

# МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ (ИППП)

---

Сифилис, гонорея, урогенитальный  
хламидиоз

- **Гонорея** – венерическое заболевание, характеризующееся воспалением слизистых оболочек преимущественно уrogenитальной системы и склонностью к хроническому течению



# Исторические сведения

- 5 тыс. лет назад гонорея упоминается в китайских манускриптах
- 460 год до н.э. описание **Гиппократ**
- 200 год н.э. **Гален** дал название «гонорея»: *gonos* («семя») и *rheein* («истечение»).
- **Альберт Нейссер** 1879 г идентифицировал гонококк



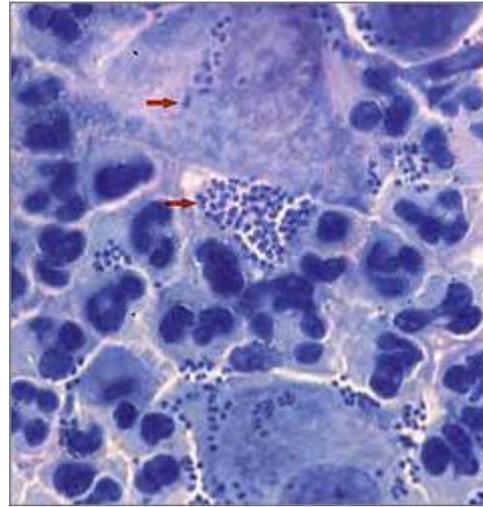
*Neisser*

# Таксономическое положение возбудителя гонореи

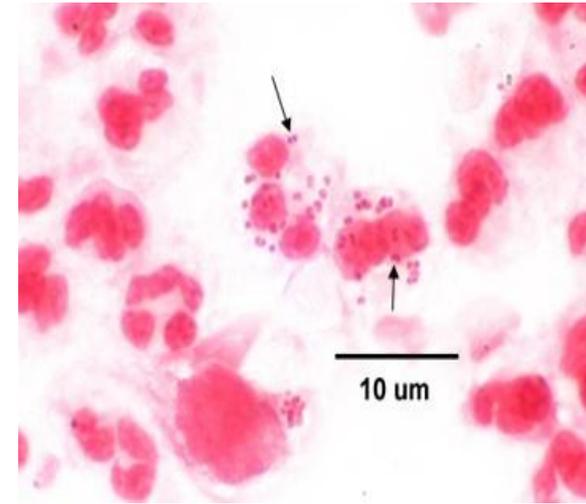
- Семейство Neisseriaceae
- Род Neisseria
- Вид Neisseria gonorrhoeae  
(N.gonorrhoeae)

# Морфология *N.gonorrhoeae*

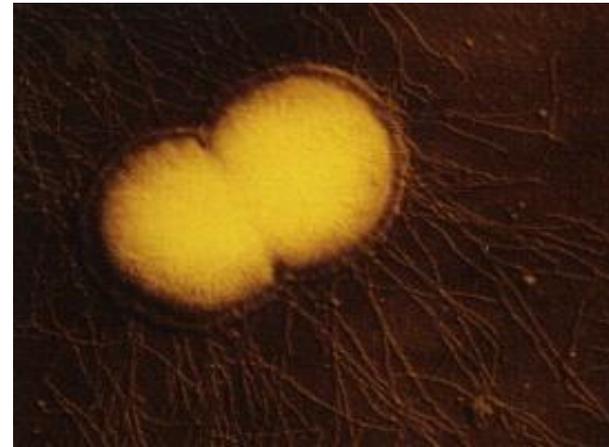
- Грамотрицательные диплококки бобовидной формы,
- неподвижные,
- спор не образуют,
- имеют пили IV типа (концы обладают гидрофобностью, в результате чего они закручиваются – «кудряшки», обладают антигенными свойствами, осуществляют контакт бактерии с клеткой-хозяином, участвуют в образовании биопленки )
- Пили отвечают за «дергающееся» передвижение по плоской поверхности
- Состоят из белка пилина, изменчивого и непостоянного у одного и того же штамма
- в организме могут образовывать



*N.gonorrhoeae* в гное.  
Окраска метиленовым синим

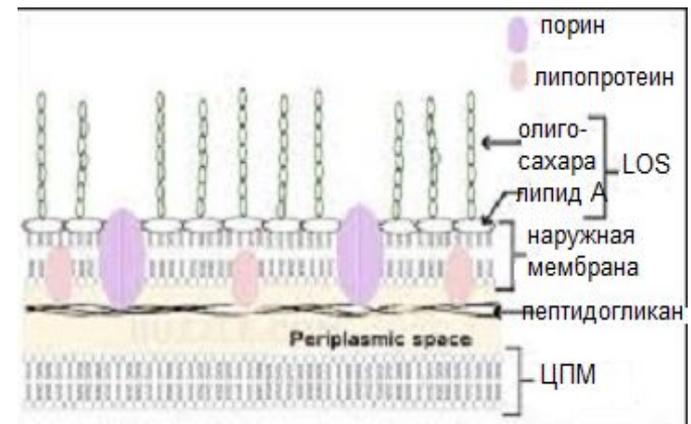


*N.gonorrhoeae* в гное.  
Окраска по Граму



# Клеточная стенка

- Имеет типичное строение для грамотрицательных бактерий
- Наружная мембрана содержит разнообразные биологически активные молекулы (для жизнеобеспечения, факторы патогенности, специфические антигены):
  - Ора-белки – белки мутности колоний,
  - Железосвязывающие белки
- Важнейший компонент – **ЛОС** (липоолигосахарид), аналогичный ЛПС, но отличающийся отсутствием длинных полисахаридных цепей.
- ЛОС способны отрываться во внешнюю среду вместе с частями клеточной стенки в виде «пузырей»



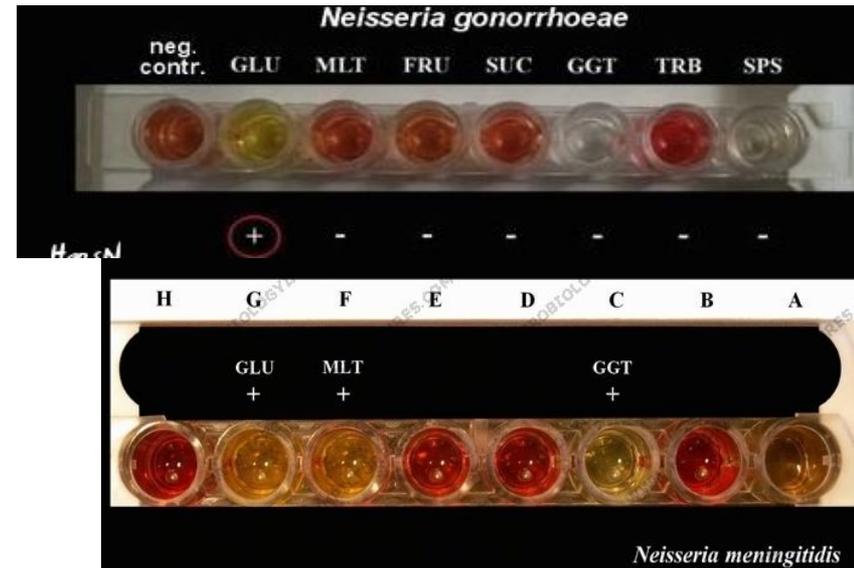
# Культуральные свойства гонококков

- ❑ Аэробы, хотя в тканях развивается и в анаэробных условиях
- ❑ Растут на питательных средах с добавлением крови, сыворотки, асцитической жидкости в присутствии 5-10% CO<sub>2</sub>
- ❑ Крайне требовательны к температуре, растет только при 36-37 С
- ❑ При микроскопии колоний с использованием косого освещения различают мутные (есть Ора) и прозрачные (нет Ора-белка) колонии



# Биохимические свойства

- Биохимически малоактивны
- Является практически абсолютным паразитом
- Использует готовые аминокислоты
- Расщепляет только глюкозу до кислоты
- Как все нейссерии обладает оксидазой и каталазой





## ГЕНОМ *Neisseria meningitidis*

(2 272 351 п.о.)

