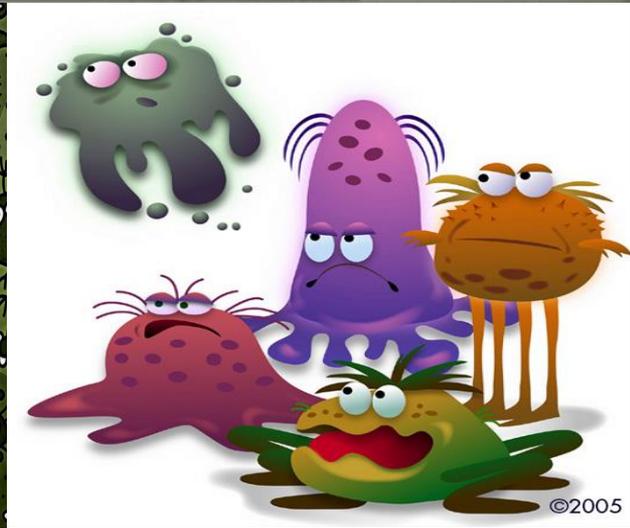
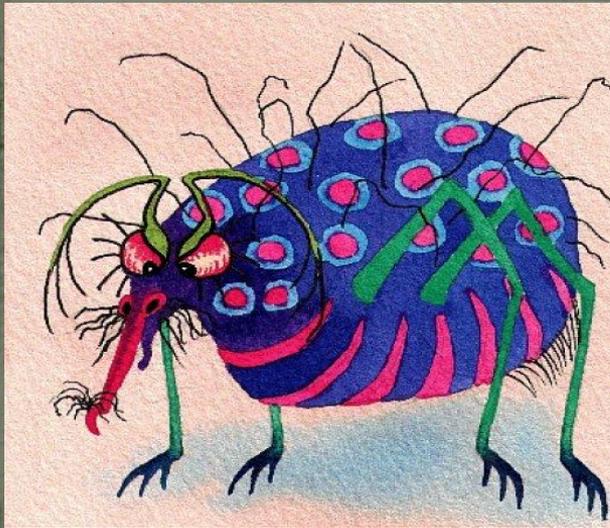
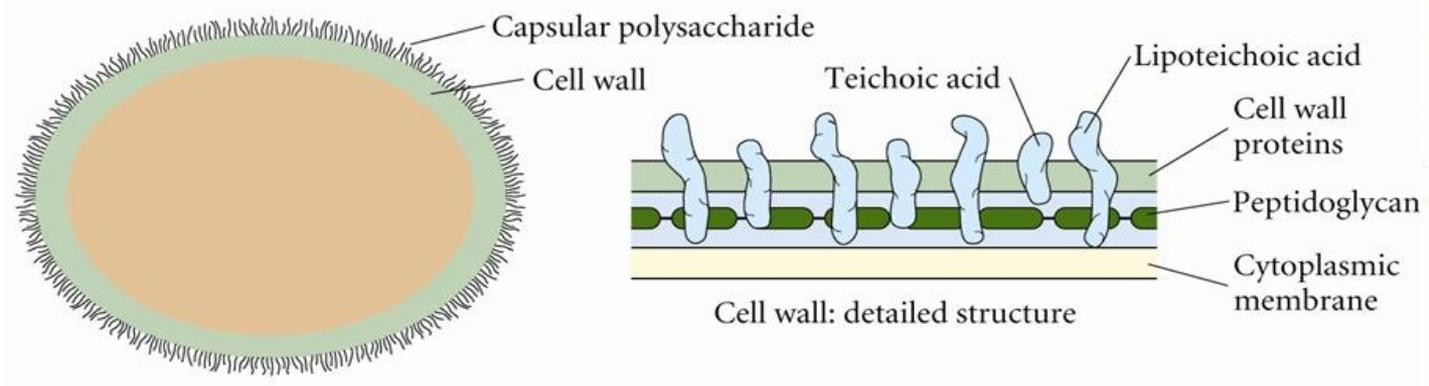


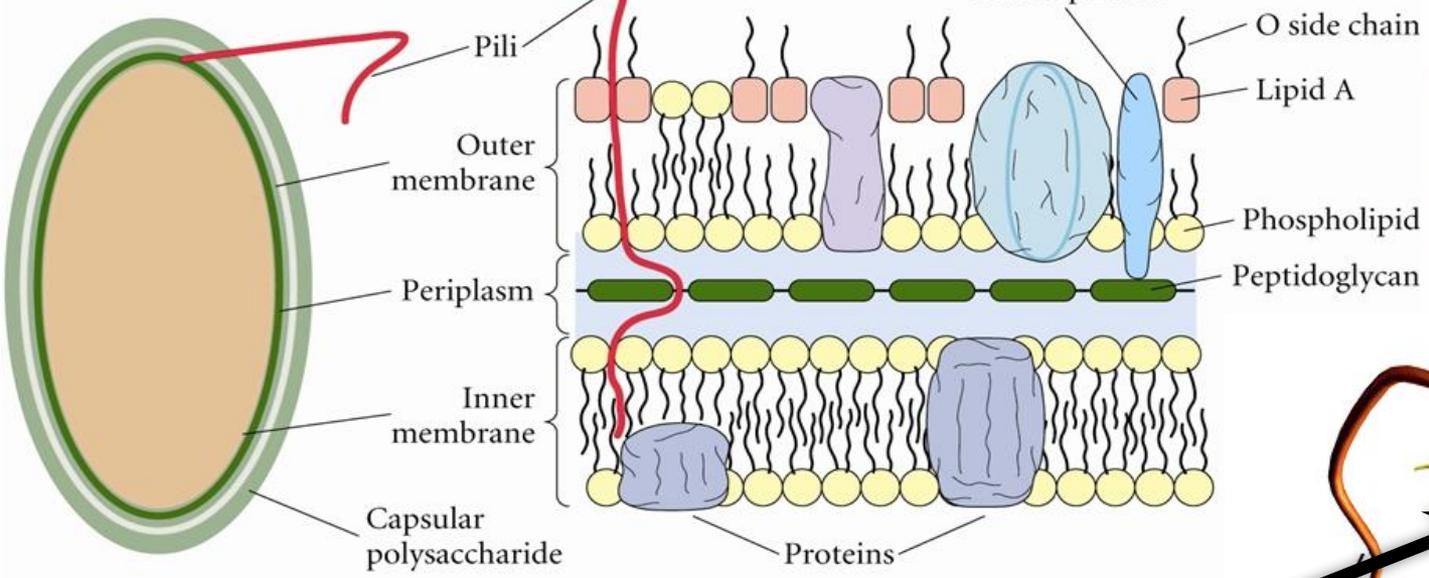
Механизмы персистенции микроорганизмов



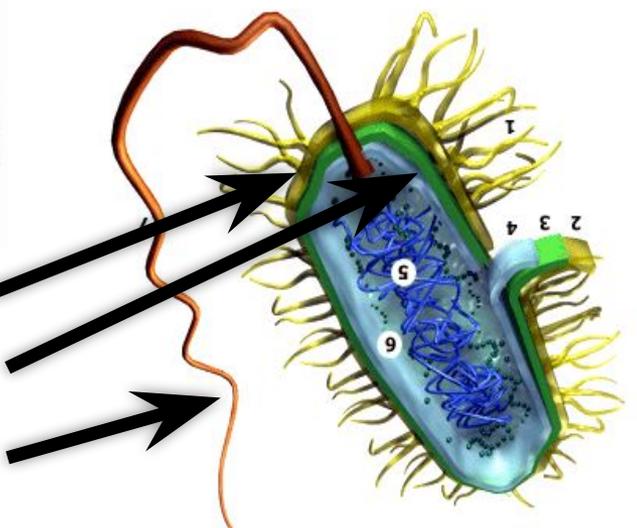
Gram-positive bacteria



Gram-negative bacteria



- 2- K-антиген
- 3- O-антиген
- 7- H-антиген



Персистенция

От лат. persisto — постоянно пребывать, оставаться, длительное существование, присутствие

- длительное пребывание инфекта в организме животных и человека либо без клинических патологических проявлений (латентное течение, ремиссия инфекционного процесса), либо способных при определенных условиях (иммунный дисбаланс и иммунная недостаточность различной этиологии — стресс, переохлаждение, интеркуррентная инфекция, обострение хронического заболевания и т.д.) к активации с исходом в заболевание (активное течение, обострение инфекционного процесса).

