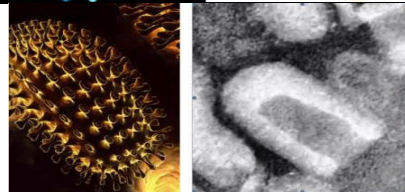
Корь
Morbilli

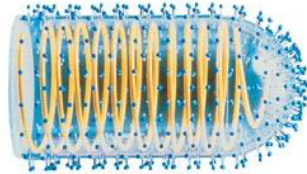
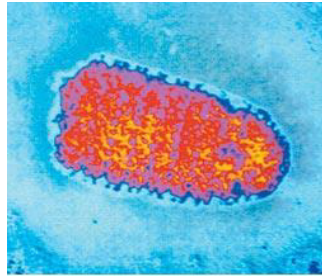
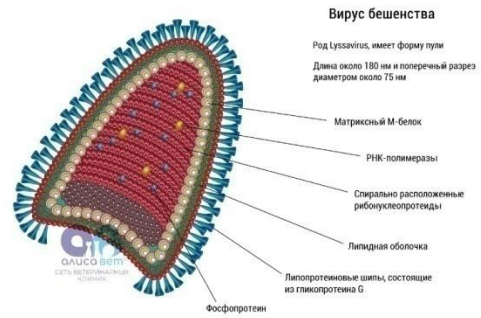


Паротит (свинка)
Mumps

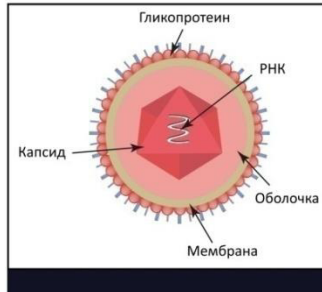
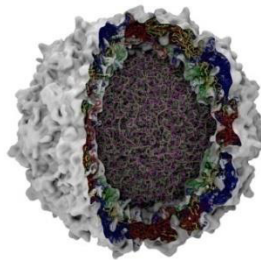


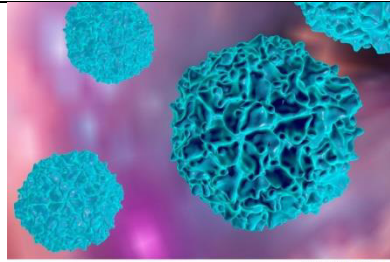
Бешенство
англ. *Rabies lyssavirus*,
ранее *Rabies virus*



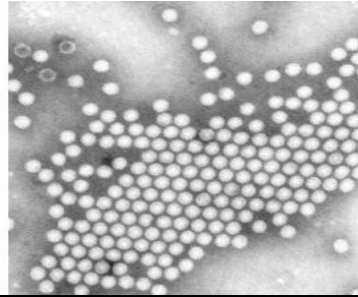
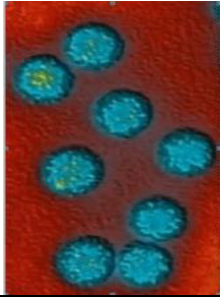


Полиомелит
Poliovirus hominis

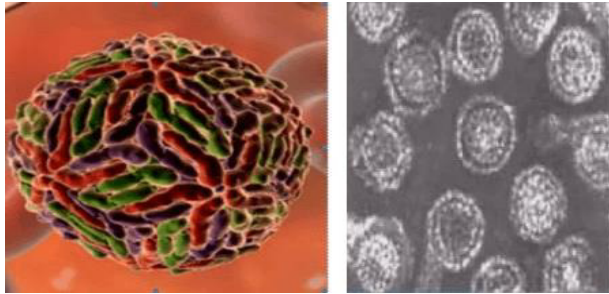
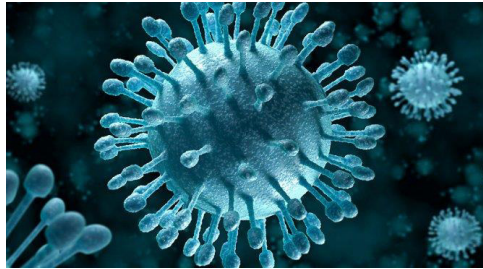
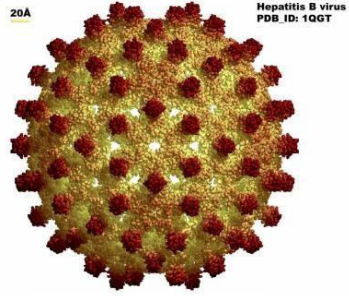




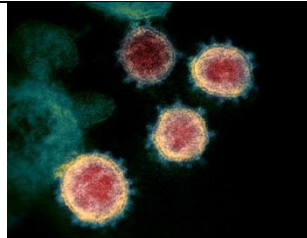
MedAbout 

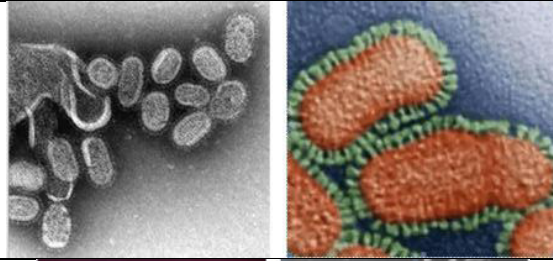


Гепатит
Hepatitis virus

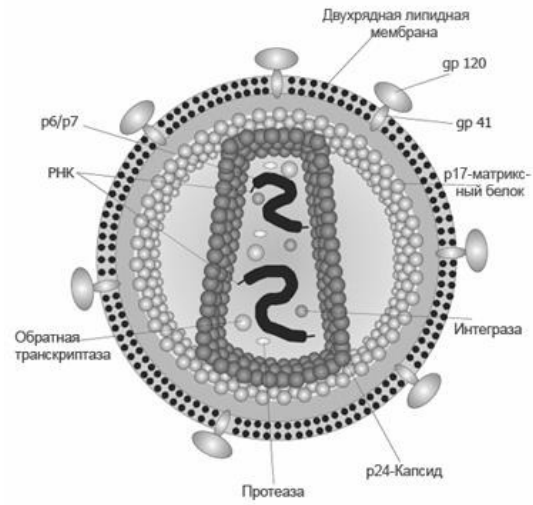
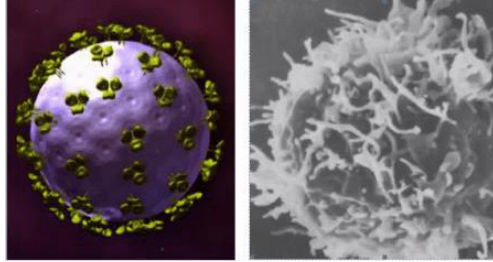


Грипп
Influenzavirus





ВИЧ
Human
Immunodeficiency
Virus

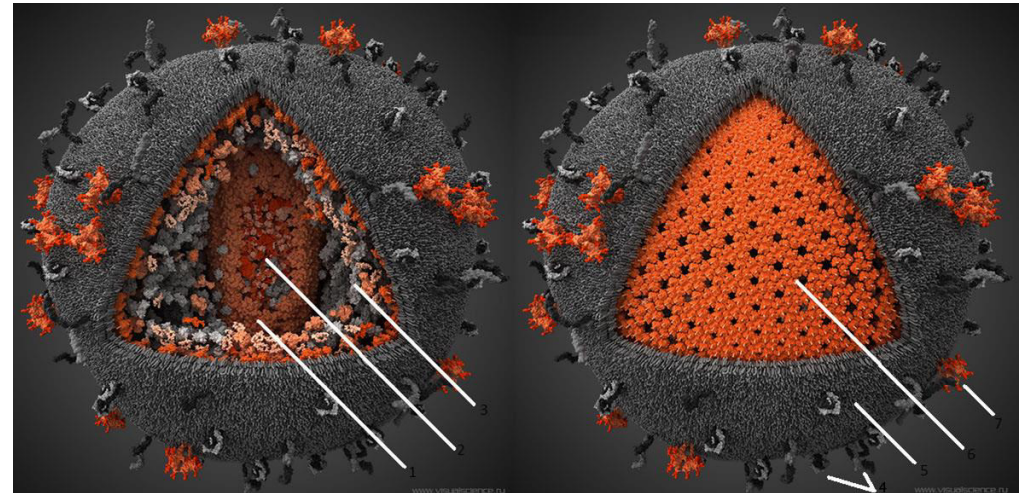


ПРИЛОЖЕНИЕ

Механизм действия вируса ВИЧ и охарактеризовать клиническую картину его проявления.

- 1) **Жизненный цикл ВИЧ**
- 2) **Проникновение вируса в клетку**
- 3) **Способы уничтожения иммунной системы**
- 4) **Оказание токсического действия на организм, три последствия**
- 5) **Пути заражения ВИЧ**
- 6) **Компьютерная модель ВИЧ**
- 7) **Профилактика вирусного заболевания**

Серым цветом показаны человеческие структуры, «украденные вирусом из клетки», красным — вирус-специфические белки. **1** — капсид вируса, состоит из 250 гексамеров и 12 пентамеров белка р24. **2** — Геном вируса, а также связанные с ним белки, представлен двумя идентичными молекулами РНК по ~10000 нуклеотидов в каждой. Всего геном включает девять генов, которые в результате альтернативного сплайсинга кодируют 15 различных белков. **3** — Различные белки, захваченные вирусом из хозяйской клетки. **4** — Человеческие белки, обычно находящиеся на поверхности мембраны клеток. Захваченные в результате отпочковывания, они увеличивают вирулентность вируса. **5** — Внешняя оболочка ВИЧ, ведущая свое происхождение от цитоплазматической мембраны клетки, от которой когда-то отпочковался вирион. **6** — Матрикс, образованный тримерами белка р17. **7** — Тримерные комплексы белков gp120 и gp41, при помощи которых вирус проникает в клетку. На поверхности среднего вириона насчитывается около 20 таких тримеров. *Чтобы увидеть рисунок в полном размере, нажмите на него.*



Компьютерная модель ВИЧ

Практическая работа №4

Питательные среды

Цель работы: знать основные питательные среды, их назначение, применение; условия культивирования бактерий. Изучить правила эксплуатации термостата.

Оборудование и материалы: пробирки, чашки Петри. Расплавленный агар-агар и раствор пептона. Термостат.

Ход работы

Задание №1 Определить питательные среды в группы в зависимости от их свойств.

| По физическому состоянию: | Жидкие среды | Полужидкие среды | Плотные питательные среды |
|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Характеристика среды: | Представляют собой настои, отвары, бульоны, приготовленные на основе мяса, рыбы, овощей (естественные среды), а также композиции определенных концентраций химических соединений (искусственные среды). | Получают путем добавления к жидким средам 0,5-0,9% агар-агара (желеобразующее вещество, получаемое из морских водорослей). | Относят среды, содержащие 2-3% агара. |
| Примеры сред: | | | |
| Микроорганизмы, культивируют на питательных средах: | | | |

| Критерии оценки питательных сред | Характеристика среды: | Примеры сред: | Микроорганизмы, культивируют на питательных средах: |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| По сложности | Простые и сложные | - простые , или обычные среды (пептонная вода, мясо-пептонный бульон, мясо-пептонный агар); - сложные , или специальные среды (кровяной агар, асцитический агар и бульон, мясо-пептонный сахарный бульон, сывороточный агар и бульон, свернутая сыворотка, кровяной бульон). | |
| По происхождению | - естественные среды; - полусинтетические среды; - синтетические среды. | К ним относятся пептоны, кровь, отвары и экстракты, полученные из природных субстратов (мясо, рыба, крупы). | |
| Естественные питательные среды | Это природные органические среды непостоянного состава, которые включают | | |

| | | | |
|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|
| | продукты животного или растительного происхождения. | | |
| Полусинтетические питательные среды | Кроме органических и неорганических веществ известного состава содержат продукты природного происхождения (картофельная среда с глюкозой, дрожжевая среда). | | |
| Синтетические питательные среды | Состоят из определенных количеств органических и неорганических химических соединений известного состава. | | |
| По набору питательных веществ | - минимальные среды , которые содержат лишь источники питания, достаточные для роста; - богатые среды , в состав которых входят многие дополнительные вещества. | | |

| Назначение питательных сред: | Основные питательные среды | Дифференциально-диагностические питательные среды | Элективные (селективные) питательные среды | Накопительные питательные среды |
|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Характеристика среды: | На этих средах растет большинство бактерий. | Это сложные среды, позволяющие изучать биохимические свойства бактерий. Эти среды используются для определения вида бактерий. | Содержат вещества, подавляющие рост одних бактерий, и не влияющие на рост других бактерий. Эти среды служат для выделения определенного вида бактерий из смешанных популяций. | Это среды обогащения - среды, на которых определенные виды культур растут быстрее и интенсивнее сопутствующих. |
| Примеры сред: | Относятся мясо-пептонный агар и мясо-пептонный бульон. | | | |
| Микроорганизмы, культивируют на питательных средах: | | | | |

Задание №2 Охарактеризовать питательные среды

| Классификация питательных сред по составу: | Назначение | Способ приготовления |
|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Мясо-пептонный бульон (МПБ) | Относится к простым средам. Является белковой основой всех сред. | <ol style="list-style-type: none"> 1) На мясной воде с добавлением готового пептона (продукт неполного переваривания белка) – это так называемый мясопептонный бульон; 2) На переварах продуктов гидролиза исходного сырья при помощи ферментов (трипсина – бульон Хоттингера, пепсина – бульон Мартена). |
| Мясо-пептонный агар (МПА) | Относится к простым средам. | Мясо-пептонный агар (МПА) – получают путем добавления к МПБ агар-агара (1,5-3%). Если МПА распределен по диагонали пробирки или флакона – это скошенный агар. Если среда распределена в пробирке вертикально высотой 5-7 см, это агар столбиком. МПА, застывший в чашках Петри в виде пластинки – пластинчатый агар. Если среда имеет вертикальный слой высотой 2-3 см, и диагональный слой такой же величины, это полускошенный агар. |
| Сложные среды | Для дифференцированных и специальных питательных сред. | Готовятся на основе простых питательных сред с определенными добавками (углеводы, кровь, желчь, яйца, сыворотка, молоко, соли, факторы роста и т.п.). |

| Классификация питательных сред по исходным компонентам: | Назначение | Способ приготовления |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Естественные питательные среды — это натуральный продукт животного или растительного происхождения. | Является белковой основой всех сред. | <ol style="list-style-type: none"> 1) Растительные (исходные продукты – соя, горох, картофель, морковь и т.п.) 2) Животные (исходные продукты – мясо, рыба, яйца, молоко, животные ткани, желчь, сыворотка крови и т.п.) 3) Смешанные (МПА, среда Левенштейна – Йенсена и т.п.) |
| Искусственные среды | Это самая большая и разнообразная по составу наиболее часто применяемая группа сред. | Питательная среда содержат переработанные естественные продукты (мясную воду, перевар), вещества, полученные из этих продуктов (пептон, дрожжевой и кукурузный экстракты) и различные добавки. Их готовят по определенным рецептам из различных настоев или отваров животного или растительного происхождения с добавлением неорганических солей, углеводов и азотистых веществ. |
| Синтетические среды | На основе этих сред, добавляя к ним естественные или искусственные среды получают полусинтетические среды. | Синтетические среды (известного химического состава) состоят из химически чистых соединений в точно установленных концентрациях (с добавлением углеводов, солей, аминокислот, витаминов и т.п.). |

| Классификация питательных сред по консистенции: | Назначение | Способ приготовления |
|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Жидкие (среды без агара) | Жидкие среды чаще применяют для изучения физиолого-биохимических особенностей микроорганизмов, для накопления биомассы и продуктов обмена. | |
| Полужидкие (с агаром до 1%), плотные (агаровые – 1,5-2,5%). | Полужидкие среды обычно используют для хранения культур, плотные — для выделения микроорганизмов, изучения морфологии колоний, диагностических целей, количественного учета, определения антагонистических свойств и др. | |

| Классификация питательных сред по целевому назначению: | Назначение | Способ приготовления |
|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Универсальные (основные) среды. | Эти среды используют для культивирования большинства относительно неприхотливых микроорганизмов или применяют в качестве основы для приготовления специальных сред. | К этой группе относятся: МПБ – мясо-пептонный бульон, МПА – мясо-пептонный агар, МПЖ – мясо-пептонный желатин и т.п. |
| Специальные среды. | Предназначены для выделения и избирательного культивирования определенных видов микроорганизмов, которые не растут на простых средах. | Для приготовления специальных сред, добавляя к ним кровь, сахар, молоко, сыворотку и другие ингредиенты, необходимые для размножения того или иного вида микроорганизмов. |

| Классификация специальных питательных сред по целевому назначению: | Назначение | Способ приготовления |
|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Среды обогащения. | <ol style="list-style-type: none"> 1. Среда используется для выделения стрептококков, пневмококков и других бактерий, а также для изучения гемолитической активности. 2. Среда применяется для выделения пневмококков, менингококков. | <ol style="list-style-type: none"> 1. Многие микроорганизмы не растут на обычных средах, поэтому для повышения питательной ценности среды в нее добавляют углеводы (сахарный бульон или агар) или белки (сывороточный агар и бульон, кровяной агар и бульон). Кровяной агар или кровяной бульон – получают путем добавления к питательной среде 5-10% подогретой стерильной дефибринированной крови барана, кролика лошади, человека. 2. Сывороточный бульон или сывороточный агар получают, |

| | | |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | <p>путем добавления к простым средам 15-20% лошадиной или бычьей сыворотки.</p> |
| <p>Элективные (избирательные) среды.</p> | <p>Эти среды предназначены для избирательного выделения и накопления микроорганизмов определенного вида из материала, содержащего несколько видов микробов. При посеве на них материала, содержащего смесь различных микроорганизмов, раньше всего будет проявляться рост того вида, для которого данная среда будет элективной.</p> | <p>Избирательность среды достигается путем создания условий, оптимальных для культивирования определенных микробов (рН, Eh, концентрация солей, состав питательных веществ), т.е. положительной селекцией. Или путем добавления в среду веществ, угнетающих другие микроорганизмы (желчь, высокие концентрации NaCl, антибиотики и др.), т.е. отрицательной селекцией. К этой группе относятся:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) <i>Селенитовая среда</i> - является лучшей средой обогащения для сальмонелл и дизентерийных микробов Зонне. Селенит натрия, содержащийся в среде, стимулирует рост этих бактерий и подавляет рост сопутствующей флоры. 2) <i>Висмут-сульфит агар</i> – содержит соли висмута, бриллиантовую зелень. Сальмонеллы растут на этой среде в виде колоний черного цвета. Другие виды бактерий на этой среде роста не дают. 3) <i>Желточно-солевой агар (ЖСА)</i> – среда для выделения стафилококков, содержит до 10% хлорида натрия, что подавляет большинство бактерий, содержащихся в материале. Кроме того, эта среда является и дифференциально-диагностической, так как присутствие яичного желтка позволяет выявить фермент лецитиназу (лецитовителлазу), который образуют патогенные стафилококки. Лецитиназа расщепляет лецитин на фосфорхолины и нерастворимые в воде жирные кислоты, поэтому среда вокруг лецитиназоположительных колоний мутнеет и появляется опалесцирующая зона в виде «радужного венчика». 4) Желчный бульон элективен для сальмонелл, размножение |

| | | |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | <p>которых стимулирует добавленная 10% желчь, одновременно тормозящая рост сопутствующих микроорганизмов.</p> <p>5) Щелочной агар или щелочная пептонная вода элективны для холерных вибрионов, щелочная реакция среды (рН 9,0) не препятствует росту холерных вибрионов, но тормозит рост других микроорганизмов.</p> |
| <p>Дифференциально-диагностические среды.</p> | <p>Дифференциально-диагностические среды применяют для изучения биохимических свойств и отличия (дифференцировки) одного вида микроорганизмов от другого по характеру их ферментативной активности. Состав этих сред подбирают с таким расчетом, чтобы четко выявить наиболее характерные свойства определенного вида микроорганизмов, основываясь на особенностях его обмена веществ.</p> | <p>Дифференцирующие свойства данных сред создаются внесением субстрата, к которому определяется отношение микробов, их ферментативной активности и действие токсинов (среды Гисса, среды Эндо, Левина, Плоскирева, Олькеницкого, висмут-сульфит агар и т.п.). По своему назначению дифференциально-диагностические питательные среды подразделяются следующим образом:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Среды для выявления протеолитической и гемолитической способности микробов, содержащие в своем составе белковые вещества: кровь, молоко, желатин и т. п. Наиболее распространенными средами являются мясо-пептонный желатин (МПЖ) свернувшаяся лошадиная сыворотка, молоко и кровяной агар (КА). • Среды с индифферентными химическими веществами, которые служат источником питания для одних видов микробов и не усваиваются другими видами. Например, среды, включающие вещества, ассимилируемые только определенной группой бактерий. Наиболее распространенными средами данной группы являются цитратный агар Симмонса и цитратная среда Козера. • Среды с углеводами, |

многоатомными спиртами или индикаторами для обнаружения соответствующих ферментов и определения гликолитической активности микроорганизмов. Ферментативное расщепление субстратов приводит к сдвигу рН и изменению окраски среды. Наиболее распространены цветные среды с различными углеводами (например, с бромтимоловым синим, индикатором ВР) и лакмусовое молоко (среда Минкевича). Также широко распространены среды Гисса, на которых учитывают различия в способности ферментировать различные углеводы с образованием кислоты, либо кислоты и газа. Для дифференцировки энтеробактерий применяют пептонную воду с набором различных углеводов, индикатором Андреде и поплавками, облегчающими обнаружение газообразования и помогающие визуально определить изменение рН, характерное для различных микроорганизмов. В частности, сдвиг в кислую сторону вызывает покраснение среды с реактивом Андреде или пожелтение при использовании среды с бромтимоловым синим, тогда как при защелачивании индикатор Андреде и бромтимоловый синий не меняют цвет среды. Например, для выделения патогенных бактерий из кишечника применяют среды, которые позволяют дифференцировать патогенные микроорганизмы от

постоянных обитателей кишечника - микроорганизмов, разлагающих лактозу. Такой средой является среда Эндо, в состав которой входит лактоза. Основными компонентами среды Эндо являются МПА, лактоза и основной фуксин, обесцвеченный сульфитом натрия. Исходная питательная среда окрашена в светло-розовый цвет. При сбраживании лактозы образуется ацетальдегид, который реагирует с сульфитом и, высвободившийся при этом, фуксин окрашивает колонии в ярко-красный цвет. Поэтому кишечная палочка, которая сбраживает лактозу, при росте на этой среде образует красные колонии с металлическим блеском, а сальмонеллы и шигеллы - бесцветные, так как они не сбраживают лактозу.

- Среды для определения редуцирующей способности микроорганизмов. В эту группу входят среды с красками, обесцвечивающимися при восстановлении под действием окислительно-восстановительных ферментов (например, метиленовый синий, кислый фуксин, бромтимоловый синий), а также среды с нитратами для определения денитрифицирующей активности бактерий (при положительном результате среды окрашиваются в синий цвет). Изменяя свою окраску при различных значениях pH, индикатор указывает на наличие или отсутствие расщепления, окисления или восстановления введенного в среду ингредиента. Однако индикатор не является обязательной составной

| | | |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | частью сред, предназначенных для выявления ферментов. Так, наличие желатиназы и других протеолитических ферментов в культуре определяют по разжижению желатина, свернутого яичного или сывороточного белка. |
| Среды накопления | На средах накопления происходит быстрый рост определенных видов микроорганизмов. Псевдомонады (<i>Pseudomonas</i>), Стафилококки (<i>Staphylococcus</i>). | |
| Консервирующие среды. | Предназначены для сохранения микроорганизмов во время транспортировки к месту исследований. | Эти среды, содержат добавки, предупреждающие размножение и гибель микробов, что способствует сохранению их жизнеспособности. Наибольшее применение нашли глицериновая смесь (среда Тига), гипертонический раствор, фосфатно-буферная смесь. |

Контрольные вопросы

1. Что представляют собой питательные среды и каким требованиям они должны удовлетворять?
2. Как классифицируют питательные среды?

Ответ:

Классификация питательных сред



3. Что подразумевается под стерилизацией питательной среды? Какие распространенных методы стерилизации питательных сред?

Ответ:

Стерилизация питательной среды (обеспложивание) – процедура полного и безвозвратного избавления от клеток (спор) бактерий или микроорганизмов. Способ обеспложивания выбирается в зависимости от состава и свойств питательной среды.

Среди самых распространенных методов стерилизации питательных сред можно выделить:

- автоклавирование. Стерилизация происходит в автоклавах при определенном давлении и температуре насыщенного пара;
- динамическая (дробная) стерилизация. Данный метод стерилизации применяют на питательных средах, чьи свойства изменяются под воздействием температуры свыше 100 °С;
- стерилизация с использованием мелкопористого фильтра. Сверхчувствительные питательные среды, не способные выдержать даже незначительное повышение температуры, подвергают очистке с применением специального бактериального фильтра.

Стерилизация питательных сред – высокотехнологичный промышленный процесс, который не следует пытаться воспроизвести в домашних условиях.

4. Какова цель бактериологических исследований?

Ответ:

Целью бактериологического исследования является выделение чистой культуры возбудителя, его идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам.

Бактериологический метод исследования включает **4 этапа**:

- посев исследуемого материала на питательные среды;
- выделение чистой культуры возбудителя;
- идентификация возбудителя (определение вида бактерий) и определение чувствительности к антибактериальным препаратам;
- учет результатов и выдача заключения.

5. Что понимаем под термином «дробная» стерилизация и пригодна ли она для стерилизации стеклянной посуды? Обосновать.
6. Что в микробиологической практике называется посевом, пересевом микроорганизмов?
7. Методы посевов (пересевов) микроорганизмов.
8. Какие условия нужны для успешного выращивания микроорганизмов?
9. Способы культивирования анаэробов.
10. Назначение термостата в лаборатории микробиологии.

Питательные среды

- **Питательные среды** – искусственные (или естественные) сбалансированные смеси питательных веществ, в определенных концентрациях и сочетаниях, способствующие росту и размножению микроорганизмов.

Требования к ПС:

- должны быть стерильными;
- Должны содержать необходимые питательные вещества, соли, ростовые факторы;
- Должны иметь оптимальную pH;
- Должны быть влажными.

Классификация ПС:

- Простые и сложные;
- Жидкие и плотные;
- Естественные, искусственные, синтетические;
- Основные и специальные - элективные (избирательные) и дифференциально-диагностические

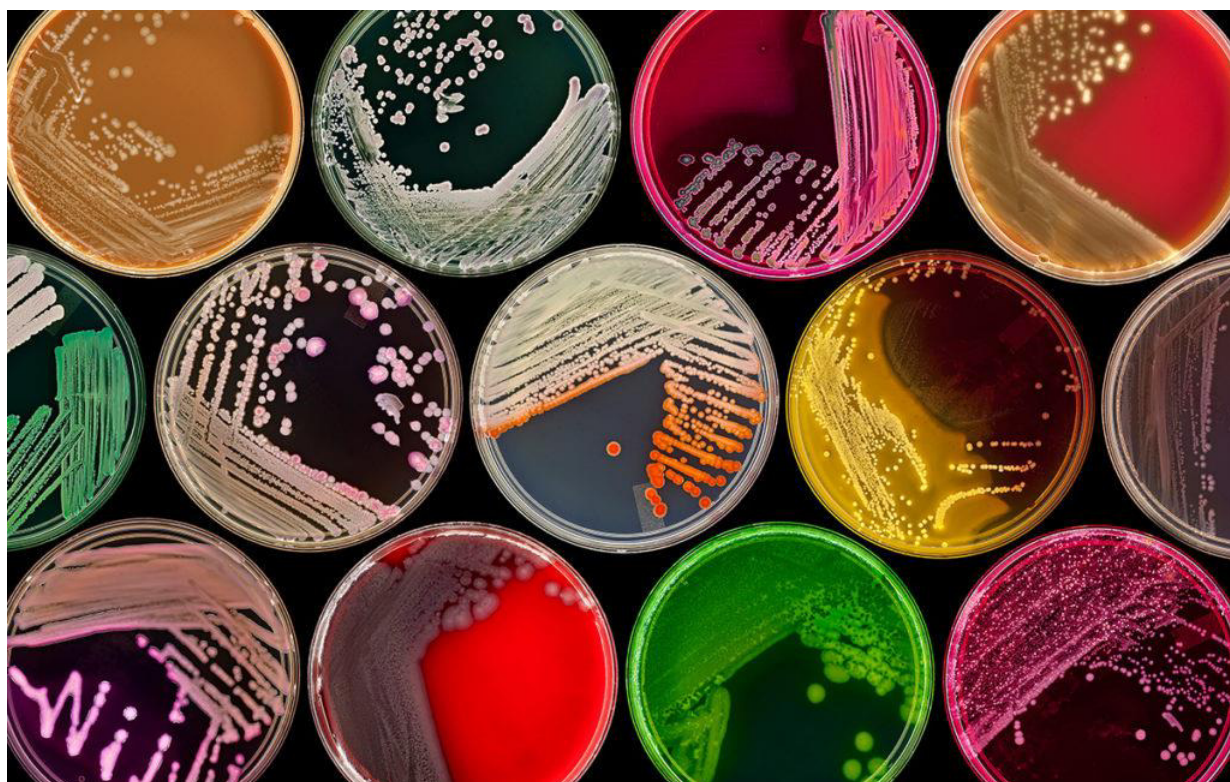


Способы посева и пересевов микроорганизмов на питательные среды

Размножение микроорганизмов осуществляется на питательных средах. Посев культуры микробов, на такие среды проводят бактериологической петлей или иглой (рис.1), а также пипетками Пастера или Мора.

Перед употреблением пипетки стерилизуют в автоклаве. Тонкие концы пастеровских пипеток должны быть запаяны. Внутри широкого конца пипетки, с которым соприкасаются губы исследователя, вставляют кусочек стерильной ваты, препятствующий попаданию материала в ротовую полость. Пипетки хранят в специальных пеналах или завернутыми в бумагу, в которой они стерилизовались. Бумагу открывают со стороны запаянных концов.





Петлю или пипетку держат в правой руке, пробирку в левой. Пробку прижимают мизинцем правой руки к ладони и после извлечения держат в руке. Петлю вводят в пробирку, материал на плотной среде распределяют зигзагообразно (рис.2), а в жидкой – вращательными движениями. При пересеве из одной пробирки в другую, петлю, после введения внутрь, охлаждают, затем соприкасаются с культурой и выносят из пробирки так, чтобы она не прошла над пламенем горелки. Если петля сделана из

вольфрамовой или другой медленной охлаждающейся проволоки, лучше вначале касаться стерильной среды, а затем культуры. Тонкий слой среды на петле не только охлаждает ее, но и предохраняет культуру от гибели.

Для посева в пробирки с МПА столбиком необходимо иметь бактериологическую иглу, которая беспрепятственно проходила бы в глубь плотной питательной среды. На пути прохождения иглы остаются микробы, они могут расти по уколу. При посеве бульонной культуры петлю погружают до дна пробирки, а затем поступают так же, как и при посеве на плотную питательную среду.

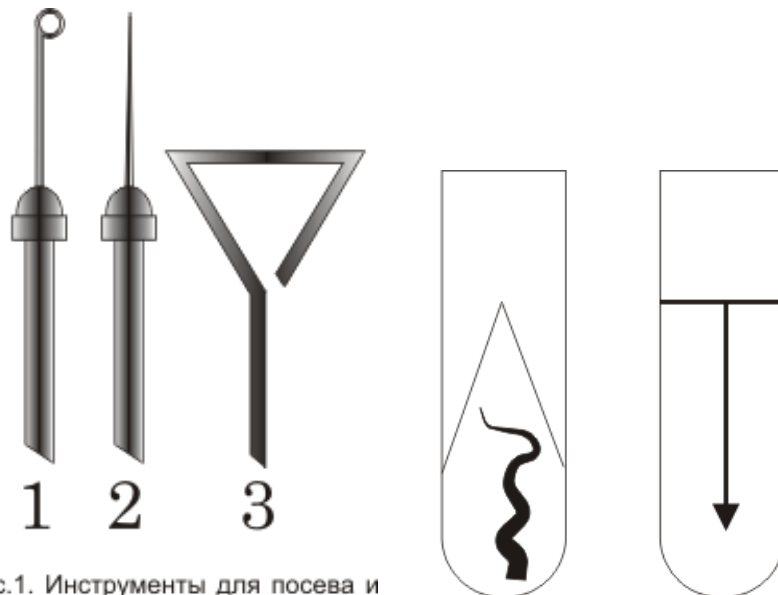


Рис.1. Инструменты для посева и
рассева культур микроорганизмов:
1-бактериологическая петля;
2-бактериологическая игла;
3-шпатель

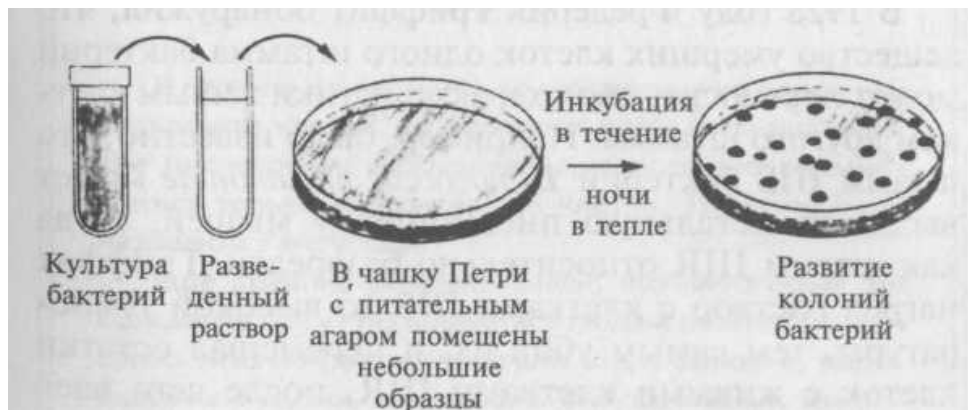
Рис.2. Посев на мясо-пептонный агар
зигзагообразно и уколом (схема)

Пастеровскими пипетками берут жидкий материал или культуру, выращенную на той же среде. Перед взятием материала пипетку проводят над пламенем горелки, стерильным пинцетом отламывают запаянный конец, набирают материал и переносят на питательную среду. Пробирку закрывают над пламенем, а пипетку опускают в сосуд с дезинфицирующей жидкостью. На пробирках или чашках пишут дату, название культуры, номер экспертизы, а при проведении научных исследований делают и другие пометки, после чего ставят в термостат для культивирования (для патогенных микроорганизмов обычно при 37⁰С).

Для выделения из микробной смеси или материала чистой культуры готовят разведения на физиологическом растворе и только после этого делают посев на плотную питательную среду в микробиологические чашки. Петлей или пипеткой на плотную питательную среду в чашке наносят капельку смеси и легкими движениями шпателем распределяют ее по всей поверхности. Для того, чтобы получить изолированные колонии, необходимо внесенную каплю распределить на поверхности среды в нескольких чашках, перенося шпатель из первой во вторую, из второй в третью и т.д.

Шпатель обычно делают из стеклянной палочки в виде треугольника на одном конце или металлический из тонкой проволоки. Лучше первый, так как при распределении смеси он легко скользит по поверхности среды. Крышку чашки во время посева открывают по направлению к пламени горелки. По окончании посева шпатель фламбируют и ставят в штатив. Чашки переворачивают вверх дном и ставят в термостат. В перевернутом положении исключается возможность слияния колоний, при небольшом количестве они будут находиться на некотором расстоянии, изолированно.

В чашки Петри вносят питательную среду, для чего МПА столбиком расплавляют на водяной бане. Содержимое пробирок выливают над пламенем горелки и плавными вращательными движениями равномерно распределяют по поверхности чашки дна чашки.



Первый студент делает посев на одну чашку, которую со стороны дна делит на три сектора и соответственно обозначает цифрами I, II, III (рис.3). В первый сектор петлей вносят каплю культуры. Шпателем смесь вначале распределяют в этом секторе, затем переносят его во второй и третий. Второй студент делает посев на две чашки (рис. 3). Микробную смесь вначале вносят в первую чашку, которую распределяют шпателем и этот же шпатель переносят во вторую чашку. Все чашки переворачивают вверх дном и ставят в термостат. Таким путем осуществляется получение изолированных колоний и выделение культуры в чистом виде.

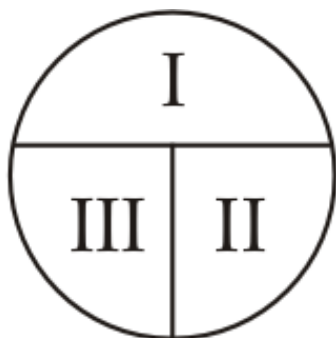


Рис.3.Чашка для первого студента, размеченная со стороны дна (схема) в чистом виде.

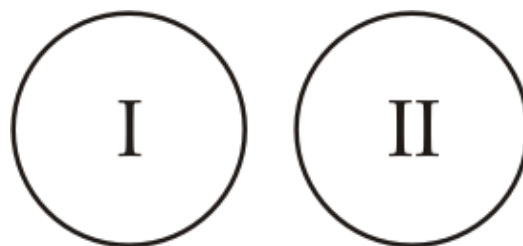
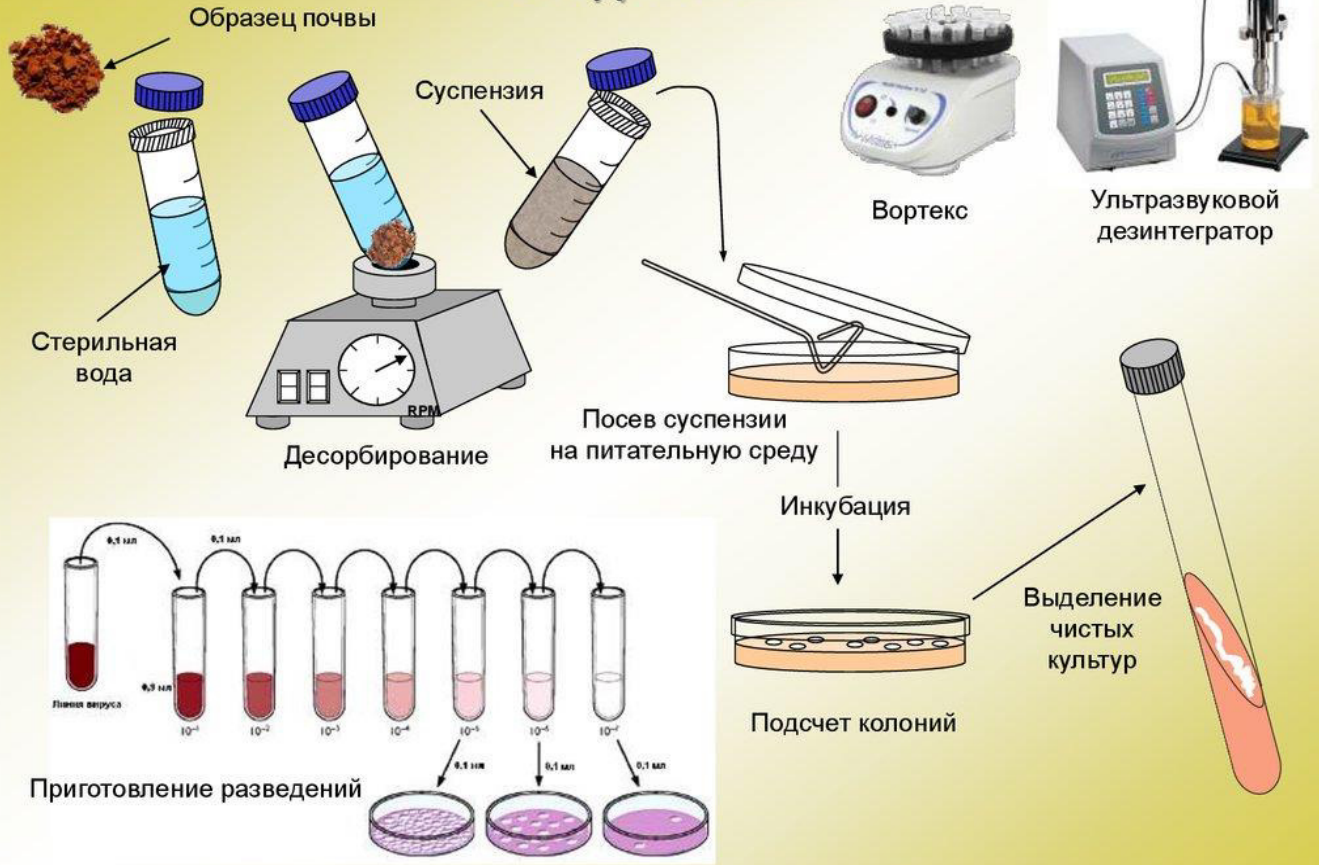


Рис.3.Чашки для второго студента (схема)

Метод посева



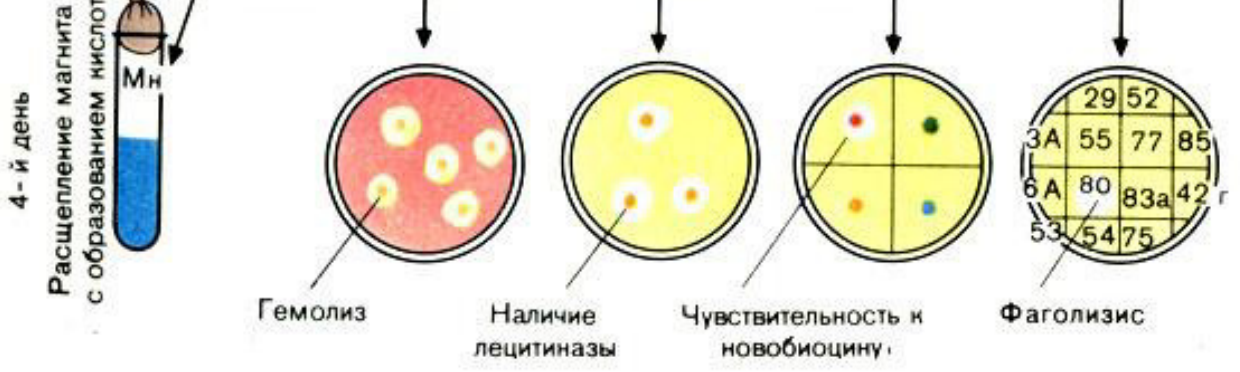
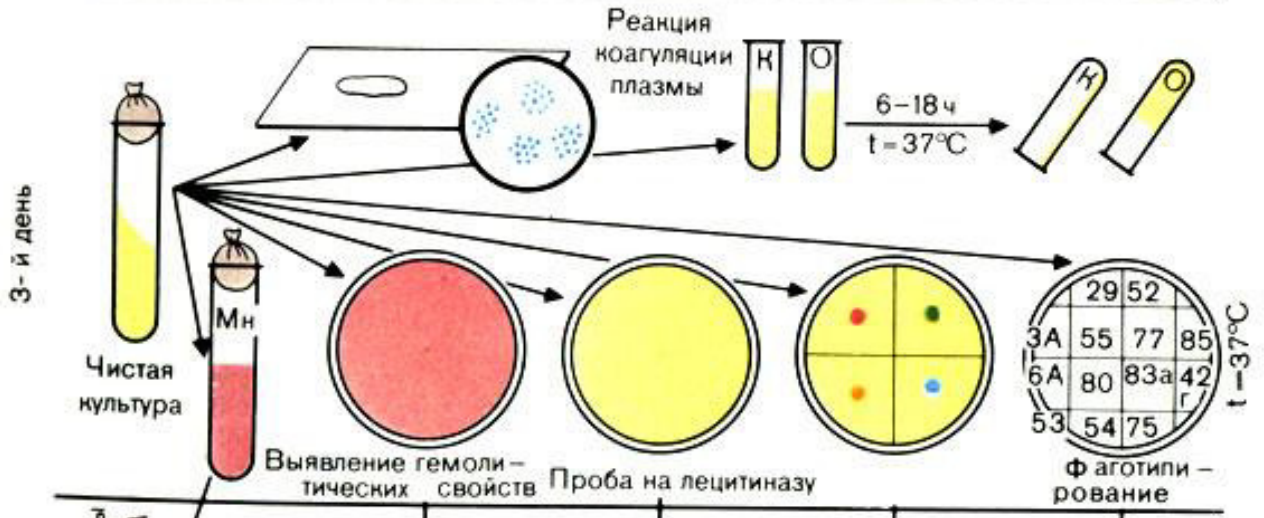
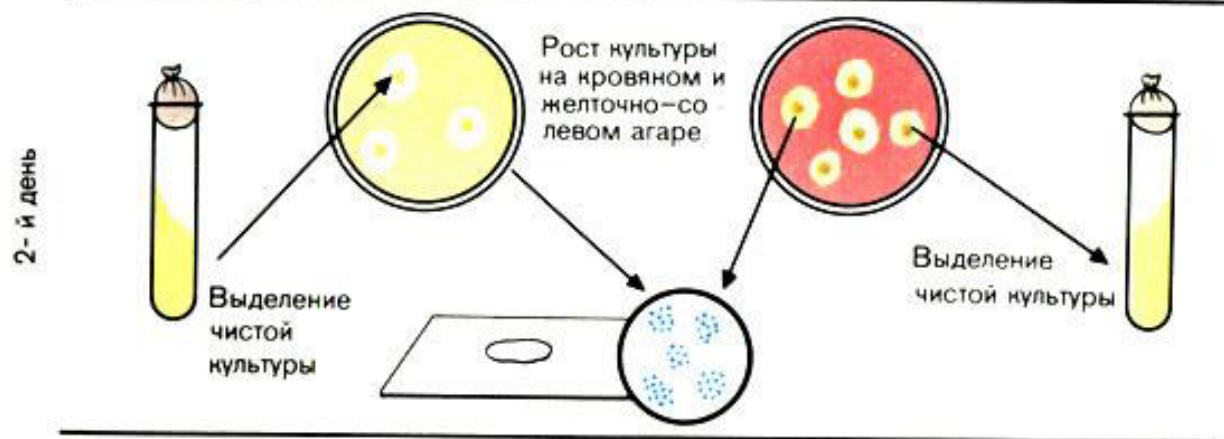
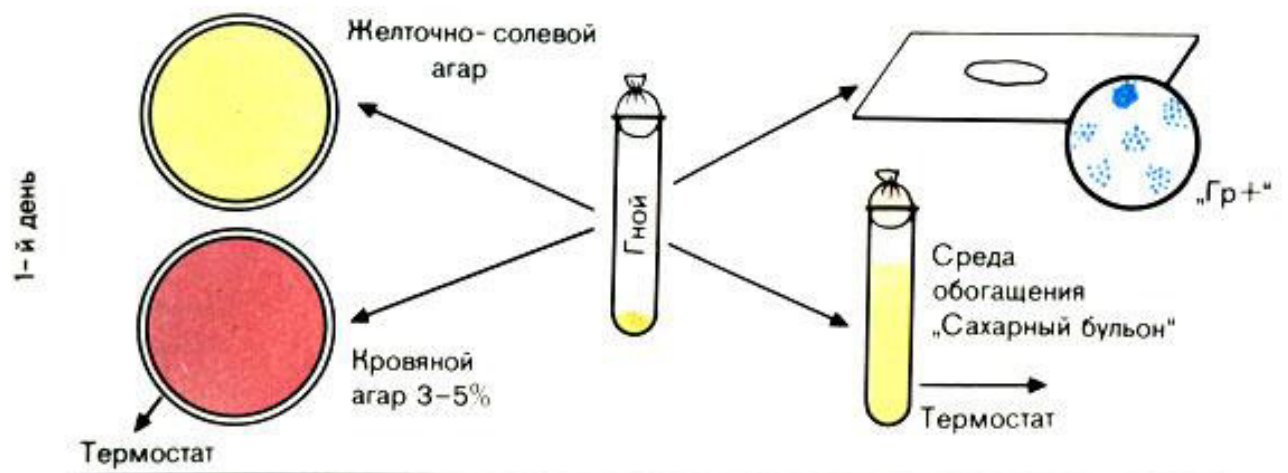
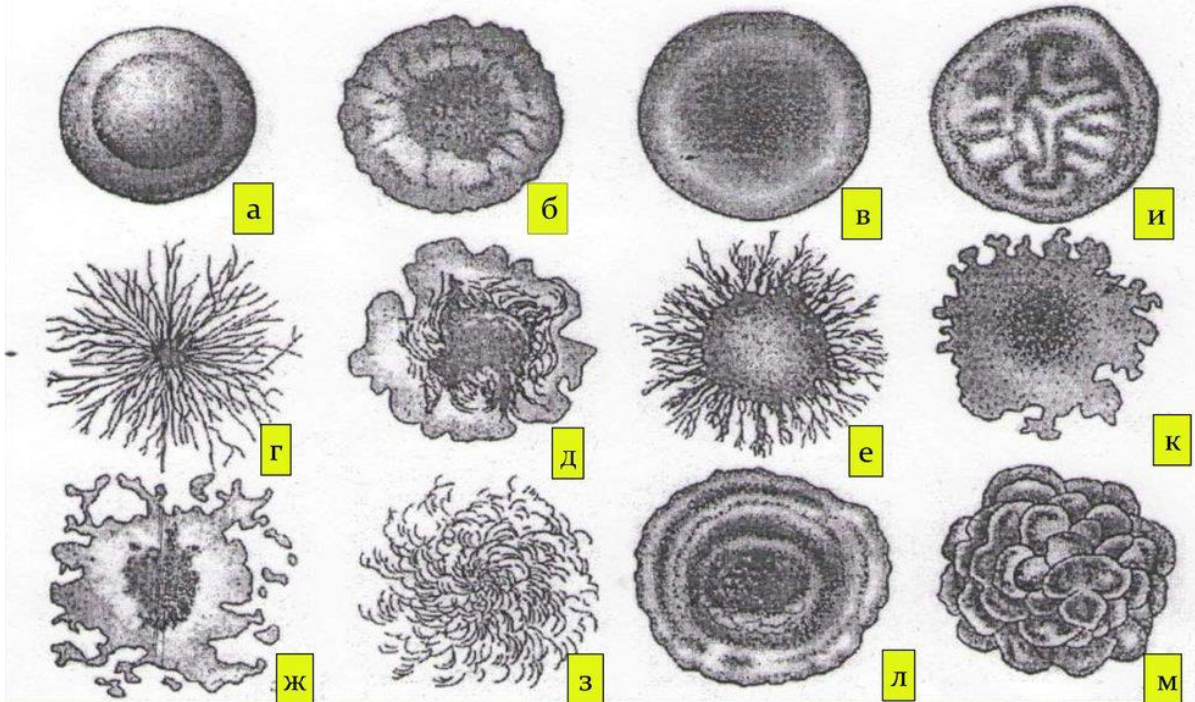


СХЕМА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕРИЛЬНОСТИ



Форма колоний микроорганизмов



а - круглая; б - круглая с фестончатым краем; в - круглая с валиком по краю; г, д - ризоидные; е - круглая с ризоидным краем; ж - амёбовидная; з - нитевидная; и - складчатая; к - неправильная; л - концентрическая; м - сложная.