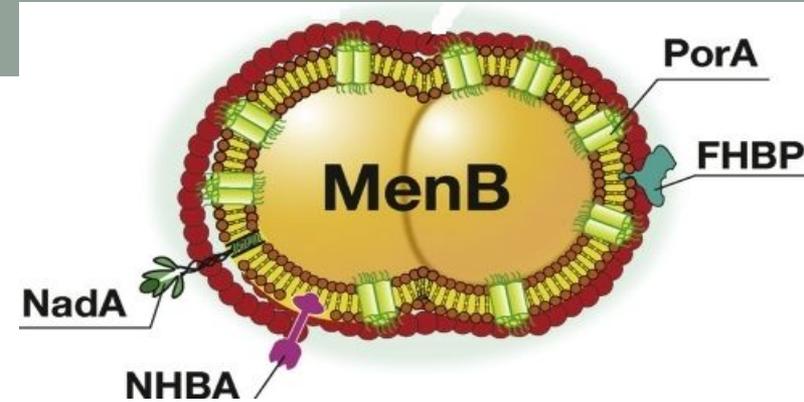
Открытые рамки считывания- 83% генома	Из них 53,7 % выполняют биологические функции
Три острова горизонтального переноса ДНК (ОГП А, В, С)	2 содержат гены, отвечающие за патогенность 1- за гипотетические (неизвестные) белки
4 оперона рРНК 50 оперонов тРНК	877 последовательностей с неизвестными функциями
51 IS- элемент, среди которых IS3, IS5, IS30 и IS110	Две группы IS- элементов еще не классифицированы

- Геном расшифрован
- Изменчивость антигенов связана с высокой частотой мутаций
- Возможны рекомбинации с другими нейссериями
- Есть конъюгативная плазида (сходна с плазмидой кишечной палочки)
- Есть плазида с геном бета-лактамазы
- Есть транспозоны устойчивости к тетрациклину
- Есть криптическая плазида

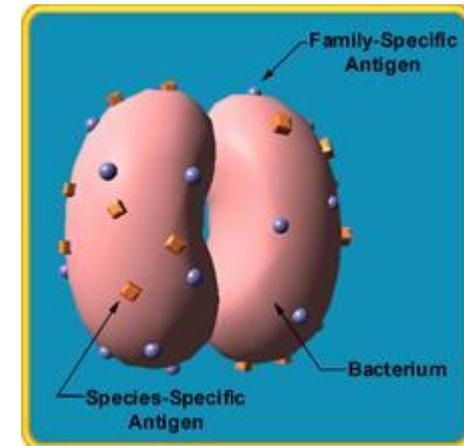
# Резистентность

- ❑ Из всех нейссерий наименее устойчив во внешней среде
- ❑ При 56 С погибает в течение 5 мин., при кипячении – моментально
- ❑ Быстро погибает при высыхании
- ❑ Чувствителен к большинству дезинфектантов
  
- ❑ В последние годы отмечено повышение устойчивости к пенициллинам, тетрациклинам
- ❑ Сохраняется чувствительность к фторхинолонам, макролидам, цефалоспорином 3 поколения
- ❑ Естественно устойчив к линкомицину, ванкомицину, ристомицину

# Антигенные свойства

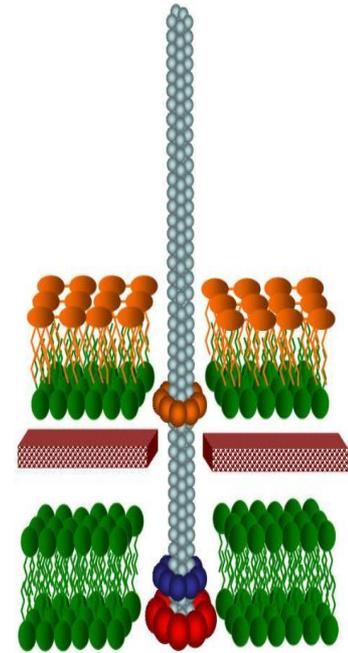


- Антигенные свойства определяются белками клеточной стенки и ЛОС
- Есть белки, общие для двух видов патогенных нейссерий
- Остальные белки тип- и штаммоспецифичны
- В настоящее время выделенные штаммы *Neisseria gonorrhoeae* характеризуют по антигенным свойствам **белков-поринов** (Por или P1)
- На основании этих белков выделяют **серотипы** (от P1.A-1 до P1.A-24 и от P1.B-1 до P1.B-3)
- Существуют две формы этого белка - **белок P1A** и **белок P1B**, каждый штамм содержит только одну из них. Гены, кодирующие белки P1A и P1B, - аллельные варианты одного гена.



# Антигенные свойства

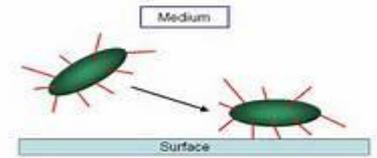
- **Пили** состоят из множества одинаковых белковых субъединиц-белка пилина.
- В составе пилина есть консервативные и переменные участки.
- Перестройки хромосом, ведущие к экспрессии любого из множества неактивных генов пилина, сопровождаются изменениями антигенного состава фимбрий
- Другие перестройки хромосом приводят к тому, что обладающий фимбриями гонококк (Pil+) утрачивает их (то есть становится Pil-). Это явление известно как [смена фаз роста](#) .
- Исследования на добровольцах показали, что при введении в мочеиспускательный канал уретрит вызывают только гонококки, имеющие пили.
- Изменения антигенного состава пилей позволяют гонококкам прикрепляться к разным эпителиальным клеткам и уклоняться от иммунного ответа, а [смена фаз роста](#) - отрываться от эпителиальных клеток и разноситься с кровью по всему организму.
- Такими же непостоянными являются **Ора-белки**
- Специфическим антигеном является и **ЛОС**, но его антигенная активность невелика



пили IV  
типа

# Факторы патогенности

- 1. **Пили** - основной фактор адгезии и колонизации.
- Пили повышают устойчивость возбудителей к фагоцит
- 2. **Капсула**
- 3. **Ора-белки** - обладают адгезивностью, участвуя во взаимодействии с фагоцитами;
- Способствуют инвазии – инвазины: встраиваются в мембрану эпителиальной клетки и нейтрофила, обеспечивая дальнейшую инвазию- этот процесс служит первым этапом эндоцитоза
- Por-белок отвечает за подавление апоптоза
- 4. **IgA-протеазы** - разрушают IgA-антитела, защищающие слизистые оболочки, тем самым облегчая адгезию гонококков на клетках эпителия. Одновременно понижается активность фагоцитоза, опосредованного антителами.
- 5. **Каталаза** обеспечивает выживание внутри фагоцита