Механизмы персистенции:

- Образование L-форм
- Антигенная мимикрия
- Иммуноглобулиновый покров
- Способность секретировать вещества, препятствующие действию иммунных факторов
- Сорбция белков хозяина на поверхности клетки и экранирование от иммунной системы хозяина
- Антифагоцитарные факторы:
 - Капсулы
 - Микрокапсулы
 - Слизистые чехлы
 - Вещества снижающие хемотаксис
 - Незавершенный фагоцитоз и др

Действие бактерий на цитокины:

Действие	Бактерии	Цитокины
Разрушают цитокины с помощью ферментов	<i>H. aeruginosa</i>	ИЛ-2, ФНО α , ИФ- γ
	<i>L. pneumophila</i>	ИЛ-2
Связывают цитокины	<i>E. coli</i>	ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО α , ГМ-КСФ
	<i>S. typhimurium</i> , <i>S. flexneri</i>	ФНО α
	<i>M. tuberculosis</i>	ТРФ(3)
	<i>M. avium</i>	ИЛ-6
	<i>L. monocytogenes</i>	ИЛ-3, КСФ-1
Подавляют синтез Цитокинов	<i>E. coli</i>	ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИФ- γ
	<i>Y. enterocolitica</i> , <i>B. suis</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>B. anthracis</i>	ФНО α
	<i>P. aeruginosa</i>	ФНО α , ИЛ-1, ИФ- γ
	<i>S. typhimurium</i>	ИЛ-2

Капсулы, микрокапсулы, слизистые чехлы

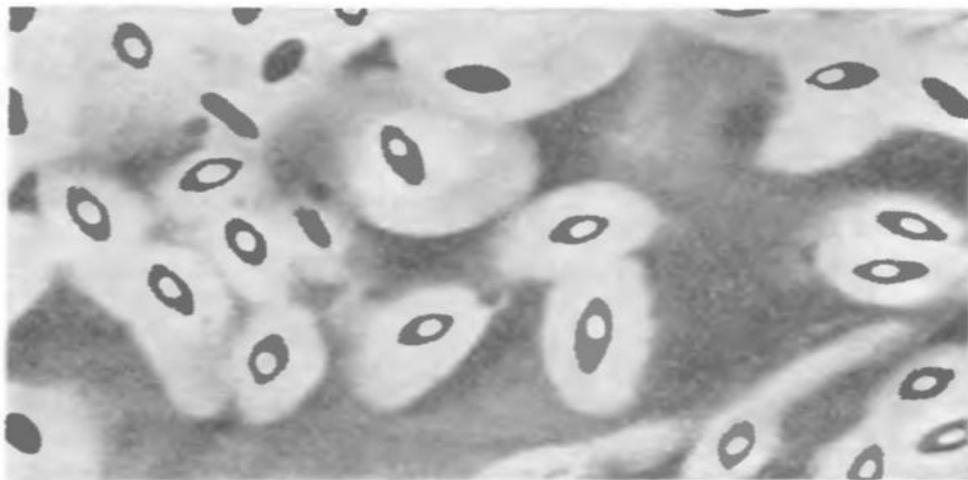


Рис. 42. Капсулы вокруг клеток *Clostridium*.
Увел. $\times 2200$.

F

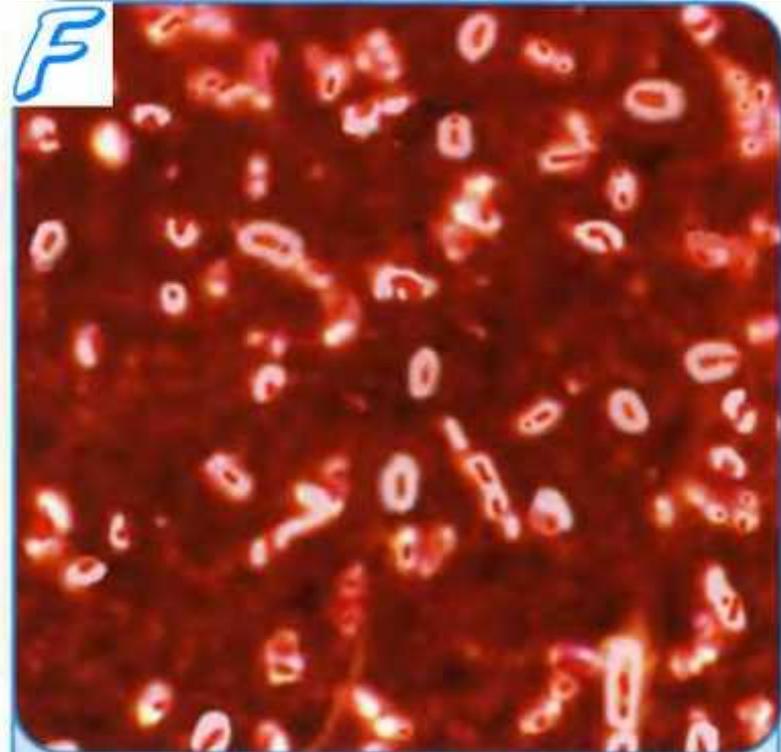
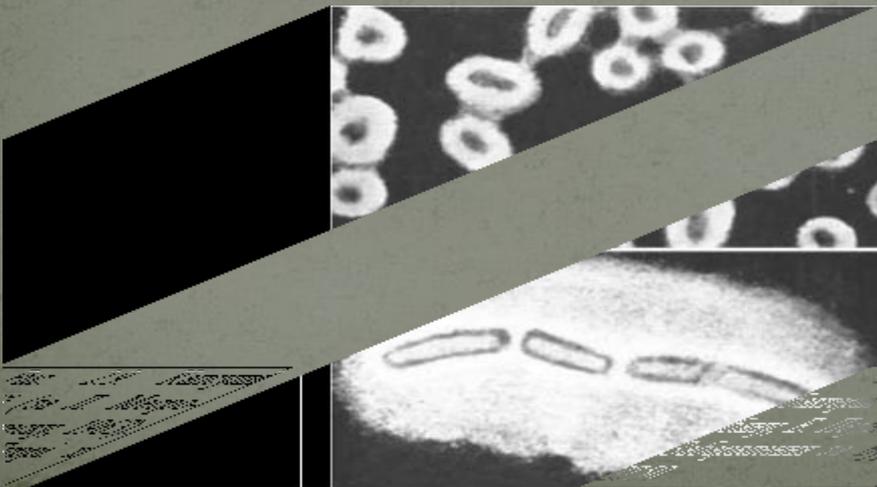


Рис. 3.9 б. Мазок из чистой культуры *Klebsiella pneumoniae*, окраска по Бурри—Гинсу. Видны капсулы — светлые ореолы вокруг палочковидных бактерий



Антилизационная и антилактоферриновая активность:

Микроорганизмы	n	Антилактоферриновая активность, нг/мл	Антилизационная активность, мкг/мл
		M ± SD	
S. aureus	15	22,72 ± 1,88	10,1 ± 2,17*
	16	20,08 ± 1,41	4,40 ± 1,12
S. haemolyticus	15	11,50 ± 1,45*	9,91 ± 0,82*
	16	22,84 ± 1,41	4,19 ± 0,61
S. epidermidis	12	7,83 ± 1,13*	8,92 ± 2,45*
	15	5,65 ± 0,62	1,24 ± 0,25
E. coli	12	23,87 ± 0,67*	2,58 ± 0,27*
	12	18,17 ± 3,20	1,64 ± 0,15
Klebsiella spp.	12	19,40 ± 2,47	3,24 ± 0,27*
	14	18,13 ± 0,64	1,83 ± 0,28

Больные ревматическими заболеваниями

Контроль

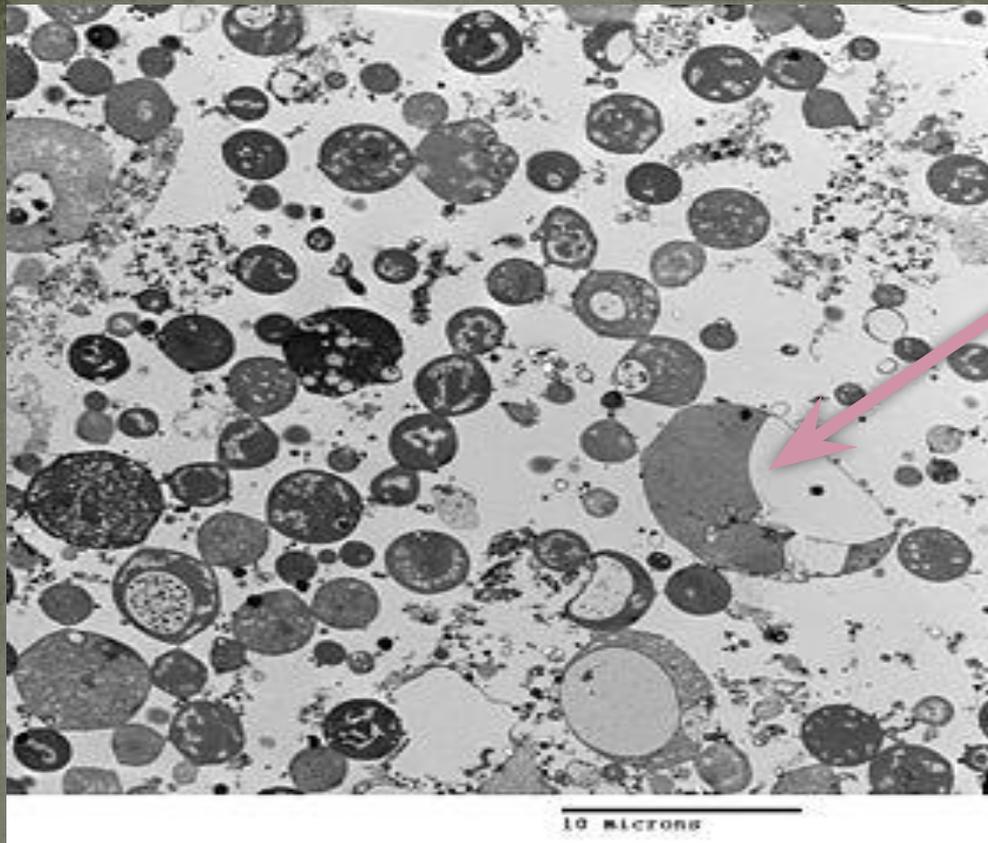
*Статистически достоверно

Образование L-форм.