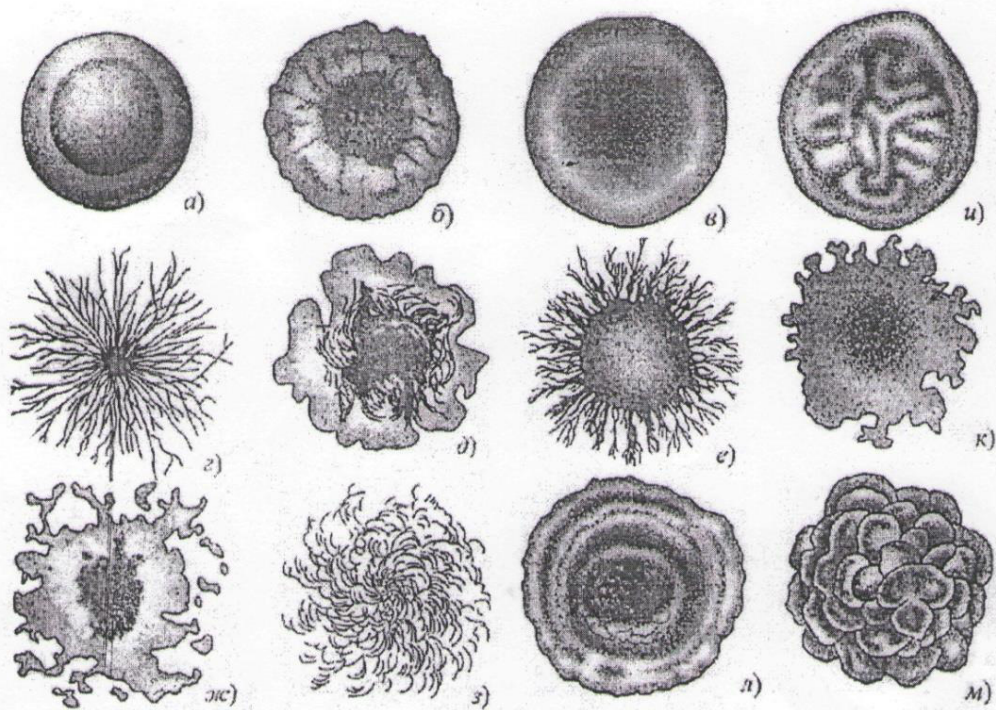


Рисунок 1.1 – Форма колоний микроорганизмов:

а – круглая; б – круглая с фестончатым краем; в – круглая с валиком по краю; г, д – ризоидные; е – круглая с ризоидным краем; ж – амебовидная; з – нитевидная; и – складчатая; к – неправильная; л – концентрическая; м – сложная.

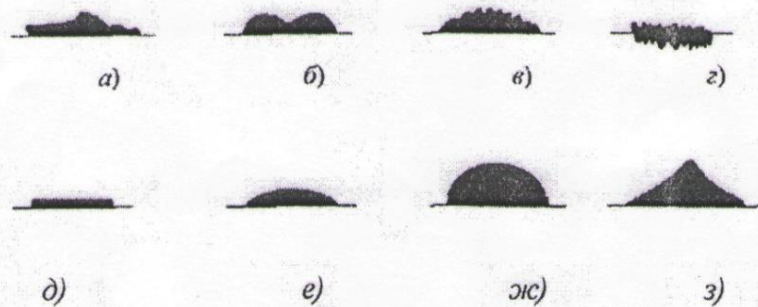


Рисунок 1.2 – Профиль колоний микроорганизмов:

а – изогнутый; б – кратеровидный; в – бугристый; г – растающий в агар; д – плоский; е – выпуклый; ж – каплевидный; з – конусовидный.

Рисунок 1 – Культуральные признаки бактерий (характеристика колоний, как важнейший признак для идентификации).

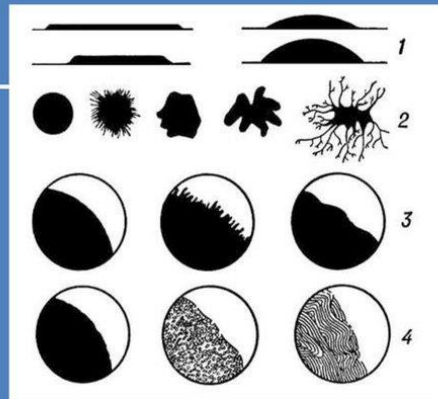


Рис. 1. Колонии *A. fumigatus* РКПГ F 1377 на солодовом агаре, 72 часа (а; б – реверзум); в – микроморфология. Ув. x400. Видны типичные конидиеносцы с головками, несущими 1 ряд стеригм.



Рис. 2. Колонии *A. niger* РКПГ F 1329 на среде M253, 72 часа (а; б – реверзум); в – микроморфология *A. niger* РКПГ F 1345. Ув. x400. Видна конидиальная головка с двумя рядами стеригм.

Культуральные свойства бактерий – это характер их роста на питательной среде



Рост на плотной питательной среде:

- 1 – расположение колонии (плоское или выпуклое),
- 2 – форма и размеры колонии,
- 3 – края колонии,
- 4 – характер поверхности и прозрачность.

Тесты для контроля наиболее распространенных питательных сред

| № | Питательная среда | Инкубация | Микроорганизм, используемый для контроля | Ожидаемый результат |
|----|---------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10 | Агар Эндо | 18–20 ч, 36–38 °С | <i>Escherichia coli</i> | Круглые колонии малинового цвета с металлическим блеском, d = 2,0–3,0 мм |
| | | | <i>Shigella sonnei</i> «S form» | Колонии в S-форме от белого до слабо-розового цвета |
| | | 20 ч, 36 °С | <i>Staphylococcus aureus</i> | Рост отсутствует |
| 11 | Агар Плоскирева | 18–20 ч, 36–38 °С | <i>Shigella sonnei</i> «S form» | Бесцветные колонии в S-форме, d = 1,0–2,0 мм |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Ингибция роста в 10 раз |
| 12 | Висмут-сульфит агар | 48 ч, 36–38 °С | <i>Salmonella typhimurium</i> | Черные колонии с блестящей зоной и окрашиванием среды колониями в черный цвет |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Зеленовато-коричневые колонии без окрашивания среды |
| 13 | Среда Ресселя с бромтимоловым синим | 18–20 ч, 36–38 °С | <i>Alcaligenes faecalis</i> | Синие косяк и столбик, газ не образуется |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Желтые косяк и столбик, образуется газ |
| 14 | Среда Кларка | 24 ч, 35 °С | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Цвет среды розовый/красный |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Цвет среды без изменений |
| 15 | Среда для определения индола | 18–24 ч, 31–35 °С | <i>Escherichia coli</i> | Появление кольца на поверхности бульона |
| 16 | Цитратный агар Симмонса | 18–24 ч, 31–35 °С | <i>Salmonella abony</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> | Изменение цвета среды с зеленого на синий |
| | | | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> | Отсутствие роста, цвет среды зеленый |
| 17 | Среда для определения восстановления нитратов в нитриты | 18–20 ч, 35–37 °С | <i>Escherichia coli</i> | При внесении 0,2–0,3 мл реактива Грисса в пробирку с выросшей культурой появляется красное окрашивание, не исчезающее в течение 1–2 мин |
| | | 24 ч, 35 °С | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Цвет без изменений |



Meduniver.com

Все по медицине

Классификация бактерий по отношению к кислороду



Термостат

Выращивание микроорганизмов на естественных и искусственных средах проводят при оптимальной температуре. Это одно из основных условий получения культуры с определенными свойствами и в достаточном количестве. Создать постоянную температуру в течение длительного времени можно в специальных аппаратах, называемых термостатами. Существует много форм и конструкций таких аппаратов. Они могут быть водяного и воздушного обогрева. В современных термостатах источником тепла является электричество. Широкое распространение получили суховоздушные электрические термостаты с терморегулирующим устройством повышенной точности. Такие аппараты состоят из корпуса, рабочей камеры, электромонтажного блока, который осуществляет автоматическое терморегулирование, и подставки. Корпус термостата имеет двойные стенки, между которыми циркулирует теплый воздух, выделяемый электронагревателем, расположенным в нижней части средней камеры. Средняя камера от наружной стенки отделена теплоизоляционным материалом. Термостат имеет две двери: внутреннюю – стеклянную и двойную – наружную, заполненную теплоизоляционным материалом. В рабочей камере термостата находятся три перфорированные съемные полки, выполненные из листов полированной латуни, которые могут быть установлены на разную высоту.

В верхней части корпуса помещается контрольный термометр. На панели электромонтажного блока расположен тумблер включения и выключения сети, сигнальные лампы, кнопка подсвета термометра, ручки настройки терморегулирующего устройства. При его установке термостат должен быть заземлен. Включение аппарата в сеть без заземления запрещено!

| Стерилизуемый материал | Метод стерилизации | Режим стерилизации | Примечание |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Питательные среды с почвенной вытяжкой; картофельные и некоторые другие натуральные среды | Автоклавирование | 1,5–2,0 атм; 30 мин | В колбах, пробирках, бутылках и т.д., закрытых ватными пробками |
| Жидкие и агаризованные среды, не содержащие сахаров и других веществ, разлагающихся при 120 °С | То же | 1,0 атм; 20 мин | То же |
| Жидкие и агаризованные среды с сахарами и другими соединениями, не выдерживающими нагревания при 120 °С | То же | 0,5 атм; 15–30 мин | |
| Среды или компоненты сред, не выдерживающие нагревания выше 100 °С | Дробная стерилизация | Текущий пар; 3 раза по 30–40 мин через сутки | |

Источник: <https://studfile.net/preview/10099969/>

Практическая работа №5 Классификация бактерий



Цель работы: знать как выделять чистую культуру бактерий; теоретически изучить культуральные и биохимические свойства бактерий (на примере кишечной палочки *Escherichia coli*), их значение для дифференциации бактерий. Изучить как производить первичный посев и пересев.


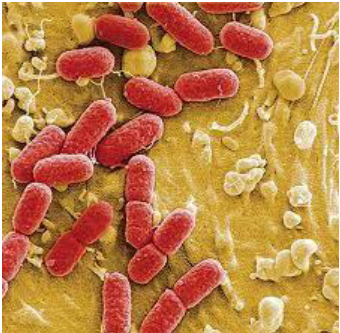
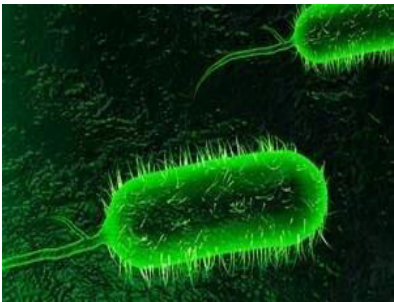
Оборудование и материалы: световой микроскоп. Фиксированные микропрепараты.

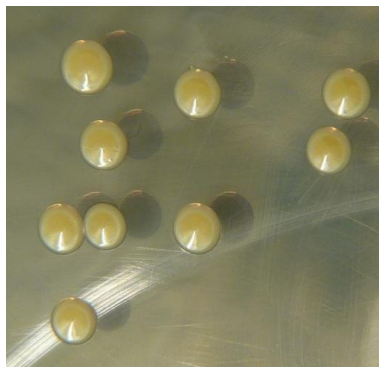
Для демонстрации: чашки Петри с МПА (стерильные) и с предварительно выполненными посевами культур микроорганизмов, завернутые в бумагу. Материал для посева (2 колбы); МПА расплавленный, МПБ; стерильные пипетки; бактериологические петли и иглы; карандаши или чернила по стеклу; спиртовые горелки; спички; стеклянные палочки; шпатель Дригальского; жидкие среды Гильтая, Виноградского и др.; спиртовка.

Ход работы

Задание №1 Классифицировать микроорганизм по морфологическим признакам.

| Вариант микропрепарата | Рисунок микропрепарата | Принадлежность по Граму | Принадлежность по Берджи | Форма бактерии | Бактерии в зависимости от взаимного расположения клеток после деления |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------|----------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 1 |  <p style="text-align: center;"><i>Шигеллы Esbl</i> <i>Bacterial Infection</i></p> | | | | |
| 2 |  <p style="text-align: center;"><i>Сальмонеллы</i> <i>Identifying Salmonella.</i></p> | | | | |

| | | | | | | |
|---|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|--|--|--|--|
| 3 |  | <p>Чума <i>Yersinia pestis</i></p> | | | | |
| 4 |  | <p>Кишечная палочка <i>Escherichia coli</i></p> | | | | |
| 5 |  | <p>Холера <i>Vibrio cholerae</i></p> | | | | |

| | | | | | | |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--|--|--|--|
| 6 |  | <p>Золотистый стафилококк <i>Staphylococcus aureus</i></p> | | | | |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--|--|--|--|

Контрольный тест

Классификация бактерий. Морфология бактерий и методы её изучения

Инструкция: выберите один правильный ответ.

| Вариант I | Вариант II |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>1. В основе деления микроорганизмов на группы лежит:</p> <p>а) морфология клеток б) различные типы их деления в) расположение в мазке г) все ответы верны</p> <p>2. Гонококки – это шаровидные бактерии, в мазках выглядят как:</p> <p>а) вибрионы б) микрококки в) диплококки г) сарцины</p> <p>3. Стрептококки в мазке располагаются:</p> <p>а) цепочками б) тьюками в) скоплениями в виде гроздьев г) поодиночно</p> <p>4. Актиномицеты характеризуются следующими свойствами:</p> | <p>1. Сапрофитные микроорганизмы питаются:</p> <p>а) органическими веществами мертвых организмов б) неорганическими веществами в) органическими веществами живых организмов г) все ответы верны</p> <p>2. Стафилококки в мазке располагаются:</p> <p>а) цепочкой б) попарно в) в виде гроздьев г) тьюками</p> <p>3. Сарцины имеют форму:</p> <p>а) шаровидная б) изогнутая в) палочковидная г) извитая</p> |

- а) имеют вид тонких нитей
- б) в основном обитают в почве
- в) на концах клеток образуют споры
- г) все ответы верны

5. Вибрионы – это:

- а) извитые палочки
- б) изогнутые палочки
- в) тетракокки
- г) микрококки

6. К спорообразованию способны:

- а) стафилококки
- б) бациллы
- в) стрептококки
- г) кишечная палочка

7. Хранителем наследственной информации у бактерий является:

- а) спора
- б) цитоплазма
- в) капсула
- г) нуклеоид

8. Эти микроорганизмы являются внутриклеточными паразитами:

- а) хламидии
- б) сарцины
- в) стрептококки
- г) клостридии

9. Флагеллин – это белок, входящий в состав:

- а) оболочки
- б) капсулы
- в) жгутиков
- г) цитоплазмы

10. Расставьте этапы приготовления препарата в нужном порядке:

- а) фиксация
- б) приготовление мазка
- в) окрашивание

4. Бактерии штопорообразной формы называются:

- а) вибрионы
- б) спириллы
- в) спирохеты
- г) клостридии

5. В состав клеточной стенки бактерии входит:

- а) крахмал
- б) флагеллин
- в) муреин
- г) альбумин

6. Перитрихи- бактерии, имеющие следующее расположение жгутиков на клетке:

- а) по всей поверхности клетки
- б) на одном из концов клетки
- в) на обоих концах клетки

7. Дополнительной структурой бактерии является:

- а) нуклеоид
- б) цитоплазма
- в) ЦПМ
- г) капсула

8. Бациллы - это:

- а) аэробные споровые палочки
- б) извитые бесспорные бактерии
- в) бесспорные кокки
- г) анаэробные споровые палочки

9. Укажите функцию нуклеоида в бактериальной клетке:

- а) синтезирует белок
- б) обеспечивает форму клетки
- в) придает подвижность клетке
- г) является хранителем наследственной информации

10. Грам-отрицательные микробы:

- а) окрашиваются в сине-фиолетовый цвет
- б) образуют стойкий комплекс с основными красителями

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| г) высушивание 11. Укажите соответствия: II Фазово–контрастная микроскопия а) для изучения живых неокрашенных препаратов б) для изучения окрашенных препаратов | в) имеют красную окраску 11. Укажите соответствие: I Физический вид фиксации препарата а) ацетон II Химический вид фиксации б) раствор спирта в) пламя горелки |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Ответы к варианту I

| | | | | | | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|--------------|----------|----------|----------|-------------------|-----------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| Г | В | А | Г | Б | Б, В* | Г | А | В | б, г, а, в | а |

*Некоторые

Ответы к варианту II

| | | | | | | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------|----------|-----------|-------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| А | В | А | В | В | А | Г | А, Г | Г | В | 1. В 2. А, Б |

ПРИЛОЖЕНИЕ

Классификация прокариотов. Основные таксономические единицы. Бинарная номенклатура микроорганизмов. Понятие о виде, биоваре, штамме, клоне

Таксономические категории, применяемые для классификации микробов

| Таксономическая категория | Пример для бактерий | Пример для грибов | Пример для простейших | Пример для вирусов |
|---------------------------|------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------|
| Домен | Bacteria | Eucarya | Eucarya | |
| Царство | | Eumycota (Fungi или Eumycota) | Protozoa | Vira |
| Тип | Proteobacteria | Ascomycota | Sporozoa | |
| Класс | Gamma proteobacteria | Archiascomycetes | Coccidea | |
| Порядок | Thiotrichales | Pneumocystidales | Haemosporida | Mononegavirales |
| Семейство | Francisellaceae | | | Rhabdoviridae |
| Род | Francisella | Pneumocystis | Plasmodium | Lyssavirus |
| Вид | Francisella tularensis | Pneumocystis (carinii) jiroveci | Plasmodium vivax | Rabies virus |
| Подвид | Francisella tularensis subsp. tularensis | | | |

Классификация. Классификация микроорганизмов, причисляемых к прокариотам, учитывает в первую очередь практические моменты и служит для распознавания описанных форм. Под классификацией понимают распределение единиц по группам более высокого порядка. Она осуществляется по иерархической схеме. Основной единицей является чистая культура выделенной бактерии - «штамм». Штаммы объединяются в виды, виды в роды, а роды в семейства. Основой для классификации служит адекватное описание штаммов, в соответствии с которым и проводят сравнение и разграничение рассматриваемых единиц. Установлением соподчинения отдельных групп организмов занимается таксономия.

Следует различать два вида классификаций: филогенетические, или «естественные», с одной стороны, и искусственные-с другой.

Построение естественной классификации - конечная цель таксономии бактерий, которая состоит в том, чтобы объединить родственные формы, связанные общностью происхождения, и на этой основе создать филогенетическое древо бактерий. Несомненно, когда-нибудь это удастся сделать, исходя из химических признаков - таких, как последовательность аминокислот в функционально сходных ферментных белках или последовательность нуклеотидов в консервативных нуклеиновых кислотах, например в рибосомных РНК.

Искусственная классификация ставит перед собой более скромные цели, чем филогенетическая. Она довольствуется объединением организмов в отдельные группы на основе их сходства и используется для идентификации и распознавания (определения) организмов.

Искусственная система, прежде всего, рассчитана на использование ее в качестве ключа для определения.

Номенклатура. Так же как для растений и животных, для бактерий применяется бинарная номенклатура: родовое и видовое название. Первоначальное правило, согласно которому в родовом названии должны быть отражены морфологические признаки, а в видовом - физиологические, позднее в связи с крупными новыми открытиями перестало соблюдаться. Бейеринк и Виноградский, ошеломленные разнообразием обмена веществ у бактерий, стали давать родовые названия, отражавшие их экологические, физиологические и биохимические особенности. Например, при выборе наименований для отдельных родов были учтены физиологические признаки (*Acetobacter*, *Nitrosomonas*, *Azotobacter*), пигментация (*Chromobacterium*, *Rhodospirillum*), патогенность (*Pneumococcus*, *Phytomonas*) или используемые субстраты (*Haemophilus*, *Amylobacter*). По правилам номенклатуры следует придерживаться названий, предложенных в достоверных первоописаниях. Присвоение названия и его использование регламентируются твердыми правилами.

Нумерическая таксономия. Следующим шагом к созданию более объективной системы можно считать «нумерическую таксономию». Эта система основана на признании принципов Адансона, согласно которым самые различные признаки, поддающиеся учету, имеют одинаковое значение для характеристики организма. Для количественной оценки учитывают, возможно, большее число признаков, которые подбирают так, чтобы они были альтернативными, т.е. чтобы их варианты можно было обозначать знаками «плюс» или «минус». Оценку различных комбинаций признаков производят с помощью ЭВМ. При этом каждый из признаков одного штамма сравнивают с каждым признаком всех других штаммов. Считается, что сходство между двумя исследуемыми штаммами тем больше, чем больше отношение числа совпадающих признаков к числу всех учитываемых.

Для попарного сравнения пользуются коэффициентом сходства (величиной S). Он определяется следующим образом:

$A + b + c + d$

где a и d -суммы признаков, по которым штаммы A и B совпадают (a - оба положительные; d - оба отрицательные); b - сумма признаков, по которым штамм A положителен, а штамм B отрицателен; c -сумма признаков, по которым штамм A отрицателен, а штамм B положителен. В результате расчетов получаются величины от 0 до 1. $S = 1$ означает 100%-ное сходство, т.е. идентичность, а $S < 0,02$ - абсолютное несходство. Полученные величины вносятся в матрицу сходства и могут также быть представлены в виде дендрограммы (подобной филогенетическому дереву). Однако нумерическая таксономия не имеет прямого отношения к филогении.

В зависимости от отношения к кислотности среды прокариоты могут быть разделены на несколько групп. Оптимальный рН для роста подавляющего большинства прокариот, называемых нейтрофилами, - область, близкая к нейтральной, а рост возможен, как правило, в диапазоне от 4 до 9, считающемся нормальным. Типичными нейтрофилами являются разные штаммы *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium*, *Streptococcus faecalis*.

Предельные обнаруженные границы рН для роста представителей мира прокариот приблизительно от 1 до 12. Хотя многие способны расти или выживать при значениях рН, лежащих за пределами нормального диапазона, оптимум их роста обычно находится внутри этого диапазона. Такие прокариоты считаются кислото- или щелочеустойчивыми (толерантными). К кислотоустойчивым относятся многие бактерии, продуцирующие органические кислоты, например уксуснокислые, молочнокислые и др. Щелочетолерантны многие из энтеробактерий, устойчивые к значениям рН, близким к 9-10.

У некоторых видов адаптация к кислотности среды привела к тому, что оптимум рН для роста переместился в кислую (рН 4 и ниже) или щелочную (рН от 9 и выше) зону. Такие прокариоты названы ацидофильными или алкалофильными (кислото- или щелочелюбивыми) соответственно. Среди обеих групп выделяют облигатные формы, потерявшие способность расти в нейтральной области, и факультативные, сохранившие эту способность. Типичными представителями облигатных ацидофилов служат бактерии рода *Thiobacillus*. Из алкалофилов к облигатным можно отнести некоторых представителей рода *Bacillus*.

Биовар - (от био... и лат. *varietas* - разновидность), физиологический тип, внутривидовая категория для обозначения штамма или совокупности штаммов бактерий со сходными биохимическими или физиологическими признаками; рекомендована Международным кодексом номенклатуры бактерий.

Вид (лат. *species*) - таксономическая, систематическая единица, группа особей с общими морфофизиологическими, биохимическими и поведенческими признаками, способная к взаимному скрещиванию, дающему в ряду поколений плодовитое потомство, закономерно распространённая в пределах определённого ареала и сходно изменяющаяся под влиянием факторов внешней среды. Вид - реально существующая генетически неделимая единица живого мира, основная структурная единица в системе организмов.

Штамм (от нем. *Stammen*, буквально - происходить) - чистая культура вирусов, бактерий, других микроорганизмов или культура клеток, изолированная в определённое время и определённом месте. Поскольку многие микроорганизмы размножаются митозом (делением), без участия полового процесса, по существу, виды у таких микроорганизмов состоят из клональных линий, генетически и морфологически идентичных исходной клетке. Штамм не является таксономической категорией, наинизшим таксоном у всех организмов является вид, один и тот же штамм не может быть выделен второй раз из того же источника в другое время.

Штамм - популяция одного вида выделенная из какого-либо одного источника.

Клонирование, в биологии - метод получения нескольких генетически идентичных организмов путем бесполого (в том числе вегетативного) размножения.

Клон - потомство одной клетки.

2. Ферменты бактерий, их характеристика. Методы изучения ферментативной активности бактерий. Идентификация бактерий по ферментативной активности

Питание микроорганизмов осуществляется благодаря наличию в клетке различных ферментов, катализирующих все жизненно необходимые реакции. Ферменты - это биологические катализаторы белковой природы. Микробная клетка, подобно клеткам высших организмов, оснащена достаточно активным ферментативным аппаратом. Ферменты микроорганизмов обладают теми же свойствами и функциями, что и ферменты высших организмов. В соответствии с катализирующими реакциями все ферменты разделяют на шесть классов:

- Оксидоредуктазы - катализируют реакции окисления-восстановления.
- Трансферазы - катализируют реакции переноса различных групп от донора к акцептору.
- Гидролазы - катализируют разрыв связей в субстратах с присоединением воды.
- Лиазы - катализируют реакции разрыва связей в субстрате без присоединения воды или окисления.
- Изомеразы - катализируют превращения в пределах одной молекулы (внутримолекулярные перестройки).
- 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. Он взаимодействует с репрессором, инактивирует его, в результате чего включается генетический аппарат клетки и начинается синтез соответствующего фермента. 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 (стерически) 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.

Некоторые ферменты, так называемые ферменты агрессии, 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, такие как лигазы и рестриктазы, нашли широкое применение в биотехнологии, в том числе в генетической инженерии, для получения различных биологически активных веществ, гибридом, продуцирующих моноклональные антитела, а также ряда продуктов в легкой и пищевой промышленности.

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

- гидролитические или сахаролитические ферменты, субстратом для которых являются различные сахара, а продуктами их расщепления - кислоты, спирты, альдегиды, H_2O и CO_2 ;
- протеолитические ферменты, расщепляющие белки с образованием полипептидов, аминокислот, аммиака, индола, сероводорода.

3. Методы изучения ферментативной активности бактерий

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

При исследовании гидролитической активности бактерий распространены моносубстратные дифференциально-диагностические среды Гисса (пестрый ряд Гисса), лактозосодержащие среды Эндо, Левина, Плоскирева, дисубстратные среды Ресселя, полисубстратные среды Клиглера и Олькеницкого. Последние могут служить и для изучения протеолитических свойств бактерий, так как рост микроорганизмов сопровождается высвобождением аммиака. Протеолитические ферменты бактерий определяются также по выделению индола, сероводорода, расщеплению некоторых аминокислот, например, фенилаланина, лизина, цистина. Протеолитические ферменты способны изменять (разжижать) желатину, причем, разные виды бактерий по разному изменяют «столбик» желатины в пробирке с посевом микроорганизма. Так, при росте холерного вибриона «столбик» желатины принимает форму гвоздя, при росте стафилококка - чулка, при росте синегнойной палочки наблюдается послойное разжижение среды.

Окислительно-восстановительные ферменты, дегидрогеназы, каталазу определяют по изменению органического красителя - акцептора водорода. Способность микроорганизмов использовать в качестве источника углерода цитрат оценивают в специальных тестах, основанных на работе ферментов.

В практических бактериологических лабораториях широко применяют микро- и экспресс - методы для ориентировочного изучения биохимических свойств микроорганизмов. Для этой цели существует множество тест-систем. Наиболее часто используют систему индикаторных бумаг (СИБ). СИБы представляют из себя 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. Микро - тест 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.

4. Идентификация бактерий по ферментативной активности

Определение ферментативной активности бактерий играет огромную роль в их идентификации. Например, все аэробы или факультативные анаэробы обладают супероксид дисмутазой и каталазой - ферментами, защищающими клетку от токсичных продуктов метаболизма. Практически все облигатные анаэробы не синтезируют эти ферменты. Только одна группа аэробных бактерий - молочнокислые бактерии каталазонегативны, но аккумулируют пероксидазу - фермент, катализирующий окисление органических соединений под действием перекиси водорода (восстанавливается до воды). Наличие аргининдигидролазы - диагностический признак, позволяющий различить сапрофитические виды *Pseudomonas* от фитопатогенных. Среди пяти основных групп семейства *Enterobacteriaceae* только две - *Escherichiae* и *Erwiniae* - не синтезируют уреазу. Часто вирулентность штамма связана с повышенной активностью ферментов, ответственных за синтез токсинов.

5. Инфекционные заболевания лекарственных растений. Защитные механизмы растений. Профилактика инфекционных заболеваний лекарственных растений

прокариот штамм фермент бактерия

Инфекционные болезни растений вызываются фитопатогенными бактериями. Заражение растений происходит через инфицированные семена, почву, грунтовые и дождевые воды, насекомых. Главным источником инфекции является почва, так как в ней могут содержаться остатки неперегнивших полностью больных растений.

Фитопатогенные микроорганизмы сравнительно легко могут проникать в растения через естественные образования (чечевички, нектарники, желёзки, корневые волоски) и искусственные повреждения, даже ничтожные царапины. Некоторые микроорганизмы, способны вырабатывать ферменты, гидролизующие кутикулу растений и облегчающие внедрение возбудителя.

Попав в растение и достигнув критической концентрации в количественном отношении, микроорганизмы вызывают заболевания, называемые бактериозами. Различают общие бактериозы - поражение всего растения вследствие распространения возбудителя в сосудистой системе; и местные или очаговые - поражения на листьях, стволах, ветвях, корнях и корневищах, возникающие при интрацеллюлярном распространении микроба.

От начала заражения до момента проявления у растения симптомов болезни проходит инкубационный период, длительность которого различна и зависит от многих факторов: температуры, влажности, света, питания и др.

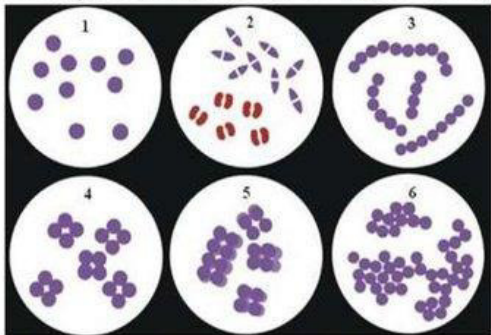
По совокупности анатомических и физиологических изменений определяют тип болезни растений:

- Камедетечения, смолотечения, слизетечения. Чаще всего вызываются бактериями рода *Erwinia* и грибами (класс *Ascomycetes*), в большинстве наблюдаются у лиственных и хвойных деревьев.
 - Сухая и мокрая гниль. При этом размягчаются и разрушаются отдельные участки тканей и органов растения за счет жизнедеятельности бактерий (род *Pectobacterium*) и грибов (класс *Ascomycetes* и *Fungi imperfecti*).
 - Мучнистая роса. На листьях и побегах возникает белый налет, который является следствием размножения грибов (класс *Ascomycetes*).
 - Пожелтение, увядание, засыхание. Это заболевание чаще всего вызывается грибами (*Fungi imperfecti*), реже бактериями (род *Corynebacterium*), в ряде случаев заболевание носит неинфекционный характер.
 - Чернь. На листьях и побегах появляется черная пленка вследствие развития сумчатых и несовершенных грибов или бактерий рода *Erwinia*.
 - Ожог. Листья, молодые побеги, цветы, плоды буреют, чернеют. Возбудителями ожога являются бактерии рода *Erwinia*.
 - Пятнистость. Некоторые бактерии (род *Pseudomonas*), грибы (класс *Ascomycetes* и *Fungi imperfecti*), вызывают образование пятен разного цвета, формы, размеров на листьях, семенах и плодах.
 - Опухоли. Местное увеличение объема стволов, ветвей, корней, корневищ в виде наростов, вздутий, утолщений за счет гиперплазии клеток. Эти заболевания вызываются бактериями (род *Agrobacterium*), грибами и механическими повреждениями.
 - Язвы. Проявляются в виде углублений, часто окруженных наплывом. Вызываются бактериями (род *Erwinia*), грибами, механическими повреждениями, низкой температурой.
 - Мозаика листьев. На листьях появляются бледно окрашенные пятна, чередующиеся с нормально окрашенными участками. Вызываются вирусами.
 - Ведьмины метлы. Образование побегов из спящих почек в результате развития бактерий (род *Rhizobium*), грибов (класс *Ascomycetes*) и вирусов.
 - Деформация. Проявляется в изменении формы органов растения (искривление побегов, курчавость листьев, карликовость) вследствие поражения грибами (класс *Ascomycetes* и *Fungi imperfecti*), вирусами (семейство *Reoviridae*).
- Существенно важным является, то обстоятельство, что в больных растениях заметно отклоняются от нормы обменные процессы вплоть до качественных изменений клеточных структур, что приводит к нарушению химического состава тканей и снижению содержания действующих начал в лекарственных растениях, и использование их в качестве сырья в аптечных и заводских условиях становится невозможным.
- Растительный организм обладает защитными механизмами, противодействующими внедрению и размножению фитопатогенных бактерий. К ним можно отнести особенности покровных тканей, высокую кислотность клеточного сока, образование биологически активных веществ - фитонцидов, подавляющих развитие микробов.

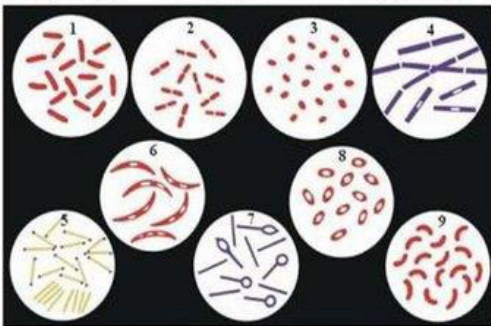
Меры профилактики. Заключаются в дезинфекции семян и посадочного материала, дезинфекции почвы, опрыскивании растений химическими веществами, уничтожении растительных остатков, переносчиков возбудителей, удалении больных растений и изоляции здоровых.

Морфологические формы бактерий

Кокковидные и палочковидные формы бактерий



1. Микрококки 2. Диплококки 3. Стрептококки
4. Тетракокки 5. Сарцина 6. Стафилококки



1. Эшерихии 2. Клебсиеллы 3. Бруцеллы 4. Бациллы
5. Дифтерийная палочка 6. Фузобактерии 7. Клостридии
8. Иерсинии 9. Вибрионы

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

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

Основные формы бактерий

ОПРЕДЕЛИТЕЛЬ БАКТЕРИЙ БЕРДЖИ

Бактерии разделены на 35 групп, входящих в 4 отдела:

- ОТДЕЛ I. *Gracilicutes* (грациликуты, или тонкокожие) - грамотрицательные эубактерии с клеточной стенкой.
- ОТДЕЛ II. *Firmicutes* (фирмикуты, или толстокожие) - грамположительные эубактерии.
- ОТДЕЛ III. *Tenericutes* (тенерикуты, или нежнокожие) – эубактерии, не имеющие клеточной стенки - микоплазмы.
- ОТДЕЛ IV. *Mendosicutes* (мендосикуты) - архебактерии.

самые древние
доядерные
3 млрд лет назад



ПРОКАРИОТЫ

Настоящие бактерии

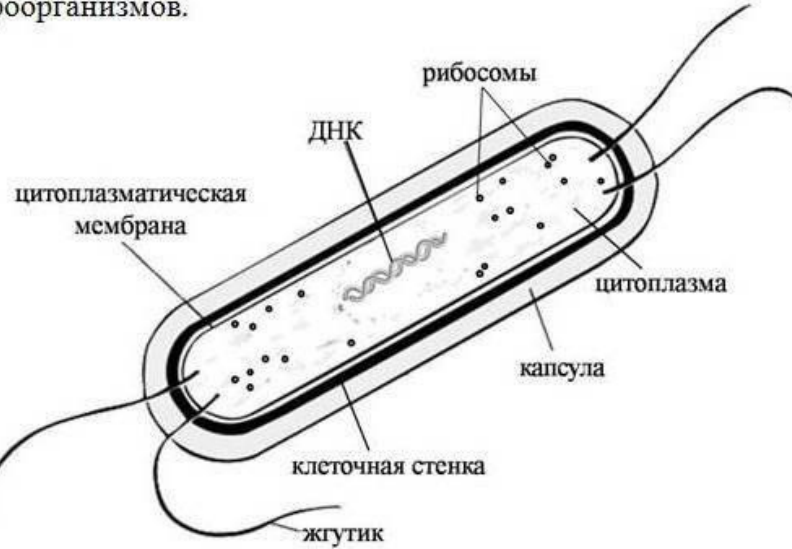
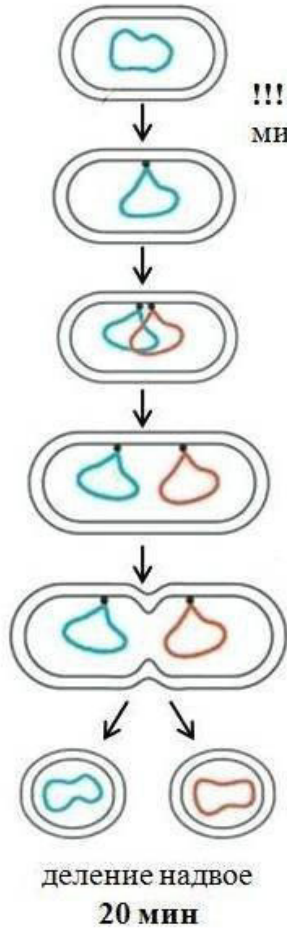
Архебактерии

Оксифотобактерии



!!! Спорообразование у бактерий – способ переживания неблагоприятных условий.

!!! **Микробиология** - наука о строении и жизнедеятельности микроорганизмов.



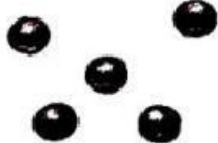
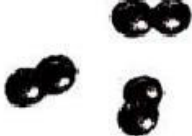
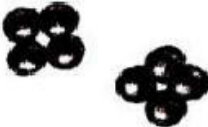
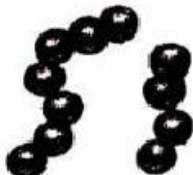












!!! **Муреин** - основа клеточной стенки.

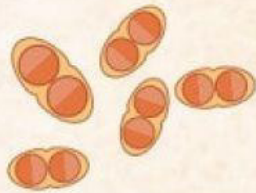


Формы бактерий

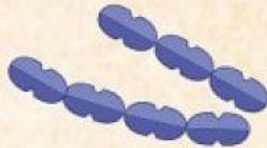


автор: Коробкова А.В.

| | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>1. Микрококки</p> |  <p>2. Диплококки</p> |  <p>3. Тетракокки</p> |  <p>4. Стрептококки</p> |
|  <p>5. Сарцины</p> |  <p>6. Стафилококки</p> |  <p>7. Палочковидные бактерии</p> |  <p>8. Стрептобактерии</p> |
|  <p>9. Бациллы кластридиального типа</p> |  <p>10. Бациллы бациллярного типа</p> |  <p>11. Бациллы плектридиального типа</p> |  <p>12. Вибрионы</p> |
|  <p>13. Спириллы</p> |  <p>14. Спирохеты</p> |  <p>15. Микобактерии</p> |  <p>16. Нитчатые</p> |



Пневмококк



Энтерококк



Энтеробактерии



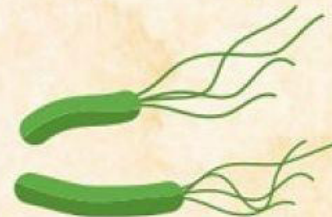
Возбудители
сибирской язвы



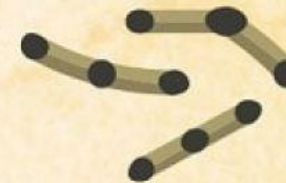
Сарцины



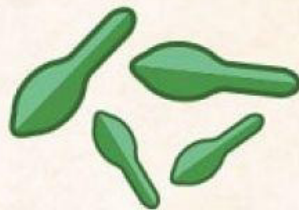
Сальмонелла



Хеликобактер
пилори



Коринебактерии
дифтерии



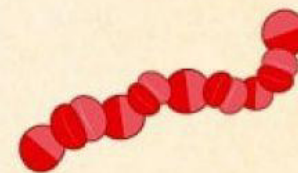
Возбудители
ботулизма



Кишечная
палочка



Золотистый
стафилококк



Пиогенный
стрептококк

**Алгоритмы манипуляций для практического занятия по теме:
«Классификация бактерий. Морфология бактерий и методы её изучения»**

Схема приготовления мазка

Приготовьте мазок из зубного налета, окрасьте его и рассмотрите под микроскопом. Зарисуйте и опишите увиденное под микроскопом. Сделайте вывод.

Приготовление мазка из зубного налета:

1. Небольшое количество зубного налета снять острым концом спички.
2. Растереть на предметном стекле размером с пятикопеечную монету.
3. Мазок зафиксировать путем трехкратного проведения над пламенем горелки.
4. Мазок окрасить по Граму.
5. Промыть водой.
6. Высушить фильтровальной бумагой.
7. Рассмотреть препарат под микроскопом.

Окраска мазка по Грамму

1. окрасить мазок генцианвиолетом (2 минуты, через фильтровальную бумагу);
2. бумагу удалить, оставшуюся краску слить;
3. окрасить мазок раствором Люголя (1 минута);
4. раствор Люголя слить и нанести несколько капель чистого 96% спирта (30-40 секунд, осторожно покачивать стекло);
5. тщательно смыть спирт водой;
6. окрасить водным фуксином (2 минуты);
7. промыть водой и высушить.

Грамположительные (Гр+) бактерии окрашиваются в сине-фиолетовый цвет.

Грамотрицательные (Гр-) бактерии окрашиваются в красный цвет.

Окраска кислотоустойчивых бактерий. Кислотоустойчивые микроорганизмы обладают выраженной к неорганическим кислотам, спиртам, щелочам. Это связано с наличием в клеточной стенке и мембране сравнительно большого количества липидов. Бактерии этой группы очень плохо окрашиваются обычными способами, поэтому используют концентрированные растворы с подогревом. При последующей кратковременной обработке кислотой клетки, воспринявшие краску, не обесцвечиваются. Это позволяет отличить кислотоустойчивые бактерии. Их окрашивают по методу Циля-Нильсена, который разработан с учетом все указанных особенностей

Окраска по Цилю-Нильсену. Методика:

- нанести несколько капель карболового фуксина на фиксированный мазок. Покрытый фильтровальной бумагой, и подогреть до появления паров (3-5 минут);
- бумагу снять, мазок охладить и обесцветить 3% серной кислотой или 3% солянокислым спиртом (3-4 секунды);
- тщательно промыть водой;
- окрасить дефферовской синькой (3-5 минут);
- промыть водой и высушить.

Окраска спор. Зрелая спора с трудом поддается окрашиванию из-за низкой проницаемости стенки. При окраске по Граму спорообразующей культуры краска воспринимается только вегетативной частью микроба, а спора остается бесцветной. Проницаемость ее клетки резко увеличивается после обработки горячей соляной кислотой или при использовании концентрированного раствора краски в подогревом. Восприняв краску, спора при последующей обработке кислотой не обесцвечивается, в то время как вегетативные клетки немедленно отдают краску.

Метод Ожешко.

- нанести несколько капель 0,5% соляной кислоты на нефиксированный мазок и нагреть до появления паров (2-3 минуты);
- слить кислоту, промыть водой, высушить;
- зафиксировать в пламени;
- окрасить по методу Циля-Нильсена (при этом споры окрашиваются в красный цвет, а вегетативные формы – в синий). Часто для окраски спор используют только метод Циля-Нильсена.

•

Окраска включения волютина (по Нейссеру).

- Окрасить мазок уксуснокислой синькой Нейссера (2-3 минуты);
- Промыть;
- Окрасить раствором Люголя (30 секунд);
- Слить раствор Люголя и окрасить везувином (1 минута)
- Промыть препарат и высушить

Цитоплазма клетки, имеющая кислую реакцию, принимает желтый цвет. Зерна волютина – темно-синие, почти черные.

Окраска по Бурри (обнаружение капсул).

Для обнаружения капсул используют негативную окраску, т.к. окрашивается пространство между бактериями. Таким образом, образуется темное поле с неокрашенными бактериями.

- Смешать на предметном стекле немного капсульной культуры и каплю разведенной (1:9) туши;
- Высушить на воздухе и бактериоскопировать.

Модификация по Бурри-Гинсу включает создание фона краской конгорот, последующую фиксацию в 5% растворе соляной кислоты, дополнительную окраску водным фуксином. В результате – общий фон темный, капсулы бесцветны, сами бактерии – красные.

Окраска по Романовскому-Гимзе.

Относится к сложным методам окраски и применяется чаще всего для мазков-отпечатков из органов или мазков крови после фиксации в жидком фиксаторе. Позволяет выявить ядерные элементы бактериальных клеток и зерна волютина. Для окраски берут каплю готовой краски на 1мл воды, которая должна быть подщелочена до рН – 7,2.

- Поместить препарат (мазком вниз) в чашку Петри, подложив под края стекла спички или кусочки предметных стекол;
- Подлить краску сбоку так, чтобы она без пузырей подтекла под мазок (красить 1-24ч);
- Промыть водой (рН – 7,2) и высушить;

Протоплазма молодых клеток окрашивается в сине-фиолетовый цвет, ядерные элементы – в красно-фиолетовый.

Источник литературы:

<https://nsportal.ru/npo-spo/zdravookhranenie/library/2023/11/18/metodicheskaya-razrabotka-prakticheskogo-zanyatiya>

Практическая работа №6 Экология микроорганизмов

Цель работы: знать основы санитарной микробиологии: показатели санитарно-бактериологического состояния воды, воздуха и почвы (коли-индекс, коли-титр, общее микробное число (ОМЧ)) и методы их определения; санитарно-показательные микроорганизмы воды, воздуха и почвы;

уметь учитывать результаты определения коли-индекса, коли-титра воды, ОМЧ воды, воздуха и почвы

Вопросы для самоподготовки:

1. Предмет санитарной микробиологии и требования, предъявляемые к санитарно-показательным микроорганизмам.
2. Микрофлора воды, воздуха и почвы.
3. Методы определения санитарно-показательных микроорганизмов воды, воздуха и почвы.