# Факторы патогенности

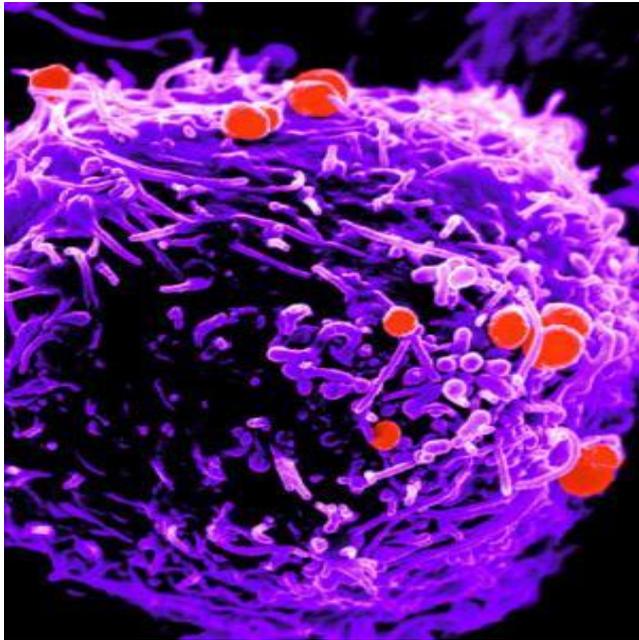
- 6. **ЛОС** (липоолигосхарид) – важнейший фактор патогенности, обладающий свойствами эндотоксина и стимулирующий выработку цитокинов
- При попадании в гонококков в кровь ЛОС защищает их от бактерицидного действия сыворотки путем присоединения сиаловой кислоты
- 7. **Rmp-белок** – образующиеся к нему антитела не дают антителам к Por-антигенам связаться с ними
- 8. **Сидерофоры** – железо-связывающие белки
- 9. **Протеазы** разрывают клеточные связи, нарушают целостность мембран, разжижают слизь
- 10. Гонококк обладает способностью на ранних стадиях выделять лизоцим (подавляет другую флору), которая далее меняется на антилизоцимную активность (инактивирует лизоцим человека)



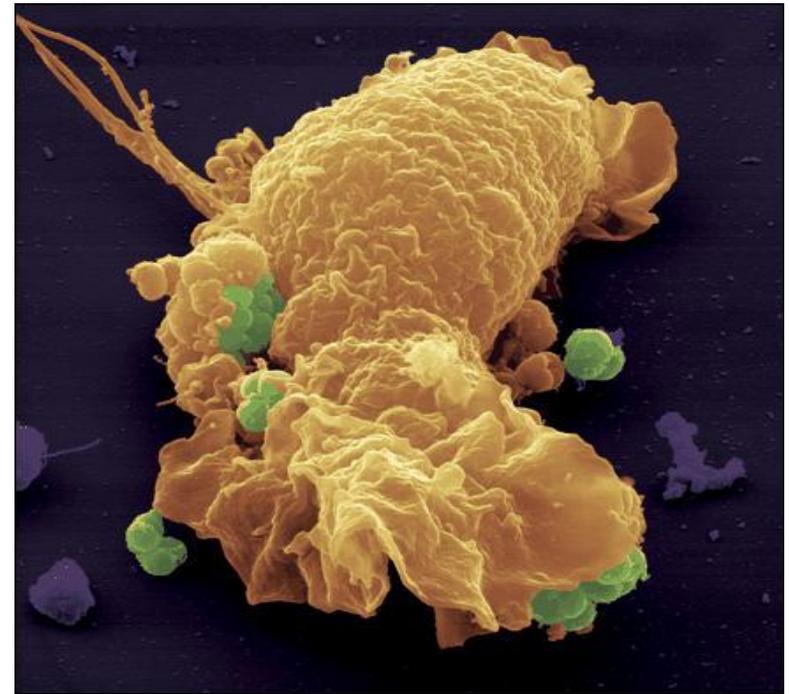
## Факторы патогенности (коротко)

Фактор	Характеристика
Lipo-oligosaccharide	Липоолигосахариды вызывают продукцию медиаторов воспаления - цитокинов
Ribosomal protein L12	Рибосомальный белок считается ответственным за возникновение восходящей гонореи у женщин
Opacity-associated protein (Opa)	Отвечает за инвазию и сохранение жизнеспособности гонококков во время их фагоцитоза нейтрофилами и макрофагами
Порины	Вызывают апоптоз (гибель) фагоцитов
Сидерофоры (железо-связывающие белки)	Обеспечивают жизнедеятельность гонококка и его размножение
IgA протеаза	Расщепляет местные защищающие антитела человека IgA
Пептидоликан	Клеточные пептогликаны обеспечивают устойчивость мембраны гонококка к бактерицидным препаратам.
Reduction modifiable protein (Rmp)	Осуществляет защиту гонококка от антител IgM

## Гонококки на поверхности лимфоцита



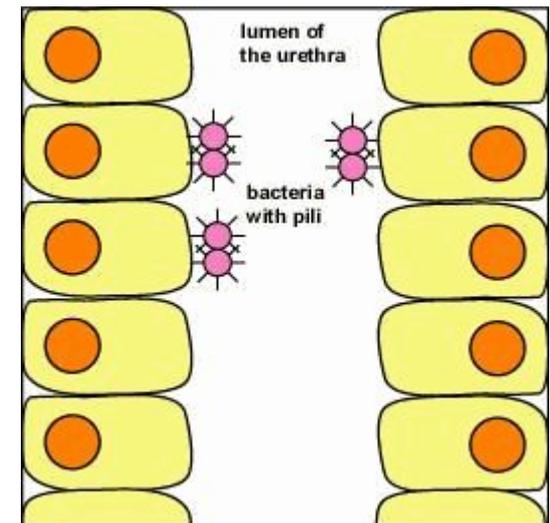
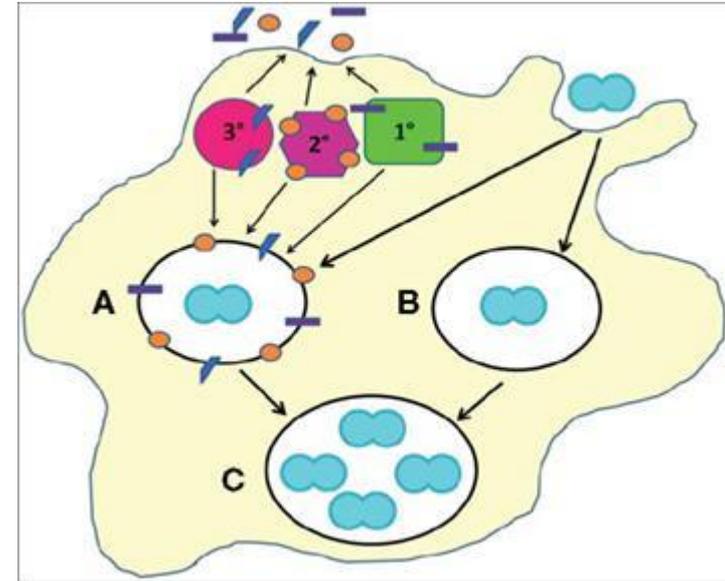
Гонококк может подавлять размножение и активность лимфоцитов, прикрепляясь к определенным белкам на их поверхности