- L-формы — бактерии, частично или полностью лишённые клеточной стенки, но сохранившие способность к развитию.
- К возникновению L- форм приводит воздействие агентов, блокирующих выработку клеточной стенки:
 1. антибиотики (пенициллины циклосерин, цефалоспорины, ванкомицин),
 2. ферменты (лизозим, амидаза, эндопептидаза),
 3. ультрафиолетовые и рентгеновские лучи,
 4. аминокислота глицин.

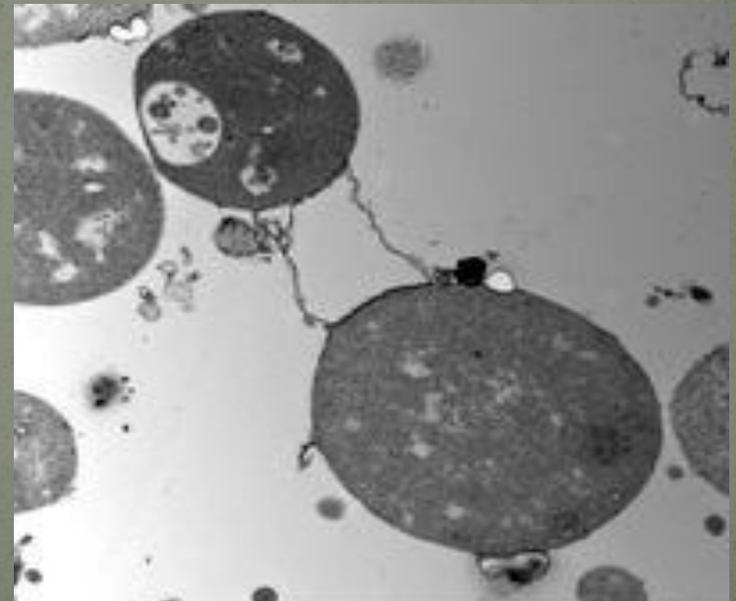
История вопроса:

- Буква L — первая буква названия Листеровского института в Лондоне, где впервые доктор наук **Эмми Кляйнебергер-Нобель** в 1935 году обратила внимание на развитие морфологически весьма необычных клеток в культуре бактерий *Streptobacillus moniliformis*, выделенной из жидкости уха крысы.



вакуоли

L-форма *Bacillus subtilis*,
масштаб — 500 нм.



Многообразие L-форм
Bacillus subtilis,
при масштабе в 10 мкм.



L-формы



нестабильные

стабильные

Система генетического контроля синтеза клеточной стенки (пептидогликан)

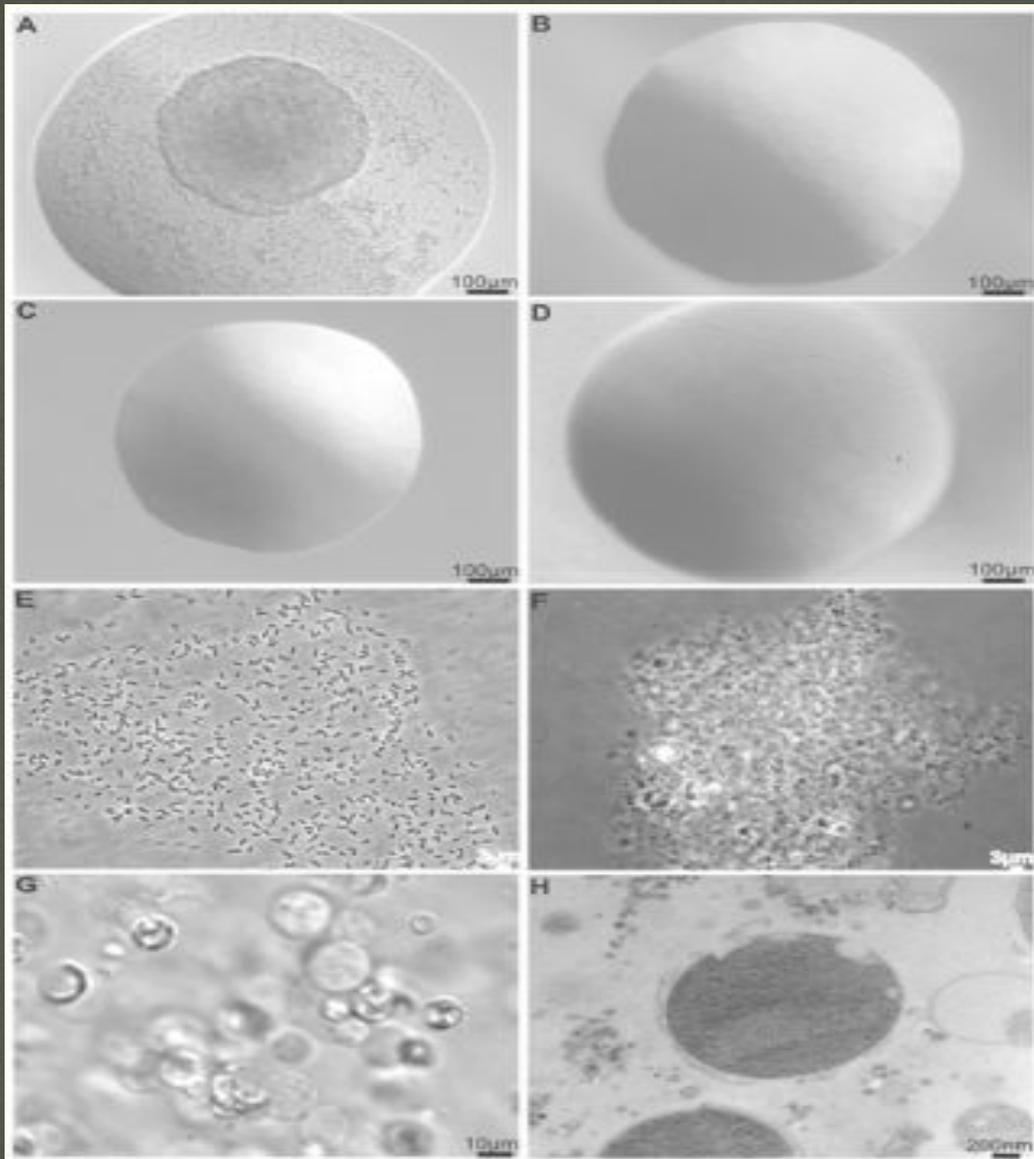
Синтез полноценной клеточной стенки невозможен

Возвращение в вегетативную форму при нормализации факторов окружающей среды

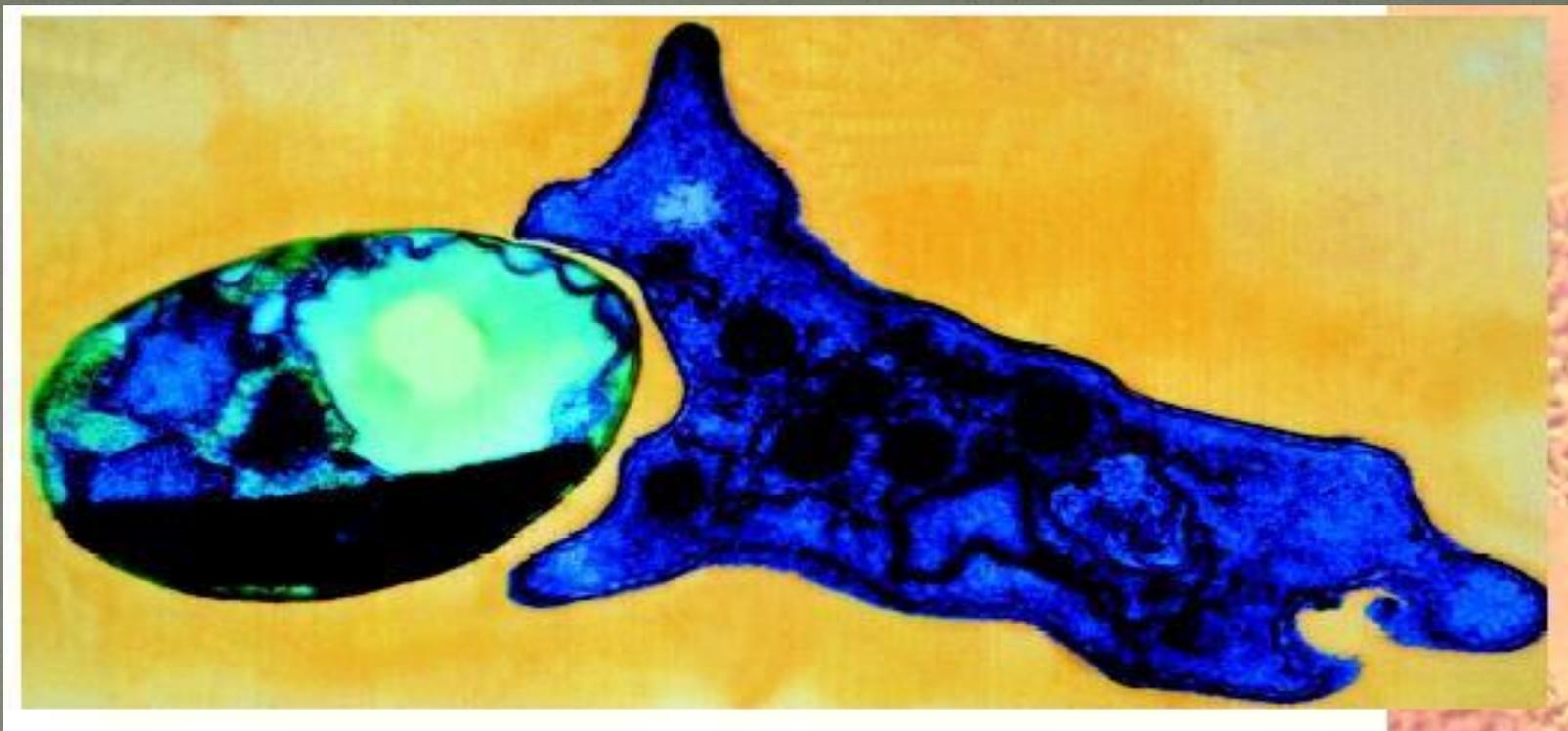
Возвращение в вегетативную форму невозможно. Дальнейшее существование как у микоплазм