Оборудование и материалы: световой микроскоп, фиксированные микропрепараты микроорганизмов;

Ход работы

Микроорганизмы играют важную роль в функционировании биосферы. Они обеспечивают биогеохимические циклы круговорота веществ и энергии. Основные среды обитания микроорганизмов в природе — почва, вода, воздух, животные и растительные организмы.

Задание №1

1. Выписать в тетрадь основные санитарно-показательные микроорганизмы

- воды _____
- воздуха _____
- почвы _____

2. Выписать определения понятий и нормативы по ГОСТу для питьевой воды:

коли-индекс _____

коли-титр _____

общее микробное число (ОМЧ) _____

3. Перечислите основные требования, предъявляемые к санитарно-показательным микроорганизмам: _____

4. Перечислить методы определения показателей санитарно-бактериологического состояния:
воды _____
воздуха _____
почвы _____

Задание №2 Заполнить таблицу «Основные функции нормальной микрофлоры»

| Функция | Механизм реализации |
|--------------------------------|----------------------------|
| Колонизационная резистентность | |
| Детоксикационная | |
| Синтетическая | |
| Пищеварительная | |

ПРИЛОЖЕНИЕ

Санитарная микробиология. Требования, предъявляемые к санитарно-показательным микроорганизмам

Санитарная микробиология – раздел медицинской микробиологии, изучающий микроорганизмы, содержащиеся в окружающей среде и способные оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье человека. Она разрабатывает микробиологические показатели гигиенического нормирования, методы контроля эффективности обеззараживания объектов окружающей среды, выявляет в них патогенные, условно-патогенные и санитарно-показательные микробы.

Обнаружение патогенных микробов в окружающей среде, продуктах питания и воде позволяет принять меры по борьбе и профилактике инфекционных заболеваний.

Условно-патогенные микробы, попав в продукты питания, быстро размножаются с накоплением токсинов и вызывают пищевые отравления (пищевые токсикоинфекции). Основными источниками распространения возбудителей большинства инфекционных болезней, поражающих человечество, являются люди и теплокровные животные. Наиболее массивное выделение ими микроорганизмов в окружающую среду происходит воздушно-капельным и фекальным путями.

Санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды обязано решить вопрос о наличии или отсутствии в них опасных для человека микроорганизмов.

Для оценки санитарного состояния объектов окружающей среды определяют санитарно-показательные микроорганизмы, которые служат показателями загрязненности и потенциальной опасности исследуемых объектов.

К санитарно-показательным микроорганизмам предъявляются следующие требования:

- должны обитать только в организме людей или животных и постоянно выделяться в окружающую среду в больших количествах;
- не должны иметь других мест обитания;
- не должны размножаться вне организма человека или обитать в почве и воде;
- не должны изменять свои свойства;
- сроки их выживания и устойчивость к различным факторам после выделения из организма в окружающую среду должны быть равными или превышать таковые у патогенных;
- должны встречаться в окружающей среде в значительно больших количествах, чем патогенные микроорганизмы;
- методы их обнаружения и идентификации должны быть простыми, методически и экономически доступными.

К основным санитарно-показательным микроорганизмам воды и почвы относят бактерии группы кишечных палочек (БГКП), энтерококки (основная разновидность *E. faecalis*), протеи, сальмонеллы, клостридии (*C. perfringens*), термофильные бактерии и бактериофаги энтеробактерий (колифаги). В состав БГКП включены представители различных родов семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*. К группе термофильных бактерий относятся неродственные бактерии, представители различных семейств, способных размножаться при температуре 60°C и выше (*Lactobacillus lactis*, *Streptococcus thermophilus*). Бактерии, принадлежащие к роду *Proteus*

(*P. vulgaris* и др.) широко распространены в природе и являются гнилостными. Они в большом количестве встречаются на разлагающихся останках животных и растений. Обнаружение этих бактерий в каких-либо пищевых продуктах свидетельствует о гнилостном распаде.

Показателем биологического загрязнения воздуха помещений являются стрептококки и стафилококки.

В практике санитарно-микробиологических исследований о микробной обсемененности судят по **микробному числу** – общему количеству микробов, содержащихся в единице объема или массы исследуемого объекта (1 мл воды, 1 г почвы, 1 м³ воздуха). Содержание санитарно-показательных бактерий оценивают по двум показателям – титру и индексу.

За **титр** принимают тот минимальный объем или массу исследуемого материала, в которых обнаруживают 1 санитарно-показательный микроорганизм;

индекс показывает количество санитарно-показательных бактерий, содержащихся в 1 л жидкости, 1 г плотных веществ, 1 м³ воздуха.

Микрофлора воды, воздуха и почвы

Микрофлора воды. В водах пресных водоемов обнаруживаются различные бактерии: палочковидные (псевдомонады, аэромонады), кокковидные (микрочкокки), извитые. Загрязнение воды органическими веществами сопровождается увеличением числа аэробных и анаэробных бактерий и грибов. Особенно много анаэробов в иле и на дне водоемов. Вместе с загрязненными ливневыми, тальными и сточными водами в озера и реки попадают представители нормальной микрофлоры человека и животных (кишечная палочка, цитробактер, энтеробактер, энтерококки, клостридии) и возбудители кишечных инфекций (брюшного тифа, паратифа, дизентерии, холеры, лептоспироза, энтеровирусных инфекций).

Таким образом, вода является фактором передачи возбудителей многих инфекционных заболеваний. Микрофлора воды океанов и морей также представлена различными микроорганизмами в т.ч. светящимися и галофильными (солелюбивыми). Они поражают моллюсков, рыб, при употреблении которых в пищу развивается пищевая токсикоинфекция. Вода артезианских скважин практически не содержит микроорганизмов, т.к. последние задерживаются верхними слоями почвы.

Гигиенические требования и контроль за качеством распространяется на питьевую воду, подаваемую централизованными системами хозяйственно-питьевого водоснабжения, а также централизованными системами водоснабжения, подающими воду одновременно для хозяйственно-питьевых и технических целей, и устанавливает гигиенические требования и правила контроля за качеством питьевой воды.

Стандарт не распространяется на воду при нецентрализованном использовании местных источников без разводящей сети труб.

При бактериальном загрязнении воды свыше допустимых норм следует провести дополнительное исследование на наличие бактерий – показателей свежего фекального загрязнения. К таким бактериям относят термотолерантные колиформные бактерии, фекальные кишечные палочки, ферментирующие лактозу до кислоты и газа при температуре 44°C в течение 24 часов и не растущие на цитратной среде. О свежем фекальном загрязнении свидетельствует также выявление энтерококка. Наличие бактерий родов *Citrobacter* и *Enterobacter* указывает на относительно давнее фекальное загрязнение. Присутствие клостридий также свидетельствует о фекальном загрязнении о сроке которого трудно сказать однозначно (споры могут длительно сохраняться в окружающей среде).

Резкое увеличение содержания термофильных бактерий может свидетельствовать о загрязнении почвы разлагающимися отбросами, поскольку они размножаются в саморазогреваемом навозе и компостах.

Кроме того, загрязненность воды оценивается по обнаружению патогенных микробов с фекально-оральным механизмом передачи (энтеровирусы, шигеллы, сальмонеллы, холерные вибрионы и др.).

Микрофлора воздуха. Воздух является неблагоприятной средой для развития микроорганизмов. Степень загрязненности воздуха зависит от большого количества различных факторов: время года (зима – лето), городская или сельская местность, равнина или горы, воздух открытых пространств или закрытых помещений.

Микрофлора воздуха представлена в основном кокками (стафилококки, стрептококки, сарцины), сапрофитными бактериями, грибами. В воздухе закрытых помещений накапливается микрофлора, выделяемая от человека (дыхательные пути). Патогенная микрофлора попадает в воздух при кашле, чихании (при акте чихания в воздух попадает 10^4 – 10^6 микробных клеток). В виде аэрозолей в воздухе могут быть возбудители ОРЗ, гриппа, дифтерии, коклюша, туберкулеза, кори, легочной чумы и др. Бактерии в виде высушенных частиц размером от 1 до 100 мкм могут быть в пыли.

Санитарно-показательными микроорганизмами воздуха больничных помещений являются β - и α -гемолитические стафилококки и стрептококки. Они могут быть причиной гнойно-воспалительных заболеваний при попадании в открытую рану, поэтому в операционных, перевязочных, родовых залах, реанимационных палатах гноеродной микрофлоры не должно быть.

Санитарно-гигиеническое исследование воздуха проводится при помощи седиментационных (естественная седиментация) и аспирационных (принудительная седиментация) методов и включает определение общего количества микробов в 1 м^3 и выявление патогенных гемолитических стафилококков и стрептококков. С помощью седиментационного метода (метод Коха) можно получить общее представление о встречающихся в воздухе микроорганизмах. Аспирационные методы дают возможность определить не только качественное, но и количественное содержание бактерий в определенном объеме воздуха.

Микрофлора почвы. Почва заселена разнообразными микробами, которые участвуют в процессах почвообразования и самоочищения почвы, кругооборота в природе азота, углерода и т.д. В почве обитают бактерии, грибы, простейшие и лишайники. Численность бактерий в почве 10 миллиардов клеток в 1 г. На поверхности почвы микроорганизмов относительно мало, т.к. на них губительно действуют УФ - лучи и высушивание. Наибольшее число микроорганизмов содержится в верхнем слое почвы толщиной до 10 см. По мере углубления в почву количество микроорганизмов уменьшается, и на глубине 3-4 м они практически отсутствуют. Состав микрофлоры почвы зависит от ее типа и состояния; состава растительности, температуры, влажности и т.д. Большинство почвенных микроорганизмов способны развиваться при нейтральном значении рН, высокой относительной влажности и температуре 25-45°C.

В почве живут азотфиксирующие бактерии, способные усваивать молекулярный азот (азотобактерии, микобактерии и азотфиксирующие). Разновидности цианобактерий или сине-зеленых водорослей применяют для повышения плодородности рисовых полей. Почва является местом сосредоточения спорообразующих палочек родов *Bacillus*, *Clostridium*. Непатогенные бациллы (*B. megaterium*, *B. subtilis*) наряду с псевдомонадами, протеями и некоторыми другими являются аммонифицирующими, составляют группу гнилостных бактерий, которые осуществляют минерализацию органических веществ. Патогенные спорообразующие палочки (возбудители сибирской язвы, ботулизма, столбняка, газовой гангрены) способны длительно сохраняться и даже размножаться в почве.

Кишечные бактерии (кишечная палочка, возбудители брюшного тифа, сальмонеллез, дизентерии) могут попадать в почву с фекалиями, однако здесь отсутствуют условия для их размножения и они постепенно отмирают. В чистых почвах кишечная палочка и протей встречаются редко, обнаружение этих бактерий является показателем загрязнения почвы фекалиями человека и животных и свидетельствует об ее санитарно-эпидемиологическом неблагополучии в плане передачи возбудителей кишечных инфекций. В почве находятся также многочисленные грибы. Они участвуют в почвообразовательных процессах, превращении азота, выделяют биологически активные вещества, и том числе антибиотики и токсины. Количество простейших в почве колеблется от 500 до 500 тысяч на 1 г. Питаясь бактериями и органическими остатками, простейшие вызывают изменения в составе органических веществ почвы.

Методы определения санитарно-показательных микроорганизмов воды, воздуха и почвы

Санитарно-бактериологическое исследование воды. Отбор проб воды. Точность результатов исследования воды зависит от способов отбора, хранения и перевозки проб воды в лабораторию для исследования, а также качества питательных сред, используемых при исследовании (рис. 1).

Отбор проб воды производится специально подготовленным лицом (выемщиком проб, лаборантом или помощником санитарного врача) в присутствии представителя организации или учреждения, в ведении которого находится исследуемый водисточник или водопроводное сооружение.

О выемке составляется акт, в котором указывают местонахождение и наименование сооружения, точки забора и дают краткую характеристику источника или сооружения. Указывают, по чьему заданию производится исследование, цель последнего, время забора (дата и час), должность и фамилия выемщика проб. Для отбора проб воды используют специально предназначенную для этих целей одноразовую посуду или емкости многократного применения, изготовленные из материалов, не влияющих на жизнедеятельность микроорганизмов. Для этой цели используют емкости объемом 500 мл. Горлышко этой посуды должно быть заткнуто силиконовой, резиновой пробкой, обернуто бумажным колпачком и обвязано суровой ниткой. К колпачку привязывают стерильную корковую пробку, завернутую в бумагу. Сосуд, в который



Рис. 1. Санитарно-бактериологическое исследование воды

предстоит собрать пробу хлорированной воды, должен содержать 2 мл 1,5% стерильного водного раствора гипосульфита (дехлоратора). На сосуд наклеивают этикетку с указанием номера пробы или же надписывают номер карандашом по стеклу. Для перевозки в лабораторию посуду с пробами устанавливают в ящики типа контейнера, где температура должна поддерживаться в пределах 1-5°. Во время перевозки пробы следует предохранять от резких толчков, опрокидывания и замачивания пробок. В лабораторию они должны быть доставлены через такой промежуток времени, который позволил бы посеять воду не позднее чем через 2 часа с момента ее отбора,

Определение микробного числа. Водопроводную воду засевают в объеме 1 мл, воду открытых водоемов – в объемах 1; 0,1 и 0,01 мл. Все пробы вносят в стерильные чашки Петри, после чего их заливают 10-12 мл расплавленного и остуженного до 45-50°C питательного агара, который тщательно перемешивают с водой. Посевы инкубируют при 37°C в течение 1-2 суток. Воду из открытых водоемов засевают параллельно на две серии чашек, одну из которых инкубируют при 37°C в течение 1 сут, а другую – 2 сут при 20°C.

Затем подсчитывают количество выросших на поверхности и в глубине среды колоний и вычисляют микробное число воды - количество микроорганизмов в 1 мл (рис. 2).

Определение коли-титра и коли-индекса воды. Показателями фекального загрязнения воды являются все разновидности кишечной палочки, обладающие следующими свойствами: граммотрицательная, неспороносная, короткая палочка, дающая на среде Эндо рост темно-красных с металлическим блеском или без него, розовых с темным центром или же бесцветных прозрачных колоний и сбрасывающая глюкозу при 43 - 45° в течение 24 часов с образованием кислоты и газа.

БГКП выявляют: 1) методом титрования (бродильный метод); 2) методом мембранных фильтров с целью определения коли-индекса и коли-титра воды.

- Коли-титр воды - это ее наименьшее количество, в котором обнаруживается одна бактерия группы кишечных палочек (БГКП).
- Коли-индекс - количество БГКП в 1 л исследуемой воды.



Рис. 2. Определение общего микробного числа

Метод титрования. Производят посев различных объемов воды в глюкозо-пептонную среду Эйкмана (1% пептонная вода, 0,5% раствор глюкозы, 0,5% раствор хлорида натрия, индикатор Андрее и поплавок), причем для посевов больших количеств воды (100 и 10 мл) используют концентрированную среду, содержащую 10-ти кратные количества указанных веществ. Для исследования водопроводной воды делают посева трех объемов по 100 мл, трех объемов по 10 мл и трех объемов по 1 мл. Посевы инкубируют в течение 24 часов при 37°C. В случае положительного результата определяют помутнение среды, изменение цвета (с желтого на розовый), появление газа в поплавке. Из положительных проб делают посев на среду Эндо. Из выросших колоний делают мазки, окрашивают по методу Грама и ставят оксидазный тест, позволяющий дифференцировать бактерии родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* (БГКП) от оксидазоположительных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*. При постановке оксидазного теста оксидазоотрицательные микроорганизмы не изменяют цвет тестовых полосок, а оксидазоположительные меняют цвет тест-полоски на синий. Коли-титр и коли-индекс определяется с помощью статистической таблицы (см. рабочую тетрадь).

Метод мембранных фильтров

Метод мембранных фильтров — фильтрование воды через *мембранные фильтры* с последующим их инкубированием при 37°C на фуксин-сульфитной среде (Эндо) и подсчетом колоний, типичных для группы кишечной палочки. Результаты анализа выражаются в виде коли-индекса, т. е. количества кишечных палочек, содержащихся в 1 л воды.

Для выполнения анализа воды **методом мембранных фильтров** (рис. 3) необходимо иметь фильтровальный аппарат.

Мембранный фильтр помещают в воронку Зейтца, вмонтированную в колбу Бунзена, которая присоединяется к вакуумному насосу.

Мембранные фильтры предварительно стерилизуют кипячением в дистиллированной воде. Чистую воду открытого водоема фильтруют в объеме 100, 10, 1,0 и 0,1 мл, более загрязненную перед фильтрованием разводят стерильной водой.

Стерилизация мембранного фильтра и фильтрация исследуемого образца воды через стерильный бактериальный фильтр

Наложение бактериального фильтра на поверхность среды Эндо.

Инкубация 37°C в течение 24 ч.

Подсчет ярко-малиновых колоний с характерным металлическим блеском, содержащих одиночные грам-, оксидаза- палочки.

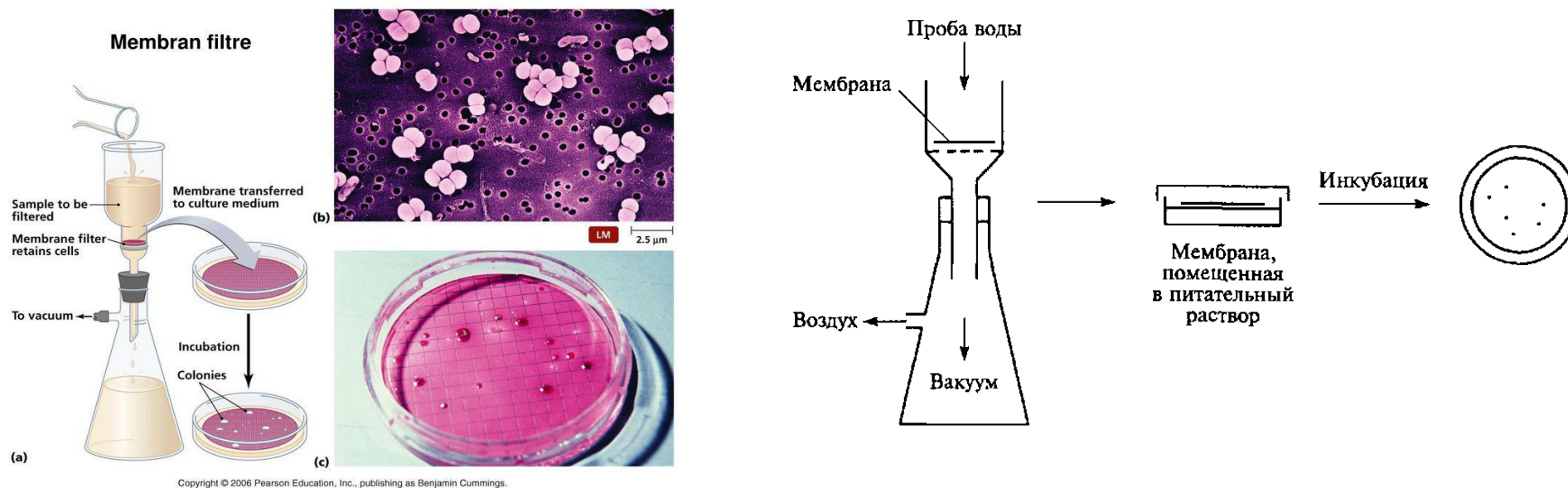


Рис. 3. Метод мембранных фильтров

После окончания фильтрации фильтр стерильным пинцетом накладывают нижней стороной на поверхность среды Эндо в чашке Петри, избегая при этом образования пузырьков между средой и фильтром. После суточной инкубации при температуре 37°C подсчитывают количество колоний, выросших на мембранном фильтре типичных для БГКП. Из 2-3 колоний ярко-малинового цвета с характерным металлическим блеском готовят мазки, окрашивают по методу Грама и определяют оксидазную активность. БГКП представлены грамтрицательными одиночными палочками, не обладающими оксидазной активностью. Пересчетом этого числа на количество БГКП в 1 л воды определяют коли-индекс. Коли-титр вычисляют делением 1000 на число, выражающее, коли-индекс (коли-титр=1000/коли-индекс). Например, если коли-индекс равен 10, то коли-титр равен $1000:10=100$ мл.

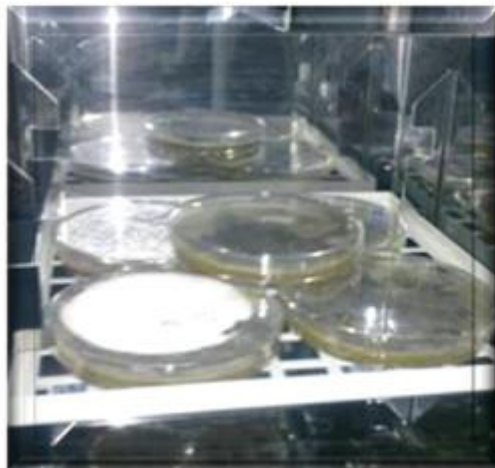
Нормативы питьевой воды (ГОСТ 2874-82) – МИКРОБНОЕ ЧИСЛО НЕ БОЛЕЕ 100 в 1 МЛ, ЧИСЛО БГКП (БАКТЕРИЙ ГРУППЫ КИШЕЧНЫХ ПАЛОЧЕК) В 1 Л ВОДЫ (коли-индекс) НЕ БОЛЕЕ 3 и (коли-титр) НЕ МЕНЕЕ 333 МЛ.

Санитарно-бактериологическое исследование воздуха. Количественные микробиологические методы исследования воздуха основаны на принципах осаждения (седиментации), аспирации или фильтрации.

Метод седиментации (метод Коха). Основан на оседании бактериальных частиц под влиянием силы тяжести на поверхности агара открытой чашки Петри (рис. 4). Для проведения метода Коха две чашки Петри с питательным агаром оставляют открытыми в течение 60 минут, после чего посевы инкубируют в термостате при 37°C.

Результаты оценивают по суммарному числу колоний, выросших на обеих чашках: при наличии менее 250 колоний воздух считается чистым, 250-500 колоний свидетельствует о загрязнении средней степени, при количестве колонии более 500 – загрязненным. Для обнаружения определенных видов микроорганизмов могут быть использованы специальные питательные среды: кровяной агар (гемолитические стафилококки и стрептококки), ЖСА (золотистый стафилококк). Однако метод оседания не дает полного количественного представления о микрофлоре воздуха, так как на открытых чашках плохо улавливаются тонкодисперсные фракции бактериальных капель и пылевых частиц. Поэтому метод оседания может быть использован в тех случаях, когда отсутствуют другие, более совершенные приборы и методы.

**Седиментационный метод
(метод Коха)**



Аспирационный метод



Рис. 4. Метод седиментации

Аспирационный метод основан на ударном действии воздушной струи о поверхность питательной среды. Это более точный количественный метод определения микробного числа воздуха. Для исследования воздуха этим методом применяют аспирационный прибор Кротова. Аппарат Кротова устроен таким образом, что воздух с заданной скоростью засасывается через узкую щель плекигласовой пластины, закрывающей чашку Петри с питательным агаром. Воздух в количестве 50—100 л пропускают со скоростью 25 л в минуту над открытой чашкой с мясо-пептонным агаром или со специальной средой. Вращение столика с чашкой Петри обеспечивает равномерное распределение микроорганизмов по всей поверхности питательной среды. К концу заданного времени чашку с посевом воздуха снимают, закрывают ее и помещают в термостат. После инкубации посева в термостате проводят расчет микробного числа по формуле: $ОМЧ = A \times 1000/V$, где A – количество выросших колоний на чашке, V – объем пропущенного через прибор воздуха, л, 1000 – стандартный объем воздуха в литрах. Допустим, на чашке при подсчете обнаружено 250 колоний, воздух пропускали 2 минуты со скоростью 25 л в минуту. Всего было пропущено 50 л воздуха. $ОМЧ = 250 \times 1000/50 = 5000$ (дм³).

Санитарно-бактериологическое исследование почвы. Отбор проб почвы. Почву берут на глубине 10-15 см стерильным ножом (из разных мест исследуемой территории не менее 10 проб) по принципу почтового конверта и помещают в стерильную банку. Из проб готовят навеску (30 г), которую вносят в колбу с водой (270 мл) и тщательно встряхивают. Из полученной суспензии готовят разведения 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Из двух последних разведений берут по 0,1 мл и смешивают с 4,0 мл 0,7% расплавленного и остуженного до 45°С питательного агара, после чего выливают вторым слоем в чашки Петри с 2% питательным агаром. Посевы инкубируют при 37°С, затем подсчитывают количество выросших колоний и определяют микробное число.

Определение общего числа бактерий. Из каждой пробы почвы должно быть использовано для посева не менее двух различных разведений в зависимости от степени предполагаемого загрязнения исследуемой почвы. Перед посевом каждое разведение в пробирках тщательно перемешивают стерильной пипеткой, после чего из него отбирают 1 мл суспензии и переносят на дно стерильной чашки Петри под слегка приподнятую крышку (рис 5).

Из каждого разведения должен быть сделан одновременно посев минимум в 2 чашки. После посева в каждую чашку вливают 15 мл предварительно расплавленного и остуженного до 45° питательного агара.



Рис. 5. Метод посева

Расплавленный агар в чашках Петри хорошо перемешивают с имеющейся в них взвесью почвы, осторожно наклоняя чашку во все стороны для равномерного распределения питательной среды по дну чашки Петри, последнюю ставят на горизонтальную поверхность до застывания агара. На крышке чашки отмечают номер пробы и разведение.

После застывания агара, чашки с посевом в перевернутом виде (крышкой вниз) помещают на 48 часов в термостат, настроенный на 28-30°C. Если выращивание производят при более низкой температуре, например 22°C, срок инкубации должен быть увеличен до 72 часов. После инкубации посевов подсчитывают количество выросших колоний. Для подсчета бактерий необходимо брать такие разведения, при которых на чашках вырастает от 50 до 150 колоний. Если на чашках выросло больше 150 колоний и нет других разведений, допускается подсчет колоний на 1/4 чашки с пересчетом на всю ее площадь. Из суммы колоний, выросших на 2 чашках, выводят среднеарифметическое число и затем пересчитывают число колоний на 1 г почвы.

Пример. Посеян 1 мл почвенной суспензии из разведения 1:10000. На всей площади чашки выросло 80 колоний. Это число надо умножить на степень разведения (10000). Получаем, что в 1 г почвы содержится 800 000 бактерий (8×10^5). Санитарное значение числа сапрофитных бактерий в почве нельзя рассматривать без учета особенностей типа почвы.

Оценку санитарного состояния почвы производят по комплексу показателей, из которых наиболее важным является установление степени фекального загрязнения. Результаты бактериологического исследования почвы выражаются коли-титром, перфрингенс-титром и титром термофильных бактерий почвы.

Определение коли-титра, перфрингенс-титра и титра термофильных бактерий почвы. Различные разведения почвенной суспензии засевают по 1 мл в пробирки со средой Кесслера (1% пептон, 5% желчь, 0,25% лактоза, генциан виолет для подавления грамположительной флоры) и инкубируют при 43°C в течение 48 часов. В дальнейшем анализ проводят по схеме, применяемой при определении коли-титра воды. Для определения перфрингенс-титра различные разведения почвенной суспензии засевают в пробирки со стерильным обезжиренным молоком или железно-сульфитный агар (среда Вильсона—Блера). Посевы инкубируют при 43°C в течение 24-48 ч, после чего учитывают результаты по свертыванию молока или по образованию черных колоний *S. perfringens* в агаровом столбике среды Вильсона-Блера. Из колоний делают мазки, окрашивают по Граму и вычисляют перфрингенс-титр (рис. 6).

Для определения титра термофильных бактерий разведения почвенной суспензии по 1 мл вносят в чашки Петри, заливают расплавленным и охлажденным питательным агаром. Посевы инкубируют в течение суток при 60°C, а затем подсчитывают количество выросших колоний и пересчитывают на 1 г почвы.

Таблица. Основные микробиологические показатели состояния почвы

| Характеристика почвы | Коли-титр | Перфрингенс-титр | Количество термофильных бактерий в 1 г почвы |
|----------------------|--------------|------------------|----------------------------------------------|
| Чистая | 1,0 и выше | 0,01 и выше | 10^2 - 10^3 |
| Загрязненная | 0,9-0,01 | 0,009-0,0001 | От 10^3 до 10^5 |
| Сильно загрязненная | 0,009 и ниже | 0,00009 и ниже | От 10^5 до 4×10^6 |



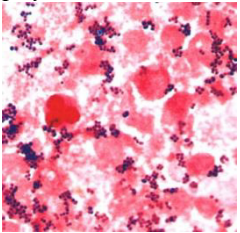

Рис. 6. Перфрингенс-титр


Практическая работа №7 Устойчивость микроорганизмов

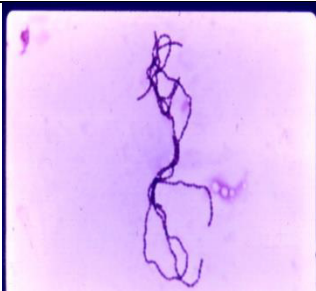
Цель работы: изучить устойчивость микроорганизмов к действию антимикробных средств; знать методы изучения чувствительности микроорганизмов к антимикробным агентам.

Ход работы

Задание №1 Охарактеризовать устойчивость микроорганизмов к действию антимикробных средств.

| Вид возбудителя | Антибиотик | Метод определения чувствительности | Результат чувствительности |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Золотистый стафилококк <i>Staphylococcus aureus</i></p>  <p>а)</p>  <p>б)</p> <p>Стафилококк - <i>Staphylococcus aureus</i>. а – мазок из исследуемого материала, б - мазок из чистой культуры. Окраска по Граму. Скопления кокков в виде гроздьев винограда. x900.</p> | <p>Пенициллин</p> | <p>В пробирки разливают стерильный мясо-пептонный бульон (МПБ) по 1 мл. Добавляют исследуемый антибиотик в различных концентрациях: от 1 ед/мл до 128 ед/мл. Заливают в пробирки 18-часовую бульонную культуру стафилококка по 1 мл. Инкубируют посевы в термостате 24 часа.</p> <p>Через сутки учитывают результаты опыта:</p> <p>а) Определяют минимальную подавляющую (бактериостатическую) концентрацию антибиотика (МПК). За нее принимают наименьшую концентрацию антибиотика, при которой не происходит размножение бактерий, и содержимое пробирки остается прозрачным.</p> <p>б) Определяют минимальную бактерицидную концентрацию антибиотика (МБК). Для этого из пробирок с отсутствием видимого роста и из пробирки с минимальной концентрацией антибиотика, где рост есть (контроль), производят высев секторами на мясо-пептонный агар в чашки Петри. На секторах обозначают концентрацию антибиотика, из которой сделан высев. Чашки относят в термостат на 18-24 часа.</p> | <p>Через сутки просматривают чашки и определяют МБК по отсутствию роста бактерий на агаре в соответствующих секторах.</p> <p>Многие штаммы чувствительны к антибиотикам – бензилпенициллину, полусинтетическим пенициллинам, стрептомицину, левомецетину, тетрациклину, фузидину и другим, а также нитрофурановым препаратам. Однако довольно часто встречаются и резистентные к антибиотикам штаммы. Они, как правило, характеризуются множественной лекарственной устойчивостью, которая контролируется R-плазмидой и может распространяться путем трансдукции.</p> <p>Стафилококки, синтезирующие</p> |

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | <p>пенициллиназу (β-лактамазу), способны разрушать некоторые пенициллины.</p> <p>Оценка антибиотикочувствительности <i>Staphylococcus</i> spp. к β-лактамам основывается на двух тестах:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Оценка чувствительности к бензилпенициллину (детекции продукции β-лактамаз); 2) Оценка чувствительности к оксациллину (детекции ПСБ2а или кодирующего его гена <i>tec A</i>). |
| <p>Стрептококк <i>Streptococcus pyogenes</i> возбудитель специфической стрептококковой инфекции.</p>  <p>а)</p> | <p>Пенициллин</p> | <p>Исследуемый материал засевают на кровяной МПА в чашках Петри. После выращивания в термостате при 37⁰ С в течение суток учитывают характер роста колоний (колонии очень мелкие, величиной с булавочную головку, круглые, мутноватые, матовые). Слизистые колонии типичны для свежевыделенных штаммов, стрептококка, матовые – для вирулентных стрептококков с высоким содержанием М-протеина, блестящие – для невирулентных штаммов. На кровяном МПА стрептококки вызывают α-гемолиз (зеленоватая зона вокруг колоний) или β-гемолиз (полностью прозрачная зона гемолиза). Негемолитические стрептококки обычно непатогенны. Из типичных для стрептококка колоний готовят мазок в окраске по Граму и после микроскопии (<i>Streptococcus pyogenes</i> окрашивается по Граму положительно, располагается в виде цепочек) делают пересев в</p> | <p>Стрептококки чувствительны к пенициллину, устойчивость к пенициллину у них возникает очень редко. К другим же антибиотикам и сульфаниламидам у стрептококков часто развивается резистентность. Чувствительны к дезинфицирующим веществам: например, в 3% феноле они погибают через 15 минут.</p> |




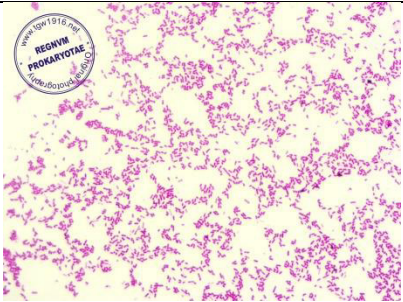
б)

Стрептококк
Streptococcus pyogenes
 а – мазок из исследуемого материала, б - мазок из чистой культуры. Окраска по Граму. Грамположительные кокки, расположенные в виде цепочек. х900.

пробирки с сахарным МПБ и кровяным МПА. На 3 день учитывают характер роста (на сахарном МПБ рост стрептококка в виде придонно-пристеночного осадка, сама среда прозрачна), готовят мазок в окраске по Граму и проводят идентификацию выделенной культуры стрептококка по антигенным свойствам. Серогруппу стрептококков определяют в реакциях преципитации, латекс-агглютинации или коагглютинации с целью выявления группоспецифического полисахаридного антигена А, используя группоспецифические сыворотки (обычно групп А, В, С, F, G). Большинство патогенных для человека стрептококков являются β-гемолитическими и относятся к группе А. Серовар выделенной культуры стрептококка выявляют с помощью реакции агглютинации (выявление типового протеинового антигена М, по которому выделяют около 100 сероваров) с типоспецифическими стрептококковыми сыворотками.

Для идентификации β-гемолитических стрептококков применяют PYR-тест (на пирролидониламидопептидазу), CAMP-тест (на белок синергидного гемолиза), тест Фогес-Проскауэра (на образование ацетоина), чувствительность к бацитрацину (0,04 ЕД на диск), галотолерантность (рост в присутствии 6,5% хлорида натрия), гидролиз гиппурата натрия, ферментацию трегалозы, сорбита и т.д. α-гемолитические стрептококки идентифицируют, используя тесты на чувствительность к желчи, оптохину, на гидролиз эскулина и т.д. (табл. 3).
 PYR -тест. В МПБ, содержащий 0,01 % L-пирролидонил- β –нафтиламин, вносят петлю агаровой культуры стрептококка, инкубируют при

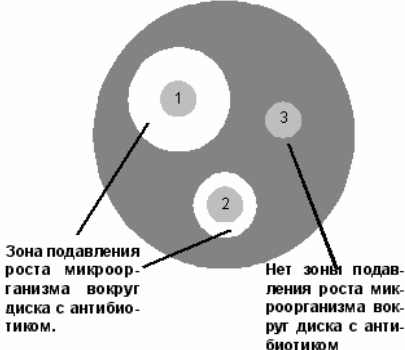

| | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | 37 ⁰ С в течение 4 ч. Положительная реакция характеризуется появлением ярко-красного окрашивания после внесения 1 капли специального реактива. | |
| <p>Синегнойная палочка <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Возбудителей нозокомиальных инфекций, выделяет токсины: эндотоксин – развитие лихорадки; экзотоксин А – цитотоксин, вызывает нарушения клеточного метаболизма; экзоэнзим S; лейкоцидин – токсическое действие на гранулоциты крови.</p>  | <p>Наиболее активными в отношении <i>P.aeruginosa</i> являлись амикацин (резистентность 6,7%) и цефтазидим (резистентность 11,2%), меропенем (резистентность 3%).</p> | <p>Для выделения культуры синегнойной палочки (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) исследуемый материал засевают в чашки Петри на МПА или на селективную среду - ЦПХ-агар с цитилпиридиний хлоридом, ингибирующим рост сопутствующей микрофлоры. Посевы инкубируют при 37⁰ С в течение суток. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> образует круглые, плоские, слизистые колонии. Среда окрашивается в сине-зеленый цвет в результате выработки водорастворимого пигмента – пиоцианина. Палочки окрашиваются по Граму отрицательно, подвижны. Идентификация культур <i>P.aeruginosa</i> проводится по биохимическим свойствам и образованию пигмента.</p> <p>Для эпидемиологического анализа госпитальных инфекций определяют серовары <i>Pseudomonas aeruginosa</i> с помощью реакции агглютинации, а также пиоциновары и фаговары.</p> <p>Выделение энтеробактерий осуществляется путем посева исследуемого материала на одну из дифференциально-диагностических сред для энтеробактерий (Эндо или Левина) с последующим выделением чистых культур и их идентификацией с помощью общепринятых методов. Для выделения бактерий рода <i>Proteus</i> применяют метод Шукевича (посев в конденсационную воду скошенного МПА).</p> | <p>Резистентность: условия почти полного отсутствия источников питания; сохраняется в воде. Чувствительна к высушиванию, высокая устойчивость к антибиотикам. Устойчивость к антибиотикам была самая высокая*.</p> |

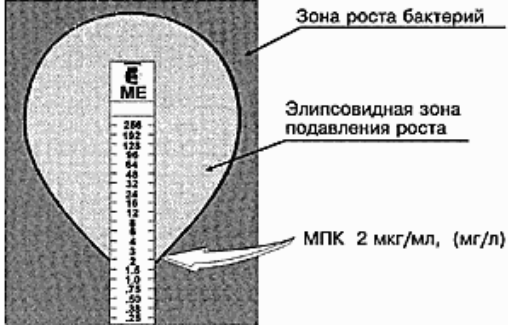
| | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
|  | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|

*** Антибактериальная терапия нозокомиальных инфекций установленной этиологии**

| Микроорганизм | Препараты выбора | | Альтернативные препараты |
|---------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Монотерапия | комбинации | |
| <i>P.aeruginosa</i> | Цефтазидим Цефепим Ципрофлоксацин | Цефтазидим + аминогликозиды Цефепим + аминогликозиды Ципрофлоксацин + аминогликозиды | Антисинегнойные пенициллины (за исключением ОРИТ), азтреонам или карбапенемы + аминогликозиды |

Задание №2 Объяснить сущность методов изучения чувствительности микроорганизмов к антимикробным агентам.

| Метод | Сущность метода | Результат наблюдения |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>1. Определение чувствительности к антибиотикам методом бумажных дисков.</p>  <p>Зона подавления роста микроорганизма вокруг диска с антибиотиком.</p> <p>Нет зоны подавления роста микроорганизма вокруг диска с антибиотиком.</p> <p><i>Рис. 1. Определение чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом:</i> 1-микроорганизм чувствителен к антибиотику; 2-микроорганизм умеренно резистентен к антибиотику; 3-микроорганизм устойчив к антибиотику.</p> | <p>Основан на диффузии антибиотика в питательную среду.</p> <p>На поверхность плотной питательной среды, засеянной сплошным газоном исследуемой культурой, накладывают не более 6 дисков, пропитанных антибиотиками, на расстоянии не менее 2 см друг от друга.</p> | <p>Регистрация результатов проводится через 18-24 часов инкубирования в термостате по диаметру зоны отсутствия роста вокруг дисков с антибиотиками. Наличие роста вокруг диска свидетельствует о нечувствительности данного микроба к антибиотику.</p> |
| <p>2. Метод серийных разведений антибиотика в жидкой питательной среде.</p>  <p>Концентрация антибиотика (мг/л)</p> <p>Контроль</p> <p>0 0,25 0,5 1 2 4 8 16 32</p> <p>Рост микроорганизма</p> <p>МПК</p> <p>Роста нет</p> <p><i>Рис. 2. Определение значения МПК методом разведения в жидкой питательной среде</i> Минимальная подавляющая концентрация (МПК) –</p> | <p>Позволяет путем определения минимальной ингибирующей концентрации антибиотика количественно охарактеризовать его активность в отношении исследуемых микроорганизмов.</p> <p>В пробирках, содержащих 1 мл Мюллер-Хинтон бульона, готовят серийные двукратные разведения антибактериального препарата, например 100 мкг/мл – 1-я, 50 мкг/мл – 2-я, 25 мкг/мл – 3-я, 12,5 мкг/мл – 4-я и т.д. Затем в каждую пробирку вносят 0,1 мл испытуемой бактериальной суспензии. Одновременно ставят контроль роста (1 мл Мюллер-Хинтон бульона и 0,1 мл суспензии бактерий). Посевы инкубируют при 37°С в течение 18-24 ч., после чего отмечают результаты.</p> | <p>Отсутствие помутнения среды свидетельствует о задержке роста бактерий в присутствии данной концентрации препарата.</p> |

| | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>наименьшая концентрация антибиотика (в мкг/мл или мг/л), которая <i>in vitro</i> полностью подавляет видимый рост бактерий.</p> | | |
| <p>3. Метод серийных разведений антибиотика в агаризированной среде.</p> | <p>Удобен тем, что позволяет в одном опыте проверить чувствительность к данному антибиотику нескольких микроорганизмов.</p> | |
| <p>4. Метод E-тестов.</p>  <p>Рис. 3. Определение чувствительности микроорганизмов с помощью E-тестов</p> | <p>Определение чувствительности микроорганизма проводится аналогично тестированию диско-диффузионным методом. Отличие состоит в том, что вместо диска с антибиотиком используют полоску E-теста, содержащую градиент концентраций антибиотика от максимальной к минимальной.</p> | <p>В месте пересечения эллипсоидной зоны подавления роста с полоской E-теста получают значение минимальной подавляющей концентрации (МПК).</p> |

Задание №3 Определение чувствительности разных штаммов стафилококков к антибиотикам диско-диффузионным методом.

| Вариант | Антибиотик | Клинико-фармакологическая группа | Зона подавления роста, мм | Характеристика подавляемого штамма | Характеристика устойчивого штамма |
|---------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| I | 1.Амоксициллин: антибиотик, пенициллин полусинтетический. | Антибиотик группы пеницилинов широкого спектра действия, разрушающийся пенициллиназой. | При определении чувствительности ДДМ роящихся штаммов протей, зона подавления роста может быть затянута тонкой втулеобразной пленкой, которая не мешает установлению границы зоны и не | Активен в отношении аэробных грамположительных бактерий: Staphylococcus spp. (за исключением штаммов, продуцирующих пенициллиназу), | К амоксициллину устойчивы микроорганизмы, продуцирующие пенициллиназу. |

| | | | | | |
|------------|--------------|--|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| | | | учитывается при регистрации результатов. | Streptococcus spp.; аэробных грамотрицательных бактерий: Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Escherichia coli, Shigella spp., Salmonella spp., Klebsiella spp. | |
| | 2.Амоксиклав | | | | |
| II | 3. | | | | |
| | 4. | | | | |
| III | 5. | | | | |
| | 6. | | | | |

Исследуемая культура Staphylococcus является чувствительной к _____
умеренно устойчивой к _____,
устойчивой к _____.

Достоинства метода: _____

Недостатки метода: _____

Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) пенициллина методом серийных разведений.

Вывод: МПК пенициллина для исследуемого штамма составляет _____

Достоинства метода: _____

Недостатки метода: _____

Задание №4 Выявление и регистрация антагонистического действия разных видов бактерий.

На чашку с МПА штрихом по диаметру засеваются микроб-антагонист и перпендикулярно к нему тест-штаммы.

Учет результатов проводится через сутки после посева. Наличие и степень антагонистического действия определяют по величине зон задержки роста тест-культур.

Штриховой посев _____

Вывод: наибольшее антагонистическое действие выявлено к тест-штаммам (укажите виды).

ПРИЛОЖЕНИЕ

Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам

Для определения чувствительности бактерий к антибиотикам (антибиотикограмма) обычно применяют:

- методы диффузии в агар. На агаризованную питательную среду засевают исследуемую чистую культуру микроба, а затем вносят антибиотики. Обычно препараты вносят или в специальные лунки в агаре (количественный метод), или на поверхности посева раскладывают диски с антибиотиками (метод дисков - качественный метод). Результаты учитывают через сутки по наличию или отсутствию роста микробов вокруг лунок (дисков);

- методы определения минимальных ингибирующих (МИК) и бактерицидных (МБК) концентраций, т.е. минимальный уровень антибиотика, который позволяет *in vitro* предотвратить видимый рост микробов в питательной среде или полностью ее стерилизует. Это количественные методы, которые позволяют рассчитать дозу препарата, так как при лечении концентрация антибиотика в крови должна быть значительно выше МИК для возбудителя инфекции. Введение адекватных доз препарата необходимо для эффективного лечения и профилактики формирования устойчивых микробов. Существуют ускоренные способы с применением автоматических анализаторов.

Молекулярно-генетические методы (ПЦР и др.) позволяют исследовать геном микробов и обнаружить в нем гены резистентности.

Для определения чувствительности бактерий к антибиотикам (антибиотикограммы) применяют следующие методы:

1. Метод серийных разведений в жидких средах. В жидкие среды с серийными разведениями антибиотиков вносят исследуемую культуру, инкубируют посева при 37⁰С, и учитывают результаты визуально или нефелометрически. Этот метод позволяет установить минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) препарата для возбудителя. **МИК** соответствует наибольшему разведению препарата, тормозящему рост тест-культуры.

2. Метод серийных разведений в плотных средах. Метод аналогичен предыдущей процедуре, но проводится на плотных питательных средах. При использовании этого метода готовят двойные серийные разведения антибиотика в расплавленном агаре, который затем вносят в чашки Петри и засевают исследуемой культурой. После инкубирования посевов определяют МИК по отсутствию роста на чашках, содержащих наименьшие концентрации препарата.

3. Диффузионные методы. Эти методы менее чувствительны, чем методы стандартных разведений, но проще по выполнению. На практике их применяют чаще.

3.1. **Классический метод.** На питательную среду в чашке Петри наносят исследуемую культуру и равномерно ее распределяют по поверхности среды. В агаре пробивают лунки и в каждую вносят по 0,1 мл раствора исследуемого антибиотика, после чего инкубируют при 37°C. После инкубирования в оптимальных условиях измеряют диаметр зоны подавления роста для каждого препарата.

3.2. **Метод дисков** (стандартный тест, чашечный или кольцевой метод, диско-диффузионный метод). После посева культуры на агар наносят диски из фильтровальной бумаги, пропитанные антибиотиками разной концентрации (используют коммерческие образцы, содержащие определенные концентрации). После инкубации при 37°C определяют диаметры зон торможения роста микроорганизмов и сравнивают с величинами зон задержки роста, указанными в инструкциях, прилагаемых к дискам. Вокруг дисков в зависимости от активности и концентрации антибиотика образуются разной величины зоны задержки роста микроба. Зоны точно измеряют с помощью циркуля и линейки.