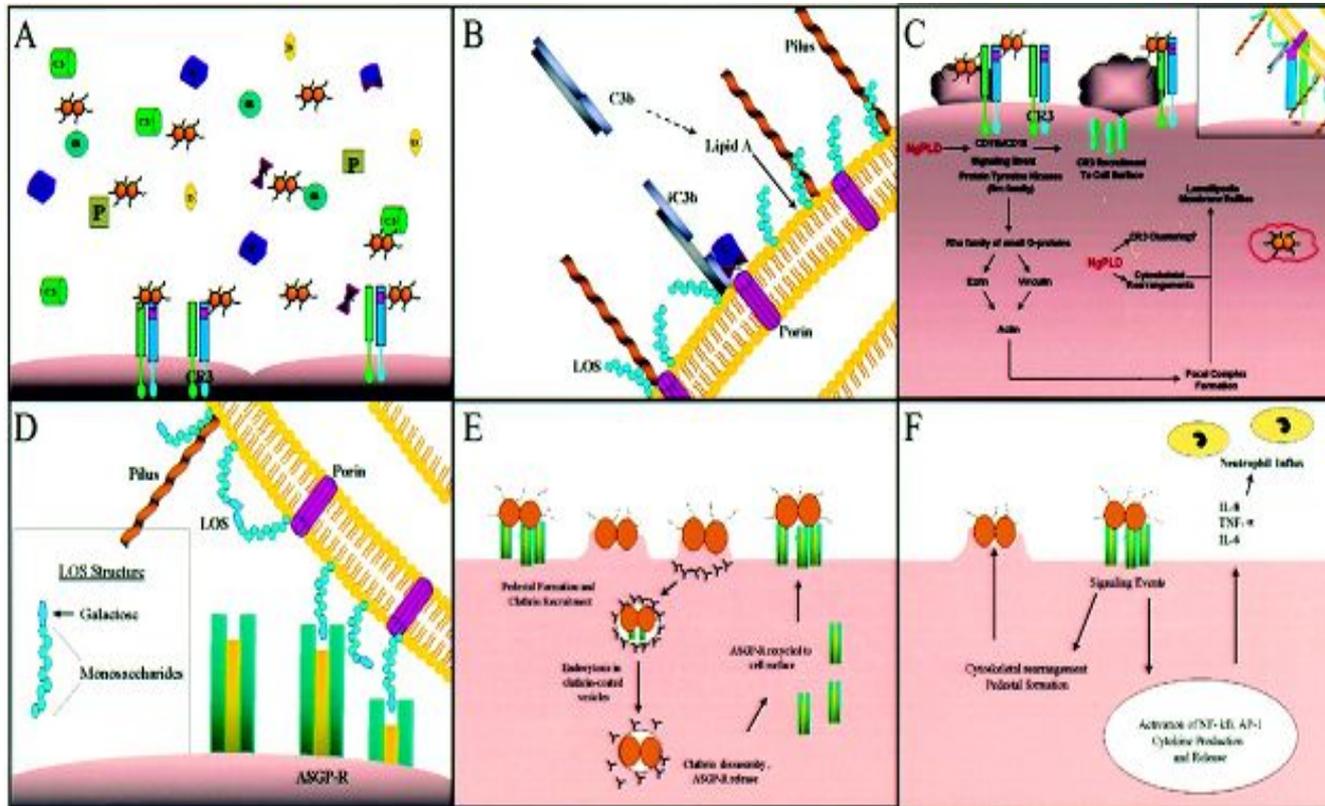
Электронная микрофотография гранулоцита человека, распознавшего *Neisseria gonorrhoeae* (зеленые) в отсутствие специфических ат. Стимуляция клеточных рецепторов вызывает изменения в мембране клетки, способствующие захвату патогена.

# Патогенез

- ❑ Гонококки прикрепляются к цилиндрическому эпителию уретры, влагалищной части шейки матки, прямой кишки, конъюнктиве глаза, а также сперматозоидам и простейшим (трихомонады, амеба).
- ❑ Адгезия происходит за счет пилей и белков наружной мембраны клеточной стенки.
- ❑ Ора- и Por-белки обеспечивают инвазию
- ❑ Внутри эпителиальной клетки гонококки оказываются окруженными клеточной мембраной
- ❑ Мембрану разрушают с помощью протеаз и выходят в цитоплазму – «непрофессиональный» фагоцитоз
- ❑ Способность эпителиальной клетки к эндоцитозу индуцируется самим патогеном



*Взаимодействие гонококков с эпителием цервикального канала у женщин (A-C) и эпителием уретры у мужчин (D-F) идет по различным механизмам*

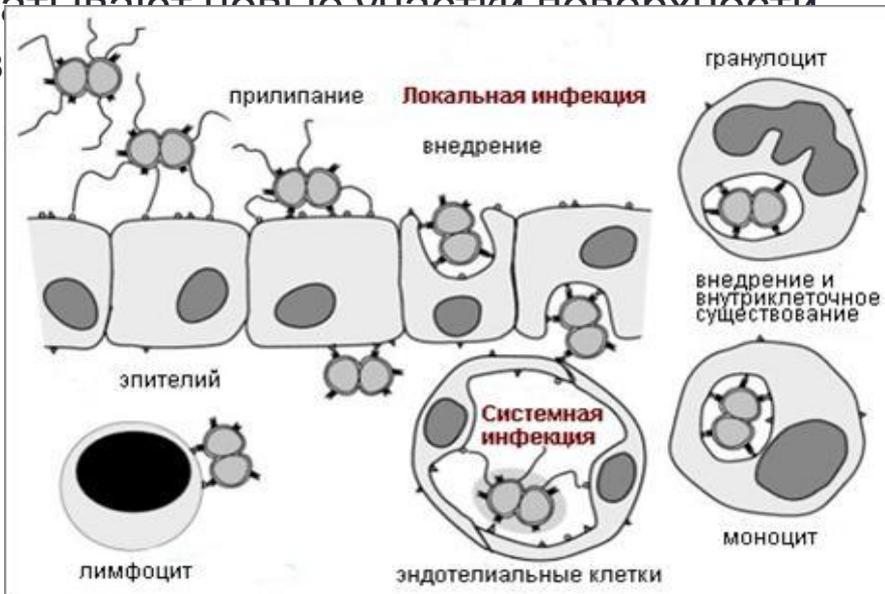


## Текст к предыдущему слайду

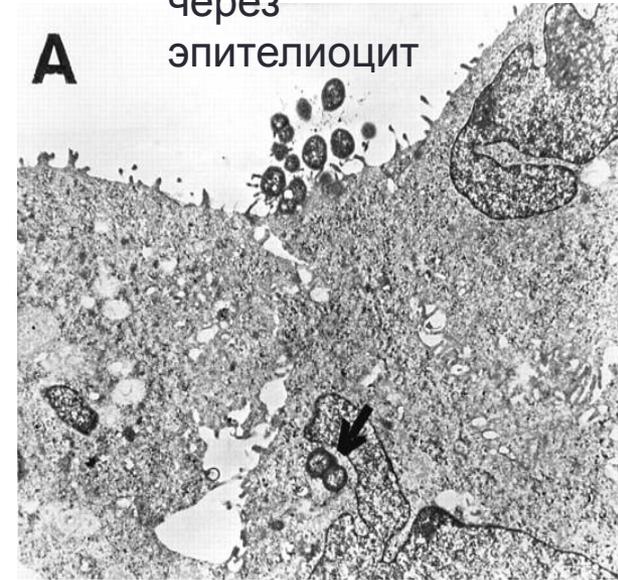
- (A to C) Working model of gonococcal pathogenesis within the lower female genital tract. Alternative pathway complement components are produced and released by the cervical epithelia (A). Upon *N. gonorrhoeae* infection, complement is activated. Gonococcal pilus binds to the I-domain of CR3 allowing the bacterium to overcome the electrostatic repulsion between its own cell surface and that of the host cell. This places the gonococcus within proximity to the cervical cell surface where complement components would be sufficient to allow deposition upon the bacterial cell surface (B). C3b forms a covalent association with the lipid A core of gonococcal LOS and is rapidly inactivated to iC3b. The affinity of gonococcal porin for factor H may augment iC3b formation. The proximity of porin to LOS in the outer membrane may spatially favor the intimate association between iC3b and porin with the CR3 I-domain (C [inset]). Engagement of CR3 triggers a complex signal transduction cascade mediated by the Src-family tyrosine kinases and Rho GTPases (C). These processes result in vinculin- and ezrin-enriched focal complex formation and membrane ruffling, i.e., trigger mechanism of invasion. Secreted NgPLD modulates cervical cell signal transduction by playing a role in CR3 recruitment to the cervical cell surface and by modulating cytoskeletal reorganization. Additionally this protein augments intracellular survival of gonococci after their internalization within macropinosomes. Sialylated gonococci are eventually released from the cervical cell, where they are free to invade more of the cervical epithelia or where they become primed for transmission to the male urethra upon sialic acid removal by sialidases present within the female genital tract. (D) Invasion of the male urethral epithelium is mediated by an interaction between the terminal galactose moiety of LOS and the ASGP-R. (E) An intimate association occurs between the gonococcus and the urethral cell membrane, i.e., the zippering mechanism of invasion. Clathrin is recruited to the site of ASGP-R, and gonococcus-ASGP-R complexes are internalized in clathrin-coated pits in an actin-dependent process. Within the endosome a drop in pH is proposed to release the ASGP-R from the gonococcus surface, and clathrin molecules are lost. ASGP-R is recruited to the urethral cell surface, where it is available to serve as a receptor for more gonococci. (F) Engagement of the ASGP-R triggers cellular responses resulting in membrane pedestal formation beneath receptor-gonococcus complexes and activation of transcription factors required for the production of the inflammatory cytokines IL-6, IL-8, and TNF- $\alpha$ . Neutrophil influx accompanies cytokine release. Sialylated gonococci are eventually released from the urethral epithelium, where they can then be transmitted to a female partner. However, sialic acid on the gonococcus surface does not influence the ability of these organisms to associate with the uterine cervix.