Особенности L-форм:

1. Сходство морфологических изменений: образование нитевидных, волокнистых, колбасовидных, шаровидных и гранулярных форм.
2. Сходные культуральные свойства.
3. Постепенное превращение из грамположительных в грамотрицательные структуры.
4. Образование стабильных и нестабильных L-форм.
5. Изменение антигенных свойств (утрата K- и O-антигенов). Приобретение способности к персистенции.
6. Снижение вирулентности в связи с утратой различных факторов патогенности (адгезии, инвазии, эндотоксина и т.п)



Сравнение L-
формы *E. coli* и
классической
E. coli



фагоцитоз.

Механизм фагоцитоза:

Хемотаксис

Силы физико-химического взаимодействия

Градиент концентрации

2. Стадия адгезии

Осонизация (АТ, С3b, фибронектин, сурфактан)

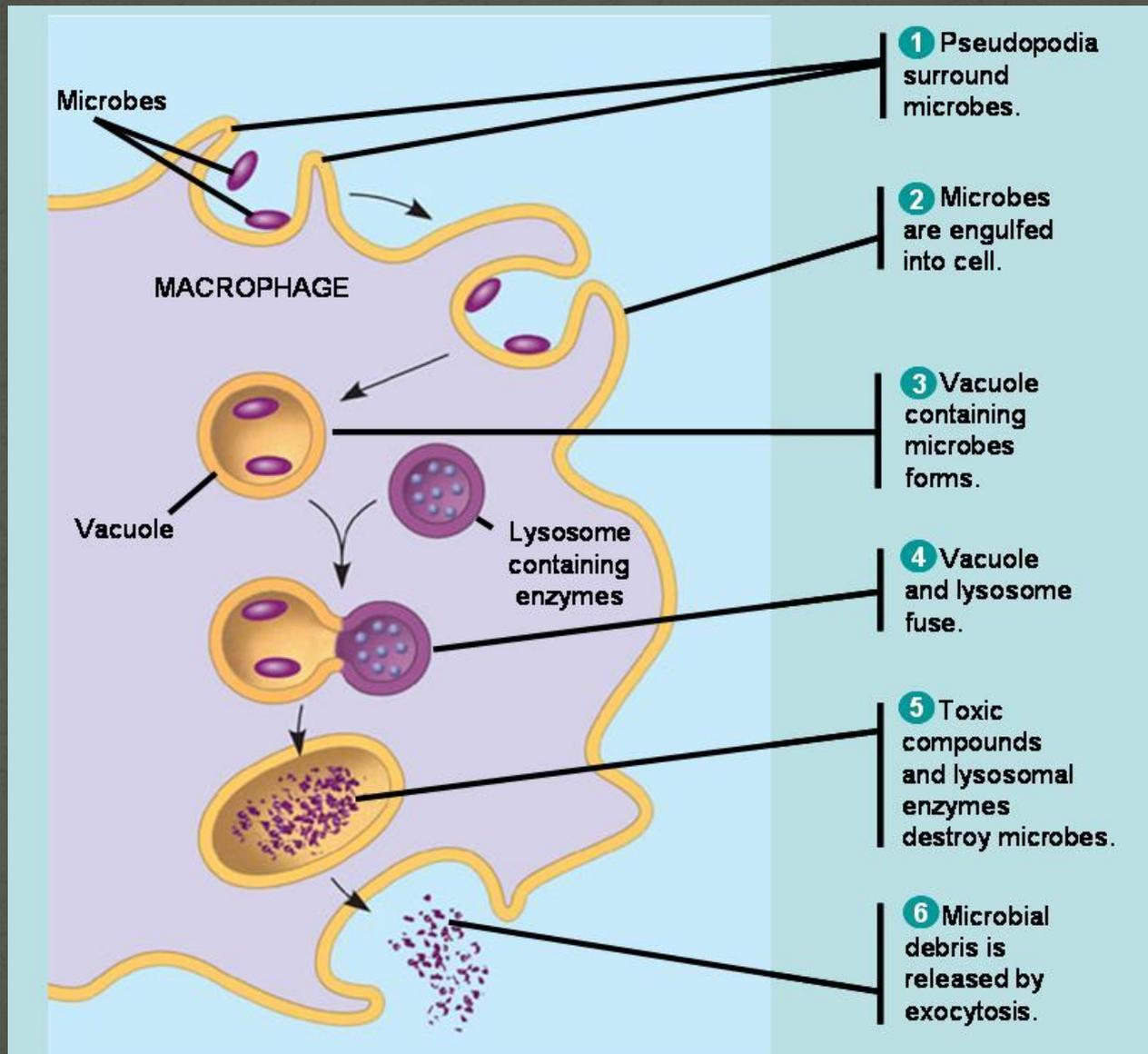
Физико-химическое взаимодействие

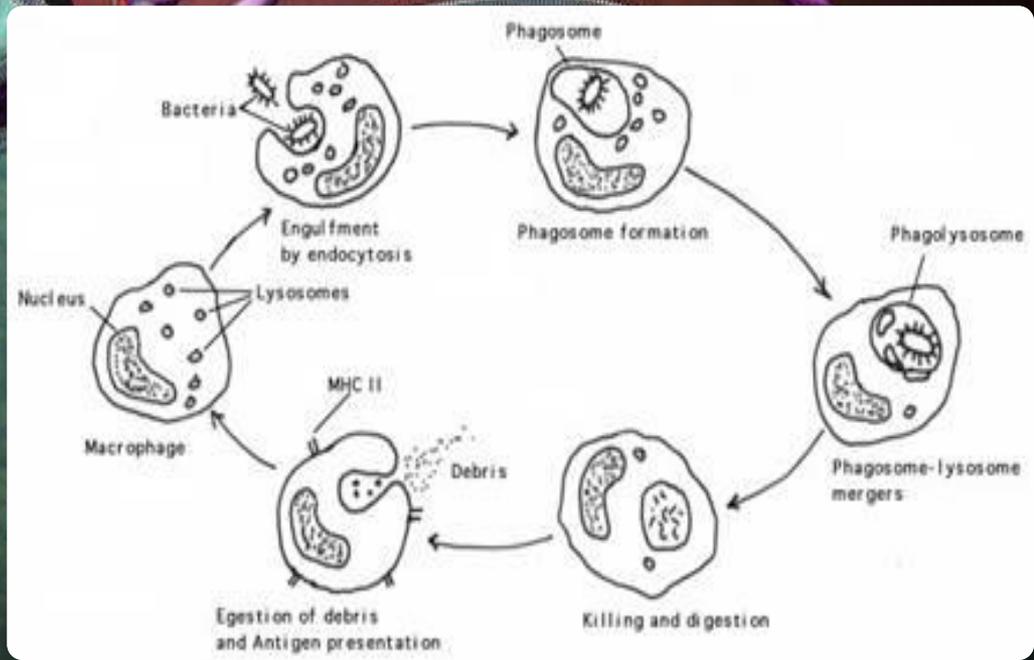
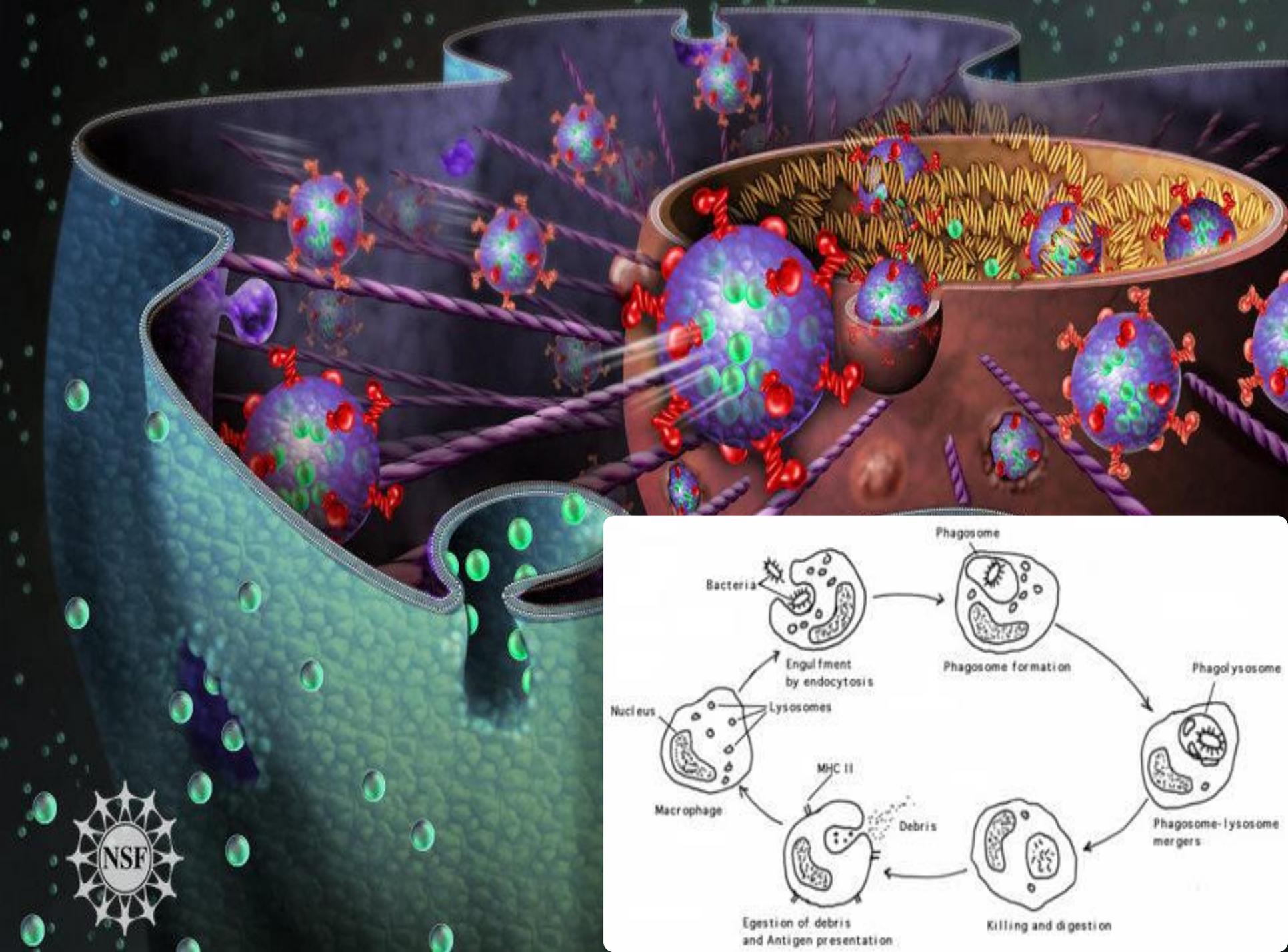
3. Эндоцитоз

4. Микробоцидность

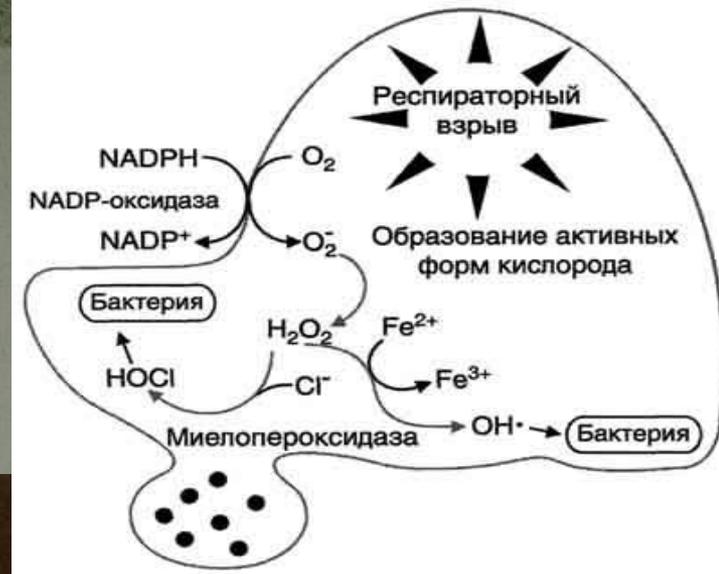
Кислороднезависимая

кислородзависимая





макроорганизм

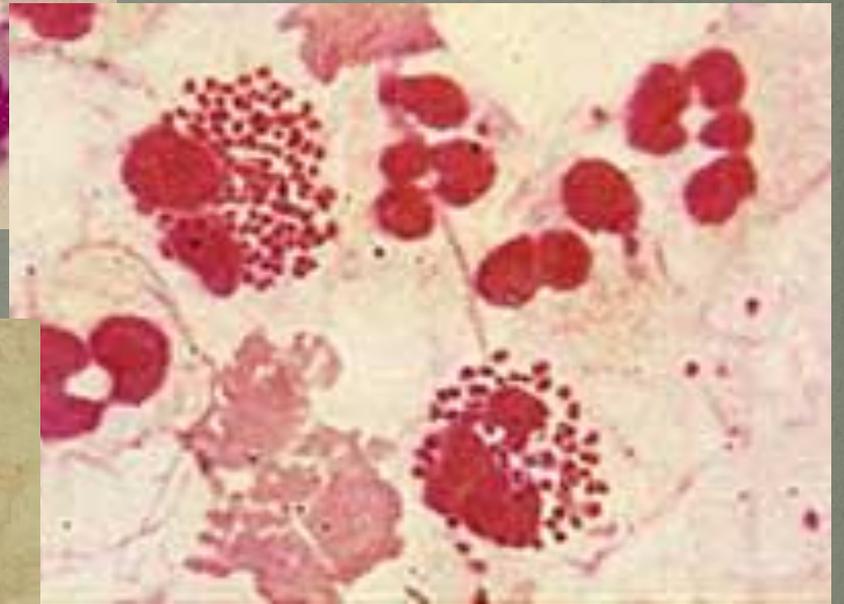
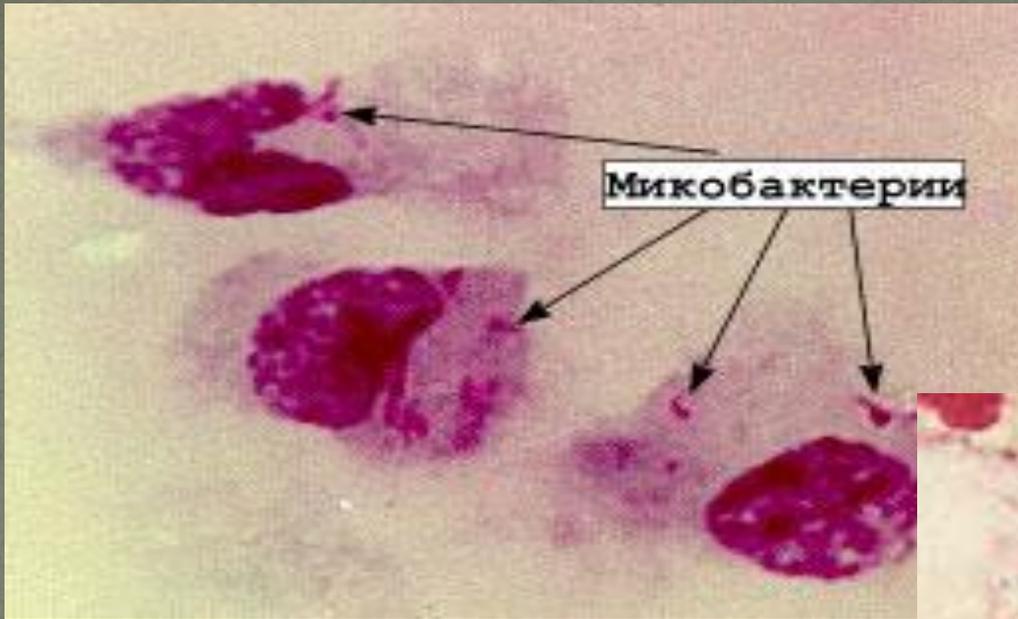


1. Нарушение слияния фагосомы с лизосомой (микобактерии туберкулеза, простейшие, токсоплазмы)