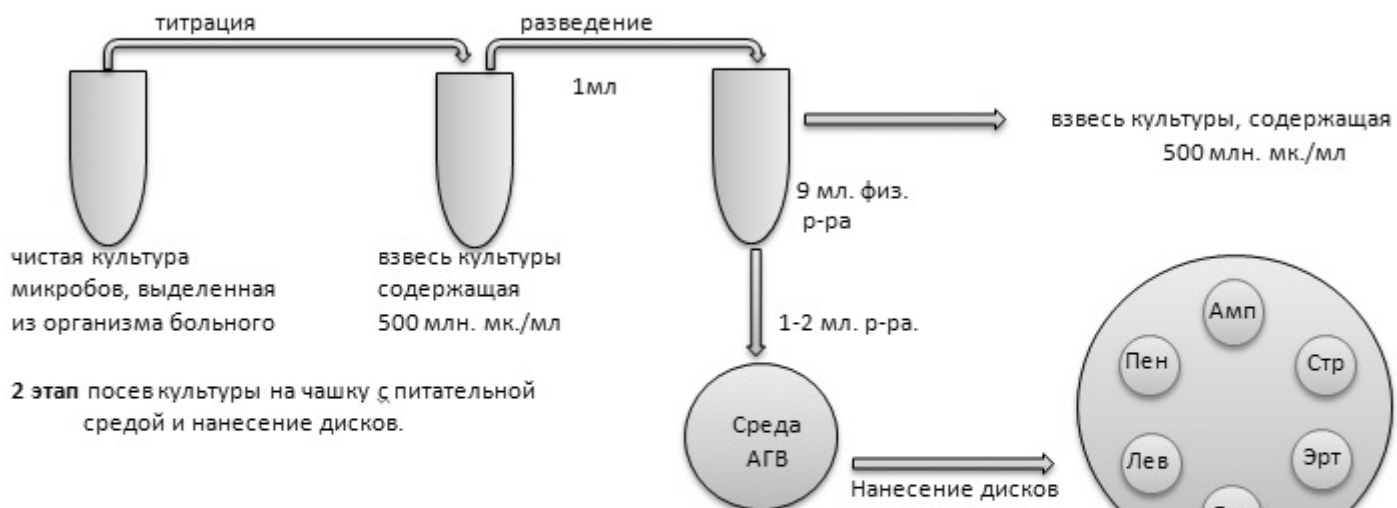
**Чувствительность полевых изолятов *A. pleuropneumoniae*..
к антибактериальным препаратам.**

| № п/п | Антибактериальный препарат | Содержание активного вещества в диске, мкг | Номер изолята и зона задержки его роста, мм | | | | |
|-------|--------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|----|----|----|----|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | Бензилпенициллин | 6 (10 Ед) | 20 | 21 | 17 | 13 | 11 |
| 2 | Ампициллин | 10 | 28 | 23 | 19 | 16 | 14 |
| 3 | Амоксициллин | 2 | 14 | 18 | 20 | 14 | 12 |
| 4 | Амоксиклав | 20/10 | 26 | 25 | 27 | 26 | 24 |
| 5 | Окситетрациклин | 30 | 9 | 14 | 12 | 13 | 12 |
| 6 | Доксициклин | 30 | 9 | 15 | 13 | 14 | 12 |
| 7 | Триметоприм с суфаметоксазолом | 1,25/23,75 | 12 | 25 | 28 | 12 | 15 |
| 8 | Гентамицин | 10 | 14 | 15 | 15 | 15 | 11 |
| 9 | Эритромицин | 15 | 15 | 18 | 14 | 12 | 12 |
| 10 | Азитромицин | 15 | 14 | 25 | 22 | 16 | 12 |
| 11 | Левомецетин | 30 | 27 | 21 | 24 | 20 | 21 |
| 12 | Котримоксазол | 25 | 12 | 22 | 24 | 12 | 14 |
| 13 | Офлоксацин | 5 | 23 | 10 | 31 | 25 | 18 |
| 14 | Норфлоксацин | 10 | 22 | 10 | 30 | 28 | 20 |
| 15 | Энроксил | 5 | 21 | 6 | 26 | 29 | 18 |
| 16 | Левифлоксацин | 5 | 23 | 10 | 24 | 26 | 18 |
| 17 | Флюмеквин | 30 | 21 | 13 | 23 | 21 | 20 |
| 18 | Флорон | 30 | 27 | 26 | 30 | 25 | 26 |

Примечание: диаметр зоны задержки роста 21 и более – микроорганизм высоко чувствителен; зона 16-20 – умеренно чувствителен; зона 11-15 – слабо чувствителен; зона ≤10 – устойчив.

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом дисков

1 этап



2 этап посев культуры на чашку с питательной средой и нанесение дисков.

3 этап



Измерение диаметра зон задержки роста микробов и определение их степени чувствительности по таблице

Таблица 2. Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *Enterobacteriaceae*: пороговые значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

| Антибактериальные препараты | Содержание в диске, мкг | Диаметр зон подавления роста, мм | | | МПК, мг/л | | |
|-----------------------------|-------------------------|----------------------------------|-------|-----|-----------|-----------|-------|
| | | Р | П | Ч | Р | П | Ч |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| БЕТА-ЛАКТАМЫ | | | | | | | |
| Ампициллин | 10 | ≤13 | 14–16 | ≥17 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Ампициллин/сульбактам | 10/10 | ≤11 | 12–14 | ≥15 | ≥32/16 | 16/8 | ≤8/4 |
| Амоксициллин/клавуланат | 20/10 | ≤13 | 14–17 | ≥18 | ≥32/16 | 16/8 | ≤8/4 |
| Тикарциллин/клавуланат | 75/10 | ≤14 | 15–19 | ≥20 | ≥128/2 | 32/2–64/2 | ≤16/2 |
| Цефалотин | 30 | ≤14 | 15–17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Цефазолин | 30 | ≤14 | 15–17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Цефаклор | 30 | ≤14 | 15–17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Цефамандол | 30 | ≤14 | 15–17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Цефуроксим Na | 30 | ≤14 | 15–17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Цефуроксим аксетил | 30 | ≤14 | 15–22 | ≥23 | ≥32 | 8–16 | ≤4 |
| Цефокситин | 30 | ≤14 | 15–17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Цефотетан | 30 | ≤12 | 13–15 | ≥16 | ≥64 | 32 | ≤16 |
| Цефметазол | 30 | ≤12 | 13–15 | ≥16 | ≥64 | 32 | ≤16 |
| Цефоперазон | 75 | ≤15 | 16–20 | ≥21 | ≥64 | 32 | ≤16 |
| Цефотаксим | 30 | ≤14 | 15–22 | ≥23 | ≥64 | 16–32 | ≤8 |
| Цефтриаксон | 30 | ≤13 | 14–20 | ≥21 | ≥64 | 16–32 | ≤8 |
| Цефтазидим | 30 | ≤14 | 15–17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Цефиксим | 5 | ≤15 | 16–18 | ≥19 | ≥4 | 2 | ≤1 |
| Цефподоксим | 10 | ≤17 | 18–20 | ≥21 | ≥8 | 4 | ≤2 |
| Цефтибутен | 30 | ≤17 | 18–20 | ≥21 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Цефепим | 30 | ≤14 | 15–17 | ≥18 | ≥32 | 16 | ≤8 |
| Азтреонам | 30 | ≤15 | 16–21 | ≥22 | ≥32 | 16 | ≤8 |

Осложнения антимикробной химиотерапии со стороны макроорганизма

Как всякие лекарственные средства, практически каждая группа антимикробных химиопрепаратов может оказывать побочное действие на макроорганизм и другие лекарственные средства, применяемые у конкретного пациента.

К наиболее частым осложнениям антимикробной химиотерапии относятся:

- дисбиоз (дисбактериоз). Формирование дисбиоза приводит к нарушению функций желудочно-кишечного тракта, развитию авитаминоза, присоединению вторичной инфекции (кандидоз, псевдомембранозный колит, вызванный *C. difficile* и др.). Предупреждение этих осложнений состоит в назначении по возможности препаратов узкого спектра действия, сочетании лечения основного заболевания с противогрибковой терапией (нистатин), витаминотерапией, применением эубиотиков (пре-, про- и синбиотиков) и т.п.;
- отрицательное воздействие на иммунную систему. Наиболее часто развиваются аллергические реакции. Гиперчувствительность может возникнуть как к самому препарату, так и к продуктам его распада, а также комплексу препарата с сывороточными белками. Аллергические реакции развиваются примерно в 10% случаев и проявляются в виде сыпи, зуда, крапивницы, отека Квинке. Относительно редко встречается такая тяжелая форма гиперчувствительности, как анафилактический шок. Это осложнение могут вызывать β -лактам (пенициллины), рифамицины и др. Сульфаниламиды могут вызвать гиперчувствительность замедленного типа. Предупреждение осложнений состоит в тщательном сборе аллергологического анамнеза и назначении препаратов в соответствии с индивидуальной чувствительностью пациента. Известно также, что антибиотики обладают некоторым иммунодепрессивным свойством и могут способствовать развитию вторичного иммунодефицита и ослаблению напряженности иммунитета. Токсическое действие препаратов чаще проявляется при длительном и систематическом применении антимикробных химиотерапевтических препаратов, когда создаются условия для их накопления в организме. Особенно часто такие осложнения бывают, когда мишенью действия препарата являются процессы или структуры, близкие по составу или строению к аналогичным структурам клеток макроорганизма. Токсическому действию антимикробных препаратов особенно подвержены дети, беременные, пациенты с нарушением функций печени, почек. Побочное токсическое влияние может проявляться как нейротоксическое (гликопептиды и аминогликозиды оказывают ототоксическое действие вплоть до полной потери слуха за счет воздействия на слуховой нерв); нефротоксическое (полиены, полипептиды, аминогликозиды, макролиды, гликопептиды, сульфаниламиды); общетоксическое (противогрибковые препараты - полиены, имидазолы); угнетение кроветворения (тетрациклины, сульфаниламиды, лево-мицетин/хлорамфеникол, который содержит нитробензен - супрессор функции костного мозга); тератогенное (аминогликозиды, тетрациклины нарушают развитие костей, хрящей у плода и детей, формирование зубной эмали - коричневая окраска зубов, левомицетин/хлорамфеникол токсичен для новорожденных, у которых ферменты печени не полностью сформированы (синдром «серого ребенка»), хинолоны - действуют на развивающуюся хрящевую и соединительную ткани).

Предупреждение осложнений состоит в отказе от противопоказанных данному пациенту препаратов, контроль за состоянием функций печени, почек и т.п.

Эндотоксический шок (терапевтический) возникает при лечении инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями. Введение антибиотиков вызывает гибель и разрушение клеток и высвобождение больших количеств эндотоксина. Это закономерное явление, которое сопровождается временным ухудшением клинического состояния больного.

Взаимодействие с другими препаратами. Антибиотики могут способствовать потенцированию действия или инактивации других препаратов (например, эритромицин стимулирует выработку ферментов печени, которые начинают ускоренно метаболизировать лекарственные средства разного назначения).

| | | | | | | | | | | |
|----------|------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Анаэробы | Бактероиды | | | | | | | | | |
| Анаэробы | Клостридии | | | | | | | | | |
| АТ* | Микоплазмы | | | | | | | | | |
| АТ* | Рикетсии | | | | | | | | | |
| АТ* | Хламидии | | | | | | | | | |

АТ – атипичные внутриклеточные паразиты; ГМ – Гентамицин; АК – Амикацин; ДЦ – Доксициклин; ЭМ- Эритромицин; АМ – Азитромицин; ЛМ – Линкомицин; ВМ – Ванкомицин; ПМ – Полимиксин В; ХФ – Хлорамфеникол.

Дифференциация основных видов стафилококка

| Признаки | Виды стафилококков | | |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------|-------------------------|
| | <i>S. aureus</i> | <i>S. epidermidis</i> | <i>S. saprophyticus</i> |
| Плазмокоагулаза | + | - | - |
| Лецитиназа | + | - | - |
| Альфа-токсин | + | - | - |
| Анаэробная ферментация глюкозы | + | + | - |
| Анаэробная ферментация маннита | + | - | - |
| Чувствительность к новобиоцину | S | S | R |

Обозначения: (+) – наличие признака; (-) – отсутствие признака; S - чувствительный; R – резистентный.

Самостоятельная работа

Выберите правильные ответы.

I. Макролиды:

1. Эритромицин. 2. Кларитромицин. 3. Азитромицин. 4. Клиндамицин. 5. Рокситромицин.

II. Тетрациклины:

1. Доксициклин. 2. Гентамицин. 3. Метациклин. 4. Тетрациклин. 5. Амикацин.

III. Аминогликозиды:

1. Амикацин. 2. Гентамицин. 3. Метациклин. 4. Неомицин. 5. Стрептомицин.

IV. Линкозамиды:

1. Клиндамицин. 2. Мидекамицин. 3. Рокситромицин. 4. Линкомицин.

V. Нарушают внутриклеточный синтез белка:

1. Цефалоспорины. 2. Макролиды. 3. Тетрациклины. 4. Аминогликозиды. 5. Полимиксины. 6. Левомецетин.

VI. Нарушают проницаемость цитоплазматической мембраны и синтез белка:

1. Азитромицин. 2. Амикацин. 3. Гентамицин. 4. Неомицин. 5. Метациклин.

VII. Полимиксины нарушают:

1. Синтез клеточной стенки бактерий. 2. Внутриклеточный синтез белка. 3. Проницаемость цитоплазматической мембраны. 4. Синтез РНК.

VIII. Бактерицидное действие оказывают:

1. Эритромицин. 2. Амикацин. 3. Хлорамфеникол. 4. Доксициклин. 5. Гентамицин.

IX. Бактериостатическое действие оказывают:

1. Эритромицин. 2. Доксициклин. 3. Хлорамфеникол. 4. Оксициклин. 5. Гентамицин.

X. Антибиотики широкого спектра действия:

1. Эритромицин. 2. Стрептомицин. 3. Доксициклин. 4. Хлорамфеникол. 5. Линкомицин.

XI. Эритромицин:

1. Обладает широким спектром действия. 2. Влияет в основном на грамположительную флору, а также на хламидии, микоплазмы и легионеллы. 3. Действует преимущественно бактериостатически. 4. Действует преимущественно бактерицидно. 5. Устойчивость микроорганизмов развивается медленно. 6. Устойчивость микроорганизмов развивается быстро. 7. Назначают внутрь и местно.

XII. Побочные эффекты эритромицина:

1. Аллергические реакции. 2. Диспептические расстройства. 3. Реакция «обострения». 4. Дисбактериоз. 5. Поражение печени (при длительном применении).

XIII. Что характерно для тетрациклинов:

1. Широкий спектр действия. 2. Влияют в основном на грамотрицательную микрофлору. 3. Действуют бактерицидно. 4. Действуют бактериостатически. 5. Устойчивость микроорганизмов развивается медленно. 6. Устойчивость микроорганизмов развивается быстро.

XIV. Тетрациклин является основным антибиотиком при:

1. Холере. 2. Риккетсиозах. 3. Бруцеллезе. 4. Стафилококковых инфекциях. 5. Сифилисе. 6. Чуме. 7. Туляремии.

XV. Побочные эффекты тетрациклинов:

1. Аллергические реакции. 2. Диспептические расстройства. 3. Реакция обострения. 4. Дисбактериоз. 5. Поражение печени. 6. Снижение слуха.

XVI. Побочные эффекты левомецетина:

1. Аллергические реакции. 2. Агранулоцитоз. 3. Анемия. 4. Поражение печени. 5. Снижение слуха. 6. Диспептические расстройства. 7. Дисбактериоз.

XVII. Антибиотики-аминогликозиды являются основными препаратами при:

1. Туберкулезе. 2. Чуме. 3. Сифилисе. 4. Бруцеллезе. 5. Инфекциях, вызванных синегнойной палочкой и некоторыми формами протей. 6. Газовой гангрене.

XVIII. Побочные эффекты аминогликозидов:

1. Аллергические реакции. 2. Реакция обострения. 3. Поражение печени. 4. Поражение почек. 5. Снижение слуха и вестибулярные нарушения. 6. Дисбактериоз. 7. Блокада нервно-мышечной передачи.

XIX. Полимиксина М сульфат:

1.Обладает широким спектром действия. 2. Влияет в основном на грамотрицательную флору. 3. Действует бактерицидно. 4. Действует бактериостатически. 5.Устойчивость микроорганизмов развивается быстро. 6.Устойчивость микроорганизмов развивается медленно. 7.Назначают внутрь и местно. 8.Применяют парентерально.

XX. Побочные эффекты, возникающие при назначении полимиксина М сульфата внутрь:

1.Поражение почек. 2. Дисбактериоз.3. Поражение печени.

Установите соответствие:

А.

Препараты: Группа антибиотиков.

1) Гентамицин. А) Аминогликозиды.

2) Эритромицин. Б) Линкозамиды.

3) Линкомицин. В) Пенициллины.

4) Ванкомицин. Г) Тетрациклины

Д) Гликопептиды.

Е) Макролиды.

Б.

Препараты: Спектр действия:

1) Бензилпенициллин. А) Преимущ. Грам «+» бактерии.

2) Ампициллин Б) Преимущ. Грам «-» бактерии.

3) Оксациллин В) Широкий.

4) Цефепим.

5) Азтреонам.

В.

Группа антибиотиков: Характер побочных эффектов:

1) Пенициллины. А) Нефротоксичность.

2) Аминогликозиды. Б) Миелотоксичность.

3) Макролиды. В) Аллергические реакции.

4) Тетрациклины. Г) Желудочно-кишечные расстройства.

- 5) Левомецетин. Д) Гепатотоксичность.
- Е) Возбуждение ЦНС.
- Ж) Кардиотоксичность.

Ситуационные задачи

1. У больного с почечной недостаточностью и хроническим сепсисом после внутривенного введения антибиотика развились судороги. Какой антибиотик был введен? Объяснить причину судорог?

2. К врачу обратилась мать ребенка двух лет с жалобами на задержку прорезывания зубов, изменение окраски зубов (зубы имеют желтый цвет и неправильную форму). Из анамнеза выяснилось, что ребенок в грудном возрасте длительно получал внутрь антибиотик в таблетках для лечения кишечной инфекции. Каким антибиотиком лечили ребенка? Какова причина осложнения?

Выписать:

1. Антибиотик из группы макролидов (мазь).
2. Азитромицин.
3. Антибиотик – аминогликозид, вызывающий относительно медленное развитие устойчивости микроорганизмов.
4. Антибиотик – аминогликозид для лечения туберкулеза.
5. Антибиотик из группы тетрациклинов длительного действия.
6. Левомецетин.
7. Антибиотик для лечения чумы и туляремии.
8. Антибиотик для лечения холеры.
9. Антибиотик для лечения бруцеллеза.
10. Антибиотик для лечения брюшного тифа.
11. Антибиотик - аминогликозид, активный в отношении синегнойной палочки.
12. Антибиотик, активный в отношении бактериоидов.

Источник: <https://medlec.org/lek2-7781.html>

Практическая работа №8 Инфекционные заболевания

Цель работы: изучить признаки и течение инфекционных заболеваний. Рассмотреть методы и приемы профилактики инфекционных заболеваний.

Ход работы

Задание №1 Классификация инфекционных заболеваний.

| Тип инфекционного заболевания | Примеры инфекционных заболеваний | Профилактика инфекционного заболевания и эпидемии |
|-------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------|
| Вирусные | | |
| Бактериальные | | |
| Протозойные | | |
| Грибковые | | |
| Прионные | | |

Задание №2 Сопоставьте возбудителя с заболеванием, которое он вызывает.
Оформите таблицу в тетради с правильными ответами.

| Возбудитель | Заболевание | Бактериальное или вирусное |
|------------------|-------------------------|----------------------------|
| Риновирус | Пищевая токсикоинфекция | |
| Клостридии | ОРВИ | |
| Вибрион | Дизентерия | |
| Кишечная палочка | Гангрена | |
| Микобактерия | СПИД | |
| Энтеробактерия | Холера | |
| ВИЧ | Туберкулез | |

Задание №3

| Вариант I | | Вариант II | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Назовите возбудителя инфекционного заболевания соответствующего инфекции, которое он вызывает. Оформите таблицу в тетради с правильными ответами. | | Назовите возбудителя инфекционного заболевания, соответствующего развившейся по его причине эпидемии. Оформите таблицу в тетради с правильными ответами. | |
| Возбудитель инфекционного заболевания | Инфекционное заболевание | Возбудитель инфекционного заболевания | Эпидемия |
| | Кишечные инфекции | | Чума |
| | Инфекции дыхательных путей | | Холера |
| | Кровяные инфекции | | Сыпной тиф |
| | Инфекции наружных покровов | | Оспа |

Задание №4 Решите ситуационную задачу.

| Вариант I | Вариант II |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Какому инфекционному заболеванию соответствует следующее описание: <i>«Острое заболевание, вызываемое бактерией Yersinia pestis. Относится к группе особо опасных карантинных инфекций. Клинически характеризуется синдромом общей инфекционной интоксикации, лихорадкой, поражением лимфоузлов, ретикулоэндотелиальной системы (тканей, богатых макрофагами, например микроглии), лёгких и других тканей человека. Передаётся различными путями, из которых наиболее опасен воздушно-капельный. Без адекватного лечения чума может привести к смерти».</i></p> <p style="text-align: right;">Ответ:.....</p> | <p>Какому инфекционному заболеванию соответствует следующее описание: <i>«Это острое инфекционное диарейное заболевание, которое представляет особую опасность для людей, вызывается Vibrio cholerae . Оно вызывается бактериями Vibrio cholerae. Проникая через рот, бактерии поражают слизистую оболочку кишечника, нарушая работу пищеварительного тракта. При отсутствии адекватного лечения болезнь может в короткие сроки привести к обезвоживанию, появлению судорожного синдрома и смерти»</i></p> <p style="text-align: right;">Ответ:.....</p> |

Контрольные вопросы

| Вариант I | Вариант II |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p style="text-align: center;">Контрольные вопросы</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Приведите примеры бактериальных инфекций. 2. Какие клинические проявления у кори? 3. Какое заболевание вызывает ВИЧ? 4. Какой возбудитель вызывает заболевание дизентерия? 5. Какое заболевание вызывает холерный вибрион? | <p style="text-align: center;">Контрольные вопросы</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Приведите примеры вирусных инфекций. 2. Какие клинические проявления у герпеса? 3. Какое заболевание вызывает COVID? 4. Какой возбудитель вызывает заболевание туберкулеза? 5. Какое заболевание вызывает кишечная палочка? |

Примерные темы для сообщений:

«Этиология бактериальных инфекций», «Этиология вирусных инфекций», «Эпидемии»

ПРИЛОЖЕНИЕ

Неблагоприятная социальная обстановка возникает в результате эпидемий, разрешения социальных, межнациональных и религиозных конфликтов непарламентскими способами, действиями бандформирований и групп, что приводит к нарушению нормальной жизнедеятельности населения, гибели людей, разрушению и уничтожению материальных и культурных ценностей.

Последствия от неблагоприятной социальной обстановки могут быть самыми различными: от возникновения опасных для здоровья условий проживания при эпидемии до разрушений, пожаров, возникновения обширных очагов химического, биологического, радиационного заражения, массовой гибели людей при ведении боевых действий, во время общественных беспорядках, совершенном теракте.

Обеспечение безопасности при эпидемии

Широкое распространение инфекционного (заразного) заболевания, значительно превышающее обычно регистрируемый на данной территории уровень заболеваемости, называется **эпидемией**. Эпидемия возникает, когда возбудитель заболевания распространяется в восприимчивой популяции. На интенсивность эпидемического процесса влияют многие факторы окружающей среды.

Если инфекционное заболевание постоянно возникает у жителей данной местности, то любые вновь прибывшие восприимчивые поселенцы, контактируя с основным населением, вскоре будут заражены, особенно в детском возрасте.

Поскольку в каждый данный момент больна лишь малая часть населения, существенных колебаний при этом не наблюдается, и ее неизменно стабильный уровень позволяет отнести данное инфекционное заболевание к **эндемическим** для населения определенной местности.

Если население какой-либо части света избавлено от контакта с данной инфекцией в течение продолжительного времени, в нем значительно возрастает число лиц, восприимчивых к соответствующему возбудителю. Появившись, инфекция может почти одновременно поразить население обширных зон, вызывая массовые эпидемии. Такое распространение заболевания называют **пандемией**.

В прошлые времена эпидемии чумы, холеры, сыпного тифа, оспы приводили к массовой гибели людей.

Так, в средние века эпидемии чумы были столь опустошительными, что название этого конкретного заболевания в переносном смысле стало синонимом всяческих несчастий.

Следующие одна за другой чумные пандемии XIV века погубили четверть тогдашнего населения Европы. Тщетной оказалась карантинная изоляция путешественников и прибывающих кораблей. Теперь известно, что чума – заболевание диких грызунов, в частности крыс, которое передается блохами. Блохи заражают людей, живущих в непосредственной близости от зараженных крыс – резервуара инфекции. При бубонной чуме передача инфекции от человека к человеку начинается только с развитием у больного крайне заразной легочной формы заболевания. В конце XVII века чума исчезла из Европы. Причины этого пока неизвестны. Предполагается, что с изменением жилищных условий в Европе население стало жить дальше от резервуаров инфекции. Из-за недостатка древесины дома начали строить из кирпича и камня, что в меньшей степени, чем деревянные строения старого типа, подходит для обитания крыс.

В XIX веке в большинстве стран мира встречались холерные пандемии. Так за 1830-1831 годы, по официальным данным, только в России заболело холерой 534 тысячи человек, умерло из которых 230 тысяч. В 1848 году холера убила в России около 700 тысяч человек, в 1871-1872 годах – 240 тысяч, в 1892 году – 300 тысяч. Всего же с 1823 по 1925 годы, по официальным данным, от холеры в России умерло 2 миллиона 300 тысяч человек.

Заболевание сыпным тифом сопряжено с антисанитарными условиями существования, обычно во время войны. Оно известно также как лагерная, тюремная или корабельная лихорадка. Когда в 1909 году французский микробиолог Ш. Николь показал, что сыпной тиф передается от человека к человеку платяными вшами, стала понятной его связь со скученностью проживания и нищетой. Знание пути передачи инфекции позволяет работникам здравоохранения останавливать

распространение эпидемического тифа, обрабатывая инсектицидным порошком одежду и тело тех, кто подвержен опасности заражения.

Любое инфекционное заболевание возникает в результате проникновения в организм человека болезнетворных организмов – бактерий, вирусов, риккетсий, спирохет, а также грибов и простейших.

Возбудители инфекционных заболеваний, проникая в организм, находят там благоприятную среду для развития. Быстро размножаясь, они выделяют ядовитые продукты (токсины), которые разрушают ткани, что приводит к нарушению нормальных процессов жизнедеятельности организма. Болезнь возникает, как правило, через несколько часов или дней с момента заражения. В этот период, называемый инкубационным, идет размножение микробов и накопление токсичных веществ без видимых признаков заболевания. Носитель их заражает окружающих или обсеменяет возбудителями различные объекты внешней среды.

Механизм передачи инфекций неодинаков при различных заболеваниях и находится в прямой зависимости от локализации (местонахождения) возбудителя в живом организме. Различают несколько путей проникновения возбудителей инфекционных заболеваний в организм человека (рис. 33): с воздухом через пищеварительный тракт; через слизистые оболочки рта, носа, глаз, а также через поврежденные кожные покровы; через поврежденную кожу в результате укусов зараженных кровососущих насекомых.

Наиболее типичные признаки инфекционных заболеваний – озноб, жар, повышение температуры. При этом возникают головная боль, боли в мышцах и суставах, недомогание, общая слабость, разбитость, иногда тошнота, рвота, понос, нарушается сон, ухудшается аппетит.

В зависимости от локализации возбудителя в организме и механизма его передачи все инфекционные болезни подразделяются на четыре группы: инфекции дыхательных путей, кровяные инфекции, кишечные инфекции, инфекции наружных покровов.

Инфекции дыхательных путей – наиболее многочисленные и самые распространенные заболевания. Большая часть этих заболеваний объединена общим названием – острые респираторные заболевания. Возбудители локализуются в верхних дыхательных путях больного человека и распространяются воздушно-капельным способом при разговоре, чихании, кашле. Кроме широко известного гриппа, к числу инфекций дыхательных органов относятся также натуральная оспа, дифтерия, которые в недалеком прошлом являлись эпидемиологическими заболеваниями, уносившими тысячи человеческих жизней. В эту группу болезней входит туберкулез и др.

При стихийных бедствиях и крупных катастрофах обычно происходит скапливание людей, нарушаются нормы и правила общежития, что и обуславливает массовость заболевания гриппом, дифтерией, ангиной.

К **инфекциям кишечной группы** относятся: дизентерия, брюшной тиф, холера, вирусный гепатит, сальмонеллез, ботулизм и др. Для всех этих инфекций общим является механизм передачи возбудителя болезни через рот с пищей или водой и поражение кишечного тракта, хотя для таких инфекций, как ботулизм и полиомиелит, наиболее характерным признаком заболевания является поражение центральной нервной системы.

Разрушение водопроводных и канализационных сетей, низкая санитарная культура, беспечность и неосмотрительность при пользовании открытыми водоемами приводят к возникновению этих эпидемий.

К группе **кровяных (трансмиссивных) инфекций** относятся: сыпной тиф, чума, малярия, клещевой энцефалит, туляремия и др. Отличительной чертой этой группы инфекций является, прежде всего, механизм передачи инфекций кровососущими насекомыми (блохи, вши, клещи и комары). Большой кровяной инфекцией опасен для здорового человека только тогда, когда имеется кровососущий переносчик. Исключение представляет человек, страдающий легочной формой чумы, так как инфекция в этом случае передается воздушно-капельным путем.

Столбняк, сибирская язва, рожа – **инфекции наружных покровов**, или, как их иногда называют, раневые, являются острыми инфекционными заболеваниями, возникающими в результате проникновения возбудителей этих болезней через поврежденную кожу и значительно реже через поврежденные слизистые оболочки.

Основным направлением деятельности по обеспечению эпидемиологической безопасности было и остается профилактическое. При этом комплекс предупредительных мер в отношении инфекционных заболеваний направлен на все три звена (фактора) эпидемиологического процесса – источник инфекции, пути ее передачи и восприимчивый к заболеванию человек. Если

исключить хотя бы одно звено из этой цепи, эпидемиологический процесс прекращается. Следовательно, цель предупреждающих мероприятий - воздействовать на источник, чтобы уменьшить обсеменение внешней среды, локализовать распространение микробов, а также повысить устойчивость населения к заболеваниям.

Источником инфекции могут быть: больной человек или бактерионоситель, больные домашние и дикие животные и птицы, а также кровососущие насекомые. К мероприятиям, проводимым в отношении источника инфекции, относятся раннее активное и полное выявление носителей, их своевременная изоляция, госпитализация и лечение, проведение дезинфекционных мероприятий в очаге.

Дезинфекция, или обеззараживание - это комплекс специальных мероприятий, направленных на уничтожение возбудителей заразных заболеваний в окружающей человека среде. Частными видами дезинфекции являются **дезинсекция**, под которой понимают уничтожение насекомых и клещей – переносчиков инфекционных заболеваний, и **дератизация** – истребление грызунов, опасных в эпидемиологическом отношении.

Различают дезинфекцию профилактическую, текущую и заключительную.

Профилактическую дезинфекцию проводят с целью предупреждения возможности возникновения инфекционных заболеваний или заражения от предметов и вещей, находящихся в общем пользовании.

Текущую дезинфекцию осуществляют у постели больного с целью предупреждения рассеивания инфекции (обеззараживание выделений больного и зараженных им предметов).

Заключительную дезинфекцию проводят в очаге инфекции после изоляции, госпитализации, выздоровления или смерти больного с целью полного освобождения инфекционного очага от возбудителей заболевания.

Следует помнить, что все работы по дезинфекции надо проводить обязательно в средствах индивидуальной защиты (противогазы, респираторы, резиновые перчатки, сапоги, передники), при строгом соблюдении мер безопасности (рис. 34).

В зависимости от показаний для дезинфекции применяют биологические, механические, физические и химические методы и средства обеззараживания. Биологический метод используют при очистке сточных вод на полях орошения. К механическим методам относятся: влажная уборка помещений, выколачивание одежды и постельных принадлежностей, побелка и покраска помещений, мытье рук. К числу физических методов относятся: облучение солнечными лучами и ультрафиолетовыми излучателями, проглаживание горячим утюгом, сжигание мусора и предметов, обработка кипятком или нагревание до кипения. К химическим средствам и методам относится обеззараживание воды, помещений, выделений больных, туалетов и др. лизолом, карболовой кислотой, хлорной известью в виде 0,2-0,5%, 2-3%, 5-10%-ных водных растворов и в сухом виде.

Дезинсекционные и дератизационные мероприятия условно делят на профилактические и истребительные. К профилактическим относятся: содержание в чистоте жилищ и подсобных помещений, расчистка водоемов и др. Истребительные мероприятия проводят физическими и химическими методами.

Весьма важен разрыв и второго звена эпидемиологического процесса - путей передачи возбудителя. В целях предупреждения распространения инфекционных заболеваний и ликвидации возникшего очага проводится комплекс изоляционно-ограничительных мероприятий, называемых **карантином и обсервацией**.

Режим карантина предусматривает полную изоляцию района инфекционных заболеваний. Из него запрещается выходить людям, выводить животных, вывозить имущество. До особого распоряжения прекращают работу культурно-просветительные и учебные заведения, торговые предприятия. Снабжение населения продуктами питания производится через специальные пункты под строгим медицинским контролем. Комплекс карантинных мероприятий обязательно включает дезинфекцию местности и всех предметов и объектов в очаге заражения, полную санитарную обработку, а при необходимости дератизацию и дезинсекцию, если грызуны и членистоногие служат источниками и переносчиками возбудителей болезней.

На территории, прилегающей к зоне карантина, устанавливается **режим обсервации** – усиленного медицинского наблюдения. Он вводится и в тех случаях, когда нет необходимости в более строгом карантинном режиме. Обсервация предусматривает ограничение въезда, выезда и транзитного проезда через очаг заражения, запрещение вывоза из него какого-либо имущества без предварительного обеззараживания, а также ограничение общения населения. При необходимости

выезд людей из очага заражения разрешается только после проведения профилактики и специальной обработки. При обсервации, кроме того, усиливается противоэпидемический режим работы медицинских пунктов (лечебных учреждений) и медицинский контроль за проведением санитарно-гигиенических мероприятий в очаге заражения.

Продолжительность карантина и обсервации устанавливается на срок инкубационного периода обнаруженного заболевания и исчисляется с момента изоляции последнего больного и завершения дезинфекционных мероприятий в очаге заражения. Снимается карантин по истечении срока максимальной инкубации при отсутствии за это время повторных заболеваний (при особо опасных инфекциях – по окончании максимального инкубационного периода после выздоровления и выписки последнего больного из больницы).

Профилактические меры, направленные на третье звено эпидемиологического процесса - восприимчивость населения, заключаются в повышении устойчивости населения к возбудителям инфекции путем массовой иммунизации предохранительными вакцинами, введением специальных сывороток. При этом ни в коем случае не следует уклоняться от прививок и принятия лекарств, предупреждающих заболевание.

Практическая работа №9 Лечение инфекционных заболеваний

Цель работы: знать принципы лечения инфекционных заболеваний: противогрибковые, противопротозойные, противовирусные препараты; изучить микробиологические основы рациональной антибиотикотерапии.

Ход работы

Задание №1 Охарактеризовать группы химиотерапевтических препаратов.

| Группы химиотерапевтических препаратов | Спектр активности | Примеры микроорганизмов, чувствительных к действию химиотерапевтических препаратов |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Химиотерапевтические препараты, действующие на клеточные формы микроорганизмов. | | |
| Антибактериальные препараты широкого спектра действия. | | |
| Антибактериальные препараты узкого спектра действия. | | |
| Противовирусные препараты. | | |

Задание №2 Классифицировать антибиотики по механизму действия.

| Механизм действия антибиотика | Бактериальные | Противогрибковые | Противопротозойные |
|---------------------------------------------------------|---------------|------------------|--------------------|
| 1. Ингибиторы синтеза компонентов клеточной стенки. | | | |
| 2. Ингибиторы функций цитоплазматической мембраны | | | |
| 3. Ингибиторы синтеза белка. | | | |
| 4. Ингибиторы транскрипции и синтеза нуклеиновых кислот | | | |

Задание №3 Побочное действие антибактериальных препаратов на организм

| Антибактериальный препарат | Определение | Побочное действие антибактериальных препаратов на организм |
|----------------------------|-------------|------------------------------------------------------------|
| Антибиотики | | |
| Сульфаниламиды | | |

Контрольные вопросы

1. Что такое химиотерапевтические препараты?
2. Дайте определение сульфаниламидам.
3. Дайте определение антибиотикам.
4. Приведите классификацию антибиотиков.
5. Назовите механизмы действия антибиотиков.
6. Приведите примеры побочного действия антибиотиков.

Литература для подготовки к занятию:

Основная литература:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Под ред. А.А. Воробьева. М., 2004.

Дополнительная литература:

1. Л.Б. Борисов. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. М., 2002.
2. О.К. Поздеев. Медицинская микробиология. М., ГЭОТАР-МЕДИА, 2005.
3. Медицинская микробиология. Справочник. Под ред. В.И. Покровского и О.К. Поздеева. М., ГЭОТАР-МЕД, 1998.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Микробиологические основы химиотерапии инфекционных заболеваний

Химиотерапия – это лечение инфекционных заболеваний химиотерапевтическими средствами, то есть химическими веществами природного или синтетического происхождения, которые оказывают бактерицидное или бактериостатическое действие во внутренней среде организма хозяина.

Микробиологическими основами химиотерапии инфекционных заболеваний являются следующие:

- установление возбудителя болезни и определение уровня его чувствительности к химиопрепаратам;
- контроль за изменением чувствительности возбудителя к применяемому препарату в процессе лечения;
- диагностика суперинфекции и вторичной инфекции и чувствительности их возбудителей к химиопрепаратам;
- выявление возбудителей с измененными свойствами, появляющихся под воздействием химиопрепаратов.

К химиопрепаратам предъявляются следующие основные требования:

- губительное действие на возбудителей инфекционных заболеваний;
- безвредность для организма больного;
- хорошая растворимость и сохранение активности в жидкостях организма;
- хорошая всасываемость и медленное выведение из организма;
- длительное сохранение активности при хранении;
- возможно медленная селекция устойчивых форм.

Основными группами химиотерапевтических препаратов являются:

- антибиотики;
- сульфаниламиды;
- нитрофурановые препараты;
- органические и неорганические соединения серы, меди, мышьяка, ртути, сурьмы;
- противотуберкулезные препараты;
- противовирусные препараты;
- противоопухолевые препараты.

Сульфаниламиды. Антибиотики

Химиотерапевтические препараты **по спектру активности** подразделяются на группы:

- действующие на клеточные формы микроорганизмов (антибактериальные, противогрибковые, противопротозойные). Антибактериальные препараты кроме того подразделяются на препараты широкого спектра действия (действуют на грамположительные и грамотрицательные бактерии) и препараты узкого спектра действия (действуют только на грамположительные или только на грамотрицательные бактерии);
- противовирусные препараты.

По типу действия химиотерапевтические препараты подразделяются на группы:

- микробицидные (бактерицидные, фунгицидные), то есть губительно действующие на микроорганизмы;

- микростатические (бактериостатические), то есть ингибирующие рост и размножение микроорганизмов.

Сульфаниламидные препараты (сульфаниламиды) - это химиотерапевтические средства, являющиеся производными сульфаниловой кислоты. К ним относятся норсульфазол, сульфадимезин, сульфадиметоксин, фталазол и другие препараты.

Антибиотики - это химиотерапевтические вещества биологического (микробного, растительного, животного), полусинтетического или синтетического происхождения, которые в малых концентрациях вызывают торможение размножения или гибель чувствительных к ним микробов во внутренней среде организма. Основными источниками получения антибиотиков являются актиномицеты, плесневые грибы и типичные бактерии.

Существует 3 **основных способа получения антибиотиков:**

- биологический синтез (культивирование микробов-продуцентов);
- биосинтез с последующими химическими модификациями (получение полусинтетических антибиотиков);
- химический синтез (получение синтетических аналогов природных антибиотиков).

Классы антибиотиков по химической структуре:

- бета-лактамы;
- гликопептиды;
- аминогликозиды;
- тетрациклины;
- макролиды;
- линкозамиды;
- левомицетин;
- рифамицины;
- полипептиды;
- полиены;
- разные антибиотики.

Механизм действия сульфаниламидов и антибиотиков

Известны 4 главных **механизма действия** химиотерапевтических средств на микроорганизмы:

- ингибиторы синтеза клеточной стенки - торможение синтеза веществ, входящих в состав клеточной стенки (пенициллины, цефалоспорины, циклосерин, бацитрацин);
- ингибиторы функций цитоплазматической мембраны - нарушение проницаемости клеточной мембраны (полимиксины, нистатин, колистин, амфотерицин В);
- ингибиторы синтеза белка - ингибирование трансляции генетической информации, проявляющееся в нарушении синтеза белка (тетрациклины, аминогликозиды, эритромицин, линкомицин, хлорамфеникол);

- ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот - торможение синтеза нуклеиновых кислот и их функционирования (налидиксовая кислота, рифампицин, фторхинолоны).

Среди химиотерапевтических средств имеются препараты с комбинированным механизмом действия.

Побочное действие антибактериальных препаратов на организм

Наиболее частыми проявлениями побочного действия антибактериальных препаратов являются:



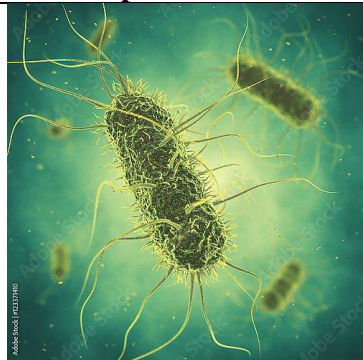
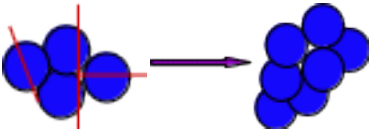
- токсическое действие препарата – проявляется при длительном и систематическом применении антимикробных препаратов, приводящем к накоплению их в организме. Токсическое действие проявляется ототоксическим эффектом (вплоть до полной потери слуха (гликопептиды, аминогликозиды), нефротоксическим эффектом (полиены, полипептиды, аминогликозиды, макролиды), общетоксическим действием (имидазолы), угнетением кроветворения (тетрациклины, левомицетин), тератогенным действием (аминогликозиды, тетрациклины);
- развитие дисбиоза (дисбактериоза);
- отрицательное воздействие на иммунную систему;
- эндотоксический шок (разрушение антибиотиками большого количества грамотрицательных бактерий и высвобождение эндотоксина);
- развитие лекарственной устойчивости бактерий.

Практическая работа №11 Анаэробные инфекции

Цель работы: изучить анаэробные микроорганизмы и заболевания, которые они вызывают.

Оборудование и материалы: чашки Петри с МПА (стерильные) и с предварительно выполненными посевами культур микроорганизмов *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*.

Ход работы

| Вариант I | Вариант II | Вариант III |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | Семейство Enterobacteriaceae. Под Salmonella. <i>Salmonella typhimurium</i> |
| <p>Кишечная палочка (лат. <i>Escherichia coli</i>) — вид грамотрицательных палочковидных бактерий, широко распространённых в нижней части кишечника теплокровных животных.</p> <p>Большинство штаммов <i>E. coli</i> являются безвредными, однако серотип O157:H7 может вызывать тяжёлые пищевые отравления у людей и животных. Безвредные штаммы являются частью нормальной флоры кишечника человека и животных. Кишечная палочка приносит пользу организму хозяина, например, синтезируя витамин К, а также предотвращая развитие патогенных микроорганизмов в кишечнике.</p> <p>В настоящее время кишечную палочку относят к роду эшерихий (<i>Escherichia</i>), названному в честь Теодора Эшериха семейства энтеробактерий.</p> | <p>Золотистый стафилококк (лат. <i>Staphylococcus aureus</i>) — вид шаровидных грамположительных бактерий из рода стафилококков.</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p><i>Схема образования виноградной грозди при делении стафилококков (красные линии показывают расположение плоскостей, в которых происходит деление отдельных клеток).</i></p> <p>Приблизительно 25—40 % населения являются постоянными носителями этой бактерии, которая может сохраняться на кожных покровах и слизистых оболочках</p> | <p>Сальмонелла тифимуриум (лат. <i>Salmonella typhimurium</i>) – вид, у которого прямые грамотрицательные палочки размером 2-4 x 0,5 мкм.</p> <p>Подвижны благодаря наличию перитрихально расположенных жгутиков.</p> <p>Это короткие, не образующие спор, палочки с закругленными концами, подвижные (перитрихи) или неподвижные, некоторые имеют капсулы. Аэробы или факультативные анаэробы. Характерна отрицательная окраска по Граму. Хорошо растут на обычных питательных средах с мясным экстрактом. На большинстве плотных сред энтеробактерии образуют круглые выпуклые блестящие S- (гладкие) колонии, а также часто обусловленные потерей капсулы плоские, неровные и зернистые R- (шероховатые) формы. Для них характерна ферментация глюкозы (и других углеводов) с</p> |

| | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | <p>верхних дыхательных путей^[1]. <i>S. aureus</i> может вызывать широкий диапазон заболеваний, начиная с лёгких кожных инфекций: угри, импетиго (может быть вызван также и <i>Streptococcus pyogenes</i>), фурункул, флегмона, карбункул, стафилококковый ожогоподобный кожный синдром^[en] и абсцесс — до смертельно опасных заболеваний: пневмония, менингит, остеомиелит, эндокардит, инфекционно-токсический шок и сепсис. Диапазон заболеваний простирается от кожных, мягких тканей, респираторных, костных, суставных и эндоваскулярных до раневых инфекций. Он до сих пор является одной из четырёх наиболее частых причин внутрибольничных инфекций, часто вызывая послеоперационные раневые инфекции.</p> | <p>образованием кислоты и газа. По отношению к лактозе их делят на лактоза- ферментирующие и лактоза - неферментирующие. Каталаза - положительны, восстанавливают нитраты в нитриты. Семейство энтеробактерий включает более 20 родов, объединяющих более 100 видов бактерий, обитающих в почве, на растениях, входящих в состав микробных биоценозов кишечника животных и человека. Наибольшее значение для человека имеют рода <i>Escherichia</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i>, <i>Yersinia</i>, <i>Proteus</i>, <i>Klebsiella</i> и др. Для дифференциации родов используют в основном биохимические признаки, для классификации внутри родов и видов - изучение антигенной структуры (O-, H- и K- антигенов).</p> |
| <p>Значение <i>Escherichia coli</i> Бактерии легко могут быть выращены в лабораторных условиях, поэтому кишечная палочка играет важную роль в генетических исследованиях. <i>E. coli</i> является одним из самых изученных прокариотических микроорганизмов и одним из самых важных объектов биотехнологии и микробиологии.</p> | <p>Значение <i>Staphylococcus aureus</i> Название бактерия получила благодаря своему внешнему виду под микроскопом: в отличие от большинства бактерий, которые бесцветны, <i>Staphylococcus aureus</i> имеет золотистый цвет, обусловленный пигментами из группы каротиноидов. <i>S. aureus</i> — бактерия-комменсал; она колонизирует кожу и поверхности слизистых (носа, глотки и влагалища). Простое наличие микроорганизма на слизистых носа или на коже иногда вызывает ответ организма (акне, аллергическую реакцию). Название стафилококков происходит от греческих слов “<i>staphylos</i>” – виноград, гроздь и “<i>coccus</i>” – ягода, зерно. Стафилококки относятся к типу <i>Firmicutes</i>, классу <i>Bacilli</i>, порядку <i>Bacillales</i>, семейству <i>Staphylococcaceae</i>, роду <i>Staphylococcus</i>. Этот род включает более 35 видов. Клинически значимыми для человека видами стафилококков являются <i>S. aureus</i>, <i>S. epidermidis</i>, <i>S. saprophyticus</i>, <i>S. haemolyticus</i>, <i>S. intetrmadius</i> и некоторые другие. Среди стафилококков выделяют патогенные виды (в частности, <i>S. aureus</i>), условно-патогенные виды (например, <i>S. epidermidis</i>) и непатогенные виды (в частности, <i>S. saprophyticus</i>).</p> | <p>Значение <i>Salmonella typhimurium</i> Сальмонеллы являются возбудителями брюшного тифа, паратифов А, В, С и других <i>сальмонеллезов</i>. Сальмонеллы - большая группа энтеробактерий, среди которых различные серотипы - возбудители брюшного тифа, паратифов А, В и С и наиболее распространенных пищевых токсикоинфекций - сальмонеллезов. По признаку патогенности для человека сальмонеллы разделяют на патогенные для человека- антропонозы (вызывают брюшной тиф и паратифы А и В) и патогенные для человека и животных - зоонозы (вызывают сальмонеллезы). Несмотря на значительные различия сальмонелл по антигенным характеристикам, биохимическим свойствам, вызываемым ими заболеваниями, по современной, но недостаточно удобной и совершенной классификации выделяют два вида - <i>S. bongori</i> и <i>S. enteritica</i>. Последний разделен на подвиды, из которых наибольшее значение имеют подвиды <i>choleraesuis</i> и <i>salamae</i>. Подвид <i>choleraesuis</i> включает наибольшую часть известных сероваров сальмонелл (около 1400 из примерно 2400).</p> |

Культуральные свойства *Escherichia coli*



E. coli — граммотрицательная бактерия, факультативный анаэроб, не образует эндоспор. Клетки палочковидные, со слегка закруглёнными концами, размером $0,4\text{--}0,8 \times 1\text{--}3$ мкм, объём клетки составляет около $0,6\text{--}0,7$ мкм³.