# Патогенез

- ❑ ЛПС и пептидогликан вызывают гибель эпителиоцитов и их десквамацию
- ❑ Цитокины стимулируют развитие воспалительной и иммунной реакции организма
- ❑ В местах внедрения гонококков развивается острый воспалительный процесс, сопровождающийся мощной фагоцитарной реакцией и обилием гноя
- ❑ Из эпителия гонококки проникают в субэпителиальные ткани и одновременно захватывают клетки слизистой оболочки

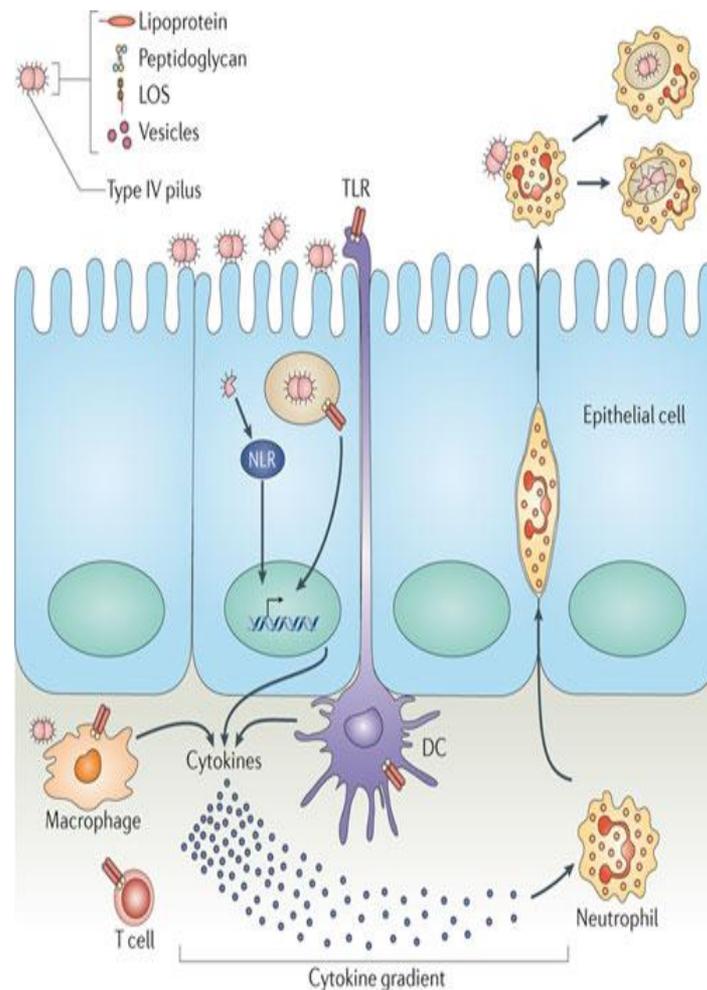


Проход  
гонококков  
через  
эпителиоцит



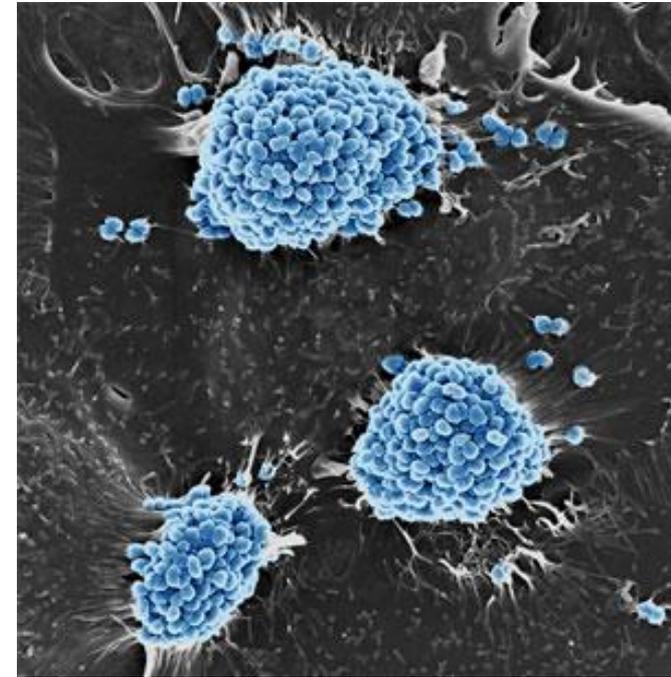
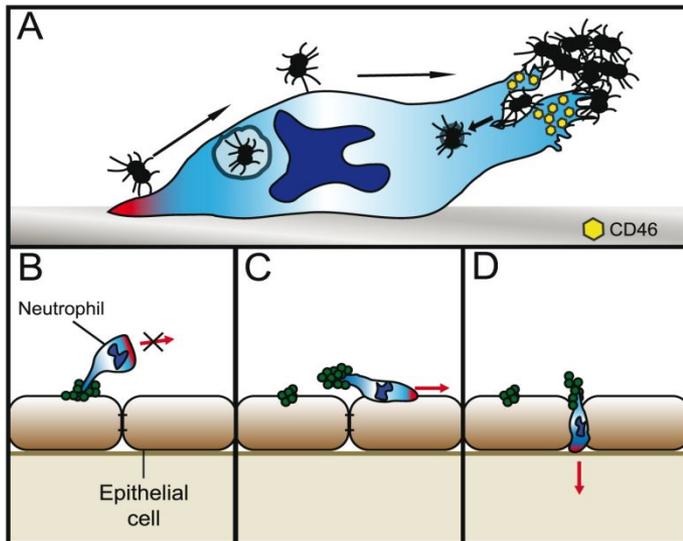
# Патогенез

- ❑ Гонококки распространяются, продвигаясь по слизистой оболочке мочеполовых путей и по лимфатическим сосудам.
- ❑ Первоначально инфекция поражает нижние отделы мочеполового тракта - область входных ворот и нередко прилежащие органы.
- ❑ Далее развивается как восходящая инфекция
- ❑ В редких случаях при отсутствии адекватной сопротивляемости инфекционный процесс может стать генерализованным: бактериемия с заносом гонококка в полости суставов, перикарда и на мозговые оболочки; сепсис