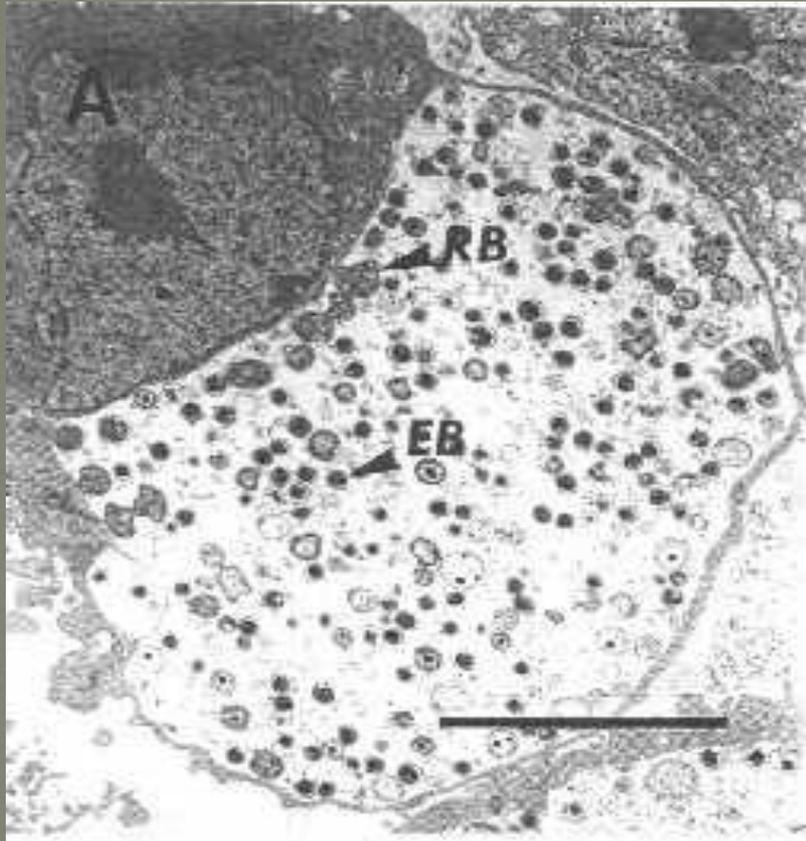
2. Резистентность к лизосомальным ферментам (гонококки, стрептококки гр А, микобактерии, ерсинии)

3. Длительная персистенция в цитоплазме (хламидии, риккетсии)

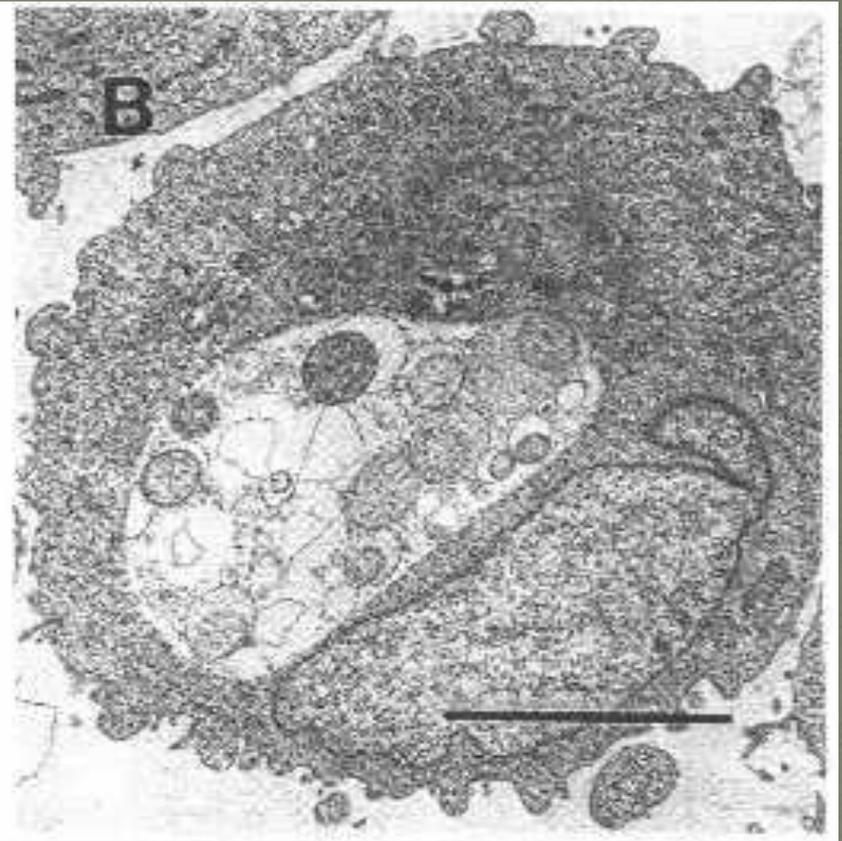
микроорганизм



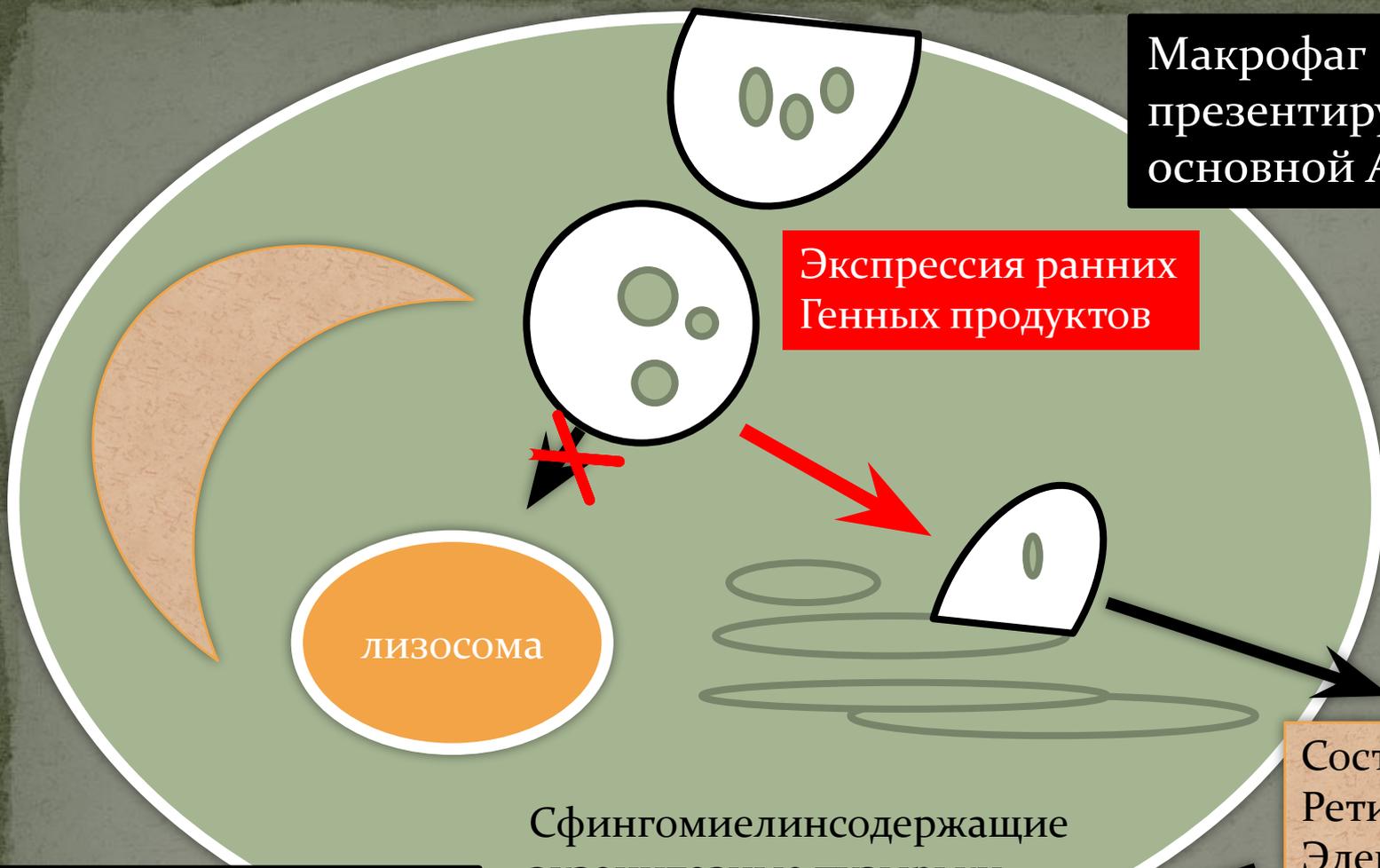
Механизм персистенции хламидий



Типичные включения, содержащие элементарные и ретикулярные тельца 48 часов после инкубации



Патоморфологическая модель персистенции. После перенесенного теплового шока во включениях меньших размеров содержатся крупные патологические формы хламидий



Макрофаг не презентует основной АГ (MOMP)