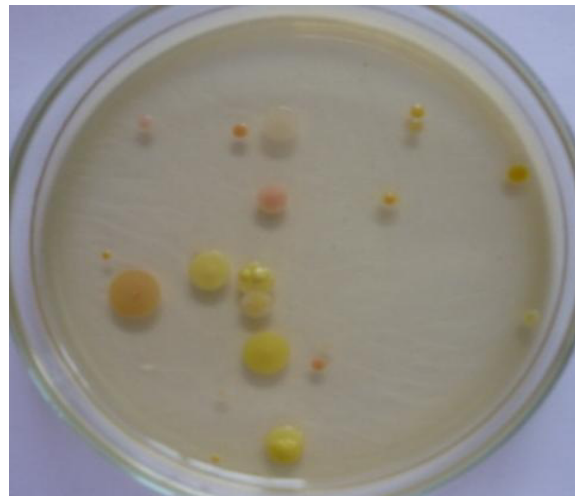
Кишечная палочка может жить на разных субстратах.

В анаэробных условиях *E. coli* образует в качестве продукта жизнедеятельности лактат, сукцинат, этанол, ацетат и углекислый газ. Часто при этом образуется молекулярный водород, который мешает образованию указанных выше метаболитов, поэтому *E. coli* часто сосуществует с микроорганизмами, потребляющими водород — например, с метаногенами или бактериями, восстанавливающими сульфат.

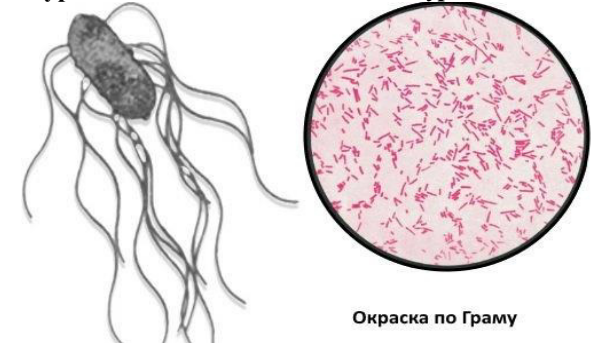
Оптимальный рост достигается культурами *E. coli* при температуре 37°C, некоторые штаммы могут делиться при температурах до 49°C.

Рост может стимулироваться аэробным или анаэробным дыханием, различными парами окислителей и

Культуральные свойства *Staphylococcus aureus*



Культуральные свойства *Salmonella typhimurium*



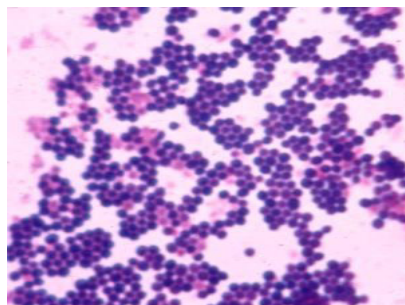
Окраска по Граму



Факультативные анаэробы, хорошо растут на простых питательных средах. Оптимум pH- 7,2-7,4, температуры - +37. Метаболизм - окислительный и бродильный. Сальмонеллы ферментируют глюкозу и другие углеводы с образованием кислоты и газа (серотип *Salmonella typhi* газообразования не вызывает). Обычно не ферментируют лактозу (на средах с этим углеводом - безцветные колонии), сахарозу. Оксидаза- отрицательны, каталаза - положительны.

восстановителей, в том числе, окислением пирувата, формиата, водорода, аминокислот, а также восстановлением кислорода, нитрата, диметилсульфоксида и триметиламин N-оксида.

Штаммы, имеющие жгутики, способны передвигаться. Жгутики расположены перитрихально^[17]. На конце жгутика расположен белок FimH, который прикрепляется к молекулам сахаров на поверхности, а сам жгутик состоит из цепочки взаимосвязанных белковых сегментов, закрученных в форме тонкой длинной пружины и упруго вытягивающихся при воздействии силы.



Стафилококки являются *факультативными анаэробами*, хорошо растут в аэробных условиях при температуре 35-40°C на простых питательных средах (на мясо-пептонном агаре – МПА и в мясо-пептонном бульоне - МПБ) при pH 7,0-7,5. На МПА стафилококки образуют ровные круглые колонии S-формы диаметром 2-4 мм, которые могут быть окрашены в желтый, белый, оранжевый, кремовый цвета.

Цвет колоний обусловлен наличием пигмента, синтезируемого стафилококками в аэробных условиях. Однако пигментообразование не является видовым признаком стафилококков. При размножении в жидких питательных средах стафилококки вызывают равномерное помутнение.



Реакция Фогеса - Проскауэра отрицательна. На основании биохимических (ферментативных) свойств сальмонеллы разделены на четыре группы. Характерные признаки сальмонелл - *образование сероводорода, отсутствие продукции индола и аэробность*. Для выделения используют дифференциально - диагностические среды (висмут - сульфит агар, среды Эндо, Плоскирева, SS агар) и среды обогащения (селенитовый бульон, желчный бульон, среда Раппопорта). S- формы образуют мелкие (от 1 до 4 мм) прозрачные колонии (на среде Эндо - розоватые, на среде Плоскирева - безцветные, на висмут - сульфит агаре - черные, с металлическим блеском). На жидких средах S- формы дают равномерное помутнение, R- формы - осадок. Антигенная структура. Выделяют O-, H- и K- антигены. К группе K- антигенов относят Vi- антигены (антигены вирулентности). Благодаря более поверхностному расположению (чем O- антигены) Vi- антиген может препятствовать агглютинации культур сальмонелл O-специфической сывороткой (экранирование). Для дифференциации сальмонелл применяют схему (серологическую классификацию) *Кауфманна - Уайта*. В соответствии со структурой O- антигенов сальмонеллы подразделяют на *O- группы* (67 серогрупп), в каждую из которых входят *серологические типы*, отличающиеся строением H- антигенов. Принадлежность сальмонелл к определенному серовару устанавливают при изучении антигенной структуры в соответствии со схемой Кауфманна - Уайта. Примеры: серотип S.paratyphi A относится к серогруппе A, S.paratyphi B - к серогруппе B, S.paratyphi C - к группе C, S.typhi - к серогруппе D. Основой для создания питательной среды послужила забуференная пептонная вода, в которую перед бактериальным посевом добавляли пропиленгликоль.



Стафилококки являются представителями галофильных (солеустойчивых) бактерий: они хорошо растут при содержании в питательной среде 10-15% хлорида натрия. Поэтому **элективными** для

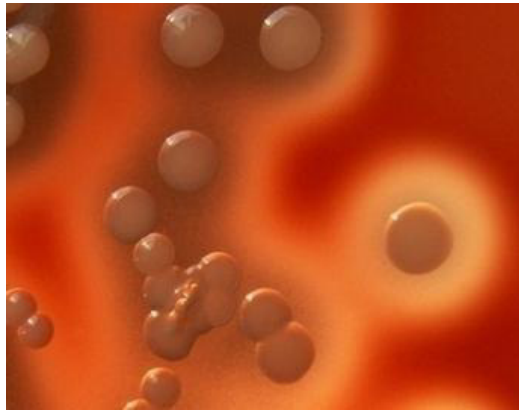
стафилококков являются питательные среды с повышенным содержанием NaCl: **желточно-солевой агар (ЖСА), молочно-солевой агар (МСА), молочно-желточно-солевой агар (МЖСА)**. На желточно-солевом агаре патогенные стафилококки формируют колонии, окруженные радужным венчиком за счет разложения лецитина яичного желтка с помощью синтезируемого фермента лецитиназы.



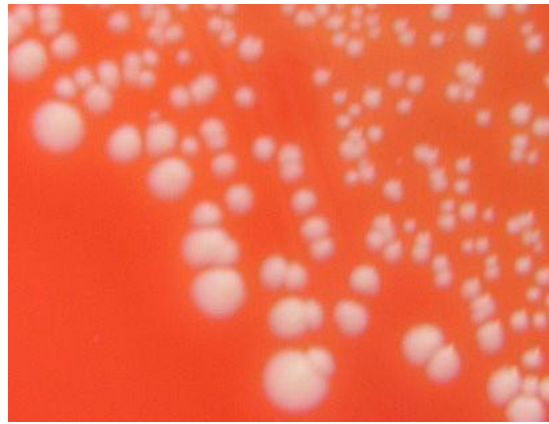
Характер роста стафилококков на желточно-солевом агаре.

На кровяном агаре золотистый стафилококк формирует

колонии, окруженные зоной гемолиза, эпидермальный стафилококк зон гемолиза не образует.



а



б

*Характер роста на кровяном агаре золотистого стафилококка (а) и эпидермального стафилококка (б). Стафилококки обладают высокой биохимической активностью: они ферментируют в аэробных условиях многие углеводы до уксусной кислоты без газа. В частности, *S. aureus* разлагает до кислоты глюкозу, сахарозу, лактозу, маннит и не ферментирует мальтозу.*

Разные виды стафилококков ферментируют разный спектр углеводов. Дифференциально-диагностическое значение имеет **тест на сбраживание глюкозы в анаэробных условиях**. Ферментация глюкозы в анаэробных условиях с образованием молочной кислоты характерна для стафилококков и отличает их от стрептококков.

Аэробные бактерии окисляют глюкозу, то есть образуют кислоту только в среде без вазелинового масла (в аэробных условиях). Анаэробные бактерии ферментируют глюкозу, то есть образуют кислоту, только в среде с вазелиновым маслом (в анаэробных условиях). Факультативные анаэробы, к которым относится золотистый стафилококк, утилизируют глюкозу как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Посев осуществляют уколом в столбик питательной среды в две пробирки. После посева для создания анаэробных условий среду в одной из пробирок заливают слоем стерильного вазелинового масла. Культивирование проводят в течение 3-4 суток. Образование кислоты приводит к желтому окрашиванию столбика среды.



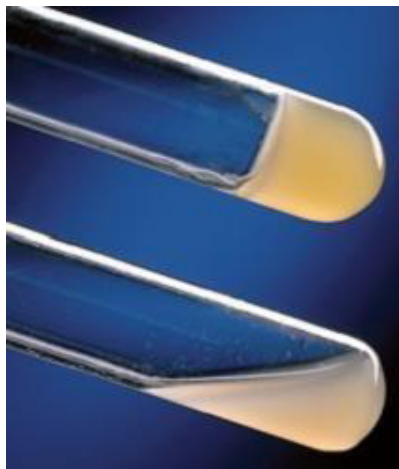
1 2 3 4

Окисление глюкозы аэробными бактериями (а) и сбраживание глюкозы факультативными анаэробами (б). Пробирки 1 и 3 – с вазелиновым маслом (анаэробные

условия), пробирки 2 и 4 – без вазелинового масла (аэробные условия).

Патогенные виды стафилококков (в частности, *S. aureus*) продуцируют плазмокоагулазу (коагулазоположительные) и фибринолизин. *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* не продуцируют плазмокоагулазу (коагулазоотрицательные).

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



Свертывание плазмы крови коагулазой (верхняя пробирка) и разжижение сгустка фибринолизином (нижняя пробирка).

| | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | |
| <p style="text-align: center;">Биотехнология</p> <p><i>E. coli</i> играет важную роль в современной промышленной микробиологии и биологической инженерии. Работа Стенли Нормана Коэна и Герберта Бойера на <i>E. coli</i> с использованием плазмид и эндонуклеаз рестрикции для создания рекомбинантной ДНК находится у истоков современной биотехнологии.</p> <p>Кишечную палочку считают универсальным организмом для синтеза чужеродных белков. В <i>E. coli</i> исследователи вводят гены при помощи плазмид, что позволяет осуществлять биосинтез белков для промышленной ферментации. Также разработаны системы для синтеза в <i>E. coli</i> рекомбинантных белков. Модифицированные <i>E. coli</i> используют при разработке вакцин, синтеза иммобилизованных ферментов и решения других задач. Однако в организме <i>E. coli</i> невозможно получать некоторые крупные белковые комплексы, содержащие дисульфидные связи, в частности, белки, для проявления биологической активности которых требуется посттрансляционная модификация.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Одним из первых примеров использования технологии рекомбинантных ДНК с 1976 г. является синтез аналога инсулина человека в штамме K12. Из 40 м³ клеточной культуры кишечной палочки K12 методом обращённо-фазовой хроматографии удаётся получить около 100 г чистого инсулина. Потребность мирового рынка составляет около 8 т в год. • Гены из генома кишечной палочки также используются для генетической модификации растений, в частности из нее выделяют ген устойчивости к антибиотикам неомицину и канамицину. • Разработаны челночные векторы для <i>Escherichia coli</i>, а также системы с использованием транспозонов и специфических фагов для производства ацетона и 1-бутанола из синтетических гидантоинов. • Мутантные штаммы <i>Escherichia coli</i> с изменённым путём регуляции биосинтеза являются основным | <p style="text-align: center;">Биотехнология</p> <p>С момента открытия пенициллина и активного его использования против стафилококка, под давлением естественного отбора в популяции закрепилась мутация, в связи с которой в настоящее время большинство штаммов устойчивы к этому антибиотику, благодаря наличию у золотистого стафилококка пенициллиназы — фермента, расщепляющего молекулу пенициллина. Для борьбы с бактерией широко применяют метициллин — химически модифицированный пенициллин, который пенициллиназа не разрушает.</p> <p>Но сейчас встречаются штаммы, устойчивые и к метициллину, в связи с чем штаммы золотистого стафилококка делят на метициллин-чувствительные и метициллин-устойчивые штаммы золотистого стафилококка (MRSA), также выделяются ещё более устойчивые штаммы: ванкомицин-резистентный (VRSA) и гликопептид-резистентный (GISA).</p> <p>Бактерия имеет около 2600 генов и 2,8 миллиона пар оснований в ДНК в своей хромосоме, длина которой 0,5—1,0 мкм.</p> <p>Для лечения стафилококка применяется стафилококковый бактериофаг — препарат представляет собой жидкую среду, в которой находятся вирусы-фаги, уничтожающие стафилококки.</p> <p>В 2008 году Федеральное агентство по охране окружающей среды США (US EPA Архивная копия от 20 октября 2013 на Wayback Machine) установило активное выраженное подавляющее воздействие на метициллин-устойчивые штаммы стафилококка золотистого поверхностей из меди и сплавов меди.</p> <p>Проходят клинические испытания моноклональные антитела: тосатоксумаб.</p> | <p style="text-align: center;">Биотехнология</p> <p>Актуальность проблемы заболеваемости сальмонеллезом, которые в структуре острых кишечных инфекций занимают одно из ведущих мест, определяется их повсеместным распространением, тяжестью течения патологического процесса, возможностью неблагоприятных исходов, длительностью бактерионосительства и значимостью социально-экономического ущерба. Эпидемическая ситуация по сальмонеллезам в мире продолжает оставаться неблагоприятной.</p> <p>Одним из направлений в решении этой сложной проблемы является использование лечебно-профилактических препаратов бактериофагов, обеспечивающих специфическое литическое действие на возбудителя и не оказывающих побочных токсических и аллергических реакций на организм человека. В условиях роста антибиотикорезистентности микроорганизмов бактериофаги начинают все шире использоваться в клинической практике [О.С. Дарбева, 2006; И.В. Красильников, 2010; Е.Б. Лазарева, 2003 и др.].</p> <p>Разработанные эффективные микробиологические и технологические приемы позволяют адаптировать процессы изготовления сальмонеллезного бактериофага к условиям массового производства препарата, расширяющего арсенал отечественных антибактериальных средств.</p> <p>Сформированная коллекция штаммов-продуцентов сальмонеллезного бактериофага, подвергаемая периодическому обновлению на основе штаммов сальмонелл, циркулирующих на территории Пермского края обеспечивает получение поливалентного препарата Бактериофаг сальмонеллезный групп А,В,С,Д,Е. Способ совместного культивирования штаммов-продуцентов сальмонеллезного бактериофага из разных серологических групп сальмонелл и разработанный способ очистки бактериофага от бактериальных клеток и</p> |

| | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>промышленным источником L-треонина.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Экономически выгоден синтез L-аспарагиновой кислоты клетками <i>Escherichia coli</i> из фумаровой кислоты в присутствии аммиака (в объёме около 10 000 т в год). • В штаммах-суперпродуцентах <i>Escherichia coli</i> протекает биосинтез L-фенилаланина. • Ферментативным гидролизом из пенициллина-G под действием иммобилизированной пенициллин-G-амидазы из <i>Escherichia coli</i> ежегодно получают около 40 000 т 6-АРА (6-аминопенициллановой кислоты) — важнейшего продукта при получении полусинтетических пенициллинов и цефалоспоринов. • Из <i>Escherichia coli</i> клонированы в геном <i>Xanthomonas campestris</i> гены β-галактозидазы <i>lacZ</i> и лактопермеазы <i>lacY</i>, что позволило получить штамм, использующий в производстве ксантана отходы молочной промышленности (молочную сыворотку). • Трансформация клеток <i>Escherichia coli</i> плазмидами, содержащими клонированные гены из <i>Alcaligenes latus</i>, даёт на выходе поли-3-гидроксимасляную кислоту. • Рекомбинантные штаммы <i>Escherichia coli</i> (метаболизм которых изменён внедрением гена глицериндегидратазы) используются при получении сополимера 1,3-пропандиола и терефталевой кислоты (производители — Du Pont и Geneva Biotech). • Методами генетической инженерии проводится гетерологическая экспрессия фрагмента белка с адгезионными свойствами, вырабатываемого мидиями <i>Mytilus edulis</i>, размером 25 кДа в клетках <i>Escherichia coli</i>. Выделенный продукт приходится обрабатывать ферментом тирозиназой из шампиньонов, который гидролизует остатки тирозина до о-гидрокситирозина, что обеспечивает образование поперечных сшивок между полипептидными цепями. • В рекомбинантных клетках (с усиленной активностью триптофаназы и с добавлением гена нафталиндиксигеназы) <i>Escherichia coli</i> производят индиго из триптофана. • Из термофильного микроорганизма <i>Thermotoga</i> | | <p>балластных веществ, позволят получить стабильный очищенный препарат сальмонеллезного бактериофага с высокой литической активностью.</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

| | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|
| <p>maritima выделен рекомбинантный белок ксиланаза для отбеливания бумаги, который воспроизводится путём клонирования в <i>Escherichia coli</i>.</p> <ul style="list-style-type: none">• С 1984 г. с использованием клеток <i>Escherichia coli</i> производится гормон роста человека (соматотропин) методом ферментации.• В клетках <i>Escherichia coli</i> клонирован ген гемоглобина человека, и экспрессированный из них гемоглобин тщательно очищается хроматографией перед использованием в медицинских целях.• Рекомбинантные штаммы <i>Escherichia coli</i>, которые продуцируют сывороточный альбумин, находятся лишь на стадии испытаний.• Ферментацией в клетках <i>Escherichia coli</i> получают рекомбинантные антикоагулянт гирудин, ингибитор ферментов апротинин, интерфероны, интерлейкин IL-2 от рака почек, факторы роста гранулоцитов и макрофагов, фактор некроза опухолей, антитела, T1-плазмиды для генной модификации растений, аспараткиназу.• Из устойчивых к глифосату штаммов <i>Escherichia coli</i> был выделен и клонирован ген 5-0-енолпирувилшिकимат-3-фосфат-синтазы (EPSP-синтазы), что привело к созданию вида соевых бобов, устойчивых к глифосату.• Встраивание нерегулируемого гена из <i>Escherichia coli</i> позволяет получить помидоры с содержанием крахмала выше на 20 %.• Повышение уровня экспрессии у картофеля гена <i>glgB</i> из <i>Escherichia coli</i>, контролирующего образование α-1,6-связей между мономерами крахмала, в присутствии промотора гена синтетазы гранулированного крахмала позволяет клубням накапливать крахмал с повышенным почти на 25 % содержанием амилопектина. | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|

| Патогенность | Патогенность | Патогенность |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Непатогенные бактерии <i>E. coli</i>, в норме в больших количествах населяющие кишечник, могут, тем не менее, вызвать развитие патологии при попадании в другие органы или полости человеческого тела. Если бактерия попадает через отверстие в ЖКТ в брюшную полость, может возникнуть перитонит.</p> <p>Попав и размножившись во влагалище женщины, бактерия может вызвать или осложнить кольпит.</p> <p>Попадание бактерии в предстательную железу мужчины может быть патогенезом острого или хронического бактериального простатита.</p> <p>В таких случаях в лечение включается применение антибиотиков, проводимое таким образом, чтобы не подавлять нормальную микрофлору кишечника, иначе возможно развитие дисбактериоза.</p> <p><i>E. coli</i> очень чувствительна к таким антибиотикам, как стрептомицин или гентамицин.</p> <p>Однако <i>E. coli</i> может быстро приобретать лекарственную устойчивость.</p> <p>Эта устойчивость бактерий к антибиотикам обусловлена: а) нарушением процесса поступления антибиотика в клетку или ускоренным его выведением из клетки (например, в результате изменения проницаемости мембраны), б) специфическими изменениями структур, являющихся мишенью действия антибиотика (изменением сайта связывания в рибосоме или молекуле ДНК), в) генетически запрограммированными ферментативными реакциями, обеспечивающими устойчивость к антибиотику.</p> | <p>Золотистый стафилококк является возбудителем многих инфекций и заболеваний. Возглавляет список бактерий, которыми наиболее часто заражаются в медицинских учреждениях, в США регистрируется более ста тысяч случаев инфицирования стафилококком в год, многие со смертельным исходом.</p> <p>Стафилококковые токсины – это белки, которые разрушительно действуют на мембраны клеток мишеней, включают альфа-токсин, бета-токсин, дельта-токсин и несколько двухкомпонентных токсинов. Штаммы <i>S. aureus</i> могут содержать также фаги, такие как профаг Ф-РVL, который продуцирует лейкоцидин Пантона-Валентайна (PVL), для увеличения вирулентности. Двухкомпонентный токсин РVL связан с тяжелой некротической пневмонией у детей. Эксфолиативные стафилококковые токсины - это экзотоксины, обладающие протеазной активностью и вызывающие стафилококковый синдром ошпаренной кожи (SSSS), который чаще всего встречается у младенцев и маленьких детей. Это может приводить к эпидемиям в яслях и больницах. Протеазная активность эксфолиативных токсинов вызывает шелушение кожи, наблюдаемое при SSSS. А α-стафилококковый токсин образует ионные каналы как в мембранах живых клеток-эритроцитах, лейкоцитах, так и в искусственных бислойных липидных мембранах.</p> | <p>Факторы патогенности:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Факторы адгезии и колонизации. 2. Способность к внутриклеточному паразитированию, препятствовать фагоцитозу, размножаться в клетках лимфоидной ткани выражены у возбудителей брюшного тифа, паратифов А и В, способствуя хроническому носительству. 3. Эндотоксин (ЛПС). 4. Термолабильные и термостабильные энтеротоксины. 5. Цитотоксины. 6. Существенное значение имеют плазмиды вирулентности и R- плазмиды. 7. Vi - антиген ингибирует действие сывороточных и фагоцитарных бактериоцидных факторов. <p>Основными факторами патогенности сальмонелл является их способность проникать в макрофаги и размножаться в лимфоидных образованиях собственно слизистого слоя тонкого кишечника (пейеровы бляшки, солитарные фолликулы), а также продукция эндотоксина.</p> <p>Патогенез поражений.</p> <p>Различия клинических форм заболеваний, вызываемых сальмонеллами, зависит от вирулентности и дозы возбудителя и состояния иммунной системы организма. Обычная доза, вызывающая клинические проявления - 10^6 - 10^9 бактерий, меньшая доза достаточна при иммунодефицитах, гипохлоргидрии и других заболеваниях желудочно - кишечного тракта.</p> <p>Выделяют следующие основные формы сальмонеллезной инфекции:</p> <ul style="list-style-type: none"> - гастроинтестинальную; - генерализованную (тифоподобный и септикопиемический варианты); - бактерионосительство (острое, хроническое, транзитное). <p>Существенные патогенетические особенности инфекционного процесса, вызываемого серотипами <i>S.typhi</i>, <i>S.paratyphi</i> А,В, являются основанием для выделения тифо- паратифозных заболеваний в самостоятельную нозологическую группу. Каждой фазе</p> |

| | | |
|--|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | <p>патогенеза соответствует клинический период заболевания и своя тактика лабораторного обследования. Основные фазы - внедрения возбудителя (соответствует инкубационному периоду), первичной локализации возбудителя (продромальный период), бактеремии (первая неделя заболевания), вторичной локализации сальмонелл (разгар заболевания - 2-3 недели), выделительно-аллергическая (реконвалесценция - 4 неделя заболевания). Проникшие через рот сальмонеллы попадают в эпителиальные клетки двенадцатиперстной и тонкой кишки посредством эндоцитоза. Они легко проникают в эпителиальные клетки, но не размножаются здесь, а проходят и размножаются в лимфатическом аппарате тонкого кишечника. Сальмонеллы размножаются преимущественно в lamina propria (первичная локализация), что сопровождается местной воспалительной реакцией слизистой оболочки, притоком жидкости в очаг поражения и развитием диарейного синдрома (гастроэнтерит).</p> <p>Энтеротоксины повышают уровень циклического аденомонофосфата (цАМФ), происходит повышение уровня гистамина и других биологически активных веществ, проницаемости сосудов. Наблюдаются водно - электролитные нарушения, развиваются гипоксия и ацидоз, которые усугубляют патологический процесс с преобладанием сосудистых расстройств. Происходит разрушение части сальмонелл с выделением эндотоксина, сенсбилизация (ГЗТ) лимфатического аппарата тонкого кишечника.</p> <p>Из слизистой оболочки сальмонеллы могут попадать в лимфо- и далее в кровоток, вызывая бактеремию. В большинстве случаев она носит транзитный характер, т.к. сальмонеллы элиминируются фагоцитами. В отличие от других сальмонелл, возбудители брюшного тифа и паратифов, проникнув в кровоток, способны выживать и размножаться в фагоцитах. Они могут размножаться в мезентериальных лимфоузлах, печени и селезенке и вызывать генерализацию процесса. После гибели фагоцитов сальмонеллы вновь поступают в кровь. При этом Vi- антиген ингибирует бактерицидные</p> |
|--|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

| | | |
|--|--|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | <p>факторы.</p> <p>При гибели сальмонелл освобождается эндотоксин, угнетающий деятельность центральной нервной системы (тиф - от греч. typhos - туман, спутанное сознание) и вызывающий длительную лихорадку. Действие эндотоксина может вызвать миокардит, миокардиодистрофию, инфекционно - токсический шок.</p> <p>В результате бактеремии происходит генерализованное инфицирование желчного пузыря, почек, печени, костного мозга, твердых мозговых оболочек (вторичная локализация сальмонелл).</p> <p>Происходит вторичная инвазия эпителия кишечника, особенно пейеровых бляшек. В сенсibilизированной сальмонеллами стенке развивается аллергическое воспаление с образованием основного грозного осложнения - брюшнотифозных язв. Наблюдается длительное носительство сальмонелл в желчном пузыре с выделением возбудителя с испражнениями, пиелонефриты, кровотечения и перфорации кишечника при поражении пейеровых бляшек. Затем происходит формирование постинфекционного иммунитета, элиминация возбудителя и заживление язв или формирование бактерионосительства (в Западной Сибири часто на фоне хронического описторхоза).</p> <p>Возбудителями сальмонеллезом являются другие серотипы сальмонелл, патогенные для человека и животных (<i>S.typhimurium</i>, <i>S.enteritidis</i>, <i>S.heldelberg</i>, <i>S.newport</i> и другие). В основе патогенеза сальмонеллезом - действие самого возбудителя (его взаимодействия с организмом хозяина) и эндотоксина, накапливающегося в пищевых продуктах, инфицированных сальмонеллами. В классическом варианте сальмонеллезная токсикоинфекция - гастроэнтерит. Однако при прорыве лимфатического барьера кишечника могут развиваться генерализованные и внекишечные формы сальмонеллезом (менингит, плеврит, эндокардит, артрит, абсцессы печени и селезенки, пиелонефрит и др.). Увеличение генерализованных и внекишечных форм сальмонеллезом связано с увеличением количества иммунодефицитных состояний, что имеет особое значение при ВИЧ- инфекции.</p> |
|--|--|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

| | | |
|--|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | <p>Отдельную проблему представляют госпитальные штаммы сальмонелл (чаще отдельные фаговары <i>S.typhimurium</i>), вызывающие вспышки внутрибольничных инфекций преимущественно среди новорожденных и ослабленных детей. Они передаются преимущественно контактно- бытовым путем от больных детей и бактерионосителей, обладают высокой инвазивной активностью, часто вызывая бактеремию и сепсис. Эпидемические штаммы характеризуются множественной лекарственной устойчивостью (R- плазмиды), высокой резистентностью, в том числе к действию высоких температур.</p> <p>Эпидемиологические особенности.</p> <p>Характерно повсеместное распространение. Основные резервуары сальмонелл - человек (возбудители брюшного тифа и паратифа А) и различные животные (остальные серотипы сальмонелл). Основные возбудители отличаются полипатогенностью. Основные источники заражения - мясные и молочные продукты, яйца, птице- и рыбопродукты. Основные пути передачи - пищевой и водный, реже - контактный. Характерна чрезвычайная множественность резервуаров и возможных источников инфекции. Основное значение имеют сельскохозяйственные животные и птицы.</p> |
|--|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

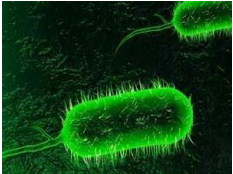
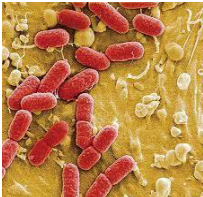

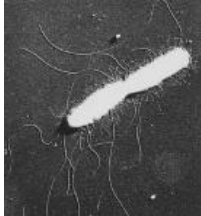


Контрольные вопросы

1. Какими методами пользуются для выделения чистых культур анаэробных микроорганизмов?
2. Перечислите основные описательные характеристики роста культур анаэробных микроорганизмов на плотных питательных средах.
3. Каковы особенности роста культур анаэробных микробов на жидких питательных средах?
4. Какими особенностям морфологии отличаются микроорганизмы *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*?
5. Назовите питательные среды, которыми чаще всего пользуются для посева культур микроорганизмов *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*.

Задание №3 Назвать причины проявления острых кишечных инфекций и микроорганизм, вызвавший инфекцию.

| Тип ОКИ | Микроорганизм (1-2 по выбору) | Клиническое проявление |
|----------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| Бактериальные | | |
| Вирусные | | |
| Простейшие | | |
| Отравление бактериальными токсинами (интоксикации) | | |
| Полиэтиологические кишечные инфекции | | |

Задание №4 По фотографии определить возбудителя острых кишечных инфекций, выбрав соответствующее его название.

| | | | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |  |  |  |
| <i>Vibrio cholerae</i> 2 | <i>Escherichia coli</i> 1 | <i>Shigella sonnei</i> 3 | <i>Salmonella enterica</i> 6 | <i>Yersinia pestis</i> 4 | <i>Salmonella typhimurium</i> 5 |

Выберите соответствующее название к каждой фотографии микроорганизма:

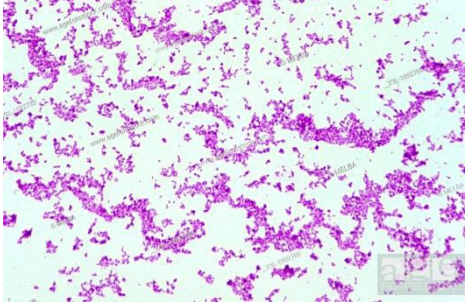
- 1) *Escherichia coli*
- 2) *Vibrio cholerae*
- 3) *Shigella sonnei*
- 4) *Yersinia pestis*
- 5) *Salmonella typhimurium*
- 6) *Salmonella enterica*

Задание №5 Характеристики воздушно-капельных инфекций. Установите соответствие между заболеваниями и клиническими признаками

| №п.п. | Заболевание | Микроорганизм возбудитель | Клинические признаки |
|-------|--------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. | Грипп | | А) Острое начало, выражены симптомы интоксикации, с первых дней болезни лимфаденопатия, тонзиллит, гепатоспленомегалия, часто возникает на фоне иммунодефицита. |
| 2. | Парагрипп | | Б) Острое начало, умеренно выраженная интоксикация, резко выражен катаральный синдром – ринофарингит, конъюнктивит, лимфаденопатия, может быть увеличение печени и селезенки. |
| 3. | Аденовирусная инфекция | | В) Острое начало, температура тела 38-39°C, выражены признаки интоксикации, трахеит, может быть геморрагический синдром. |
| 4. | Инфекционный мононуклеоз | | Г) Постепенное начало, субфебрильная температура, интоксикация менее выражена, трахеит, ларингит. |

Задание №4 Охарактеризовать возбудителя и формы дифтерии в зависимости от локализации местного воспалительного процесса.

| № п.п. | Форма дифтерии | Микроорганизм возбудитель | № п.п. | Локализации местного воспалительного |
|--------|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. | Дифтерийный круп | <i>Corynebacterium diphtheriae</i> - дифтерийная палочка, или бацилла Леффлера. <i>Corynebacterium diphtheriae</i> относится к роду | 1. | Процесс ограничен слизистой оболочкой гортани, при распространенной форме – задействована трахея, а при нисходящем крупе – бронхи. Нередко круп сопровождает дифтерию ротоглотки. |
| 2. | Дифтерия носа | <i>Corynebacterium</i> , входящего | 2. | Слизистая носа при осмотре изъязвлена, отмечают фибриновые налеты, при пленчатом варианте снимающиеся наподобие клочьев. Кожа вокруг ноздрей раздражена, могут отмечаться мацерации, корочки. Чаще всего дифтерия носа сопровождает дифтерию ротоглотки. |
| 3. | Дифтерия глаз | в группу коринеформных микроорганизмов. Название происходит от слова « <i>coryne</i> » (греческое - дубина, булава). Такое название эти бактерии получили благодаря имеющимся в клетках | 3. | Катаральный вариант проявляется в виде конъюнктивита (преимущественно |
| 4. | Дифтерия уха | утолщениям, так называемые зерна | | |
| 5. | Дифтерия половых органов | волютина. | | |

| | | | | |
|----|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | (анально-генитальная) |  | | одностороннего) с умеренным серозным отделяемым. Пленчатый вариант отличается формированием фибринозного налета на воспаленной конъюнктиве, отеком век и отделяемым серозно-гнойного характера. |
| 6. | Дифтерия кожи | | 4-6 | Характеризуются отеком и гиперемией пораженных тканей, регионарным лимфаденитом и фибринозными дифтерийными налетами. |
| 7. | Дифтерия комбинированная | | 7. | Одновременное поражение сразу нескольких органов. Возможно проявление гипертоксической формы и геморрагической формы. |

ПРИЛОЖЕНИЕ

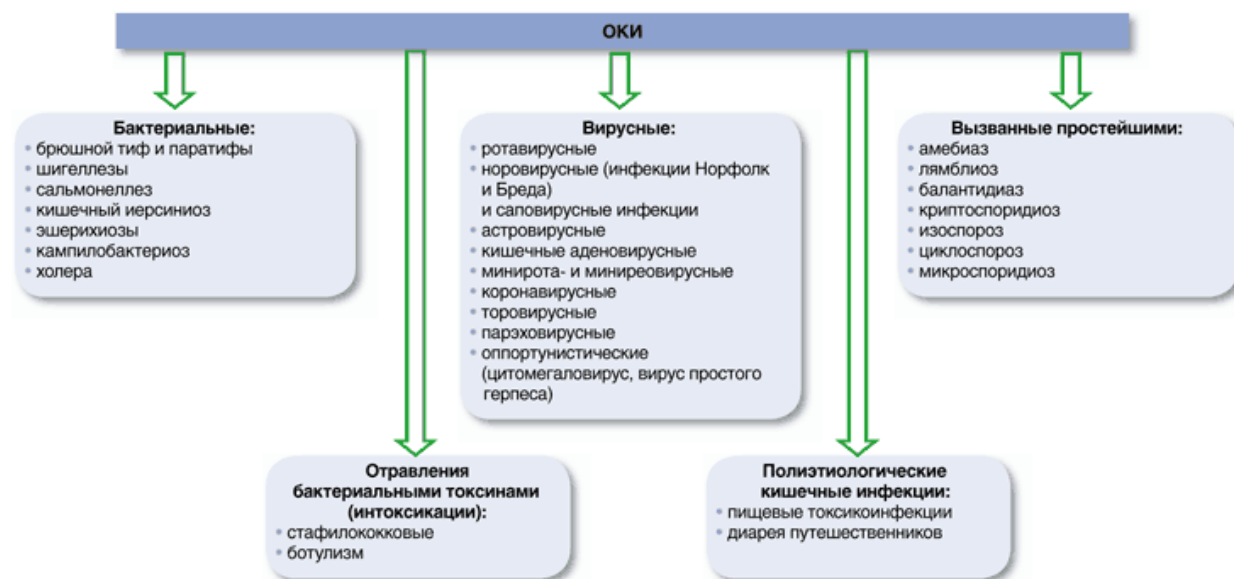


Рис. 1. Классификация ОКИ в зависимости от этиологического фактора

Острые кишечные инфекции (ОКИ) являются одними из самых актуальных инфекционных заболеваний в связи с повсеместной распространенностью и развитием у части больных состояния, представляющего непосредственную угрозу жизни. В развивающихся странах число заболевших достигает 3–5 млрд. человек в год, при этом 5–10 млн. больных умирают. Даже в такой развитой стране, как США, ежегодно регистрируется от 25 до 99 млн. случаев заболеваний, около 8 млн. пациентов требуют госпитализации и около 10 тыс. человек погибают. Особую актуальность ОКИ приобретают летом.

Патогенетические механизмы ОКИ связаны с особенностями возбудителей, которые используют несколько механизмов для преодоления противомикробной защиты организма хозяина. Такими механизмами являются адгезия, инвазия, продукция энтеротоксинов и цитотоксинов.

С помощью адгезии микроорганизмы колонизируют кишечник и способны в нем находиться и размножаться, несмотря на наличие перистальтики и механизмов антимикробной резистентности. Адгезия способствует уменьшению расстояния между кишечной стенкой и микроорганизмом, продуцирующим энтеротоксин, что повышает эффективность достижения энтеротоксином цели — клеток кишечника. У некоторых микроорганизмов (энтеротоксигенная *E.coli*) механизм адгезии реализуется с помощью поверхностных структурных белков, у других (энтеропатогенная *E.coli*) — с помощью фактора адгезии.

В ходе реализации механизма инвазии вначале осуществляется адгезия, а затем инвазия слизистой оболочки кишечника возбудителем ОКИ, развивается воспалительная реакция, морфологическим результатом которой может быть гибель клеток эпителия, а клиническими проявлениями — лихорадка, спастические сокращения кишечника, боли в животе, клинические признаки дизентерии.

Механизм инвазии характерен для шигелл, сальмонелл, кампилобактерий.

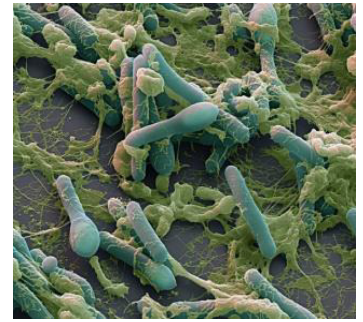
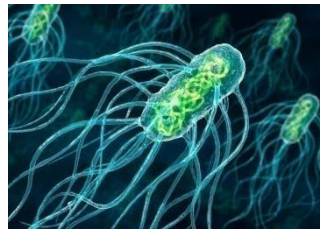
Продукция энтеротоксинов характерна для *Vibrio cholerae*. Она облегчается с помощью прикрепления возбудителя к клеткам слизистой кишечника. Энтеротоксин стимулирует внутриклеточную систему аденилатциклазы, что приводит к активной секреции электролитов и интерстициальной жидкости в просвет кишечника. Стенка кишечника остается морфологически интактной, однако значительный объем секретлируемой жидкости в течение нескольких часов может приводить к выраженному жизнеугрожающему обезвоживанию.

Некоторые бактерии способны продуцировать цитотоксины. Шигеллы (*Shigella dysenteriae*) обладают способностью выделять классический тип цитотоксина, который называется токсином Шига.

Энтерогеморрагические *E.coli* серотипа O157, энтеропатогенные *E.coli* и *Vibrio parahemolyticus* также способны продуцировать подобный токсин.

Таким образом, ОКИ имеют существенные различия в структуре возбудителей, механизмах патогенеза и способности к инвазии.

Фактором, снижающим вероятность ОКИ, является низкий уровень pH желудочного сока, который вызывает гибель попавших в желудок возбудителей ОКИ. Нормальная бактериальная флора также затрудняет размножение патогенной кишечной флоры в результате конкуренции за питательные вещества. Микроорганизмы, представляющие нормальную флору кишечника, способны выделять жирные кислоты с короткими цепями, приводящие к ингибированию роста патогенной флоры.



Шигеллы *Esbl Bacterial Infection* **Сальмонеллы** *Identifying Salmonella*.

Клостридии *Clostridium botulinum*

В настоящее время принято классифицировать кишечные инфекции по этиологическому фактору, подтвержденному на основании лабораторных методов диагностики, что позволяет выявлять нозологические формы ОКИ (шигеллез, сальмонеллез и др.). При отсутствии лабораторного подтверждения диагноз верифицируется по топической локализации патологического процесса (гастрит, энтерит, гастроэнтерит, колит и др.). В этом случае диагноз ОКИ устанавливается на основании клинико-эпидемиологических данных как «кишечная инфекция неустановленной этиологии» с обязательным указанием (как и при лабораторном подтверждении) локализации поражения (энтерит, колит и др.) и ведущего клинического синдрома, определяющего тяжесть заболевания (токсикоз с эксикозом, нейротоксикоз, инфекционно-токсический шок и др.). Для построения рациональной, этиопатогенетически обоснованной терапии ОКИ в начальном периоде заболевания (до получения результатов лабораторных исследований) рекомендуется использовать классификацию диарейных заболеваний ВОЗ. В соответствии с этой классификацией выделяют следующие типы диареи по единому пусковому механизму развития: инвазивные, секреторные, осмотические и смешанные (табл. 1).

Таблица 1

| Тип диареи и топический диагноз | Возбудители | Клинические синдромы |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Инвазивный (экссудативная диарея) — гастрит — энтерит — гастроэнтерит — колит — энтероколит — гастроэнтероколит | Шигеллы Сальмонеллы Эшерихии (ЭПЭ, ЭИЭ) Иерсинии Кампилобактер Клостридии Клебсиеллы Синегнойная палочка Стафилококк Энтеробактер, протей и др. УПМ | Синдром нейротоксикоза (токсическая энцефалопатия) Синдром дегидратации (токсикоз с эксикозом) Инфекционно-токсический шок Токсико-септический или токсико-дистрофический синдром |
| — дистальный колит — «гемоколит» | Шигеллы Сальмонеллы Энтероинвазивные эшерихии Некротоксинпродуцирующие штаммы клостридий, кампилобактера, протей, синегнойной палочки Энтерогеморрагические эшерихии и продуцирующие токсин Шига штаммы шигелл, сальмонелл, иерсиний и др. | Гемолитико-уремический синдром (Гассера) |
| 2. Секреторный («водянистая» диарея без явлений метеоризма) — энтерит — гастроэнтерит | Холерные (Эль-Тор, Бенгал), галофильные, НАГ-вибрионы Энтеротоксигенные штаммы: — эшерихий (ЭТЭ) — клебсиелл пневмония — клостридий — кампилобактера — сальмонелл — иерсиний — стафилококка — протеев — синегнойной палочки | Синдром дегидратации (токсикоз с эксикозом) |
| 3. Осмотический («водянистая» диарея с явлениями метеоризма) — энтерит — гастроэнтерит | Ротавирусы, астро-, калици-, торо- и вирусы группы Норфолка Респираторно-кишечные — корона-, адено- и реовирусы | Синдром дегидратации (токсикоз с эксикозом) |
| 3. Смешанный тип (инвазивно-секреторный, инвазивно-осмотический) | Бактериально-бактериальная или вирусно-бактериальная микст-инфекция | Возможно развитие любого клинического синдрома |

В основе этиопатогенеза и пускового механизма диареи и инфекционного процесса при ОКИ бактериальной этиологии инвазивного типа, лежат воспалительный процесс в любом отделе ЖКТ. Это так же эндотоксикоз (токсемия) секреторного типа (гиперсекреция воды и электролитов за счет продукции патогенами энтеротоксина); дегидратация осмотическая (дисахаридазная, в основном лактазная) недостаточность, бродильный процесс (метеоризм); дегидратация за счет нарушения всасывания воды и электролитов в кишечнике.

Смешанный тип диареи имеет место, как правило, при микст-инфекции (бактериально- или вирусно-бактериальной).

Определение типа диареи не только может опосредованно указывать на возможный этиологический фактор, но и позволяет дифференцированно подходить к построению первоначальной терапевтической тактики даже при одной и той же нозологической форме кишечной инфекции.

По данным многочисленных исследований, одни и те же возбудители ОКИ, перечень которых представлен в классификации (например, сальмонеллы, кампилобактер, стафилококк, клостридии и др.). Они могут вызывать в одних случаях инвазивный тип диареи с развитием воспалительного процесса в кишечнике, а при инфицировании штаммами этих же бактерий, способными продуцировать энтеротоксины, секреторный или смешанный тип диареи.

При построении терапевтической тактики при ОКИ следует также учитывать, что осмотический компонент (бродильный процесс в кишечнике) может развиваться в динамике заболевания и при инвазивном типе диареи за счет ферментативной недостаточности в результате воспалительного процесса или недостаточности внешнесекреторной функции поджелудочной железы. Поэтому традиционно используемый в клинической практике только нозологический подход к построению терапевтической тактики в начальном периоде ОКИ следует считать не всегда оправданным.

Особой формой ОКИ является диарея путешественников. О ней говорят, если имеет место три и более случая неоформленного стула в сутки при перемене места постоянного жительства.

Возбудителями диареи путешественников могут быть все известные кишечные патогены в зависимости от их превалирования в отдельных географических регионах.

В 25–60 % случаев причиной диареи путешественников является токсигенная и патогенная *E.coli*, способная выделять холероподобный токсин. Среди других бактериальных патогенов, прямо влияющих на эпителий кишечника, при диарее путешественников часто выделяют *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Proteus spp.*, *Klebsiella enterocolitica* и энтероагрегативную *E.coli*.

Некоторые бактерии, такие как *Staphylococcus*, могут вызывать диарею путешественников без инфицирования желудочно-кишечного тракта. В этих случаях микроб активно развивается в пище, где и вырабатывает токсин, который, попадая в желудочно-кишечный тракт, вызывает симптомокомплекс пищевого отравления. Диарею с подобной клинической картиной могут также вызвать выделяющие экзотоксин палочки семейства *Clostridia*. Значительно реже причиной заболевания становятся простейшие микроорганизмы: *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium jejuni* и *Cyclospora cayetanensis*. В 10–40 % случаев диарея путешественников имеет вирусную этиологию.

Диарея путешественников редко представляет угрозу жизни или развития тяжелых осложнений для здоровья больного.

Наиболее серьезный прогноз заболевания у пациентов так называемой группы риска неблагоприятного исхода диареи путешественников — лиц старше 65 лет и моложе 6 мес.; больных с приобретенным иммунодефицитом (СПИД, длительная терапия кортикостероидами, химиотерапевтическими средствами, алкоголизм и т.д.), с высоким риском генерализации инфекции и сепсиса; пациентов с онкологической патологией, сахарным диабетом, ИБС, почечной недостаточностью и другими хроническими заболеваниями в стадии декомпенсации.

Выраженность симптомов диареи путешественников варьирует от частого кровавого поноса с сильной болью в животе и развитием обезвоживания до относительно легко переносимой невыраженной водянистой диареи. Типичными клиническими признаками являются острая профузная диарея; обезвоживание; интоксикация; боль в животе; лихорадка; примесь крови в испражнениях.

Наиболее часто имеет место диарея без крови в стуле и выраженной дегидратации. Поскольку этот клинический вариант заболевания в большинстве случаев развивается при инфицировании *E.coli* и заболевание протекает нетяжело, назначение антибактериальной терапии в типичных случаях не требуется и даже нежелательно до микробиологического исследования фекалий и выделения

возбудителя. Тем не менее пациентам группы риска целесообразно назначить антибиотики вне зависимости от доступности микробиологического исследования стула.