# Патогенез. Хроническая форма гонореи

- ❑ Без адекватного лечения острый процесс переходит в хроническую форму.
- ❑ Этому способствует :
  - ❑ образование L-форм гонококков
  - ❑ образование биопленки, под которой эпителиальный слой оказывается неповрежденным
- ❑ Незавершенный фагоцитоз (находясь внутри фагоцитов или прикрепившись к ним гонококки перемещаются на другие отделы – механизм



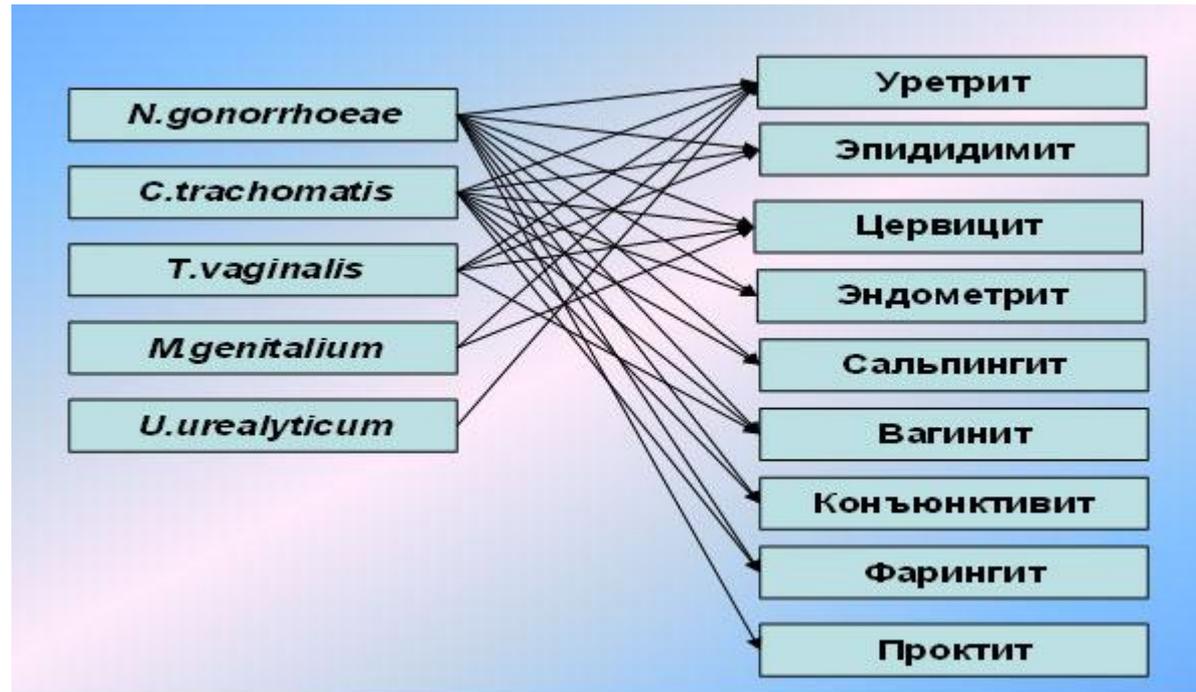
Электронная микроскопия:  
микроколонию *N. gonorrhoeae*  
(голубые) атакуют эпителиальные  
клетки человека.



Микрофотография фаллопиевой трубы через 20 ч после заражения *Neisseria gonorrhoeae*

# Клинические проявления гонореи.

- ❑ Гонококковый уретрит мужчин (Gonococcal Urethritis)
- ❑ Гонококковый цервицит женщин (Gonococcal Cervicitis)
- ❑ Гонококковый проктит (Gonococcal Proctitis)(пути инфицирования прямой кишки у мужчин и женщин различны).



- ❑ При внегенитальных входных воротах наблюдается проктит, фарингит, конъюнктивит.
- ❑ Возможно проникновение возбудителей в кровоток и занос их в различные органы и ткани.
- ❑ У 1-2% больных развивается диссеминированная гонорейная инфекция, для которой характерны артриты и другие поражения костно-мышечной системы, эндокардит, менингит, сепсис и др.

# Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10)

- **Гонококковая инфекция (A54)**
- **A54.0 Гонококковая инфекция нижних отделов мочеполового тракта без абсцедирования периуретральных или придаточных желез**
- Гонококковый: . цервицит БДУ . цистит БДУ . уретрит БДУ . вульвовагинит БДУ Исключена: с: . абсцедированием мочеполовых желез (A54.1) . периуретральным абсцессом (A54.1)
- **A54.1 Гонококковая инфекция нижних отделов мочеполового тракта с абсцедированием периуретральных и придаточных желез**
- Гонококковый абсцесс бартолиновых желез
- **A54.2+ Гонококковый пельвиоперитонит и другая гонококковая инфекция мочеполовых органов**
- Гонококковый(ое): . эпидидимит (N51.1\*) . воспалительное заболевание тазовых органов у женщин (N74.3\*) . орхит (N51.1\*) простатит (N51.0\*) Исключен: гонококковый перитонит (A54.8)
- **A54.3 Гонококковая инфекция глаз**
- Гонококковый: . конъюнктивит+ (H13.1\*) . иридоциклит+ (H22.0\*) Гонококковая офтальмия новорожденных
- **A54.4+ Гонококковая инфекция костно-мышечной системы**
- Гонококковый: . артрит (M01.3\*) . бурсит (M73.0\*) . остеомиелит (M90.2\*) . синовит (M68.0\*) . теносиновит (M68.0\*)
- **A54.5 Гонококковый фарингит**
- **A54.6 Гонококковая инфекция аноректальной области**
- **A54.8 Другие гонококковые инфекции**
- Гонококковый(ая) (ое): . абсцесс мозга+ (G07\*) . эндокардит+ (I39.8\*) . менингит+ (G01\*) . миокардит+ (I41.0\*) . перикардит+ (I32.0\*) . перитонит+ (K67.1\*) . пневмония+ (J17.0\*) . сепсис . поражение кожи Исключен: гонококковый пельвиоперитонит (A54.2)
- **A54.9 Гонококковая инфекция неуточненная**

# Клинические классификации

- **Свежая**  
(менее 2 мес)
  - **Хроническая**  
(более 2 мес)
  - **Латентная**
  - **Острая** (объективные + субъективные симптомы)
  - **Подострая**  
(объективные или субъективные симптомы)
  - **Торпидная**  
(слабовыраженные или отсутствие симптомов)
- 

# Внегенитальные поражения

## Фарингит



## Конъюнктивит



## Диссеминированная гонококковая инфекция

## Бленнорея новорожденных

## Осложнения у мужчин

- Баланопостит
- Фимоз
- Уретральный аденит (литтреит, морганьит, куперит)
- Эпидидимоорхит
- Простатит
- Стриктура уретры
- Парауретрит
- Мочевая инфекция (пиелонефрит)
- Артрит

## Осложнения у женщин

- Бартолинит
- Скенит
- ВЗОМТ (сальпингоофорит, эндометрит)
- Бесплодие
- Перигепатит
- Артрит
- Мочевая инфекция

- ❑ Осложнения во время беременности: мертворождение, низкий вес плода
- ❑ Гонококковый конъюнктивит у новорожденного может привести к слепоте

# Иммунитет

- ❑ При гонорее развиваются реакции гуморального и клеточного иммунитета.
- ❑ Противогонококковые антитела появляются в сыворотке крови на 5-7-й день болезни, пик титра антител наблюдается на 14-й день, затем титр постепенно уменьшается.
- ❑ Наибольшая роль в защите при инфицировании принадлежит факторам местного иммунитета, секреторным иммуноглобулинам sIgA,
- ❑ Стойкий постинфекционный **иммунитет не развивается**, возможны повторные заражения (реинфекция). Что связано с высокой изменчивостью антигенов