Экспрессия ранних Генных продуктов

ЛИЗОСОМА

Состояние между Ретикулярными и Элементарными тельцами

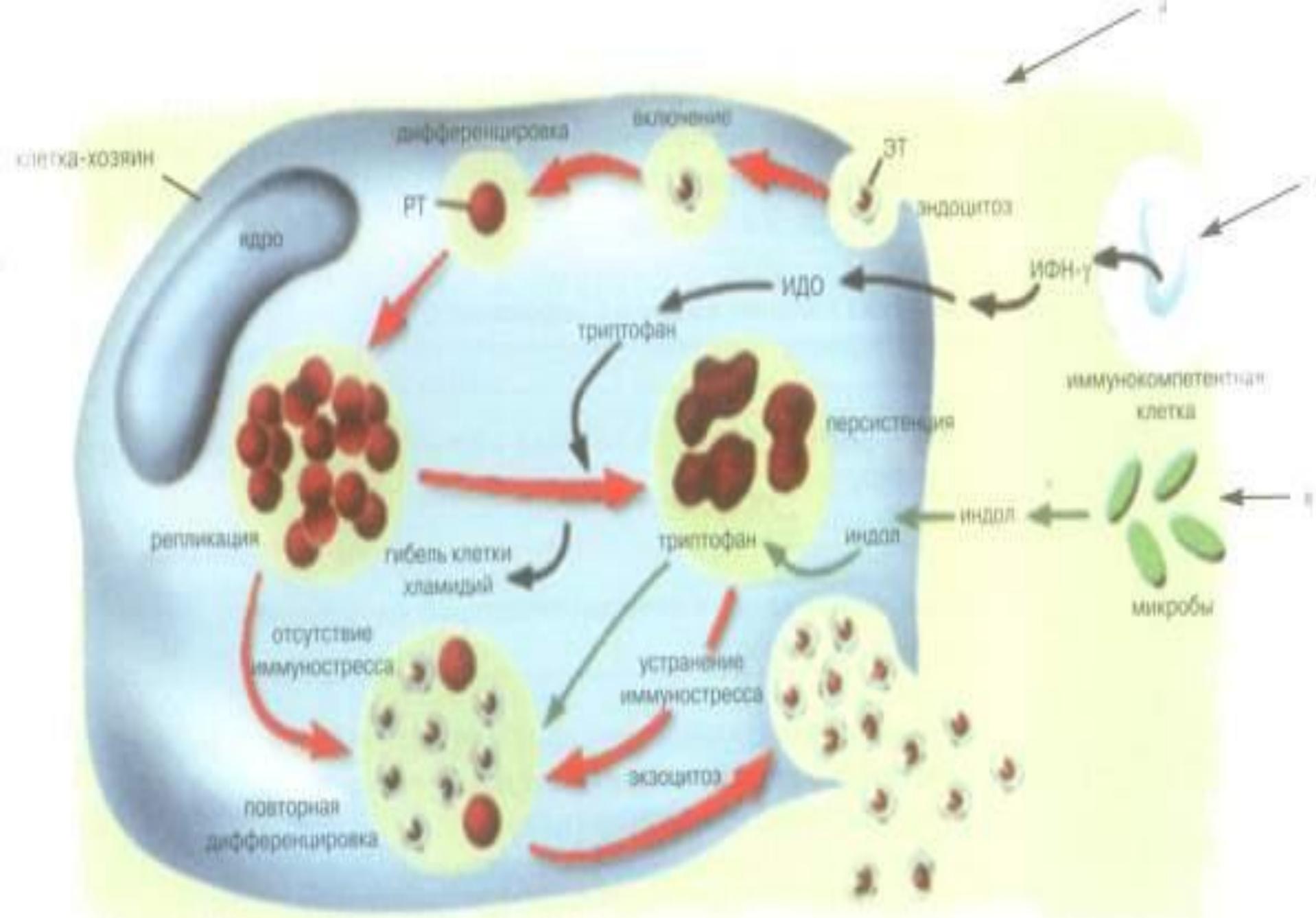
Сфингомиелинсодержащие экзоцитозные пузырьки, КГ

Антигенная перегрузка
Гиперпродукция Ig A, G
ГЗТ
Антигенная мимикрия

hps60- белки теплового шока

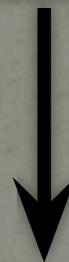
Липополисахарид- Не экспрессируется

MOMP- не экспрессируется



+ Антифагоцитарная активность:

1. Плотная клеточная стенка элементарных телец (дисульфидные связи между структурами белка МОМР)
2. Прочность ретикулярных телец (полисахаридная капсула)



«несостоятельность»
Респираторного
взрыва

Активация СПОЛ и повреждение
Мембран собственных
клеток



ФНО α
 γ ИФ
ИЛ-1

1. Усиление экспрессии АГ
Клеточных мембран (ГКС, Fc)
Активация фибробластов
И эпителиальных клеток
(непрофессиональные фагоциты)
2. Стимуляция ИЛ1 и ИЛ2
3. Активация фагоцитарной акт
4. Стимуляция выработки Ig
5. Индукция свободных радикалов

Медиаторы персистенции *Chlamydia trachomatis*

Медиатор	Эффект
Низкие концентрации γ -интерферона	Резкое снижение количества эндогенного триптофана (активация фермента индоламин-2,3-диоксигеназы, расщепляющего триптофан до N-формилкинуренина)
ФНО- α	Опосредованный, путем активации β -ИФ (блокирует репродукцию внутриклеточных микроорганизмов, путем усиления экспрессии мембранных белков клеток)
Дефицит эндогенного триптофана	Необходим для построения МOMP
Дефицит цГМФ и высокое количество цАМФ	Отсутствие активации ферментов необходимых для дифференциации РТ в ЭТ
Дефицит и/или действие антагонистов Ca^{2+}	Нарушение агрегации эндосомальных вакуолей

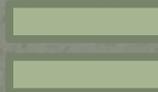
Chlamydia trachomatis

(продолжение)

L-изолейцин	Эффект возможно обусловлен включением продукта метаболизма α -метилбутарил-СoА в синтез жирных кислот <i>C. trachomatis</i> с последующим встраиванием "чужих" триглицеридов в клеточную мембрану, приводя к ее дестабилизации
Дефицит цистеина	Незаменима аминокислота, контролирующая дифференциацию РТ в ЭТ (включается в 3 важнейших для дифференциации белка), уменьшение числа дисульфидных мостиков - факторов прочности клеточной стенки.

«Генетический дрейф», или антигенная мимикрия:

Аминокислотная последовательность 264-286 главного сигма-фактора РНК-полимеразы хламидий (*Chl. trachomatis*).