При кровавистой диарее, напротив, во всех случаях целесообразно как можно раньше, не дожидаясь результатов клинического и микробиологического исследования фекалий, назначить эмпирическую антибиотикотерапию. Доказано, что назначение антибиотиков больным из группы риска приводит к сокращению длительности заболевания, периода носительства патогенов и уменьшает риск бактериемии и летального исхода.

Неэпидемическую водянистую диарею с обезвоживанием, или холероподобный вариант диареи путешественников, наиболее часто вызывает энтеротоксигенная *E.coli*. Обычно подобная диарея протекает легче, чем холера.

При вирусной этиологии диареи целостность слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта в большинстве случаев не нарушается и в процесс редко вовлекается толстая кишка. Острый вирусный гастроэнтерит обычно сопровождается выраженной тошнотой и рвотой, лихорадкой и нарушением общего состояния больного, однако редко приводит к тяжелой интоксикации, развитию выраженной воспалительной реакции и дегидратации организма больного.

Продолжительность заболевания, как правило, не превышает 3 дней, и часто его трудно дифференцировать с острой пищевой интоксикацией.

Диарея путешественников редко может быть вызвана острой паразитарной инфекцией — амебиазом, лямблиозом, балантидиазом. Паразитарные инфекции редко манифестируют в течение такого короткого отрезка времени, как обычная туристическая поездка, поскольку инкубационный период при заражении *Giardia* или *E.histolytica* длится 7–14 дней. Таким образом, риск инфицирования простейшими возрастает пропорционально длительности поездки.

В отличие от бактериальной начало и течение паразитарной диареи носят более плавный характер, без профузной диареи и выраженной отрицательной динамики состояния на протяжении ряда дней или даже недель. В развернутой фазе паразитарная диарея может протекать более тяжело.

Так, амебный колит характеризуется сильнейшей болью в животе, лихорадкой и кровавой диареей, угрожающей перфорацией толстой кишки. Генерализация амебиаза сопровождается септикопиемией с образованием абсцессов печени, легких или головного мозга и крайне неблагоприятным прогнозом для жизни больного. Острый лямблиоз приводит к развитию острого энтероколита, сопровождающегося выраженной диареей. Доказано, что клиническая картина амебной дизентерии развивается приблизительно у 10 % инфицированных амебой и у 25–50 % инфицированных лямблией пациентов.

При осмотре и исследовании больного в первую очередь следует определить степень обезвоживания и угрожающее жизни нарушение жизненно важных функций (температура тела, ЧСС, АД, тургор кожи, сухость слизистых, «западание» глаз, диурез) и принять решение о необходимости госпитализации больного.

Госпитализировать пациента с ОКИ нужно в том случае, если у него имеют место кровавая диарея, выраженное и не поддающееся амбулаторному лечению обезвоживание, тяжелое состояние, критический возраст; имеются тяжелые сопутствующие заболевания; есть подозрение на острое хирургическое заболевание органов брюшной полости, требующее хирургического вмешательства; есть подозрение на неинфекционный генез диареи; имеется риск эпидемического заболевания или эпидемическая опасность.

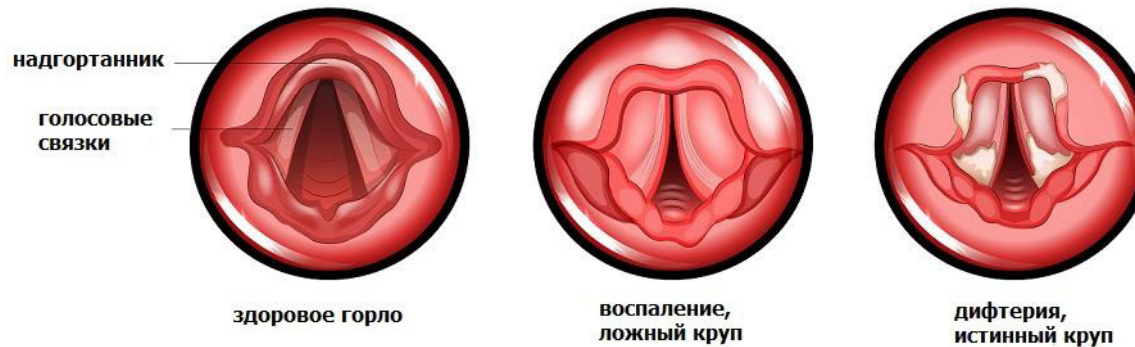
Лечение кишечных инфекций должно быть комплексным и поэтапным. В остром периоде заболевания назначается диета с разгрузкой в питании на 30–50 % от физиологической потребности. При наличии частой рвоты у детей раннего возраста назначается дробное дозированное питание. У детей старшего возраста и взрослых из питания исключаются продукты, которые могут вызвать повышенное газообразование или обладают послабляющим действием (черный хлеб, цельное молоко, бобовые, свекла, мясные и рыбные бульоны и др.). При наличии частой рвоты эффективными являются разгрузка в питании и промывание желудка, особенно при пищевом пути инфицирования, а при отсутствии эффекта назначаются противорвотные препараты.



| | <i>Сальмонелла</i> | <i>Шигелла</i> | <i>Иерсиния</i> | <i>Патогенная E.coli</i> | <i>Холерный вирион</i> |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Патогенез | <p>✓ Брюшной тиф и паратифы - системные инфекции</p> <p>1. Трансцитоз через эпителий в подслиз.оболочку 2. Незавершенный фагоцитоз; размножение в макрофагах 3. Транспорт в регионар.лимфоузлы: воспаление и сенсбилизация 4. С током лимфы >> в грудной проток >> в кровь = Бактериемия (1я неделя) 5. (!) тропизм к желчи мигрируют в печень (2я неделя), размножение 6. 3я неделя Вместе с желчью >> в 12перстную кишку -> ОСТРЫЙ иммунный ответ (сенсаб-е лимфоциты), воспаление, может привести к перфорации кишечной стенки и внезапной смерти.</p> <p>✓ Сальмонеллёз Локальная кишечная инфекция</p> | <p>Вызывает локальное поражение толстой кишки + интоксикацию</p> <p>1. Трансцитоз через эпителий в подслиз.оболочку 2. Незавершенный фагоцитоз, апоптоз макрофагов, развитие воспаления. 3. ШИГА-токсин (или ШПТ) попадает в кровь, поражает внутренние органы, в том числе почки - появление крови в моче 4. Шигеллы инвазируют колоноциты со стороны баз.мембраны, размножаются в них и распространяются транскеллюлярно (белок межклет.распространения), выз-я некроз и кровавую диарею.</p> | <p>✓ Псевдотуберкулез А. Локальный =Мезентериальный лимфоаденит 1. Повреждение эпителия кишки путем трансцитоза + цитотоксином 2. Незавершенный фагоцитоз 3. Транспорт в лимф.узлы, размножение с развитием воспаления. 4. Цитотоксин</p> <p>Б. Генерализованный Прорыв лимф.барьера >> попадают в кровь = Бактериемия Иерсинии током крови разносятся в различные органы, образуют - гранулемы. Наиболее часто поражаются суставы, легкие, печень Это также приводит к аллергизации организма (по типу ГЗТ).</p> <p>✓ Кишечный иерсиниоз = Локальный мезентериальный лимфоаденит с поражением толстой и тонкой кишки</p> | <p>3. Энтерогеморрагические ЭГКП Выз-т Инвазивную диарею с геморрагич.синдромом</p> <ul style="list-style-type: none"> • Шигаподобный токсин • Веротоксин • Гемолизин <p>4. Энтеротоксигенные ЭТКП Выз-т Холероподобный гастроэнтерит (Диарея путешественников)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Пили IV типа • Энтеротоксины: - термолабильный -термостабильный | <p>Вызывает секреторную диарею</p> <p>1. Образует био пленку на поверхности эпителия, из-за нее нарушается всасывание в кишечнике. 2. Выделяет энтеротоксин >> вызывает секреторную диарею</p> <p>Тяжелое обезвоживание может заканчиваться летально, т.к. резко нарушается работа сердечно-сосудистой сис-мы и почек</p> |
| Материал для исследования | <p>Брюш.тиф/Паратифы: 1 нед: кровь для посева 2-3 нед: фекалии,моча,желчь,</p> | <p>Испражнения: Гнойно-слизисто-кровяные участки</p> | <p>Испражнения, удаленные лимфоузлы,аппендикс,</p> | <p>Испражнения</p> | <p>Испражнения, рвотные массы</p> |

Воздушно-капельные инфекции

Истинный (дифтерийный) круп и ложный круп



Классификация клинических форм дифтерии

| Локализация патологического процесса | Распространенность патологического процесса | Тяжесть инфекции и особенности ее течения | Осложнения |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Дифтерия ротоглотки | Локализованная: островчатая, пленчатая. Распространенная. | Субтоксическая, токсическая (I, II, III степени), гипертоксическая, токсико-геморрагическая. | Инфекционно-токсический шок, геморрагический синдром, сердечно-сосудистая недостаточность, миокардит (ранний, поздний), полинейропатия (ранняя, поздняя), инфекционно-токсическое поражение почек. |
| Дифтерия дыхательных путей | Локализованная: носа, гортани. Распространенная: А (гортани, трахеи), Б (трахеи, бронхов, бронхиол). | Катаральный, стенотический, асфиксический периоды. | Дыхательная недостаточность, стеноз I, II, III степени, асфиксия. |

| | | | |
|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Комбинированная дифтерия ротоглотки и дыхательных путей, и др. | Локализованная, распространенная. | Токсическая I, II, III степени, гипертоксическая, токсикогеморрагическая. | См. дифтерию ротоглотки и дыхательных путей. |
| Дифтерия глаза и другой редкой локализации (половых органов, кожи, раны). | Конъюнктивит век, глазного яблока, панфталмит. Локализованная, распространенная | Крупозная, дифтеритическая. | - |

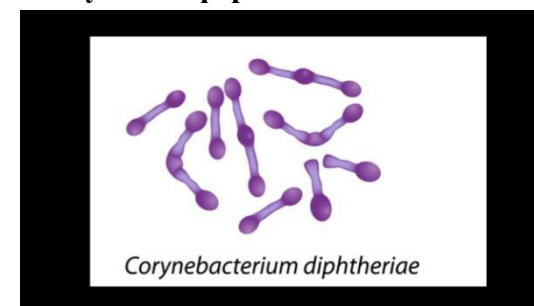
Локализованная дифтерия ротоглотки может быть островчатой и пленчатой.

Для островчатой формы характерно постепенное начало заболевания. Появляются небольшая слабость, повышение температуры тела до 37,5-37 °С, нерезкая головная боль и незначительные боли в горле, усиливающиеся при глотании.

Дифтерия различается в зависимости от локализации поражения и клинического течения на следующие формы:

- дифтерия ротоглотки (локализованная, распространенная, субтоксическая, токсическая и гипертоксическая);
- дифтерийный круп (локализованный круп гортани, распространенный круп при поражении гортани и трахеи и нисходящий круп при распространении на бронхи);
- дифтерия носа, половых органов, глаз, кожи;
- комбинированное поражение различных органов.

Локализованная дифтерия ротоглотки может протекать по катаральному, островчатому и пленчатому варианту. Токсическая дифтерия подразделяется на первую, вторую и третью степени тяжести.



Колонії *Corynebacterium diphtheriae* біовар "gravis"

Corynebacterium diphtheriae (фарбування за Нейссером)

Колонії *Corynebacterium diphtheriae* біовар "mitis"

Реакція преципітації в агарі для визначення дифтерійного екзотоксину (тест імунодифузії Ілека)

Практическая работа №13

Протозойные и грибковые инфекции

Цель работы: изучить возбудителей протозойных кровяных инвазий и инвазий мочеполовых путей; знать источники инвазий, пути заражения, жизненный цикл паразитов, основные проявления врожденных и приобретенных токсоплазмозов; изучить характерные клинические проявления протозойных инфекций.

Изучить грибковые инфекции, знать возбудителей грибковых инфекций; определять источники инфекций и пути заражения грибковыми инфекциями; знать характерные клинические проявления грибковых инфекций и способы профилактики.

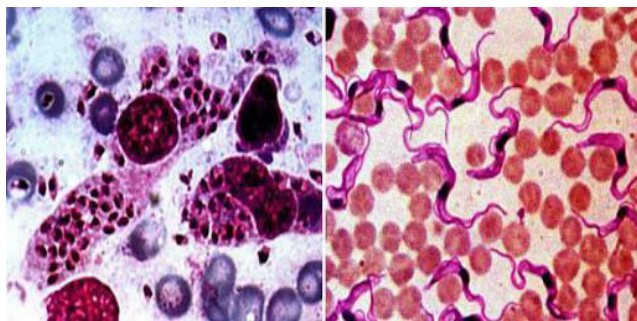
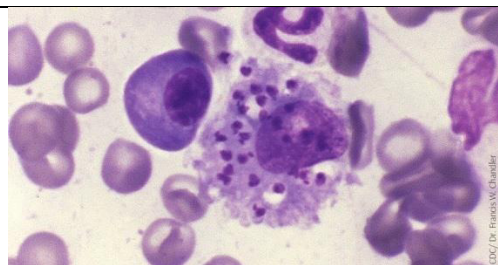
Протозойные инфекции

Ход работы

Задание №1 Назвать и описать возбудителей протозойных инфекций

| Возбудитель протозойной инфекции | Фотография (рисунок) возбудителя протозойной инфекции | Характерное клиническое проявление протозойной инфекции |
|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Лямблиоз <i>Giardia lamblia</i> |  | <p>Заболевание, вызывается лямблиями и поражающей кишечник человека. Лямблиоз может протекать бессимптомно, в этом случае заболевание выявляется случайно, после проведения лабораторных исследований. Клинически заболевание проявляется умеренными болями в животе, вздутием живота, тошнотой, изжогой, расстройством стула. У человека, зараженного лямблиями, могут наблюдаться повышенная утомляемость, нарушение аппетита, снижение массы тела, бледность кожных покровов, мышечные подергивания.</p> <p>В случае гибели лямблий, продукты их распада всасываются из кишечника и способствуют возникновению различных форм аллергических реакций: кожного зуда, крапивницы, бронхиальной астмы.</p> <p>Значительную роль в развитии заболевания играет состояние слизистой оболочки тонкой кишки и кислотность желудочного сока. У людей с пониженной кислотностью желудочного сока, нарушением слизистой оболочки кишечника, риск заражения лямблиозом, а также тяжесть клинических проявлений возрастают.</p> |

Лейшманиоз
Leishmania infantum



Лейшманиоз — это тропическое паразитарное заболевание, вызываемое простейшими рода *Leishmania*. Характерной особенностью лейшманиоза является нарушение иммунитета. Резервуаром простейших являются люди, домашние и дикие животные, а переносчиком являются комары. Инфицирование человека обычно происходит в результате укусов комаров. Также заразиться можно через кровь, например, переливание. После попадания в организм простейшие *Leishmania* заражают лейкоциты в результате чего распространяется в печень, селезенку, костный мозг.

В последнее время наблюдается угроза протозойной инфекции *Leishmania* среди ВИЧ-инфицированных людей. В свою очередь, лейшманиоз у пациентов, живущих с ВИЧ, ускоряет прогрессирование заболевания до СПИДа.

Инкубационный период симптомов заболевания длительный, от нескольких недель до нескольких месяцев. Первым симптомом является кровотечение из носа. Затем происходит развитие болезненных язв внутри слизистых оболочек, разрушение тканей носа, неба, губ, гортани, что приводит к обезображиванию и потере трудоспособности. Через много лет воспалительные и язвенные поражения могут развиваться в слизистой оболочке верхних дыхательных путей.

При кожном лейшманиозе поражения обычно появляются в течение нескольких недель после укуса. Первым симптомом является покрасневшая папула диаметром до 2 см, которая превращается в характерную язву с некрозом и струпьями. Обычно наблюдается увеличение близлежащих лимфатических узлов.

Балантидоз
Balantidium coli



Возбудителем балантидоза является балантидий кишечный - единственный представитель инфузорий, паразитирующий в толстом кишечнике человека. Заболевание характеризуется изъязвлениями стенки толстой кишки с признаками общей интоксикации организма, но чаще протекает с незначительными клиническими проявлениями или вовсе бессимптомно. Источниками заболевания являются свиньи. Человек заболевает, как правило, при употреблении немытых овощей, ягод и зелени, где в качестве удобрений использовались свиные фекалии.

Возникновению признаков заболевания способствует ряд факторов: нарушение питания, снижение активности иммунной системы, переохлаждение организма, воспалительные заболевания кишечника и другие. В местах локализации паразитов возникает воспалительно-язвенный процесс, происходит отмирание клеток кишечника с образованием язв. У больных возникает общая интоксикация, появляются боли в животе, понос, в фекалиях – слизь и кровь. Наиболее опасными осложнениями балантидоза являются прободение язв с развитием перитонита и кишечные кровотечения.

Амебиоз
Entamoeba histolytica

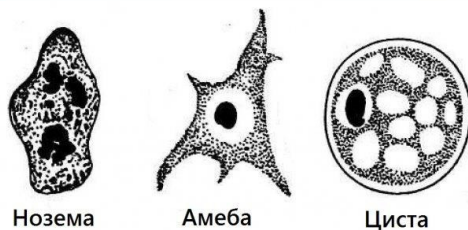
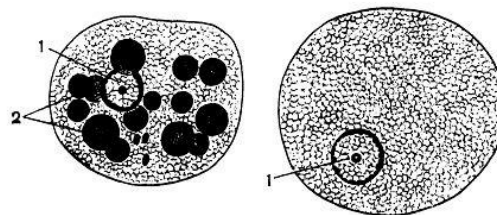


Рис. 18. Дизентерийная амеба (*Entamoeba histolytica*):
слева — амеба с заглоченными красными кровяными клетками;
справа — амеба без эритроцитов; 1 — ядро; 2 — эритроциты.



Возбудителем амебиоза является дизентерийная амеба, обитающая в кишечнике человека. Заболевание характеризуется частым водянистым стулом с примесью крови и слизи, болями в животе, лихорадкой и обезвоживанием организма.

Заболеваемость амебиозом довольно высока - ежегодно регистрируются несколько сотен миллионов больных во всех странах. Для нескольких десятков тысяч больных заболевание заканчивается летальным исходом. В России эндемичными районами являются Закавказье, Калмыкия, Астраханская область и районы, примыкающие к среднеазиатским республикам.

Если место обитания амебы в просвете толстой кишки, то паразитирование не приводит к возникновению клинических признаков заболевания. Если же дизентерийная амеба проникает в ткани слизистой оболочки толстой кишки, то образуются язвы. У больных появляются сильные боли в животе, развивается диарея (до 15 и более раз в сутки). Отличительный признак амебиоза — стул напоминает слизь и окрашен кровью («малиновое желе»). При разрушении сосудов стенки кишечника может возникнуть массивное кровотечение.

Больные амебной дизентерией подлежат обязательной госпитализации.

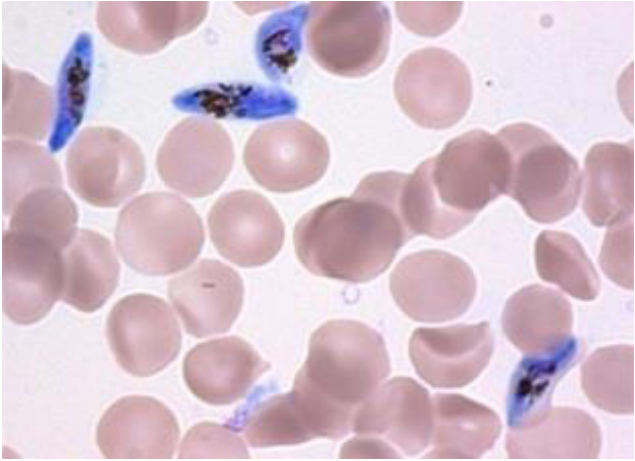
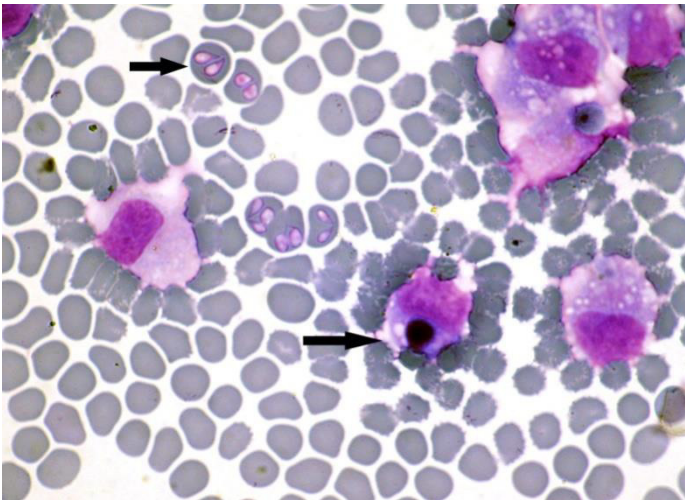



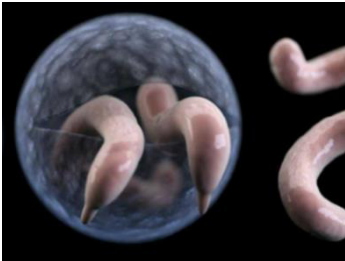
Токсоплазмоз
Toxoplasma gondii



Возбудителем токсоплазмоза является токсоплазма. Заболевание характеризуется хроническим течением, поражением нервной системы, увеличением печени и селезенки, поражением скелетных мышц и миокарда. Цикл развития токсоплазмы довольно сложный: происходит не только со сменой хозяев, но и чередованием жизненных стадий паразита. Окончательные хозяева паразита – представители семейства кошачьих - американская рысь, бенгальский тигр и домашние кошки.

Большинство случаев токсоплазмоза протекает бессимптомно. На характер проявлений заболевания существенное влияние оказывает общее состояние организма, а также активность иммунной системы. У лиц с нарушениями иммунной системы заболевание приобретает особенно тяжелый характер. Увеличение количества очагов размножения паразита приводит к воспалительным изменениям в органах с последующим отмиранием тканей. Наиболее частое и грозное осложнение токсоплазмоза – энцефалит, летальность при котором достигает до 90%.

| | | |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Малярия <i>Plasmodium Anopheles</i></p> |  | <p>Малярия (итал. <i>mala aria</i> — «плохой воздух»), ранее известная как «болотная лихорадка») — группа трансмиссивных инфекционных заболеваний, передаваемых человеку при укусах самками комаров рода <i>Anopheles</i> («малярийных комаров»), вызывается паразитическими протистами рода <i>Plasmodium</i>, преимущественно <i>Plasmodium falciparum</i>. Малярия сопровождается лихорадкой, ознобами, спленомегалией (увеличением размеров селезёнки), гепатомегалией (увеличением размеров печени), анемией. Характеризуется хроническим рецидивирующим течением.</p> <p>Для малярии существуют три следующих механизма передачи инфекции: трансмиссивный, через укусы комаров — комар кусает больного, затем кусает здорового человека и заражает его — наиболее распространенный путь; гемоконтактный, напрямую через кровь — при переливании крови, трансплантации органов или совместном использовании шприцев; трансплацентарный — от матери плоду во время беременности («врожденная» малярия), т. н. вертикальный путь.</p> |
| <p>Бабезиоз <i>Babesia canis</i></p> |  | <p>Бабезиозы (бабезиеллёзы) (лат. <i>Babesiosis</i>) — инвазионные трансмиссивные болезни животных и человека, вызываемые простейшими рода бабезия.</p> <p>Болезни протекают с проявлениями лихорадки, анемии, желтухи, гемоглинурии. Наибольшее ветеринарное значение имеют бабезиозы мелкого и крупного рогатого скота, а также собак. Возможно заболевание человека.</p> <p>Передаётся через укусы клещей почти всех родов семейства Ixodidae, наиболее известны как передатчики клещи родов <i>Dermacentor</i>, <i>Rhipicephalus</i>, <i>Nyalomma</i>. Передача происходит через слюну во время питания клеща.</p> <p>Естественным резервуаром возбудителей в природе служат больные бабезиозом животные. Промежуточные резервуары — мелкие грызуны.</p> <p>Переболевшие животные в течение 2-3 лет невосприимчивы к повторному острому заражению, но при этом остаются бессимптомными носителями и являются источником</p> |




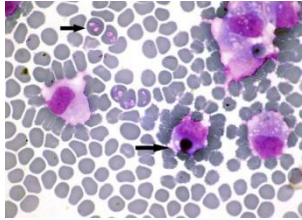

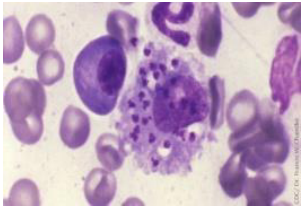
| | | |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | <p>заражения для клещей. Во многих эндемичных районах заражено большинство или всё поголовье скота. Собаки могут болеть бабезиозом (пироплазмозом) ежегодно или даже по 2 раза в год.</p> |
| <p>Криптоспоридиоз <i>Cryptosporidium parvum</i></p> |   | <p>Криптоспоридиоз является инвазивным паразитарным заболеванием, вызванным простейшими рода <i>Cryptosporidium</i>. Инфекции встречаются у людей и многих видов животных, а инвазивная форма простейших выделяется с фекалиями. Криптоспоридиоз характеризуется водянистой диареей различной интенсивности и приступообразными спазмами в животе. Другие симптомы, связанные с инфекцией, включают в себя: головные боли, слабость, мышечная боль, тошнота, потеря аппетита, рвота, усталость, лихорадка.</p> |

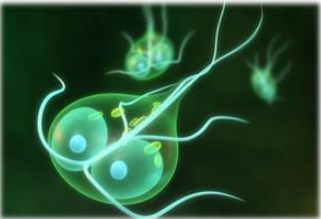
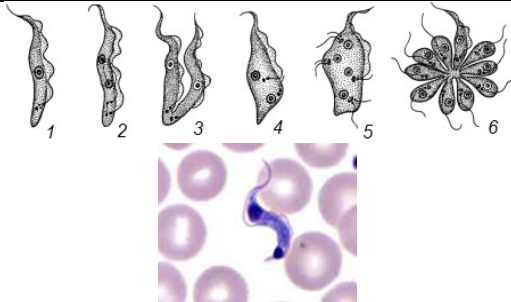

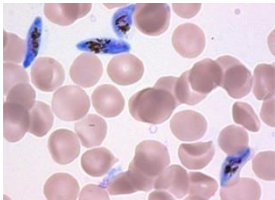

Вывод:**Профилактика паразитозов**

Чтобы не допустить заражения простейшими, нужно соблюдать несколько правил, а именно:

- Соблюдать простейшие правила личной гигиены, в том числе мытье рук после улицы, перед едой, после контакта с деньгами и животными.
- Стараться избегать контакта с бродячими животными, а при наличии у вас питомца регулярно посещать ветеринарную клинику. Обязательно проводить курсы дегельминтизации животных с периодичностью, рекомендуемой ветеринаром.
- Тщательно мыть фрукты, овощи, ягоды, даже если они с Вашего приусадебного участка.
- Не пить воду и не мыть посуду и продукты питания водой, в безопасности которой Вы не уверены.
- Употреблять в пищу только продукты, которые прошли необходимую термическую обработку.
- Обеспечить защиту от насекомых на Вашей кухне. Например, закрывать москитной сеткой оконные проемы, накрывать готовые блюда.
- Не есть вяленую или сушеную рыбу домашнего приготовления.
- Не употреблять домашнее соленое сало.

Задание №2 По фотографии определить возбудителя протозойной инвазии, выбрав соответствующее его название

| | | | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |  |  |  |
| Криптоспоридиоз <i>Cryptosporidium parvum</i> 2 | Токсоплазмоз <i>Toxoplasma gondii</i> 1 | Амебиоз <i>Entamoeba histolytica</i> 3 | Бабезиоз <i>Babesia canis</i> 10 | Балантидоз <i>Balantidium coli</i> 4 | Лейшманиоз <i>Leishmania infantum</i> 7 |

| | | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |  |  |
| <p align="center">Лямблиоз <i>Giardia lamblia</i> 9</p> | <p align="center">Болезнь Шагаса <i>Trypanosoma cruzi</i> 6</p> | <p align="center">Изоспороз <i>Isospora belli</i> 11</p> | <p align="center">Малярия <i>Plasmodium Anopheles</i> 5</p> | <p align="center">Саркоцистоз <i>Sarcocystis</i> 8</p> |

Выберите соответствующее название к каждой фотографии микроорганизма:


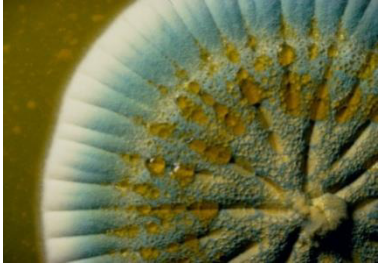

- 1) *Toxoplasma gondii*
- 2) *Cryptosporidium parvum*
- 3) *Entamoeba histolytica*
- 4) *Balantidium coli*
- 5) *Plasmodium Anopheles*
- 6) *Trypanosoma cruzi*

- 7) *Leishmania infantum*
- 8) *Sarcocystis*
- 9) *Giardia lamblia*
- 10) *Babesia canis*
- 11) *Isospora belli*

Грибковые инфекции

Ход работы

Задание №3 Охарактеризовать возбудителей грибковых инфекций

| Возбудитель грибковой инфекции | Рисунок | Характеристика возбудителя грибковой инфекции |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p style="text-align: center;">Кандидоз <i>Candida albicans</i></p> |  | <p>Candida albicans — диплоидный грибок, способных к спариванию, но не в форме мейоза, возбудитель оппортунистических инфекций человека, которые передаются через рот и гениталии. Систематические грибковые инфекции являются важными причинами заболевания и смертности пациентов с иммунодефицитом.</p> |
| <p style="text-align: center;">Пеницилл <i>Penicillium Fungus</i></p> |  | <p>Пеницилл, также пенициллий, пенициллиум (лат. <i>Penicillium</i>), — род грибов-аскомицетов, относящийся к семейству Aspergillaceae порядка Эуроциевые (Eurotiales). ... С эколого-трофической точки зрения, виды рода — сапротрофы и слабые паразиты растений. Отдельные виды используются в сыроварении — <i>Penicillium roqueforti</i> и Р.</p> |
| <p style="text-align: center;">Аспергилл <i>Aspergillus fumigatus</i></p> |  | <p>Аспергиллез – заболевание, вызываемое плесневыми грибами рода <i>Aspergillus</i>, поражающее преимущественно органы дыхания – легкие и околоносовые пазухи, а также, в некоторых случаях, и другие органы – кожу, почки, головной мозг, органы зрения. Его считают второй по частоте после кандидомикоза микотической инфекцией.</p> |

Задание №4 Назвать возбудителей оппортунистических микозов

| Микоз | Возбудитель оппортунистического микоза |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Кандидоз | <i>Candida</i> spp. (<i>C.albicans</i> , <i>C.tropicalis</i> и др.) |
| Зигомикоз (фикомикоз) | Зигомицеты (<i>Rhizopus</i> spp., <i>Mucor</i> spp. и др.) |
| Аспергиллёз | <i>Aspergillus</i> spp. (<i>A.fumigatus</i> , <i>A.flavus</i> , <i>A.niger</i> , <i>A.terreus</i> , <i>A.nidulans</i> и др.) |
| Пенициллиоз | <i>Penicillium</i> spp. |
| Фузариоз (микотоксикоз) | <i>Fusarium</i> spp. (<i>F.moniliforme</i> , <i>F.dimerum</i> , <i>F.solani</i> , <i>F.oxysporum</i> , <i>F.anthophilum</i> , <i>F.chlamyosporum</i>) |
| Пневмоцистная пневмония | <i>Pneumocystis carinii</i> |

Задание №5 Назвать возбудителей патогенных кератомицетов по описанию заболевания

| Вид гриба | Заболевание | Форма гриба в ткани |
|-----------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <i>Malassezia furfur</i> | Отрубевидный лишай | В роговом слое эпидермиса короткие, изогнутые гифы и дрожжеподобные клетки. |
| <i>Exophiala werneckii</i> | Черный лишай | В роговом слое эпидермиса тёмные, септированные гифы и почкующиеся клетки. |
| <i>Piedraia hortae</i> | Черная пьедра | На волосе узелки, содержащие аски. |
| <i>Trichosporon beigeli</i> | Белая пьедра | Вокруг волоса жёлтые узелки, содержащие фрагменты мицелия и артроконидии. |

Задание №6 Методы идентификации патогенных грибов

| Метод идентификации патогенных грибов | Содержание метода |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Микроскопия | Нативный препарат из клинического материала (за исключением крови) или культивации грибов; учитывая часто характерную форму спор и гифов мицелия, морфологическая идентификация грибов на основе микроскопической картины играет важную роль (её нужно проводить в случае всех материалов, за исключением крови и кала): 1) нативный препарат в 10 % КОН, лактофеноле или ДМСО — дерматофиты; 2) окрашенный препарат — дрожжеподобные грибы; 3) окраска индийской тушью <i>Cryptococcus neoformans</i> . |
| 2. Культивирование | Кровь высевают в жидкие среды (транспортно-питательные) для культивирования грибов. Материал нужно посеять сразу после взятия; другие материалы высевают на плотные среды для культивирования грибов (питательные и селективные). Метод позволяет определять чувствительность выделенного штамма к антигрибковым средствам. Время, необходимое для культивирования, идентификации и определения чувствительности к антимикотикам в случае дрожжеподобных грибов составляет 4–5 дня, а плесневых грибов — 5–10 дней (иногда — больше). |
| 3. Серологические методы | Имеют только вспомогательное значение; рекомендуется проводить параллельно с изготовлением нативного препарата и посевами. Используются для выявления грибковых антигенов (аспергиллеза, кандидоза, криптококкоза) и специфических антител к этим антигенам (аспергиллома). Отрицательный результат теста определения антигенов не исключает инфицирования, поэтому тесты нужно повторять несколько раз. |
| 4. Молекулярные методы | Выявление генетического материала грибов (качественные или количественные исследования). |

ПРИЛОЖЕНИЕ

Протозойные инфекции – это паразитарные инфекции. Возбудителями **протозойной** инфекции являются одноклеточные **микроорганизмы**, относящиеся к классу «простейших».

Патогенные представители есть во всех группах простейших. Они способны вызывать заболевания не только у человека, но и у многих, в том числе домашних, животных. Возбудители могут передаваться самыми разнообразными путями, а болезни часто характеризуются длительным и тяжелым течением. Распространению некоторых простейших помогает образование цист. Как правило, возбудители протозойных инфекций имеют многостадийный жизненный цикл. В процессе болезни развивается состояние аллергии. Заражение свободноживущими почвенными амебами, для которых человек является случайным хозяином, может происходить при попадании на слизистую оболочку носа при купании в пресноводных водоемах.

Свободноживущие амебы имеют, по крайней мере, две стадии развития: трофозоиты (trophozoite) — вегетативные метаболически активные формы; и цисты (cyst) — «спящие формы», позволяющие им выжить в неблагоприятных условиях среды. Отдельные амебы, такие как *Naegleria* spp., имеют дополнительную стадию флагеллят (flagellate stage), другие, такие как *Mayorella* и *Amoeba*, включают виды, не формирующие цисты.

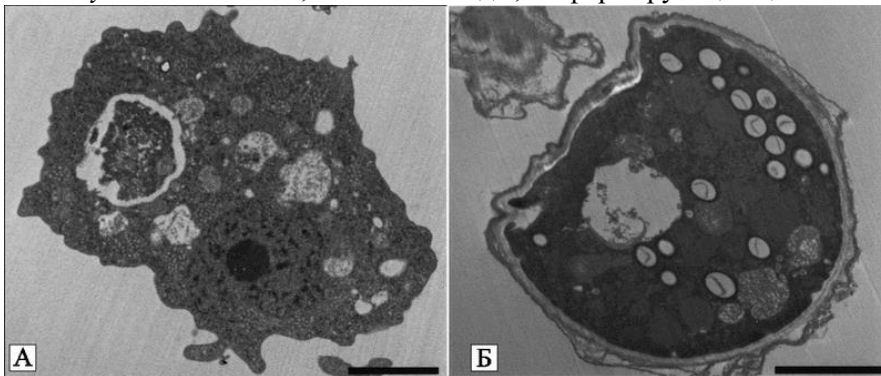


Рис.1 Стадии развития *Hartmanella vermiformis* (A) вегетативная форма; (B) циста
Черная полоса внизу фотографии соответствует 2 микронам (Greub G., Didier R., 2004).

Свободноживущие амебы представлены повсеместно и могут быть изолированы из воздуха, почвы, воды, назального секрета позвоночных. В почве они наиболее распространены в тех ее участках, которые покрыты растениями. На растениях обильно паразитируют грибы и бактерии, являющиеся пищей для свободноживущих амеб.

Амебы проникают в мозг и вызывают его обширные поражения. Достаточно обычный путь проникновения простейших в организм хозяина — это попадание в желудочно-кишечный тракт пищи и воды, загрязненных фекалиями с цистами возбудителя. Так передаются лямблии, энтамебы и инфузории, вызывающие разные виды дизентерии, и изоспоры, приводящие к кишечным инфекциям.

Амебы живут в широком интервале условий окружающей среды. Адаптация бактерий к протозойным хищникам происходит уже миллиарды лет, и в настоящее время ученые насчитывают не менее четырех форм их взаимодействия, хотя, естественно, эти знания являются только предварительными.

Во-первых, отдельные бактерии могут использовать их для увеличения своей численности в окружающей среде, как это показано для *Klebsiella aerogenes*, размножающихся «за счет» *Acanthamoeba castellanii*.

Во-вторых, некоторые бактерии продуцируют литические компоненты, разрушающие простейших, и тем самым предотвращающие фагоцитоз, например *Bacillus liqueniformis* синтезирует литический компонент, направленный против *Naegleria fowleri*.

В-третьих, между бактериями и простейшими могут устанавливаться *эндосимбиотические* отношения. Известно, что бактерии могут оставаться в простейших длительное время в некультивируемом состоянии. Было установлено экспериментально, что паразитические бактерии могут существовать в простейших в таком состоянии не менее шести лет.

В-четвертых, в процессе эволюции и коэволюции бактерии могут совершенствовать механизм внутриклеточного существования в амебах и затем, после проникновения в организм

позвоночных, пользоваться этим механизмом для выживания в макрофагах

(например, *Legionella pneumophila*; см. ниже) (Harb O. et al., 2000).

В основе взаимодействия простейших с микроорганизмами (бактерии, дрожжи, вирусы и др.) лежит способность группы их поверхностных рецепторов взаимодействовать со структурами, богатыми углеводом маннозой. Они получили общее название — *маннозные рецепторы*. Их присутствие на поверхности амебы необходимо для связывания микроорганизмов, инициирования их поглощения клеткой и доставки в лизосомы для переваривания (Allen P. G., Dawidowicz E. A., 1990). Позже было показано, что и сами одноклеточные паразиты проникают в эпителиальные клетки высших животных посредством взаимодействия с маннозными рецепторами этих клеток. Например, посредством такого механизма *Acanthamoeba* проникает в роговицу глаза человека и вызывает кератит (Zhantao Yang et al., 1997).

Механизмы проникновения свободноживущих почвенных амеб в организм позвоночных также сложно опосредованы с рецепторными структурами внеклеточного матрикса. Например, почвенная амеба *Balamuthia mandrillaris*, возбудитель смертельного для человека гранулематозного амёбного энцефалита (granulomatous amoebic encephalitis), использует для проникновения в мозг три типа компонентов внеклеточного матрикса: коллаген I, главный

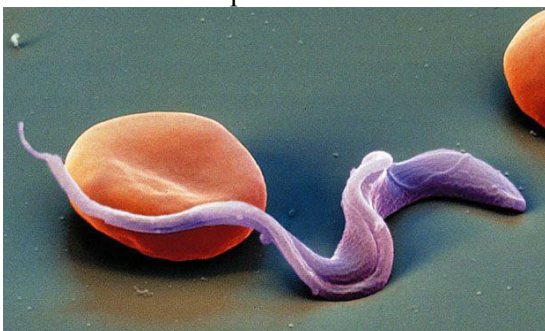
компонент соединительной ткани; молекулы фибронектина, имеющие критическое значение для адгезионных процессов; и ламинин-1 (laminin-1), ключевая молекула для формирования базального слоя. Распознавание ламинина зависит от галактозо-связывающего белка (Rocha-Azevedo V. et al., 2007). Типичные молекулы данного типа в эукариотических клетках — *галектины* (galectins) относятся к семейству галактозных лектинов и широко распространены среди различных клеток животных (более подробно о галектинах см. в работе Leffler H. et al., 2004).

Данные микроорганизмы обладают достаточно простым жизненным циклом с вегетативной стадией, представленной несколькими формами клеток, и стадией цисты.

Цисты токсоплазмы могут попадать в организм не только путем заглатывания, но и при вдыхании.

Токсоплазмоз поражает многих животных, среди которых особое значение для передачи человеку имеют собаки и кошки. Заболевание охватывает весь организм и протекает с разной степенью тяжести. Разные виды патогенных трипаносом переносятся от больных животных при укусах мухи цеце (сонная болезнь) и клещей (болезнь Чагаса).

Сонная болезнь протекает хронически, сопровождаясь лихорадочными приступами с отеком мозга и поражениями ночек.



Возбудители обитают в мышечной ткани и спинномозговой жидкости. Больной испытывает прогрессирующую сонливость и может впасть в состояние комы, часто заканчивающееся смертью.

Фото токсоплазмы гонди

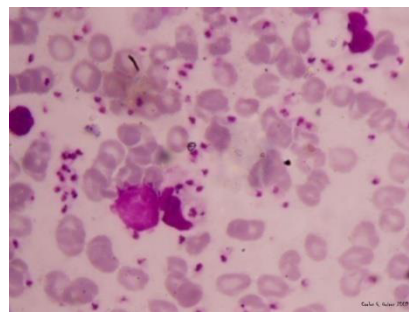
Оказалось, что заражение человека токсоплазмой, паразитом кошек, связано с высоким риском

развития эпилепсии, [болезней Альцгеймера и Паркинсона](#) и некоторых видов рака мозга. Токсоплазма, проникая в мозг, меняет работу нескольких десятков генов, подавляя часть из них и усиливая работу других участков ДНК. Почти все эти гены или управляют работой врожденной иммунной системы, или дирижируют различными процессами, связанными с ростом стволовых клеток и новых тканей. Кошачий паразит подавляет работу первой группы генов, что помогает ему выживать, и стимулирует работу второго набора, обеспечивая себя пищей.

Это не проходит бесследно для зараженного человека, так как ослабление иммунитета делает его более предрасположенным к развитию рака и нейродегенеративных болезней, связанных со сбоями в работе иммунной системы. Чрезмерно сильные изменения в работе других генов могут менять то, как много различных сигнальных молекул вырабатывает мозг, в результате чего может развиваться эпилепсия, шизофрения и другие нарушения психики.

При болезни Чагаса повышается температура, отекает лицо, увеличиваются лимфатические узлы, щитовидная железа, селезенка и печень.

Патогенные лейшмании в зависимости от вида вызывают поражение кожных покровов, носоглотки, лимфатических узлов, селезенки, печени и костного мозга. Они переносятся москитами от больных людей или животных. При кожной форме образуются множественные язвочки, глубокое поражение органов сопровождается лихорадкой. Патогенные трихомонады вызывают инфекции мочеполовых путей и передаются при половом контакте и через предметы обихода. Возбудитель не образует цисты и поэтому не может долго сохраняться в окружающей среде.



Leishmania peruviana (amastigota)

Болезнь чаще всего протекает в хронической форме. Наиболее сложным жизненным циклом обладает малярийный плазмодий, передающийся при укусах комаров и вызывающий разные типы малярии. Половая стадия проходит в организме комара, а бесполовая — в клетках тканей и эритроцитах человека. При этом образуются различные морфологические и функциональные формы паразита. От самки комара со слюной при укусе нитевидные клетки возбудителя попадают в кровь человека и разносятся в органы и ткани. Внедряясь в клетки, паразит становится округлым, увеличивается в размере и затем делится на множество мелких клеточек. На этом этапе у зараженных людей не наблюдается клинических проявлений болезни. Далее часть мелких клеток проникает в эритроциты и превращается в амебоидные тельца, периодически делящиеся и вновь заселяющие эритроциты. Разрушение эритроцитов приводит к анемии, а выделение особых веществ при распаде красных кровяных клеток и самих паразитов вызывает поражение костного мозга, селезенки, почек, сопровождающееся лихорадочным состоянием. При тяжелом течении и повторных приступах могут наступить кома и отек мозга со смертельным исходом. Следующей стадией является превращение малярийного плазмодия в два вида половых форм. При укусе больного человека такие формы возбудителя попадают в желудок комара, где происходит их слияние с образованием подвижных зигот. Они внедряются в стенку желудка комара, где теряют подвижность, увеличиваются в размерах и делятся на множество мелких нитевидных клеток. Нитевидные клетки накапливаются в слюнных железах комара и при укусе могут попасть в организм здорового человека. Иммуитет при протозойных инфекциях, как правило, кратковременный и нестойкий. Только перенесение лейшманиоза формирует сильный и длительный иммуитет.

Протозойные инфекции дыхательной системы (пневмоцистная пневмония)

Самой смертоносной болезнью при СПИДе считается пневмоцистная пневмония (пневмоцистоз - воспаление легких), вызываемая простейшим организмом *Pneumocystis carinii*. Возбудители пневмоцистоза широко распространены в окружающей среде, и большинство из нас носит их в легких без негативных последствий. Но при нарушении иммунной системы под действием ВИЧ эти простейшие организмы, считающиеся условно-патогенными, становятся смертельно опасными. *P. carinii* заражено около 80% больных СПИДом. Собственно с постановки диагноза пневмоцистной пневмонии у первых 5-ти умерших от СПИДа гомосексуалистов и началось изучение СПИД-ассоциированных заболеваний. В СССР первый пациент со СПИДом также умер от тяжелого пневмоцистоза. До эпидемии СПИДа такого рода патологии наблюдали только у недоношенных детей и у людей преклонного возраста на фоне снижения общей активности

иммунной системы. У больных СПИДом пневмоцистоз развивается медленно, но в конечном итоге больные погибают от острой дыхательной недостаточности.

Возбудитель - *Pneumocystis carinii*, который является дрожжевым грибом класса *Blastomycetes*, внеклеточный паразит, тропный к легочной ткани. Наиболее характерной структурой является «розетка», состоящая из 8 грушевидных спорозоитов, каждый из которых имеет размеры 1 – 2 мкм, объединенных в цистоподобную структуру диаметром 7 – 10 мкм. Более ранние стадии развития представлены 1 – 4 ядрами в слизистом шаровидном образовании, которые при интенсивной окраске по Романовскому – Гимзе окрашиваются соответственно в красный (ядро) и голубой цвет (цитоплазма) и окружены красно-фиолетовой оболочкой.

Пневмоцисты находятся в большом количестве в легочных альвеолах и бронхиолах (в трупном материале), где они окружены пенистым веществом и скоплениями плазматических клеток и эозинофилов. Некоторые микроорганизмы находятся внутри гистиоцитов.

Возбудитель не растет на искусственных питательных средах. Делались попытки выделить возбудителя с помощью легочной модели на мышах или крысах, которым предварительно вводится кортизон.

В цикле развития пневмоцисты выделяют вегетативную форму (трофозоит), предцисту и цисту с внутрицистными тельцами.

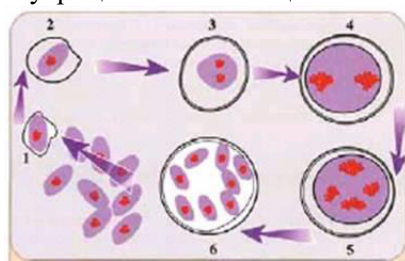


Схема жизненного цикла пневмоциста: 1-2 — трофозонты амёбовидной формы, 3-5 — стадии мериогонии и мотильности, 6 — циста, содержащая 8 внутрицистных телец.