# Эпидемиология

- В мире **200 млн.** случаев гонореи ежегодно
- Болеет только человек
- Чаще болеют подростки, молодежь (15-25 лет)
- Асимптомное носительство чаще у женщин
- У мужчин регистрируется чаще, чем у женщин
- **50% женщин и 20% мужчин** заболевают после единственного сексуального контакта

# Эпидемиология

- ❑ Антропоноз
- ❑ Источник – больной человек, как правило, с бессимптомной формой инфекции
- ❑ Пути передачи:
  - ❖ Основной – половой
  - ❖ Поражение глаз у взрослых возникает вследствие заноса возбудителей руками с мочеполовых органов
  - ❖ Инфицирование новорожденных при прохождении плода по родовым путям (бленнорея)
  - ❖ Возможно также бытовое заражение девочек при нарушении гигиенических правил ("горшечная" инфекция, пользование общими предметами личной гигиены, например губками, и пр.).
  - ❖ Казуистические случаи бытового заражения



**В среднем, весь процесс от момента попадания гонококка на слизистую оболочку до возникновения воспалительной реакции в подслизистом слое занимает 3-4 дня**



**Инкубационный период**

**Сроки инкубационного периода могут сильно варьировать: от 2 дней до 1 месяца**

## Факторы распространения антибиотикоустойчивых *N. gonorrhoeae*

Не контролируемые

Контролируемые

- бессимптомные формы инфекции;
- инкубационный период;
- поведенческие особенности;
- путешествия

- неадекватное лечение;
- безрецептурный отпуск АБ;
- отсутствие программ по контролю за ИППП;
- недостаточность бактериологической диагностики

# Микробиологическая диагностика гонореи

- Исследуемые материалы: гной из уретры, слизь из шейки матки, отделяемое других пораженных слизистых оболочек, осадок мочи, пунктат из суставах (при артрите), кровь.
- Методы диагностики:
  - 1. Микроскопический
  - 2. Бактериологический.
  - 3. Серологические тесты для выявления Аг гонококка в клиническом материале – МИФ, ИФА
  - 4. Полимеразная цепная реакция - ПЦР

Принципиальная схема лабораторной диагностики гонорей

Отделяемое из уретры, шейки матки, прямой кишки, ротоглотки, глаз, секрет предстательной железы

Бактериоскопия  
(окраска 1% метиленовым синим;  
окраска по Граму)

ПЦР,  
ЛЦР

Отделяемое из шейки матки,  
прямой кишки, ротоглотки,  
глаз

Отделяемое из шейки матки,  
уретры, секрет простаты

Грамм-отрицательные  
внутриклеточные диплококки

Бактериологическое  
исследование

Селективные среды  
(Thayer-Martin,  
New-York City,  
GonoLine)

Неселективные среды  
(«шоколадный агар»,  
ГНК-агар, ПСВГС)

Инкубация в CO<sub>2</sub>-термостате

Рост характерных колоний

Бактериоскопия  
(окраска по Граму)

Грамм-отрицательные  
внутриклеточные  
диплококки

Микробиологические  
тесты:  
оксидазный,  
супероксольный,  
утилизация углеводов  
(гонококки избирательно  
ферментируют  
только глюкозу)

Продукция β-лактамаз  
(нитроцефиновый тест)

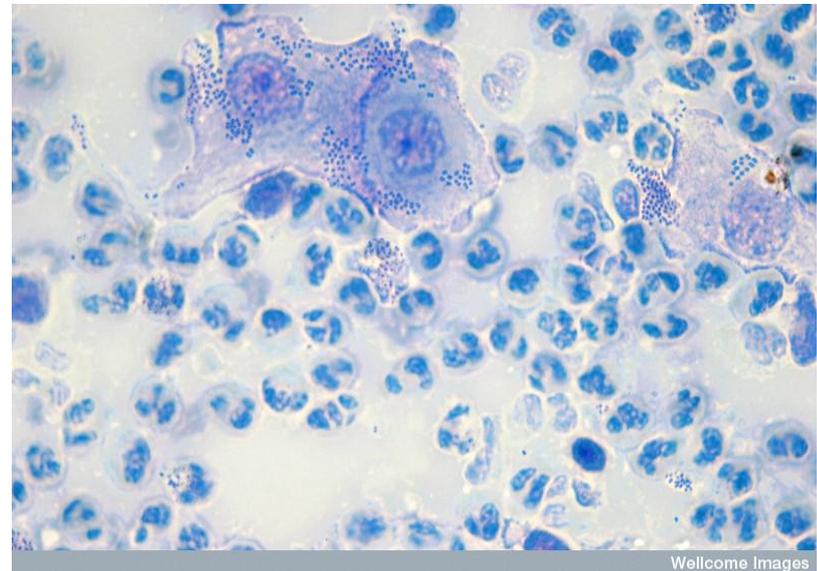
Определение чувствительности  
к антибиотикам (E-test,  
диско-диффузионный метод,  
метод разведения в агаре)

# Микроскопическая диагностика острой гонореи

- Исследуемый материал (гной из уретры) красят по Граму и Леффлеру.
- При положительном результате в поле зрения препарата видны многочисленные лейкоциты и диплококки бобовидной формы, расположенные преимущественно внутри лейкоцитов.
- При свежей острой гонорее этот метод является окончательным

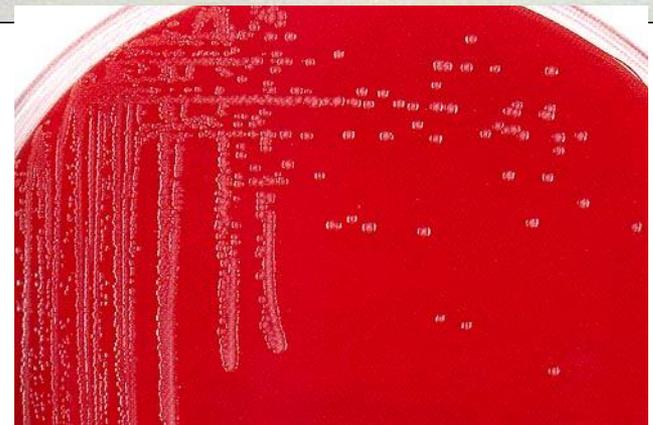
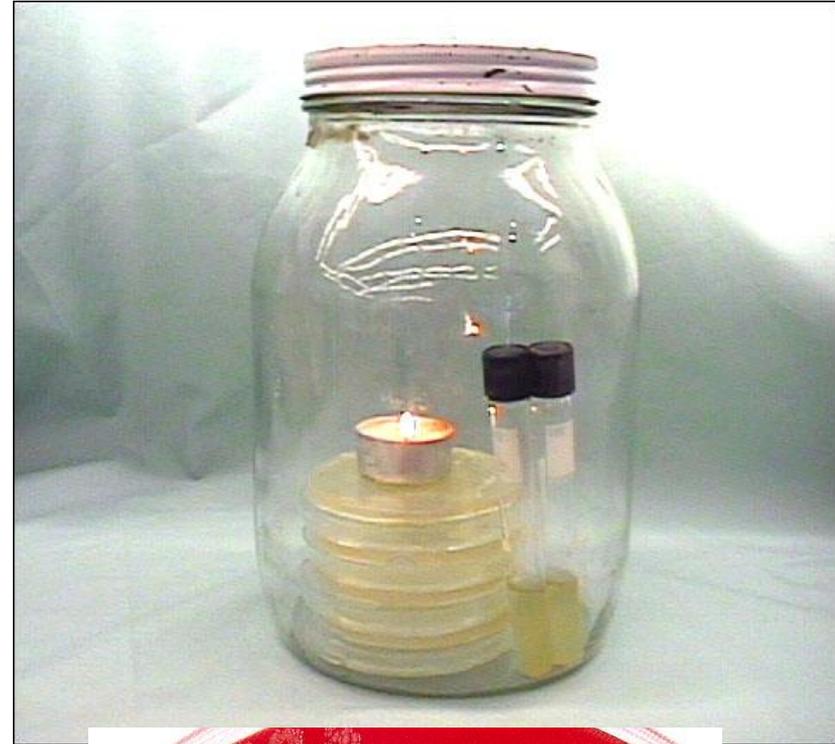