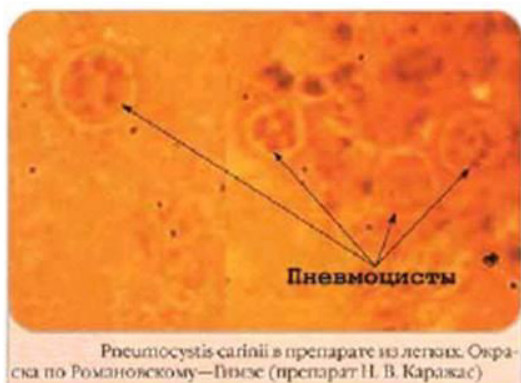
P. carinii – условно-патогенный микроорганизм. У людей с нормальной иммунной системой инфекция не проявляется. При иммунодефицитах развивается пневмоцистная пневмония (пневмоцистоз) – главная причина смертности лиц, страдающих СПИДом.

Основной механизм передачи - капельный. Главное место локализации патологического процесса при пневмоцистозе - дыхательные органы. При кашле, который является наиболее частым симптомом болезней органов дыхания, образуется мелкодисперсный аэрозоль. Его частицы не оседают, а находятся во взвешенном состоянии. Заражение пневмоцистами

происходит при вдыхании воздуха, контаминированного возбудителем. Выявить цисты в воздухе и других объектах внешней среды до настоящего времени не удавалось. Только с помощью молекулярно-биологических исследований в образцах воздуха помещений, где находились больные пневмоцистозом, были обнаружены генетические носители (фрагменты ДНК) пневмоцист.

Пневмоцисты широко распространены среди многих видов диких и домашних животных. Их выявляют у мышей, крыс, хорьков, кроликов, крупного рогатого скота, свиней, собак и др. Спонтанное носительство *P. carinii* считается обычным явлением. По морфологическим признакам пневмоцисты от разных видов животных почти идентичны. Иммунологические, цитохимические и генетические методы исследований последних лет свидетельствуют об отличиях между *P. carinii*, выделенными от различных видов животных. Так, антитела к *P. carinii*, которые образуются у одного вида животных, перекрестно не реагируют с антигенами *P. carinii* других видов животных. Хромосомы пневмоцист от человека, мышей, хорьков сходны по размерам, но имеют индивидуальный кариотип. В экспериментальных условиях попытки передачи пневмоцист от человека и различных видов животных другим видам животных, даже иммунодефицитным, закончились неудачей. Это свидетельствует о строгой видовой специфичности *P. carinii*. Циркуляция возбудителя среди людей происходит без дополнительных хозяев.

Лечение и профилактика



Pneumocystis carinii в препарате из легких. Окраска по Романовскому–Гимзе (препарат Н. В. Каракас)

Препаратами выбора являются бактрим и пентамидина изотионат. Бактрим назначают перорально или внутривенно (в дозе 20 мг/кг триметоприма и 100 мг/кг сульфаметоксазола в сутки в течение 2–4 нед). Препарат хорошо переносится и предпочтительнее пентамидина при назначении больным, не страдающим ВИЧ-инфекцией.

Пневмоцистоз человека – антропоноз. Источник инфекции - человек.

Токсоплазмоз

Токсоплазмоз — опасное системное эндемическое [паразитарное заболевание](#) многих видов теплокровных животных и человека, вызываемое [возбудителем *Toxoplasma gondii*](#). В распространении данного заболевания важную роль играют домашние и дикие кошачие, так как являются дефинитивными хозяевами для токсоплазмы, ооцисты которых выделяются с фекалиями. По статистике токсоплазмозом заражен каждый третий в мире, в некоторых странах зараженность достигает больше 50 %.

Toxoplasma gondii

Морфология токсоплазм и эндогенный их цикл размножения очень схож с малярийными плазмодиями, лейшманиями, неоспорами, тейлериями и другими кровепаразитами.

Комплексный жизненный цикл *Toxoplasma gondii* включает в себя два этапа:

- 1) Половое размножение – осуществляется только в организме животных семейства кошачьих. Зоицы проникают в эпителиальные клетки тонкого отдела кишечника, начинают делиться и образуют несколько поколений, после чего формируются шизогонии, микро-, макрогаметы. Микрогаметы оплодотворяют макрогаметы, образуются ооцисты. Неспорулированные ооцисты с фекалиями выходят в окружающую среду.
- 2) Бесполое размножение – может протекать у любого теплокровного животного. После заражения одной из инфекционных форм спорозоицы освобождаются в тонком кишечнике и начинают делиться. Тахизоиты быстро размножаются и поражают различные клетки. Иммунный ответ замедляет этот процесс, однако заболевание переходит в хроническую форму, при которой образуются кисты, содержащие брადизоиты.

Жизненные формы токсоплазмы

- 1) Спорулированные ооцисты. Сначала ооцисты, выделяющиеся с фекалиями от инфицированных кошек не спорулированы. Они не контагиозны! Под воздействием окружающей среды в течении 1-5 дней происходит их спорулирование в зависимости от температуры внешней среды и влажности. Например, при 24 — 25 ° С в течении 1 –го дня, при 15 ° С в течении 5-и дней при 11 ° С в течении 21-го дня. Уже спорулированные ооцисты более устойчивы к факторам внешней среды (от +4 до +55° С). В жидкой среде могут сохранять жизнеспособность в течении нескольких лет.
- 2) Брადизоиты («brady» - медленно). Локализуются в цистах различных тканей организма.
- 3) Тахизоиты («tachos» - скорость, быстро). Быстро делящиеся формы, которые размножаются практически в любых клетках промежуточного хозяина и эпителиальных клетках (за исключением кишечника) дефинитивного хозяина.

Пути заражения:

- 1) Употребление зараженных тканей млекопитающих и птиц (мясо и субпродукты), содержащих брადизоиты (наиболее частая форма инфицирования);
- 2) Внутритрубноое инфицирование. Паразитемия во время беременности может привести к передаче тахизоитов от матери к плоду (только при первичном заражении);
- 3) Употреблении воды, кормов, загрязненных спорулированными ооцистами;
- 4) Орально-фекальный путь передачи ооцист (больше характерен для собак). В этом случае они могут служить механическими переносчиками ооцист и создавать риск заражения человека;
- 5) С молозивом или молоком;
- 6) При переливание крови.

Наибольшее эпидемиологическое значение в распространении токсоплазмоза имеют дикие кошки и домашние кошки, живущие на ферме и личных подсобных хозяйствах. Этот факт объясняется тем, что они питаются в основном дикими птицами, грызунами, плацентой и мертворожденными плодами сельскохозяйственных и диких животных. Более высокая распространенность токсоплазмоза у взрослых кошек указывает на то, что риск заражения *T. gondii* увеличивается с возрастом.

Инкубационный период

- 1) при заражение ооцистами составляет около 18 дней;

2) при поедание тканей с цистами, содержащих брэдизоиты сокращается до 3-10 дней.

Клиническая картина

Клинические признаки токсоплазмоза, как правило, не специфичны. Кошки могут переболеть легко, при этом у них понос чередуется с нормальным сформированным калом. Кошки выделяют ооцисты с фекалиями в течение 3-10 дней после заражения (максимум до 3 недель). В этот период у кошек может не наблюдаться клинической картины заболевания. У котят возможна диарея не совпадающая с выделением ооцист, асцит, гепатомегалия, энцефалит, нуружный увеит, гипотермия.

У взрослых кошек может наблюдаться летаргия, гипертермия (40-41оС), малоподвижность, отдышка, потеря веса, желтушность, рвота, неврологические признаки (ступор, атаксия, судороги, частичная или полная слепота), диарея, дерматиты, миокардиты.

Частота проявления отдельных клинических признаков при токсоплазмозе:

| Симптомы | Частота встречаемости, % |
|--------------------------------|--------------------------|
| поражение дыхательной системы | 97,7% |
| поражение ЦНС | 96,4% |
| поражение печени | 93,3% |
| поражение ССС | 86,4% |
| поражение поджелудочной железы | 84,4% |
| поражение глаз (увеит) | 81,5% |

Отдельные проявления токсоплазмоза, такие как дерматологические являются лишь местными проявления системного заболевания.

Диагностика токсоплазмоза

Флотационные исследования кала

Ооцисты токсоплазмы могут быть обнаружены любым их стандартных флотационных методов исследования кала.

Но трудность такого метода исследования заключается в ряде особенностей:

- большинство кошек с клинически протекающим токсоплазмозом не будут выделять ооцисты. В связи с тем, что ооцисты обычно выделяются с калом в течение короткого периода времени (1-2 недели) после инфицирования, и обнаруживаются они у 0,1 - 1% кошек;
- к тому же ооцисты очень мелкие (10×12 мкм), что ведет к затрате значительного времени для их тщательного поиска;
- выделение ооцист не связано с диареей;
- морфологически ооцисты токсоплазм неотличимы от ооцист *Hammondia hammondi* и *Besnoitia*. Ооцисты этих кокцидий могут быть дифференцированы по споруляции в пробирке и дальнейшем использовании ксенодиагностики. В таких случаях диагноз в лаборатории чаще ставится по принципу эпизоотологической важности;
- клиническая ценность ничтожна при отрицательном результате.

Молекулярные методы диагностики

Молекулярные методы диагностики, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) широко используются для обнаружения токсоплазм в биологических образцах, в том числе в крови, фекалиях кошек, аспирационной жидкости, плаценте и околоплодных водах. ПЦР позволяет однозначно трактовать результат анализа. Тест является видоспецифичным. Но имеется особенность при исследовании фекалий данным методом, что обусловлено наличием ингибиторов реакции в кале и требует применение более дорогих диагностикомов с катализаторами реакции. Иммунохроматографический анализ (ИХА) при исследовании кала имеет те же недостатки, что и при микроскопии. Обнаружение антигена в сыворотке крови свидетельствует о паразитемии и представляет клиническую ценность.

Серологические методы диагностики (ИФА)

Серологическая диагностика токсоплазмоза основана на определении специфических иммуноглобулинов IgM и IgG. Позволяет получить информацию о текущем статусе животного – наличие иммунитета к токсоплазмозу.

Иммуноглобулины IgM обнаруживаются через 1-2 недели после заражения токсоплазмозом, титры остаются достаточно высокими в течение 12-16 недель. Если титр IgM составляет 1:64 и более при одновременном отсутствии специфических иммуноглобулинов IgG, это свидетельствует

о фазе активного заражения. Сохранение высоких титров иммуноглобулинов IgM продолжительное время может быть связано с реактивацией хронической инфекции в результате повторного заражения, глюкокортикоидной терапии или сопутствующих инфекционных заболеваний (например, ВЛК, ВИК). В связи с чем интерпретация повышенного количества IgM может быть затруднена. Недостатком является отсутствие доступных тестов «inclinic».

Иммуноглобулины IgG обнаруживаются с третьей недели, и остаются на высоком уровне в течение нескольких лет, а порой даже всю жизнь. В связи с этим для диагностики активно используется метод парных сывороток. Четырехкратное и более увеличение титра антител IgG в течение 2-3 недель однозначно указывает на заболевание. Положительным является наличие тестов для применения в клинике производителей Immuno Comb, Biogal. Недостаток этого метода – поздняя диагностика.



Профилактика токсоплазмоза

у кошек:

- не кормите кошек сырым мясом и субпродуктами (проводите термическую обработку);
- убирайте кошачий туалет ежедневно;
- исключите возможность кошки охотиться (ловить мышей и птиц);
- доноры крови животных должны быть обследованы до переливания.

у человека:

- не ешьте сырое или недостаточно термически обработанное мясо;
- мойте руки, поверхности соприкасающиеся с пищей горячей водой с моющими средствами, в том числе ножи, доски после разделки мяса;
- использовать перчатки и тщательно мойте руки при работе на даче, в огороде;
- тщательно мойте фрукты и овощи перед употреблением в пищу;
- ежедневно убирайте лоток для кошек, иммуносупрессивные, беременные женщины не должны убирать лотки;
- не допускайте, чтобы кошка была в помещениях, где производятся продукты питания или хранятся корма;
- не позволяйте своим собакам валяться и поедать кошачий кал;
- регулярно проводите серологические исследования и ПЦР анализ на токсоплазмоз



Микозы – болезни, которые вызываются паразитическими грибами.

Например, на наших слизистых (во рту, в половых органах, в кишечнике) живут особые грибки рода **кандида**.

Если наш местный иммунитет (наши слизистые и кожа) в порядке, то эти грибки не доставляют нам беспокойства. Но если наш организм ослабевает, истощён вследствие голодания, плохого питания, тяжёлых физических, умственных или эмоциональных нагрузок, стрессов, болезни, если состояние нашей кожи и слизистых ухудшается из-за вышеперечисленных факторов или, например, из-за пересыхания вследствие сухого горячего воздуха, высокой температуры тела, тогда наш защитный барьер (кожа и слизистые оболочки) уже не способен препятствовать проникновению микробов.

Кандидоз (молочница) в ротовой полости

Они проникают в кожу и слизистые оболочки и вызывают там заболевания. В случае грибков кандиды, о которых мы упомянули, происходит развитие заболевания под названием **кандидоз (молочница)**. Это когда в ротовой полости образуются белёсые хлопья (творожистые выделения), белёсый налёт.

В случае **генитального кандидоза** эти белёсые выделения образуются на слизистых половых органах (**кандидозный вульвовагинит** – в области наружных половых органов и влагалища женщин, **кандидозный баланит и баланопостит** – в области головки и крайней плоти полового органа мужчин).



Грибки хорошо размножаются при повышенной влажности (выше 65%).

И чем выше влажность, тем грибкам комфортнее.

На стенах может появляться плесень, которая приводит к инфицированию человека может в редких случаях (когда у него плохое состояние иммунитета), но вещества, выделяемые плесенью могут оказывать токсическое действие и приводить к аллергии.



Рис. 1. Смешанная культура энтеробактерий из мочи



Плесень на стенах

Воздух не должен быть переувлажнённым. Но он не должен быть и сухим, т.к. в таком случае возникают другие проблемы: пересыхание слизистых оболочек, повышается способность вирусов и бактерий проникать в наш организм, учащаются случаи приступов астмы и аллергии. Поэтому в помещении влажность воздуха должна быть от 40 до 60%.

Морфология грибов

В настоящее время грибки отнесены к отдельному царству *Mycota* или *Fungi*. К этому царству относят 4 типа:

Zygomycota (включают род *Mucor*, распространены в почве и воздухе, способны вызывать мукоромикоз легких, головного мозга и других органов человека и животных),

Ascomycota (или сумчатые грибки, относятся к высшим грибам, к ним относятся роды *Aspergillus*, *Penicillium*, а также дрожжевые грибки),

Basidiomycota (шляпочные грибы, а также возбудители криптококкоза, разноцветного лишая, белой пьеды и трихоспороноза),

Deuteromycota (несовершенные грибки, не размножаются половым путем, к ним относится род *Candida*).

Внутри каждого типа, имеющего окончание –*mycota*, существуют основные таксономические деления: классы (-*mycetes*), порядки (-*ales*), семейства (-*mycetaceae*), роды и виды.

Плесневые грибы

К плесневым грибам (иногда их называют плесенями) относят микроскопические грибы-сапрофиты, питающиеся органическими веществами мертвых растительных остатков и образующие на их поверхности налеты разного цвета.

Рис.1 Zygomycota

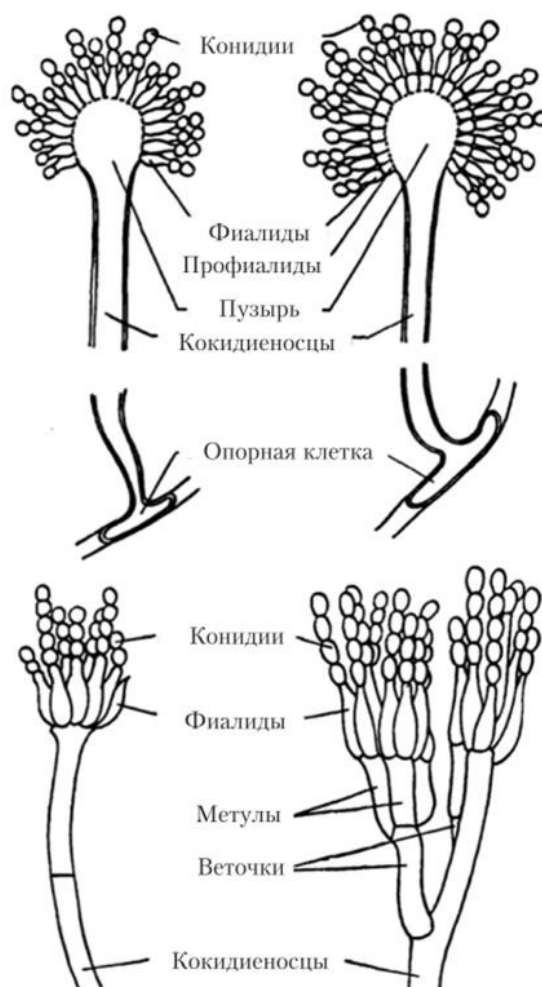
В виноделии нашли применение ферментные препараты, обладающие пекто-протеолитическим, целлюлолитическим и геми-целлюлазным действием, готовящиеся из плесневых грибов рода *Aspergillus*, которые ускоряют отделение суслу от мезги и осветление суслу, увеличивают его выход, интенсифицируют биохимические процессы, протекающие при созревании вин [52]. В вине плесневые грибы не размножаются, но вино, налитое в тару с запахом плесени или укупоренное заплесневевшими пробками, приобретает плесневелый тон и становится испорченным. Обычно винодел принимает меры, предупреждающие появление плесени на различных объектах винодельческого производства, но мало знает о распространенных на винограде и винзаводах видах плесневых грибов и об особенностях их биологии.

Классификация плесневых грибов

В основу классификации плесневых грибов положены способы их размножения, строение мицелия и органов размножения. Большинство плесневых грибов размножается бесполом и половым путем. Их называют совершенными. Плесневые грибы, размножающиеся только бесполом путем, относят к несовершенным. Грибы, образующие несептированный мицелий, называют низшими, а образующие многоклеточный (септированный) мицелий— высшими грибами.

Плесневые грибы можно обнаружить среди представителей четырех больших классов грибов:

- 1) фикомицетов (*Phycomycetes*), имеющих несептированный мицелий;
- 2) аскомицетов (*Ascomycetes*), которые еще называют сумчатыми грибами, образующими септированный мицелий и эндогенные половые споры в сумках (асках);
- 3) базидиомицетов (*Basidiomycetes*), образующих экзогенные половые споры на особых структурах базидиях;
- 4) несовершенных грибов (*Fungi imperfecti*), которые обладают многоклеточным мицелием, но не



образуют половых спор. Несовершенные грибы называют также дейтеромицетами (Deuteromycetes)

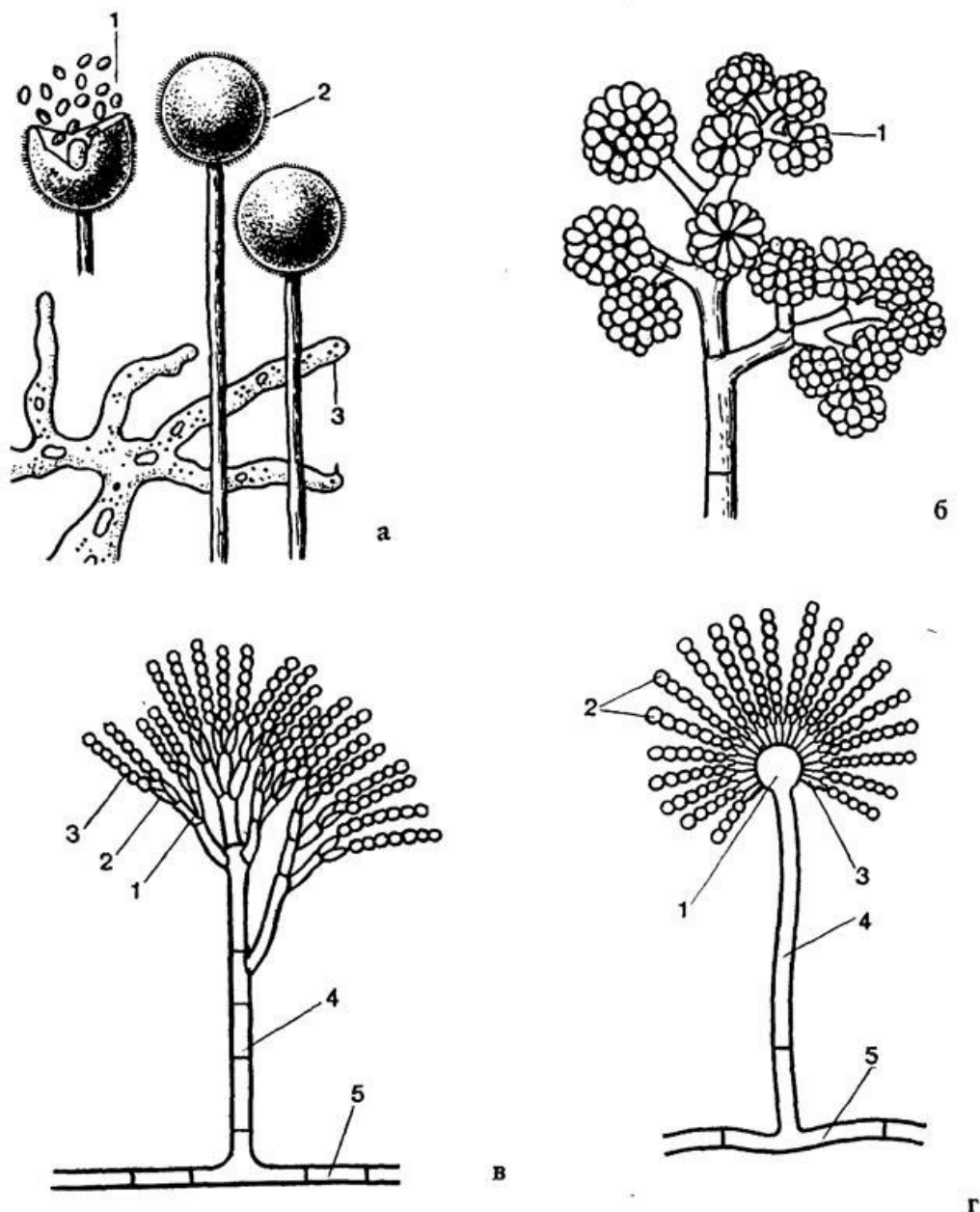


Рис. 41. Споры бесполого способа размножения;

а — *Mucor*: 1 — споры; 2 — спорангий; 3 — мицелий; б — *Botrytis*: 1 — конидии; в — *Penicillium*: 1 — метелки; 2 — стеригмы; 3 — конидии; 4 — конидиофор; 5 — вегетативная гифа; г — *Aspergillus*: 1 — булабовидное расширение конидиеносца; 2 — конидии; 3 — стеригмы; 4 — конидиофор; 5 — вегетативная гифа.

Рис.2 Споры бесполого способа размножения

В группу несовершенных грибов объединены все грибные формы, которые по характеру своего многоклеточного мицелия должны быть отнесены к высшим грибам (сумчатым или базидиальным), но у которых не обнаружено полового спороношения, вследствие чего они и названы несовершенными.

Род Мисог. Плесневые грибы рода Мисог относятся к низшим грибам, к классу *Phycomycetes*. Мицелий у них обильно ветвящийся, но несептированный. Кверху от него отходят гифы-спорангиеносцы, несущие шарообразные спорангии, видимые простым глазом в виде головок, внутри которых находятся споры (рис. 41, а). Стенки спорангиев растрескиваются, освобождая споры, которые, попав в благоприятные условия, вновь прорастают в мицелий. Обычно у мукоровых грибов мицелий бывает вначале белый, позднее сероватый. Спорангии вначале желтоватые, позже темнеют, приобретая черную окраску.

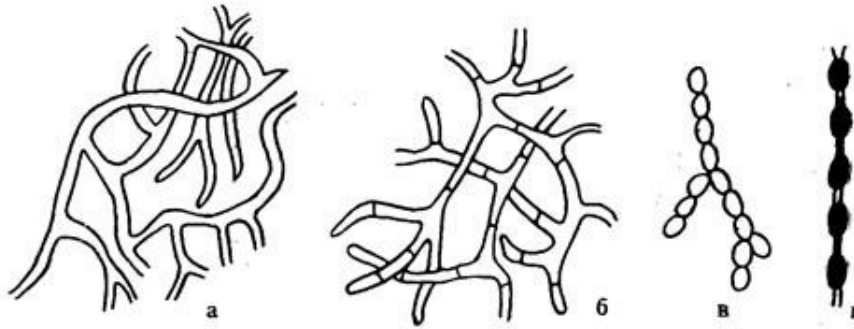


Рис. 42. Мицелий плесневых грибов и его видоизменения:
а — одноклеточный мицелий; б — многоклеточный мицелий; в — оидии; г — хламидоспоры.

Рис.3 Мицелий плесневых грибов и его видоизменения

Бесполое размножение мукоровых грибов может происходить также конидиями — дрожжеподобными образованиями, называемыми мукоровыми дрожжами (рис. 42, в).

Они образуются путем распада гифов на отдельные короткие членики при попадании мицелия в жидкую питательную среду с недостаточным притоком воздуха. Мукоровые дрожжи обладают слабой сбраживающей способностью. При свободном доступе воздуха к среде они снова прорастают в мицелий.

Род *Aspergillus*. Грибы рода *Aspergillus* относятся к высшим грибам, так как имеют многоклеточный мицелий. Конидиеносцы плесневых грибов этого рода несептированы, на верхнем конце их находятся шаровидные или булабовидные вздутия. От вздутий отходят во все стороны по одному или по два ряда стеригм к цепочки конидий (см. рис. 41, г).

Общая картина конидиеносца с конидиями напоминает головку лейки, из которой струями выходят водяные брызги. Это сходство и привело к названию леечная плесень (по-латински аспергере — поливать, опрыскивать).

В зависимости от видовой принадлежности аспергиллов конидии их бывают окрашены в зеленый, желтовато-зеленый, бурый, темно-коричневый или черный цвет. Благодаря огромному их количеству, расположенному на приземистых конидиеносцах, весь налет плесени кажется окрашенным в цвет конидий.

Аспергиллы относятся к классу *Ascomycetes*. Половое размножение у них происходит спорами, образующимися в округлых сумках (асках), расположенных в замкнутых плодовых телах (клейстокарпиях), с диаметром от 80—350 мкм.

Род *Penicillium*. Грибы рода *Penicillium* относятся к высшим грибам к классу *Ascomycetes* и являются наиболее распространенными среди плесневых грибов.

У пенициллов конидиеносцы большей частью имеют поперечные перегородки. В верхней части конидиеносцы разветвлены и образуют характерно построенную кисточку (отсюда и название пенициллиум, по-латински — кисть), несущую на конечных разветвлениях цепочки конидий (см. рис. 41, в). Различное строение кисточки у разных видов пенициллов положено в основу их систематики. Конидиеносцы часто прилегают плотно один к другому или склеены в коремии (от греч. *корос* — веник). Конидии у большинства видов пенициллов зеленого цвета, характерной для видов формы. Сверху они покрыты слоем воска, вследствие чего трудно смачиваются водой. Конидии могут размножаться даже после многолетнего пребывания в сухом состоянии. Они быстро прорастают в кислых средах. В нейтральных или щелочных средах прорастание их замедляется или не происходит.

Споры полового размножения образуются в асках (сумках), расположенных в плодовых телах (клейстокарпиях). Клейстокарпии обнаружены не у всех видов пенициллов, но по типичному строению конидиеносцев их относят к одному роду.

Род *Sphaerulina*. Грибы рода *Sphaerulina* относятся к высшим грибам, к классу *Ascomycetes*. На листьях, побегах, ягодах винограда, а также на бочках и стенах подвалов иногда можно наблюдать черный сажистый налет. Его образует гриб черни *Sphaerulina intermixta*, который раньше был известен под названиями *Dematium pullulans* и *Pullularia pullulans*.

Черный налет, по виду напоминающий сажу, состоит из огромного количества темноокрашенных устойчивых к неблагоприятным условиям конидий. При благоприятных условиях конидии прорастают и из них образуются белые гифы, в протоплазме которых много крупных вакуолей. От

гиф, сплетающихся в мицелий, отчлениваются дрожжеподобные почкующиеся клетки (бластоконидии) (рис. 43).

Род *Botrytis*. Впервые возбудитель серой гнили винограда был описан в 1801 г. Х. Г. Петерсоном, давшем ему название *Botrytis cinerea* (по-гречески ботритис — гроздь, цинереа — серый как зола). Вначале он был известен только в конидиальной форме и отнесен к классу несовершенных грибов. Позже Антон де Бари, подробно изучавший его биологию, обнаружил форму полового развития и включил его в род *Sclerotinia*, дав видовое название *fueckeliana*. Но старое название, относившееся к обычно наблюдаемой конидиальной стадии этого гриба, более распространено и им часто пользуются в научной литературе.

Мицелий *Botrytis* многоклеточный, конидиеносцы нитевидные, древовидно-разветвленные. На концах их образуются малозаметные вздутия, от которых отходят тонкие стеригмы с сероватыми конидиями, расположенными в виде гроздей (см. рис. 41,6). При исследовании микрофлоры виноградного сула конидии ботритиса легко отличить от дрожжей по более крупным размерам (10—14X7—9 мкм).

Перезимовывает ботритис в форме склероциев — плотных мицелиальных образований размером 2—4X1—2,5 мм, окрашенных в темный цвет. Склероции образуются осенью на опавших листьях, на различных частях виноградного куста (рис. 45).

При благоприятных условиях прорастание склероциев происходит либо в конидиальную, либо в сумчатую стадию (половое размножение).

Филогенетически грибки близки к растениям, с которыми их сближает ряд общих признаков: наличие клеточной стенки и вакуолей, заполненных клеточным соком, хорошо видимое под микроскопом движение протоплазмы, характер поглощения питательных веществ, неспособность к активному перемещению, способность к неограниченному росту, необходимость прикрепления к субстрату, способ размножения и распространения спорами. С другой стороны, гетеротрофный тип питания, потребность в витаминах, способность к синтезу хитина, образование и накопление мочевины и гликогена (а не крахмала) придает им определенное сходство с животными клетками.

По строению грибки принято делить на дрожжи (*Blastomycetes*), плесени (*Hyphomycetes*) и шляпочные грибы. Возбудители микозов (заболеваний, вызванных грибами) относятся к первым двум группам. Среди грибков есть виды, которые в зависимости от условий растут либо как дрожжи, либо как плесени. Это явление называется диморфизмом, а такие грибки — диморфными. Диморфизм характерен для возбудителей системных микозов человека — бластомикоза (*Blastomyces dermatidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*), гистоплазмоза (*Histoplasma capsularum*) и кокцидиоидомикоза (*Coccidioides immitis*).

В организме хозяина они образуют дрожжеподобные клетки, а в лабораторных условиях растут в виде мицелиарных форм. Для *Candida albicans* характерно образование одновременно обеих форм. Большинство грибков способны как к половому, так и к бесполому способам размножения. Все структуры вегетативного и репродукционного бесполого размножения грибков называют анаморфами, тогда как структуры, образующиеся в результате полового процесса размножения, называют телеоморфами.

Стадии телеоморфы и анаморфы характерны для всех грибков, кроме дейтеромицетов (несовершенных грибков), которым присуща только стадия анаморфы.

Заболевания, вызываемые патогенными грибами, называются микозами. Классифицируют микозы в зависимости от локализации процесса и агрессивности возбудителя против нормального или ослабленного организма. Выделяют поверхностные (кератомикозы), кожные (дерматомикозы), подкожные, глубокие (системные), оппортунистические микозы и микотоксикозы.

Классификация грибковых инфекций

Грибковые инфекции часто классифицируются как

- Условно-патогенный
- Первичный

Условно-патогенные инфекции — те, которые развиваются главным образом у хозяев с ослабленным иммунитетом; первичные инфекции могут развиваться и у иммунокомпетентных хозяев.

Грибковые инфекции могут быть

- Системными
- Местными

Местные грибковые инфекции, как правило, поражают кожу), полость рта (вызывая стоматит) и/или влагалище (вызывая кандидозный вагинит) и могут проявляться у людей с нормальным или ослабленным иммунитетом.

Глубокие микозы характеризуются поражением внутренних органов с формированием гнойно-воспалительных очагов и распространением возбудителя по организму.

Кокцидиоидоз — возбудитель (*Coccidioides immitis*) относится к высшим несовершенным грибам.

Морфология и биология. В условиях пустыни или полупустыни гриб существует в сапрофитной форме, образуя длинные сегментированные нити мицелия (3—7 мкм в диаметре) с бочкообразными утолщениями и воздушными артроспорами (рис. 31.1, а).

На среде Сабуро растет в виде пушистых белых ватообразных колоний.

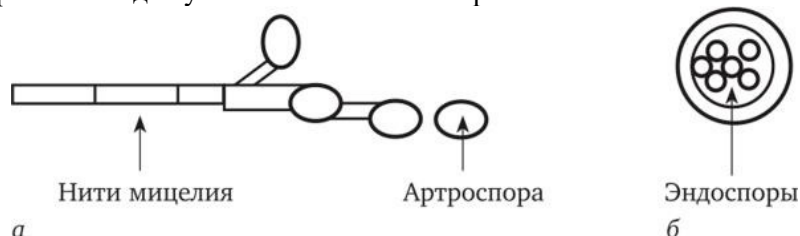


Рис.4 Различные формы кокцидий:

а — сапрофитная, образующая артроспоры; б — патогенная сферула с эндоспорами

Эпидемиология и клиническая картина. Входными воротами инфекции являются органы дыхания. Возбудитель в виде артроспор попадает в организм из внешней среды вместе с пылью. Латентный период первичного периода заболевания 7—18 дней. В организме артроспоры превращаются в круглые сферулы, содержащие эндоспоры, — тканевая форма возбудителя (рис. 31.1, б). У инфицированных людей развивается острый первичный кокцидиоидоз с образованием гранулем в легких, которые превращаются в воспалительные очаги, абсцессы и каверны.

Клинически это проявляется кашлем, болью в груди, повышением температуры тела. Болезнь сопровождается ларингитом, бронхитом, увеличением регионарных лимфатических узлов. Больные жалуются на общую слабость, осиплость голоса. На коже появляется сыпь. При диссеминации возбудителя по организму наблюдается генерализованная форма болезни с вовлечением в патологический процесс многих органов, образованием в них инфильтратов и абсцессов.

Вторичный прогрессирующий хронический кокцидиоидоз встречается у 1 % больных. Он возникает через несколько месяцев после окончания первичного периода и характеризуется нарастающей слабостью, лихорадкой, образованием абсцессов в легких и в брюшной полости. Тканевые формы возбудителя (сферулы) не способны вызывать заболевание, поэтому больной человек не опасен для окружающих людей. После выздоровления у человека формируется иммунитет.

Микробиологическая диагностика сводится к обнаружению под микроскопом сферул или клеток мицелия возбудителя в мокроте, гное из свищей, язв, плевральной полости. Для выделения чистой культуры используют среду Сабуро. В крови при помощи реакции связывания комплемента определяют антитела к возбудителю. Для диагностики заболевания применяют аллергические пробы с кокцидиоидином.

Лечение. Используют стрептомицин или противогрибковый препарат амфотерицин В, сульфаниламиды. Длительность курса зависит от тяжести заболевания. Обязательным является назначение общеукрепляющей витаминотерапии.

Специфическая профилактика отсутствует.

Неспецифическая профилактика. При пребывании в эндемичной по кокцидиоидозу местности необходима защита органов дыхания.

Аспергиллез — возбудители (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* и др.) относятся к высшим грибам.

Условно-патогенные грибковые инфекции

Множество грибов — условно-патогенны и являются обычно непатогенными, за исключением людей с ослабленным иммунитетом. Причинами иммунодефицита являются СПИД, азотемия, сахарный диабет, лимфома, лейкемия, другие гематоонкологические заболевания, ожоги, а также терапия кортикостероидами, иммуносупрессорами или антимаболизитами. У пациентов, которые проводят более нескольких дней в палате интенсивной терапии и реанимации, может понизиться иммунитет на фоне медицинских процедур, основных заболеваний и/или недостаточного питания.

Типичные условно-патогенные системные грибковые инфекции (микозы) включают:

- Кандидоз
- Аспергиллез
- Мукормикоз (зигомикоз)
- Фузариоз

Системные микозы, поражающие только пациентов с ослабленным иммунитетом, часто проявляются остро с быстро прогрессирующей пневмонией, фунгемией или проявлениями легочного распространения патологического процесса.

Первичные грибковые инфекции

Первичные грибковые инфекции обычно возникают через вдыхание грибковых спор, что может вызывать ограниченную пневмонию как первичное проявление инфекции.

У иммунокомпетентных пациентов системные микозы, как правило, имеют хроническое течение; диссеминированные микозы с пневмонией и сепсисом редки и, если и развиваются поражения легкого, то они обычно медленно прогрессируют. Могут пройти месяцы, прежде чем на явление обратят внимание в медицинском плане или поставят диагноз. Симптомы редко интенсивны при таком хроническом микозе, но могут проявляться лихорадкой, ознобом, потоотделением ночью, анорексией, потерей веса, недомоганием и депрессией. Различные органы могут быть поражены.

У первичных грибковых инфекций может быть характерное географическое распространение, которое особенно верно для местного микоза, вызванного определенными диморфными грибами. Например:

- ✚ Кокцидиоидомикоз: ограничен прежде всего юго-западом США, Вашингтоном, северной Мексикой и Центральной и Южной Америкой
- ✚ Гистоплазмоз: проявляется прежде всего на восточной и относящейся к Среднему Западу территории США и в некоторых районах Центральной и Южной Америки, Африки, Азии и Австралии
- ✚ Бластомикоз: ограничен Северной Америкой и Африкой
- ✚ Паракокцидиоидомикоз (прежде южноамериканский бластомикоз): ограничен этим континентом

Однако у туристов болезнь может проявиться в любое время после возвращения из эндемичных областей.

Когда грибы распространяются от основного очага в легких, проявления могут быть характерными, например:

- ✚ Криптококкоз: обычно хронический менингит
- ✚ Прогрессирующий диссеминированный гистоплазмоз: генерализованное поражение ретикулоэндотелиальной системы (печень, селезенка, костный мозг)
- ✚ Бластомикоз: одиночные или множественные поражения кожи или поражение центральной нервной системы, костей или простаты
- ✚ Кокцидиоидомикоз: инфекции костей и суставов, поражения кожи и менингит

Диагностика

- ✚ Посев и окрашивание
- ✚ Гистопатология
- ✚ Серологические тесты
(в основном для *Aspergillus*, *Blastomyces*, *Candida*, *Coccidioides*, *Cryptococcus*, и *Histoplasma*)
- ✚ Молекулярная диагностика

Если клиницисты подозревают острую или хроническую первичную грибковую инфекцию, они должны получить подробную информацию о путешествиях и проживании, чтобы определить, были ли пациенты подвержены определенному местному микозу, возможно годами раньше.

Легочные грибковые инфекции нужно отличать от опухолей и хронических пневмоний, вызванных негрибковыми организмами, такими как микобактерии (в том числе туберкулез). Образцы берут для выделения культуры грибов и микобактерий, а также для гистопатологии. Для постановки диагноза обычно достаточно образцов мокроты, но иногда для получения адекватного материала могут потребоваться бронхоальвеолярные смывы, трансторакальная пункционная биопсия или даже операционное вмешательство.

Грибы, которые вызывают первичные системные инфекции, легко распознать гистопатологически. Однако идентификация определенного гриба может быть трудной и обычно требует грибковой культуры. Клиническое значение положительных культур мокроты может быть неясным, если выявляются грибы комменсалы (например, *Candida albicans*) или грибы, распространенные в окружающей среде (например,

вида *Aspergillus*). Таким образом, могут потребоваться другие данные (например, такие факторы организма, как иммуносупрессия, серологические анализы, тканевая инвазия), чтобы установить диагноз. **Серологические анализы** могут использоваться для подтверждения диагноза многих системных микозов, если культура и гистопатология недоступны или не дают полной картины, хотя немногие из них позволяют установить точный диагноз. Особенно полезны следующие анализы:

- Определение специфических для организма антигенов, особенно виды *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* и виды *Aspergillus* (иногда отмечается перекрестная реактивность с другими грибами при каждом из этих серологических тестов)
- Сывороточный бета-глюкан, который часто обнаруживается при инвазивном кандидозе, а также при инфекциях, вызванных *Pneumocystis jirovecii*
- реакция связывания комплемента и более новые иммуноферментные анализы для антител при кокцидиоидомикозе, которые являются достаточно специфическими и не требуют доказательства в виде возрастающих уровней (высокие титры подтверждают диагноз и указывают на высокий риск экстрапульмонарной диссеминации)

У большинства других анализов на противогрибковые антитела – низкая чувствительность, специфичность или и то, и другое и, поскольку требуется измерение титров в острой стадии и в период выздоровления, использоваться для определения начальной терапии они могут.

Молекулярная диагностика становится полезным инструментом для идентификации молекулярных компонентов некоторых грибковых инфекций. Одобренные FDA тесты включают в себя ДНК-зонды, которые используют образцы культур для идентификации *Histoplasma*, *Blastomyces* и *Coccidioides* и тесты полимеразной цепной реакции или гибридизации ДНК, которые используют образцы культуры крови для идентификации *Candida*.

Времяпролетная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (**MALDI-TOF** масс-спектрометрия), выполняемая на образцах культуры, также может выполняться для идентификации представителей рода *Candida*.

Микробиологическая диагностика: из гнойного отделяемого готовят микроскопические препараты в 10 % щелочи и на среде Са- буро выделяют чистую культуру аспергилл. Ее идентифицируют по внешнему виду в микроскопических препаратах и по внешнему виду колоний.

Эпидемиология и клиническая картина

Возбудитель воздушнокапельным путем попадает на слизистые оболочки верхних дыхательных путей и приводит к образованию гнойных абсцессов и каверн в легких. Состоянием, способствующим развитию болезни, является иммунодефицит. Болезнь проявляется повышением температуры тела, лихорадкой, ознобами и токсинемией, кашлем с обильной мокротой, одышкой и болями в груди. Током крови аспергиллы могут распространяться по организму в другие органы, образуя в них гнойные абсцессы. У больных могут наблюдаться поражения желудочно-кишечного тракта с тошнотой, рвотой, жидким стулом. Аспергиллез — профессиональное заболевание работников сельского хозяйства, кормящих животных сеном, зараженным аспергиллами. Другую группу профессионального риска составляют работницы бумажных, прядильных и ткацких предприятий. В производственном сырье этих фабрик могут находиться аспергиллы.

Лечение — рекомендуется применение в виде ингаляции аэрозоля канамицина в комплексе с нистатином, внутрь через рот — препараты йодистого калия, настойку йода в молоке, при тяжелых формах — амфотерицин В. При необходимости проводят хирургическое удаление пораженного участка легкого.

Несмотря на проводимое лечение, смертность при аспергиллезе достигает 20—35 %.

Специфическая профилактика отсутствует.

Неспецифическая профилактика — борьба с пылью на производстве, использование респираторов рабочими на зерновых элеваторах, мельницах, овощехранилищах, ткацких предприятиях.

Практическая работа №14

Вирусные инфекции

Цель работы: изучить вирусные инфекции на примере ВИЧ-инфекции и гепатита; знать понятие об иммунном статусе и причинах нарушения иммунного статуса; исследовать характеристику возбудителей рассматриваемых вирусных инфекций, особенности эпидемиологии, клинической картины, диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции и гепатита.

Ход работы

Задание №1 Классифицировать вирусы по классовой принадлежности

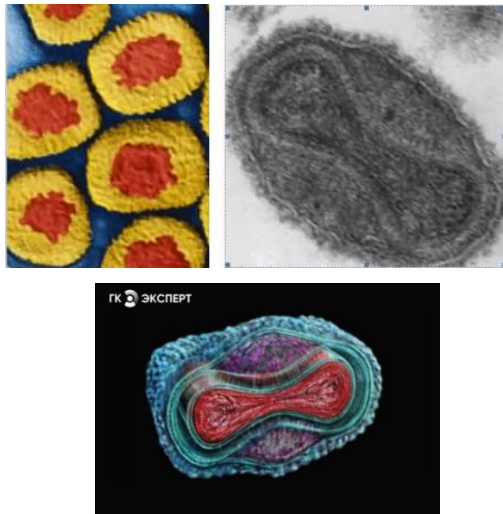
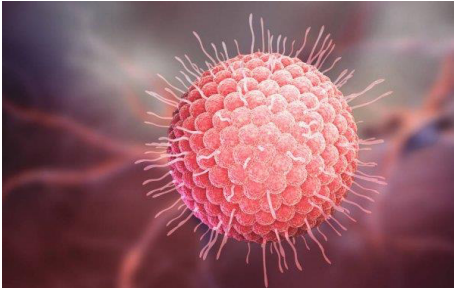
| Класс вируса | Строение вируса | Пример вируса |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Класс I | Вирусы, содержащие двухцепочечную ДНК. | |
| Класс II | Вирусы, содержащие одноцепочечную ДНК. | |
| Класс III | Вирусы, в которых РНК способна к репликации (редупликации). | |
| Классы IV и V | Вирусы, содержащие одноцепочечную РНК. | |
| Класс VI | Вирусы, содержащие одноцепочечную (+) РНК, реплицирующиеся через стадию ДНК. | |

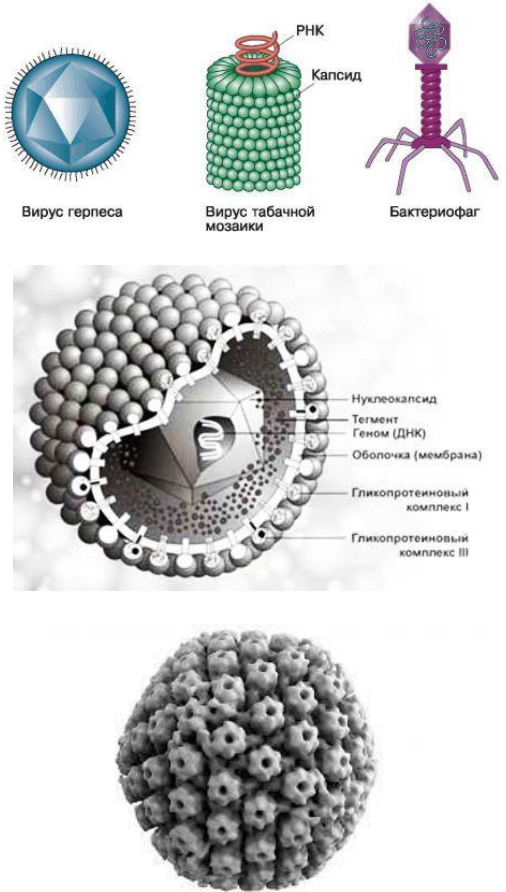
Задание №2 Классифицировать вирусы, на основании различной симметрии вирусов, наличии или отсутствии внешней оболочки

| Дезоксивирусы | | Рибовирусы | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ДНК двухцепочечная | ДНК одноцепочечная | РНК двухцепочечная | РНК одноцепочечная |
| Кубический тип симметрии: – без внешних оболочек (аденовирусы); – с внешними оболочками (герпес). | Кубический тип симметрии: – без внешних оболочек (некоторые фаги). | Кубический тип симметрии: – без внешних оболочек (ретровирусы, вирусы ранковых опухолей растений). | Кубический тип симметрии: – без внешних оболочек (энтеровирусы, полиовирус) Спиральный тип симметрии: – без внешних оболочек (вирус табачной мозаики); – с внешними оболочками (гриппа, бешенства, онкогенные) |

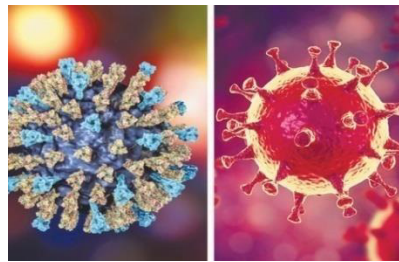
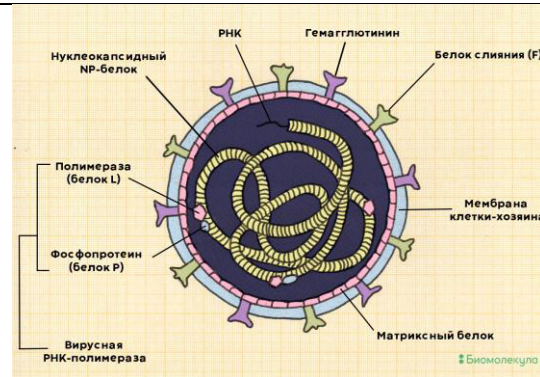
| | | | |
|--------------------------------------------------|--|--|-------------------------|
| | | | РНК-содержащие вирусы). |
| Смешанный тип симметрии (Т-парные бактериофаги). | | | |
| Без определенного типа симметрии (оспы). | | | |

Задание №3 Охарактеризовать морфологические особенности вирусов

| Вирус | Изображение вируса | Классификационная категория | Клиническое проявление вируса |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Натуральная оспа <i>Variola major</i> |  | <p>Крупный ДНК-содержащий вирус, передаваемый при непосредственном контакте с заразным материалом или через воздух.</p> | <p>У больного резко поднимается температура, кружится голова и возникает общая слабость. Через 3—4 дня на теле появляются многочисленные пузырьвидные высыпания, которые в случае выздоровления превращаются в рубцы. Вирусы во время болезни обнаруживаются в крови. После перенесенной оспы формируется прочный и длительный иммунитет.</p> |
| Ветряная оспа <i>Varicella Zoster</i> |  | <p>ДНК герпес-вирусы.</p> | <p>Ветряная оспа чаще всего поражает детей до 10 лет и передается контактным путем и через воздух. Первичное размножение возбудителя происходит в клетках верхних дыхательных путей, а затем с кровью разносится по всему организму. Поражение кожных покровов приводит к отмиранию эпителиальных клеток и образованию пузырьков. У больных повышается температура, возникает озноб,</p> |

| | | | |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | <p>наблюдаются вялость, потеря аппетита, рвота и понос. Во рту и зеве формируются характерные язвочки. Высыпания сопровождаются зудом. При тяжелом течении могут повреждаться некоторые органы и головной мозг. После болезни остается стойкий пожизненный иммунитет.</p> |
| <p>Простой герпес <i>Herpes simplex</i></p> |  <p>Вирius герпеса</p> <p>Вирius табачной мозаики</p> <p>Бактериофаг</p> <p>Нуклеокапсид Тегмент Геном (ДНК) Оболочка (мембрана) Гликопротеиновый комплекс I Гликопротеиновый комплекс III</p> | <p>ДНК герпес-вирусы.</p> | <p>Вирius простого герпеса может передаваться воздушно-капельным и контактным путями, в том числе внутриутробно и при родах от матери к ребенку. Вирius размножается на поверхности и в глубине кожных покровов и слизистых оболочек с образованием зудящих высыпаний на губах, носу, внутренних поверхностях ротовой и носовой полостей, на половых органах. После выздоровления вирius сохраняется в организме, периодически вызывая клинические проявления. Активизации вирiusа способствуют различные неблагоприятные условия (охлаждение, нарушения питания, нервные расстройства и т.д.). Иммунитет на этот вирius не вырабатывается.</p> |

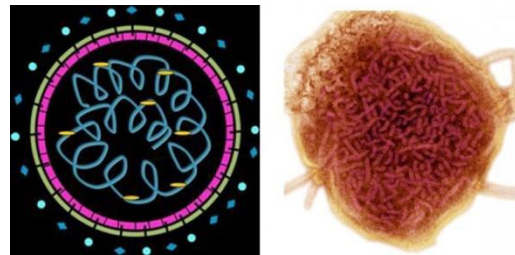
Корь
Morbilli



РНК-содержащий вирус.

Вирус кори поражает только человека и передается через воздух или при непосредственном контакте. Проникая через верхние дыхательные пути и поражая их ткань, вирус попадает в кровь. Для кори характерно состояние лихорадки и появление сыпи сначала на лице, а затем по всему телу. У переболевших детей формируется прочный и длительный нестерильный иммунитет, при котором вирус кори находится в латентном состоянии.

Паротит (свинка)
Mumps

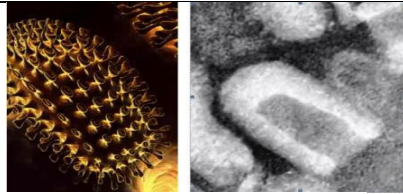


РНК-содержащий вирус.

Возбудитель свинки (паротита) — это РНК-содержащий вирус, передающийся воздушно-капельным путем. Болезнь характеризуется лихорадкой и воспалением околоушных, подчелюстных и подъязычных лимфатических и слюнных желез. В тяжелых случаях вирус попадает в кровь, проникает в другие органы и центральную нервную систему, поражая мозговые оболочки. После болезни формируется стойкий пожизненный иммунитет.

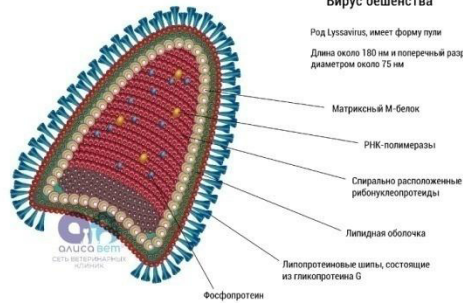
Бешенство

англ. *Rabies*
lyssavirus, ранее
Rabies virus



Вирус бешенства

Род *Lyssavirus*, имеет форму пули
Длина около 180 нм и поперечный разрез
диаметром около 75 нм



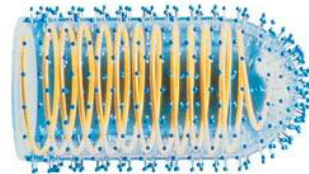
Матриксный М-белок

РНК-полимеразы

Спирально расположенные
рибонуклеопротеиды

Липидная оболочка

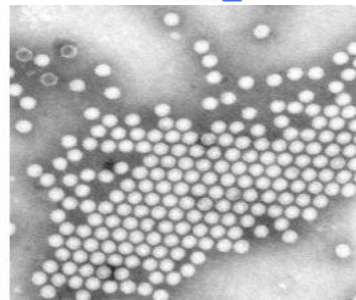
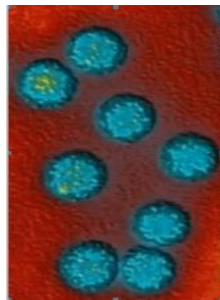
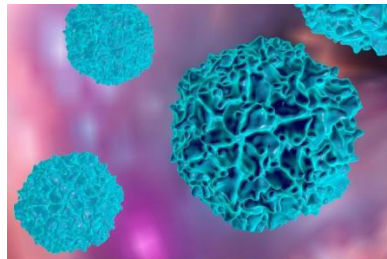
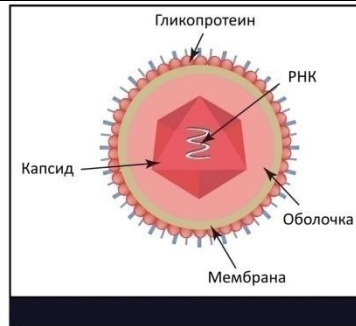
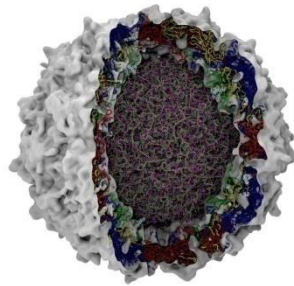
Липопротеиновые шпильки, состоящие
из гликопротеина G



РНК-содержащий
вирус.

Бешенство — это смертельная болезнь человека и животных, поражающая центральную нервную систему. РНК-содержащий вирус бешенства выделяется со слюной и передается при укусе больного животного. Источником инфекции могут быть домашние и дикие животные (собаки, кошки, лисы, волки и т.д.). Зараженное животное отличается беспокойным, пугливым поведением, отсутствием аппетита, обильным слюнотечением. При контакте с человеком животное стремится укусить его. Симптомы болезни после укуса могут появиться через 15—30 дней, а иногда и через год. Из места укуса вирус бешенства распространяется по нервным путям в центральную нервную систему, кровь и лимфу. У человека развивается повышенная возбудимость, усиленное пото- и слюноотделение, судороги глотательных и дыхательных мышц, параличи. Через 5—7 сут. наступает смерть от остановки дыхания.

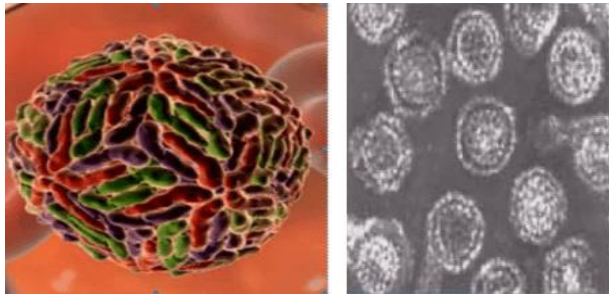
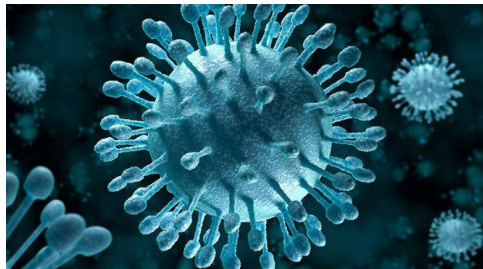
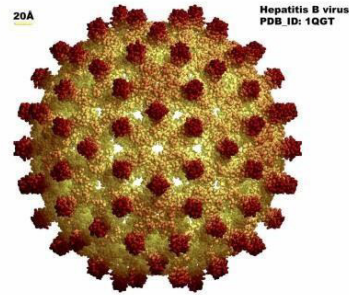
Полиомелит
Poliovirus hominis



РНК-содержащий полиовирус.

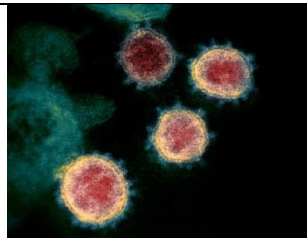
Он попадает в организм через рот с пищей и водой, загрязненными испражнениями больного человека, через грязные руки и предметы обихода, а также переносится на эти предметы с помощью мух. Вирус размножается сначала в слизистых оболочках носоглотки и кишечника, затем попадает в кровь и с ней переносится в спинной мозг. Воспаление нервной ткани при тяжелом течении приводит к параличу мышц. Полиовирус выделяется в окружающую среду с фекалиями больных людей и носителей. У переболевших людей наблюдается стойкий пожизненный иммунитет. К РНК-содержащим вирусам относится возбудитель клещевого энцефалита. Источник инфекции — различные мелкие животные (грызуны, птицы), а переносчик — иксодовый клещ. Вспышки заболевания наблюдаются в весенне-летний период. При укусе клеща вирус попадает в подкожную клетчатку и размножается там. С током крови возбудитель проникает в центральную нервную систему. При этом возникают лихорадка, сонливость, бессонница, нарушаются двигательная активность и чувствительность, может появиться паралич мышц шеи и плечевого пояса. Болезнь сопровождается аллергическими реакциями. Иммунитет после перенесения болезни формируется стойкий и пожизненный.

Гепатит
Hepatitis virus



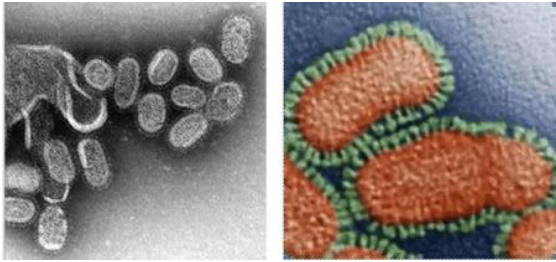
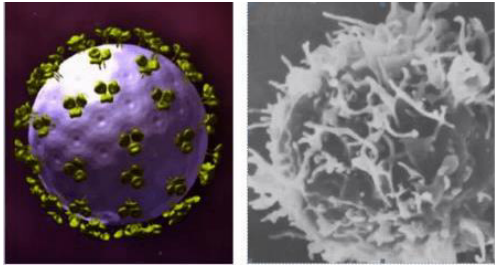
Источником вирусов гепатитов различных форм являются больные люди и носители, выделяющие возбудители с фекалиями, мочой и кровью. Заражение возможно через загрязненные пищу и воду, при различных инъекциях, воздушно-капельным путем и при непосредственном контакте. Попадая в организм, вирусы гепатита размножаются в лимфатических узлах, проникают в кровь и лимфу и поражают печень, почки и селезенку. Печень перестает выполнять свою барьерную функцию, что приводит к отравлению всего организма и отмиранию тканей. У человека кожа и белки глаз приобретают желтый оттенок (желтуха), регистрируются боли в печени и постоянное небольшое повышение температуры тела. Перенесение вирусного гепатита А дает прочный и длительный иммунитет, после гепатита В формируется иммунитет слабой напряженности. Устойчивость к одному из типов гепатита не предохраняет от заражения другим его видом.

Грипп
Influenza virus



Вирус, содержащий одноцепочечную РНК.

Возбудитель гриппа передается от человека к человеку воздушно-капельным путем и периодически вызывает эпидемии и даже пандемии. Вирусы гриппа обладают чрезвычайной изменчивостью и антигенной мимикрией. Проникая через носоглотку, они внедряются в клетки слизистой оболочки верхних

| | | | |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| |  | | <p>дыхательных путей. Вирусные токсины всасываются в кровь и вызывают общее отравление организма. Симптомами болезни являются кашель, насморк, повышение температуры, ломота в суставах, покраснение глаз. Грипп опасен также значительным снижением иммунитета к другим инфекциям и часто вызывает различные осложнения. Течение болезни утяжеляет возникновение состояния аллергии. После перенесенной болезни возникает иммунитет к определенному типу вируса гриппа разной длительности (от 1 до 5 лет), не препятствующий заражению другим типом.</p> |
| <p>ВИЧ <i>Human Immunodeficiency Virus</i></p> |  | <p>Вирусная частица несет внутри себя две нити РНК и набор ферментов и специальных белков, окруженный белковым каркасом.</p> | <p>ВИЧ поражает Т-лимфоциты и фагоциты, внутри которых он может размножаться. Процессы вызывают прогрессивное снижение активности иммунной системы человека и приводят к существенному нарушению метаболизма и полному истощению организма больного. ВИЧ вызывает непрерывное образование в инфицированных макрофагах и клетках центральной нервной системы клеточных токсинов, приводящее к отравлению организма человека.</p> <p>Вирус способствует также уничтожению клеток иммунной памяти. Все эти повреждения приводят к тому, что защитные силы организма уже не могут эффективно противостоять обычным, в том числе условно патогенным, возбудителям инфекционных заболеваний, и такое состояние носит название синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД). По мере снижения числа лимфоцитов</p> |

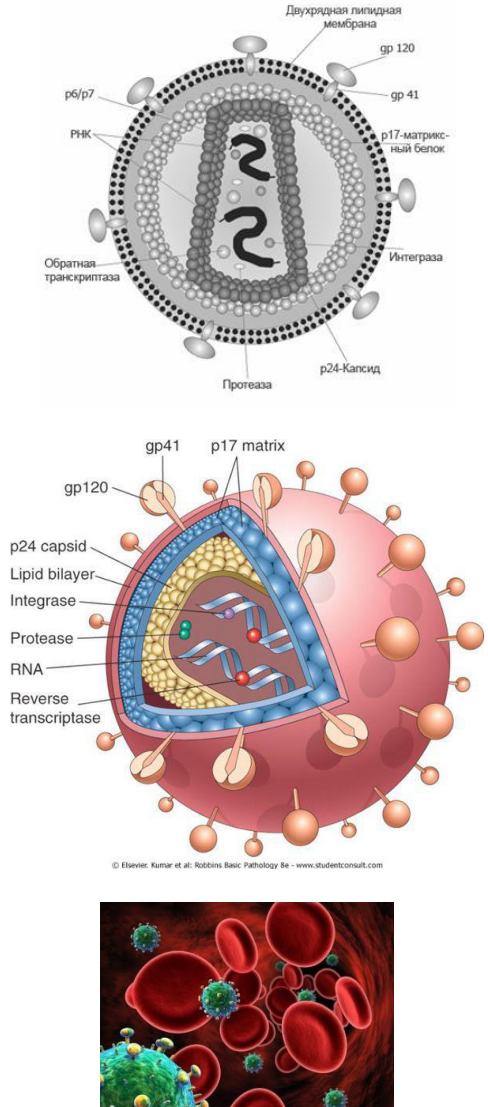
| | | | |
|--|--|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | в крови проявляются сначала поражения кожи и слизистых оболочек, вызванные вирусом герпеса, дрожжевыми формами, туберкулезными микобактериями и др. У больных наблюдаются уменьшение массы тела, лихорадочные состояния, понос. Многие инфекции приобретают генерализованный характер и тяжелое течение. На поздней стадии активируются атипичные микобактерии и цитомегаловирусы, приводящие в конечном итоге к смерти больного. |
|--|--|--|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Задание №4 Описать вирусы гепатита и охарактеризовать клиническую картину их проявления

| Вирус герпеса | Изображение | Семейство | Путь передачи | Персистенция* Клиническое проявление |
|---------------|-------------|-----------------------|-------------------|-----------------------------------------|
| A (PHK) | | <i>Picomaviridae</i> | Фекально-оральный | Персистенции нет. |
| B (ДНК) | | <i>Hepadnaviridae</i> | Кровь; половой | Персистенция есть. |
| C (PHK) | | <i>Flaviviridae</i> | Кровь; половой | Персистенция есть. |
| D (PHK) | | | Кровь; половой | Персистенция есть. |
| E (PHK) | | <i>Caliciviridae</i> | Фекально-оральный | Персистенции нет. |
| G (PHK) | | <i>Flaviviridae</i> | Кровь | Персистенция есть. |
| GBa (PHK) | | <i>Flaviviridae</i> | Кровь | Персистенция есть. |
| GBb (PHK) | | <i>Flaviviridae</i> | Кровь | Персистенция есть. |
| TTV (ДНК) | | <i>Circoviridae</i> | Кровь (кишечник) | Персистенция есть. |
| SEN-V (ДНК) | | | Кровь | Персистенция есть. |

*Персистенция вируса – это сохранение вируса в функционально активном состоянии в клетках организма или культур ткани за пределами тех сроков, которые характерны для острой инфекции.

Задание №5* Описать особенности строения вируса ВИЧ и его разновидности

| Изображение вируса | Строение вируса | Виды вирусов |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>© Elsevier, Kumar et al: Robbins Basic Pathology 8e - www.studentconsult.com</p> | <p>ВИЧ относится к семейству ретровирусов. Вирусная частица представляет собой ядро, окруженное оболочкой. Вирусы представляют собой в простейшем виде систему, состоящую из двух биологических полимеров - нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) и белка. При попадании ВИЧ в клетку, РНК превращаются в ДНК, которая встраивается в ДНК клетки-хозяина, продуцируя новые вирусные частицы – копии РНК вируса, оставаясь в клетке пожизненно. Ядро, окружено оболочкой, в составе которой имеется белок, обуславливающий прикрепление вируса к клеткам организма человека, имеющим рецептор – белок CD4. Размеры вируса очень малы — 100–120 нм. На линии длиной 1 см могут разместиться до 100 тысяч вирусных частиц, а на площади с копеечную монету — несколько десятков миллионов возбудителей.</p> | <p>Виды вирусов</p> <p>Как и все ретровирусы, ВИЧ характеризуется высокой изменчивостью. В настоящее время известны 2 типа вируса иммунодефицита человека, имеющие некоторые антигенные различия – ВИЧ-1 и ВИЧ-2, также обнаружены десятки субтипов (от А до Н). Считают, что в организме человека по мере прогрессирования инфекции от бессимптомной до клинически проявляющейся происходит эволюция вируса от менее патогенному варианту к более.</p> <p>ВИЧ нестоек во внешней среде. Он практически полностью теряет активные вещества прогреванием при температуре 56 градусов в течение 30 минут. Вирус быстро погибает при кипячении от 1 до 3 минут, при резком изменении реакции среды, а также под воздействием дезинфицирующих веществ (раствор перекиси водорода, раствор лизола, этиловый спирт, ацетон и т.д.).</p> |

Задание №6* Объяснить механизм действия вируса ВИЧ и охарактеризовать клиническую картину его проявления*

Для того чтобы разобраться, как вирус иммунодефицита человека (а именно так расшифровывается ВИЧ) разрушает иммунную систему, нужно прежде всего понять, что же это такое — иммунная система. Согласно одному из определений (по Р.В. Петрову), иммунитет — это способ защиты организма от живых тел и веществ, несущих в себе признаки генетической чужеродности. Проще говоря, иммунитет — это то, что защищает нас от бактерий, вирусов, любых высокомолекулярных чужеродных веществ (вспомним иммунитет против змеиного яда), попавших в организм, а также раковых клеток. В его основе лежат фагоциты (у животных называемые макрофагами), собственно уничтожающие (поглощающие) чужеродные тела, а также Т- и В-клетки иммунитета, осуществляющие точное «наведение» фагоцитов на патоген. При проникновении микроба в организм фагоциты его поглощают и переваривают.

Первичное распознавание врага происходит при помощи Toll-like рецепторов, или TLR. Эти молекулы распознают структуры, общие для многих классов патогенов, но отсутствующие у человека (к примеру, TLR5 распознает белок флагеллин — главный компонент жгутиков бактерий, — а TLR3 активируется при наличии двухцепочечной РНК, появляющейся в жизненном цикле многих вирусов, в частности вируса гриппа А). После поглощения микроба его остатки «показываются» (презентируются) Т-хелперам. Т-хелперы активируются, и в свою очередь помогают активироваться В-лимфоцитам (последним для активации нужны молекулы патогена и сигналы активации от Т-хелпера). После этого В-лимфоциты превращаются в плазматические клетки и начинают синтез антител — молекул иммунитета, маркирующих вещества, подобные тем, что активировали В-лимфоциты. Антитела циркулируют в кровотоке и маркируют структуры патогена. Маркированные микробы и другие чужеродные тела поглощаются фагоцитами более эффективно.

Такой «сценарий» работает, когда микроб находится вне клеток организма (в случае заражения большинством бактерий и грибов). Если же враг проникает внутрь клетки (вирусы, некоторые бактерии, простейшие), а также когда враждебной становится сама клетка организма (в случае рака), в дело вступают Т-киллеры. Они находят и уничтожают зараженные клетки, после чего остатки этих клеток поглощаются все теми же фагоцитами. Для активации Т-киллерам требуются Т-хелперы. Помимо Т-киллеров в этом «сценарии» участвуют антитела (и, соответственно, В-лимфоциты), но их роль меньше, чем Т-киллеров. Разумеется, в иммунитете есть и другие участники, но основной акцент в борьбе с ВИЧ приходится на тех, что были названы выше.

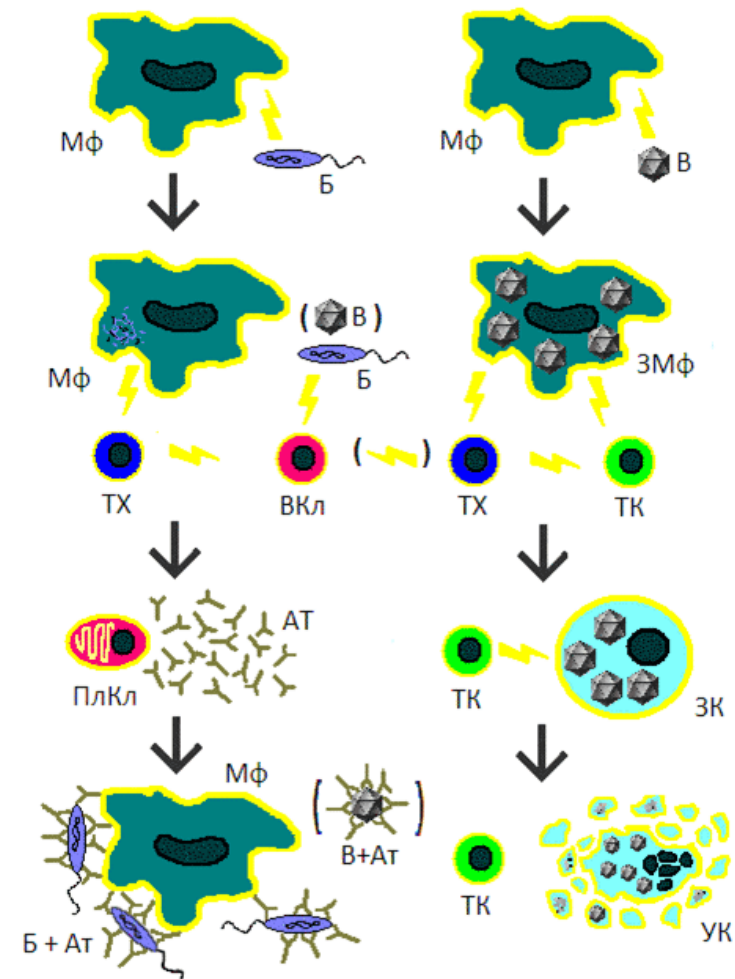


Рис.1. Упрощенная схема иммунного ответа рисунок автора статьи

Упрощенная схема иммунного ответа

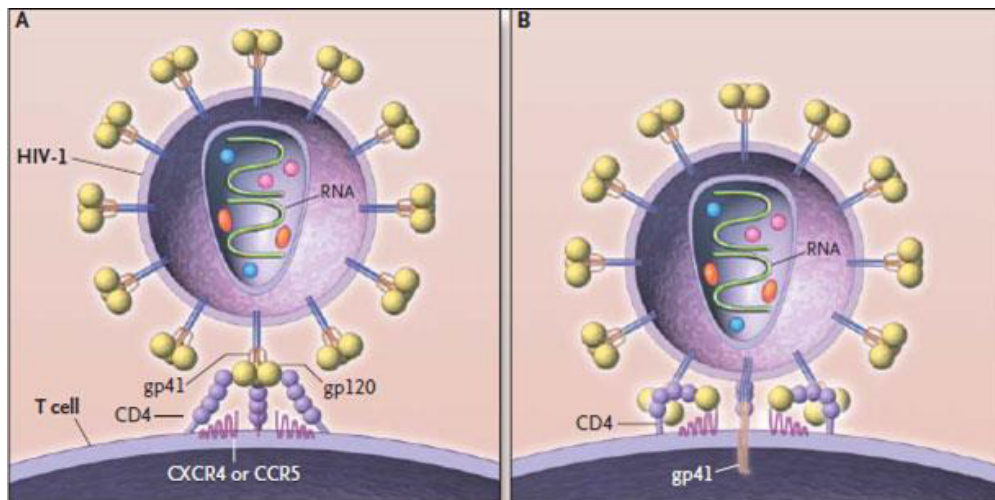
Молниями указано, как один тип клеток активирует другие. **Мф** — макрофаг, **Б** — бактерия, **ТХ** — Т-хелпер, **ВКл** — В-клетка, **ПлКл** — плазматическая клетка, **Ат** — антитела, **Б+Ат** — бактерия, покрытая антителами, привлекающими макрофагов, **В** — вирус, **ЗМф** — зараженный макрофаг, **ТК** — Т-киллер, **ЗК** — клетка, зараженная вирусом, **УК** — умирающая (апоптотирующая) клетка, **В+Ат** — вирус, покрытый антителами.

Жизненный цикл ВИЧ

Рассмотрим жизненный цикл ВИЧ (см. видео). Первая стадия — это проникновение вируса. Сначала любой вирус должен как-нибудь «зацепиться» за клетку, и у разных вирусов для этой цели есть разные «якоря». Имеется таковой и у ВИЧ — белок gp120, который способен взаимодействовать с белком CD4 поверхности человеческой клетки. Это рецептор, присутствующий на многих клетках организма, но больше всего его на Т-хелперах (другое их название — CD4⁺ Т-лимфоциты), — именно на них и направлен ВИЧ в первую очередь. При первоначальном связывании gp120 с CD4 вирусный белок изменяет свою форму и связывается с другими белками поверхности клетки — CXCR4 и CCR5, после чего происходит погружение другого вирусного белка — gp41 — в мембрану клетки. Вслед за этим оболочки клетки и вируса сливаются, и наследственный материал вируса попадает в цитоплазму клетки.

Нормальная функция CXCR4 и CCR5 — рецепция цитокинов (небольших растворимых молекул иммунной системы, посредством которых клетки иммунитета «общаются» друг с другом и другими клетками организма). Именно с мутацией CCR5 ($\Delta 32$ CCR5) связана врожденная устойчивость некоторых людей, гомозиготных (имеющих 2 копии мутированного CCR5) по этому гену, к ВИЧ, (таких людей до 2% в Европе, Индии и странах Ближнего Востока). К сожалению, эта устойчивость не является полной; есть штаммы, заражающие и таких людей. Зато она в какой-то степени проявляется даже у гетерозигот (имеющих одну копию мутированного и одну копию обычного CCR5).

Проникновение вируса в клетку.



А — первоначальное «зацепление» вируса с клеткой; **В** — начальный этап слияния вируса с клеткой. *Условные обозначения: HIV-1* — поверхность капсида наиболее распространенной разновидности вируса - ВИЧ-1; *T-cell* — поверхность Т-хелпера; *gp120* — вирусный рецептор к к человеческому белку CD4; *CD4* — корецептор во взаимодействии Т-лимфоцитов и антиген-презентирующих клеток; одновременно является рецептором к gp120; *gp41* — вирусный белок, за который закреплен gp120; помимо этого играет важную роль в слиянии мембран вируса и клетки; *CXCR4* или *CCR5* — рецепторы хемокинов; корецепторы для белка gp120; *RNA* — вирусный геном. После проникновения наследственного материала ВИЧ в клетку происходит процесс *обратной транскрипции*, то есть перенос информации с вирусной РНК на ДНК. Происходит это потому, что вирусный геном записан в виде РНК, а геном человека — в виде ДНК. Вирусу же «хочется» записать себя в геном клетки, ведь именно он управляет последней. К тому же, если иммунитет имеет средства для распознавания вирусных белков и РНК, то ДНК, интегрированную в геном клетки, иммунитет распознать не может.

Рис.2. Проникновение вируса в клетку

Обратная транскрипция осуществляется вирусным белком *обратной транскриптазой*. Обратная она потому, что обычно в клетке все наоборот — информация переносится с ДНК на РНК (а с РНК — в последовательность аминокислот белков). РНК по сравнению с ДНК очень нестабильна, и поэтому для ВИЧ характерна огромная скорость мутации — в десятки тысяч раз быстрее, чем для человека. Если скорость нейтральных мутаций для ДНК составляет у различных видов и для различных генов в среднем меньше 10^{-9} замен на сайт в год, то скорость мутирования генетического материала РНК-вирусов — около 10^{-3} замен на сайт в год (у гена env ВИЧ: 10^{-2} – 10^{-3} замен на сайт в год). Это одна из причин, почему иммунная система не может справиться с ВИЧ — он слишком быстро изменяется.

После обратной транскрипции геном вируса вставляется в геном человека вирусным белком *интегразой*. Проникнув в геном, вирус может «сидеть» в нем несколько лет, никак себя не проявляя. В основном, вирус начинает размножаться в активированных (делящихся) Т-лимфоцитах, хотя понемногу он может работать и в неделящейся клетке. Это главная причина, почему ВИЧ неизлечим (но есть работа, в которой полностью удалось излечить от ВИЧ клеточную культуру) — в человеке всегда есть «дремлющие» копии вируса, неопределимые для иммунной системы, но способные к «пробуждению» в любой момент (та же история и с герпесом - его как и ВИЧ невозможно полностью удалить из организма).

«Будильником» для вируса служит активация клетки: *промотор* вируса содержит последовательность, гомологичную последовательности *NF-κB*, каковая есть у многих генов иммунитета. (Промотор регулирует работу гена и определяет, как, когда и в каких количествах будет появляться белок в той или иной клетке.) Вспоминая о том, что ВИЧ заражает в основном Т-хелперы, мы получаем интересную картину: пока клетка не активирована, вирус «спит»; как только клетка начинает выполнять свою функцию (иммунитет) — вирус «просыпается» и убивает эту клетку. Можно также добавить, что при ВИЧ-инфекции активируются в первую очередь те клоны Т-клеток, которые специфичны для ВИЧ-белков. Таким образом, после того как копия вируса в геноме клетки начинает действовать, на её поверхности появляются знакомые нам белки gp41 и gp120, в цитоплазме — остальные вирусные белки и вирусная РНК. И через некоторое время от зараженной клетки начинают отпочковываться все новые и новые копии ВИЧ.

Способы уничтожения иммунной системы

Перейдем теперь к тому, как вирус уничтожает иммунную систему. В основном все сводится к включению у Т-клеток запрограммированной клеточной гибели, или апоптоза (В норме апоптоз включается у клеток, которые дефектны или не нужны организму - например, у клеток хвоста эмбриона человека. Большинство потенциальных раковых клеток умирает путем апоптоза. Более того, если клетка «почувствует» при помощи TLR'ов заражение вирусом, она попытается умереть опять-таки через апоптоз (хотя почти у всех вирусов есть механизмы его блокирования)). Само производство вируса не проходит для Т-хелпера бесследно, и со временем он погибает. Причины этого до конца не понятны, но можно выделить несколько возможных.

При отпочковывании вирус использует клеточную мембрану клетки, и со временем это должно вызвать ее разрушение. К тому же, вирусный белок Vpu вызывает увеличение проницаемости мембраны клетки. При активации вируса в клетке появляется неинтегрированная в геном двуцепочечная ДНК, наличие которой может рассматриваться клеткой как повреждение ее генетического материала и индуцировать ее смерть через апоптоз (С точки зрения организма такая клетка потенциально может стать раковой). Помимо этого, вирусные белки напрямую нарушают баланс про- и противоапоптотических белков в клетке. К примеру, вирусная протеаза p10 может разрезать противоапоптотический фактор Bcl-2. Белки Nef, Env и Tat вовлечены в возрастание количества клеточных белков CD95 и FasL, служащих индукторами апоптоза по т.н. Fas-опосредованному пути. Белок Tat положительно регулирует каспазу 8 — ключевой фактор индукции апоптоза.

Если же клетки не погибли сами, они активно уничтожаются Т-киллерами. (Это стандартный ответ иммунитета на заражение любыми вирусами.)

Помимо этого, при производстве gp120 и Tat часть их выбрасывается зараженной клеткой в кровоток, а это оказывает токсическое действие на организм. gp120 оседает на все CD4⁺-клетки (в том числе и здоровые), что имеет **три последствия**:

1. Белок CD4 важен для взаимодействия Т-хелпера с фагоцитом, при слипании же CD4 с gp120 Т-хелпер перестает выполнять эту функцию.

2. На gp120 как на чужеродный белок образуются антитела; после оседания gp120 на здоровые клетки, последние маркируются антителами, и иммунная система их уничтожает.
3. После обильного связывания Т-хелпером gp120 клетка умирает сама. Дело в том, что CD4 — это корецептор. Он усиливает сигнал от TCR (T-cell receptor) — главного белка, позволяющего выполнять Т-клеткам функцию иммунитета. В норме эти рецепторы активируются вместе. Если же активируется один тип рецепторов, но не активируется другой, это является сигналом, что что-то пошло не так, и клетка умирает посредством апоптоза.

Антитела, призванные препятствовать инфекции, в случае с ВИЧ часто, наоборот, ее усиливают. Почему так происходит — не совсем понятно. Одну причину мы рассмотрели выше. Возможно, дело в том, что антитела сшивают несколько вирусных частиц вместе, и в клетку попадает не один, а сразу много вирусов. Помимо этого, антитела активируют клетки иммунитета, а в активированной клетке вирусные белки синтезируются быстрее.

Вдобавок, gp120 и gp41 имеют участки, похожие на участки некоторых белков, участвующих в иммунитете (например, МНС-II, IgG, компонент системы комплемента C1q-A). В результате на эти участки образуются антитела, способные помимо вируса маркировать совершенно здоровые клетки (если на них будут эти белки), с соответствующими для них последствиями.

Так как на поверхности зараженной клетки появляется gp120, то она, как и вирусная частица, будет сливаться с другими CD4-содержащими клетками, образуя огромную многоядерную клетку (синцитий), неспособную выполнять какие-либо функции и обреченную на смерть.

На самом деле, помимо Т-хелперов, CD4 содержатся во множестве других клеток — предшественниках Т-киллеров/Т-хелперов, дендритных клетках, макрофагах/моноцитах, эозинофилах, микроглии (последние четыре — разновидности фагоцитов), нейронах (!), мегакариоцитах, астроцитах, олигодендроцитах (последние две — клетки, питающие нейроны), клетках поперечно-полосатых мышц и хорионаллантоиса (присутствует в плаценте).

Все эти клетки способны заражаться ВИЧ, но сильно токсичен он лишь для Т-хелперов.

Это и определяет основное клиническое проявление СПИДа — сильное снижение количества Т-хелперов в крови. Однако для других клеток заражение тоже не проходит бесследно — у больных СПИДом часто снижена свертываемость крови, имеются неврологические и психиатрические отклонения, наблюдается общая слабость.

Пути заражения ВИЧ

Внимание! Ввиду того, что СПИД является венерическим заболеванием, информация, приведенная в этом разделе, может вас оскорбить либо вызвать неприятные эмоции при прочтении. Будьте осторожны.

Слева указано примерные временные рамки каждого этапа.

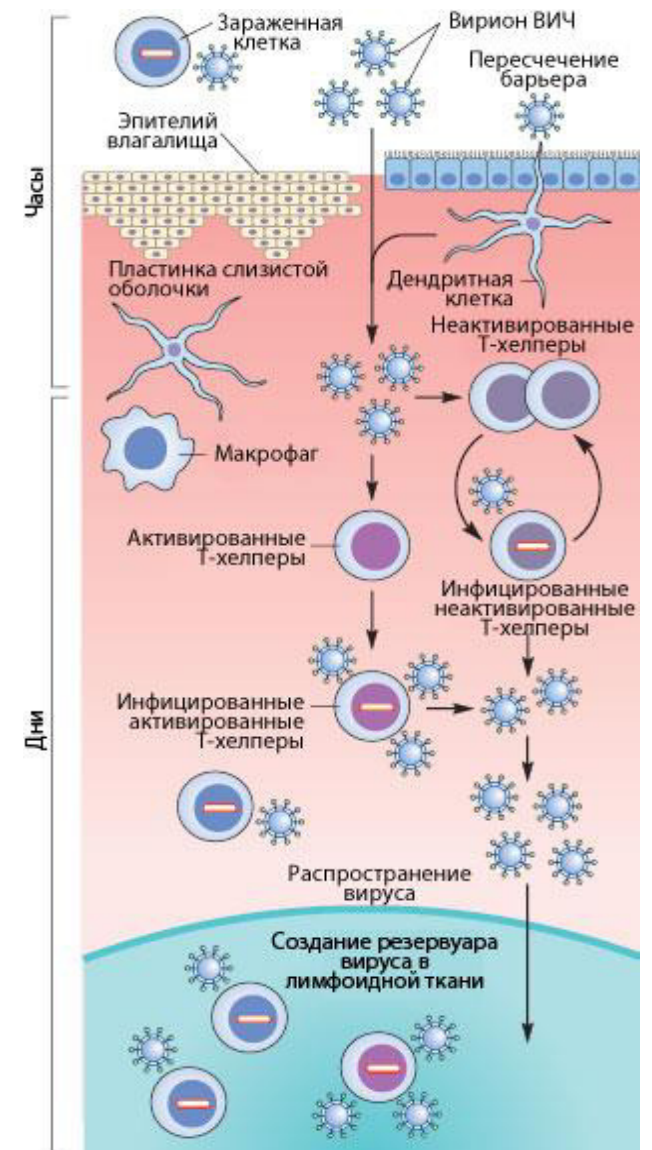


Рис.3. Пути проникновения ВИЧ в организм при половом контакте

Как же происходит первичное заражение человека ВИЧ? Думаю, что с переливанием крови или с использованием общего шприца при употреблении наркотиков читателю все понятно — вирус доставляется напрямую из зараженной крови в здоровую. При вертикальном способе передачи инфекции (от матери к ребенку) заражение может произойти во время внутриутробного развития, в момент родов или в период кормления ребенка грудью (т.к. вирус и зараженные вирусом клетки содержатся в молоке матери).

Тем не менее, даже у ребенка, рожденного от ВИЧ-инфицированной матери, есть шанс остаться здоровым, особенно если мать использует ВААРТ (высокоактивную антиретровирусную терапию).

А почему же люди заражаются при половом контакте?

Механизмы передачи вируса при половом акте не до конца ясны. Тем не менее, они понятны в общих чертах. Итак, рассмотрим барьеры, которые необходимо преодолеть вирусу, чтобы добраться до макрофагов и Т-хелперов. К сожалению, рассматривать особо нечего: барьер только один — это слой эпителиальных клеток и вырабатываемая ими слизь, находящиеся во влагалище (а также пенисе, прямой кишке, глотке). Барьер этот тонкий — он может быть всего одну клетку в толщину, — но для вируса труднопреодолим, доказательством чего может служить сравнительно небольшой процент заражений — примерно 1–2 случая на 100 половых контактов. Итак, и какими же путями преодолевает вирус это препятствие?

Наиболее очевидный механизм — это микротравмы. При обычном половом контакте, а особенно при анальном сексе, почти неизбежно появляются микротрещины; при наличии же венерических заболеваний часто возникают изъязвления слизистой. Через эти микротравмы вирус, содержащийся в сперме и влагалищном секрете, может проникнуть к иммунокомпетентным клеткам.

Но даже в отсутствии микротравм ВИЧ может проникнуть внутрь организма через дендритные клетки (разновидности макрофагов), которые могут выпускать свои отростки в просвет слизистой. Там они захватывают вирусы и бактерии, после чего происходит презентация захваченного материала Т-хелперам. Таким образом организм готовится «тепло встретить» микробов, присутствующих в окружающей среде. Но в нашем случае, дендритные клетки лишь заражаются вирусом — напрямую свободными вирионами или же при контакте с зараженными лимфоцитами, которые могут присутствовать в сперме (общее число лимфоцитов в сперме — до 1 млн/мл и больше).

Помимо дендритных клеток, в кишечнике существует другой тип клеток, предназначенный для ознакомления организма с антигенами внешней среды. Это так называемые *М-клетки*, пропускающие через себя довольно крупные объекты неповрежденными из просвета кишечника. В т.ч. через них может проходить и вирион ВИЧ.

Свой вклад в заражение вносит и провоспалительный процесс, в норме присутствующий в женских половых путях из-за наличия в них спермы.

Благодаря ему Т-клетки подвержены активации, что способствует их восприимчивости к инфекции.

Итак, риск заразиться ВИЧ возрастает в ряду (Классический секс → Анальный секс → переливание крови / использование общих шприцов при принятии наркотиков). Что же касается орального секса, то весьма небольшой шанс заразиться есть только у принимающей стороны — слюна и тем более желудочный сок инактивирует ВИЧ. Теоретически, этим способом может заразиться и мужчина, но для этого необходимы ранки на пенисе.

При поцелуях и обычных бытовых контактах вирус не передается — он очень неустойчив в окружающей среде.

Заключение

На данный момент имеется огромное количество информации о ВИЧ; известны его структура, последовательность генома, жизненный цикл; изучен почти каждый шаг вируса в организме. Уже сейчас на стадии клинических испытаний находится множество лекарственных средств, а ВААРТ (высокоактивная антиретровирусная терапия) позволяет зараженному ВИЧ иметь почти такую же продолжительность жизни, как у здорового человека. Науке известно и два случая *полного* излечения от ВИЧ. Один из них известен как случай «берлинского пациента», которому пересадили костный мозг от донора с мутацией $\Delta 32$ CCR5. Другой прецедент произошел в США, где ребенка, родившегося от ВИЧ-инфицированной матери, сразу после рождения

подвергли ВААРТ. Через два года после рождения девочки мать отказалась продолжать ее лечение, и через 10 месяцев при повторном осмотре врачи констатировали полное выздоровление девочки.

Компьютерная модель ВИЧ

Серым цветом показаны человеческие структуры, «украденные вирусом из клетки», красным — вирус-специфические белки. **1** — капсид вируса, состоит из 250 гексамеров и 12 пентамеров белка р24. **2** — Геном вируса, а также связанные с ним белки, представлен двумя идентичными молекулами РНК по ~10000 нуклеотидов в каждой. Всего геном включает девять генов, которые в результате альтернативного сплайсинга кодируют 15 различных белков. **3** — Различные белки, захваченные вирусом из хозяйской клетки. **4** — Человеческие белки, обычно находящиеся на поверхности мембраны клеток. Захваченные в результате отпочковывания, они увеличивают вирулентность вируса. **5** — Внешняя оболочка ВИЧ, ведущая свое происхождение от цитоплазматической мембраны клетки, от которой когда-то отпочковался вирион. **6** — Матрикс, образованный тримерами белка р17. **7** — Тримерные комплексы белков gp120 и gp41, при помощи которых вирус проникает в клетку. На поверхности среднего вириона насчитывается около 20 таких тримеров. *Чтобы увидеть рисунок в полном размере, нажмите на него.*

Задание №6^{*} «Объяснить механизм действия вируса ВИЧ и охарактеризовать клиническую картину его проявления»

Выполняется в виде сообщений, как дополнительное задание.

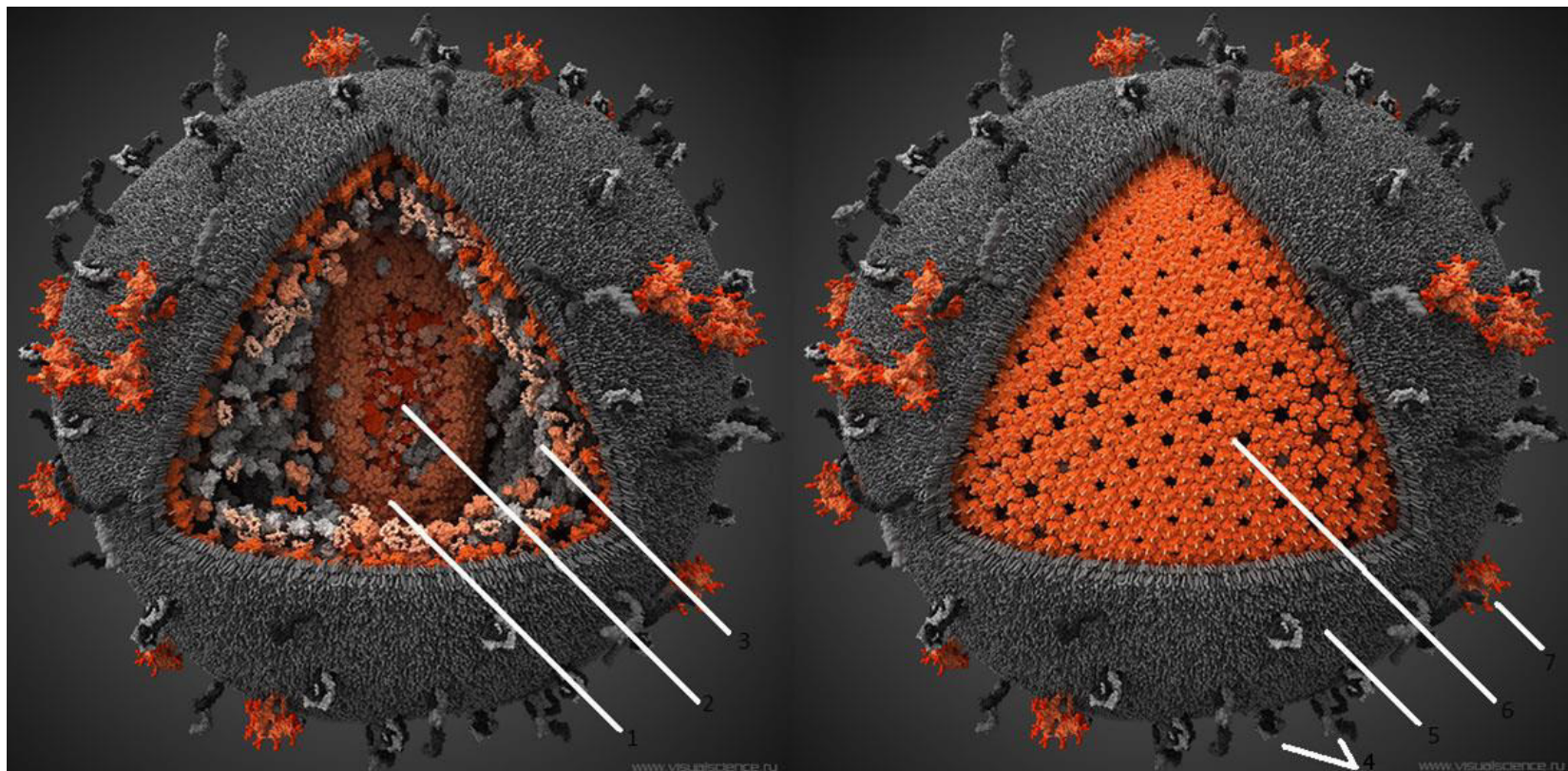


Рис.4. Компьютерная модель ВИЧ