Мазки из  
отделяемого  
уретры.  
Окрашенные по  
Граму и Леффлеру

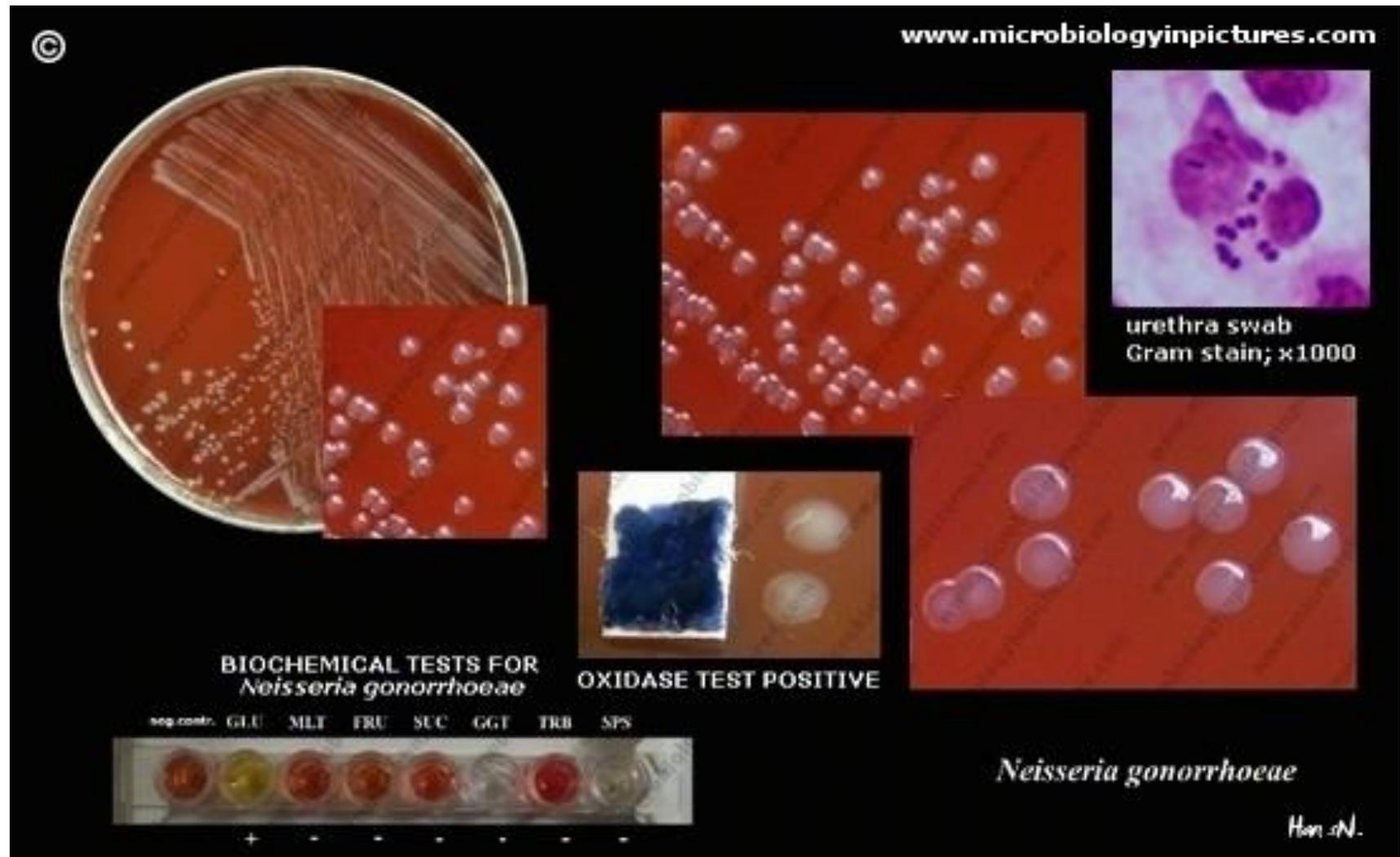


# Бактериологический метод диагностики гонореи

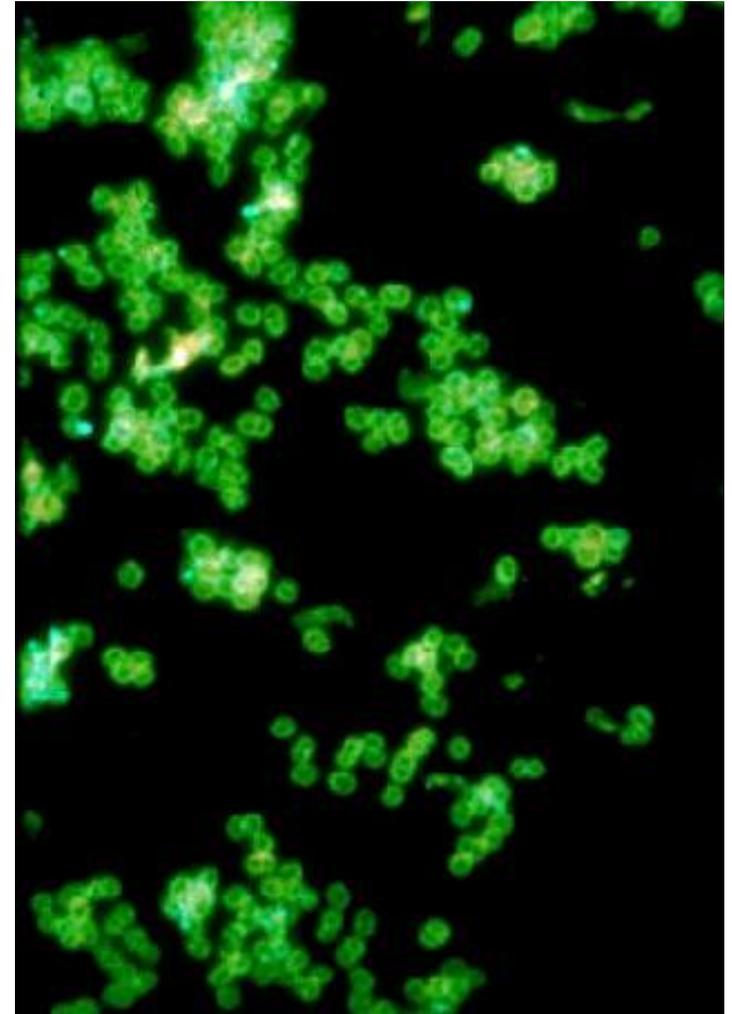
- ❑ Исследуемый материал засевают на элективные питательными средами в чашки Петри,
- ❑ инкубируют при 37 С в атмосфере 10% CO<sub>2</sub> 2-5 суток.
- ❑ Выросшие колонии напоминают капли росы (вирулентные штаммы).
- ❑ Далее получают чистую культуру, которую идентифицируют по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам, определяют чувствительность к антибиотикам.



# Бактериологический метод диагностики гонореи



# Экспресс метод – прямой ИФ





# Лечение неосложненной гонококковой инфекции

- Рекомендуемые  
схемы:
  - **Цефтриаксон** 250  
мг внутримышечно  
однократно или
  - **Ципрофлоксацин**  
500 мг внутрь  
однократно