L7 (пептид II), один из рибосомальных белков



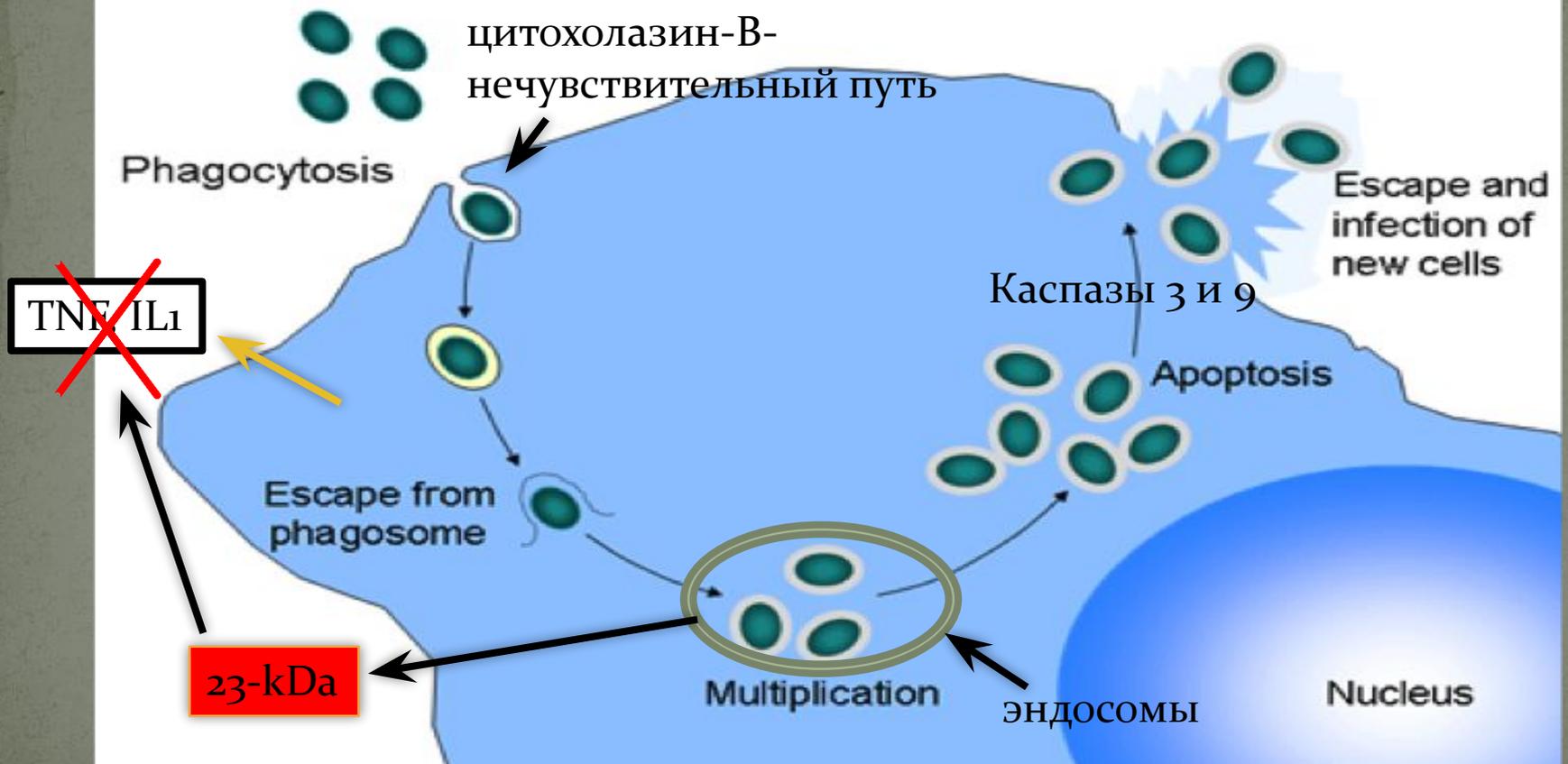
АТ



Ревматические аутоиммунные заболевания

Персистенция *Francisella tularensis*

Replication of *Francisella tularensis* in a macrophage



ЛПС francisella tularentis

+Антилизоцимная
Антилактоферриновая
Антикомплиментарная
Активность

S-ЛПС

R-ЛПС

Остаточная
вирулентность

вирулентные

Низкая
Чувствительность
хозяина

LPS-binding protein - LBP

Инертный ЛПС

Быстрая элиминация

Высокая
Чувствительность
хозяина

Гибель организма

персистенция

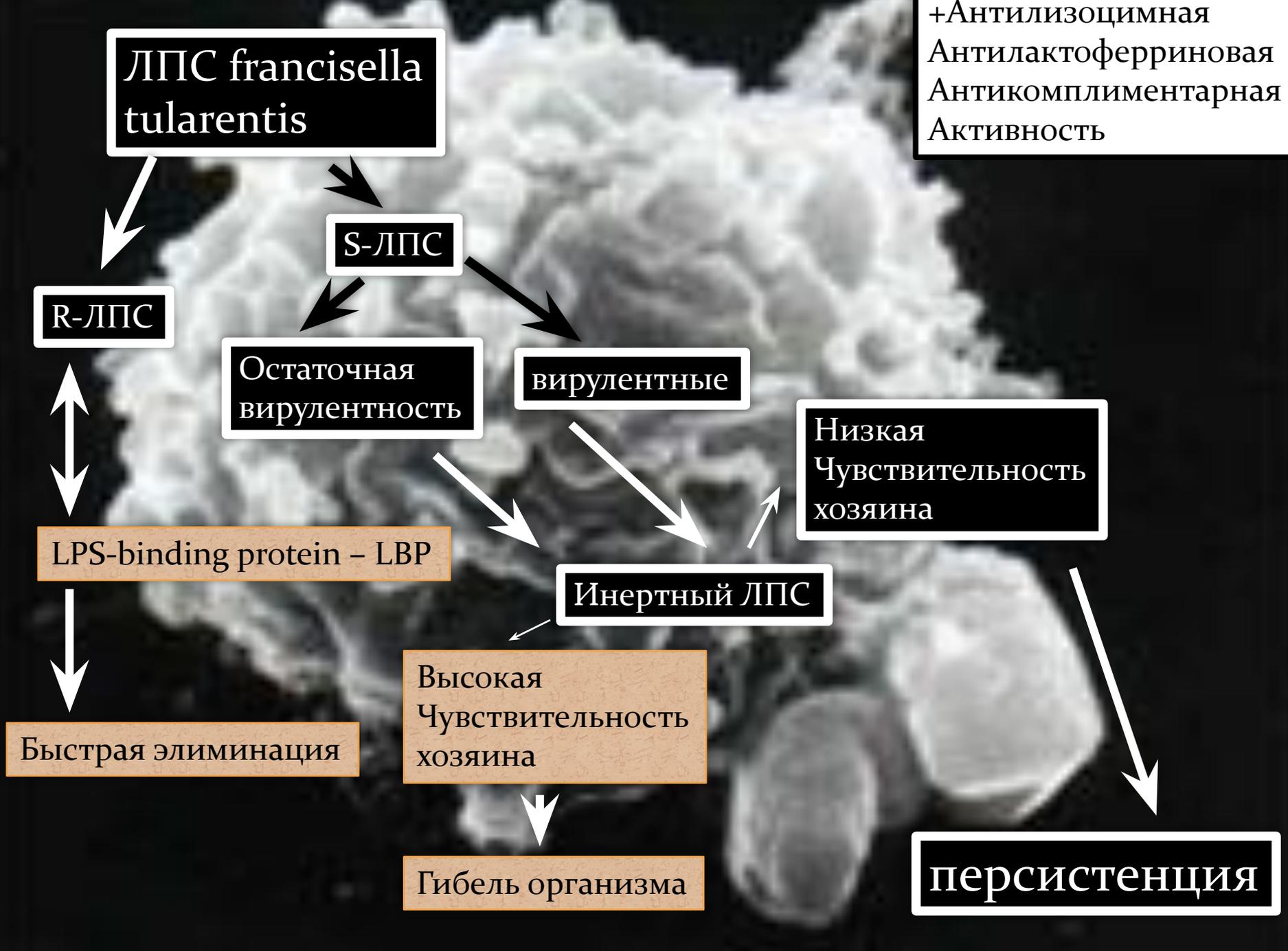


Таблица 1. Взаимосвязь некоторых инфекционных возбудителей с развитием хронических заболеваний человека

Инфекционные заболевания и возбудители	Хронические заболевания
Вирусный гепатит В, С (HBV-инфекция, HCV-инфекция)	Гепатоцеллюлярная карцинома, гломерулонефрит криоглобулинемический мембранопролиферативный, криоглобулинемия, аутоиммунный тиреоидит, острый диссеминированный энцефаломиелит
Вирусы Соxsackie группы В	Сахарный диабет
Риновирусная инфекция	Бронхиальная астма
Хламидийная инфекция (<i>Ch. pneumoniae</i>)	Атеросклероз, бронхиальная астма
<i>Mycobacterium para tuberculosis</i>	Болезнь Крона
Цитомегаловирусная инфекция	Сахарный диабет, эндокардиальный фиброзластоз, миокардиты, сахарный диабет, синдром хронической усталости
Краснуха	Сахарный диабет, синдром врожденной краснухи, прогрессирующий панэнцефалит
Папилломавирусы человека 16-го, 18-го типа	Карцинома шейки матки
Вирусная инфекция Epstein — Barr	Назофарингеальная карцинома, лимфома Беркитта, В-клеточная лимфома, лейкоплакия слизистой ротовой полости
<i>Polyoma</i> вирус (JC-вирус)	Рак толстой кишки
Герпесвирусы 8-го типа (HHV-8)	Саркома Капоши, болезнь Кацльмана, первичная лимфома
Вирусы эпидемического паротита, кори, цитомегаловирусы, аденовирусы, энтеровирусы	Эндокардиальный фиброзластоз, кардиомиопатии, прогрессирующее течение миокардита с поражением проводящей системы сердца и, как следствие, аритмии, шизофрения, депрессивные и пограничные состояния
<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Chlamydia psittaci</i>	Лимфомы
<i>Helicobacter pylori</i>	Язвенная болезнь желудка, некардиальная аденокарцинома желудка, неходжкинская В-клеточная лимфома желудка, слюнных желез, двенадцатиперстной кишки, тонкого кишечника, прямой кишки
<i>Tropheryma whippelii</i>	Болезнь Уиппла
Шистосомоз	Рак мочевого пузыря

Персистенция и адаптивный мутагенез в биопленках:

Устойчивость биопленок к внешним воздействиям характеризуют термином “персистенция” (от англ. persistence – выносливость, живучесть).

Мертвые клетки < 10%

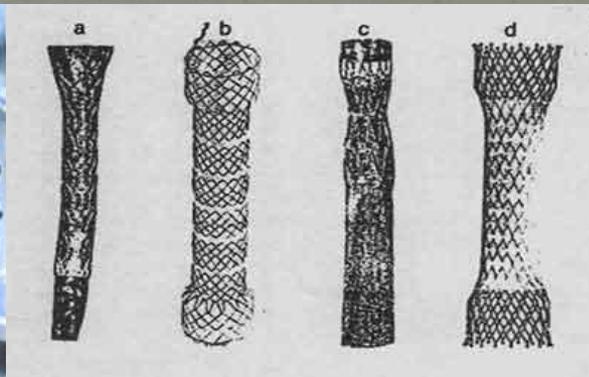
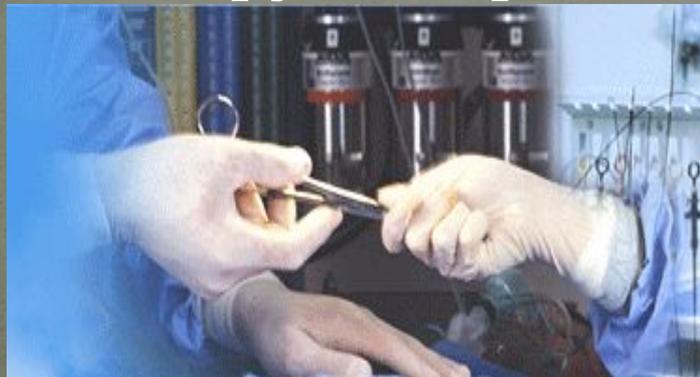
=персистеры

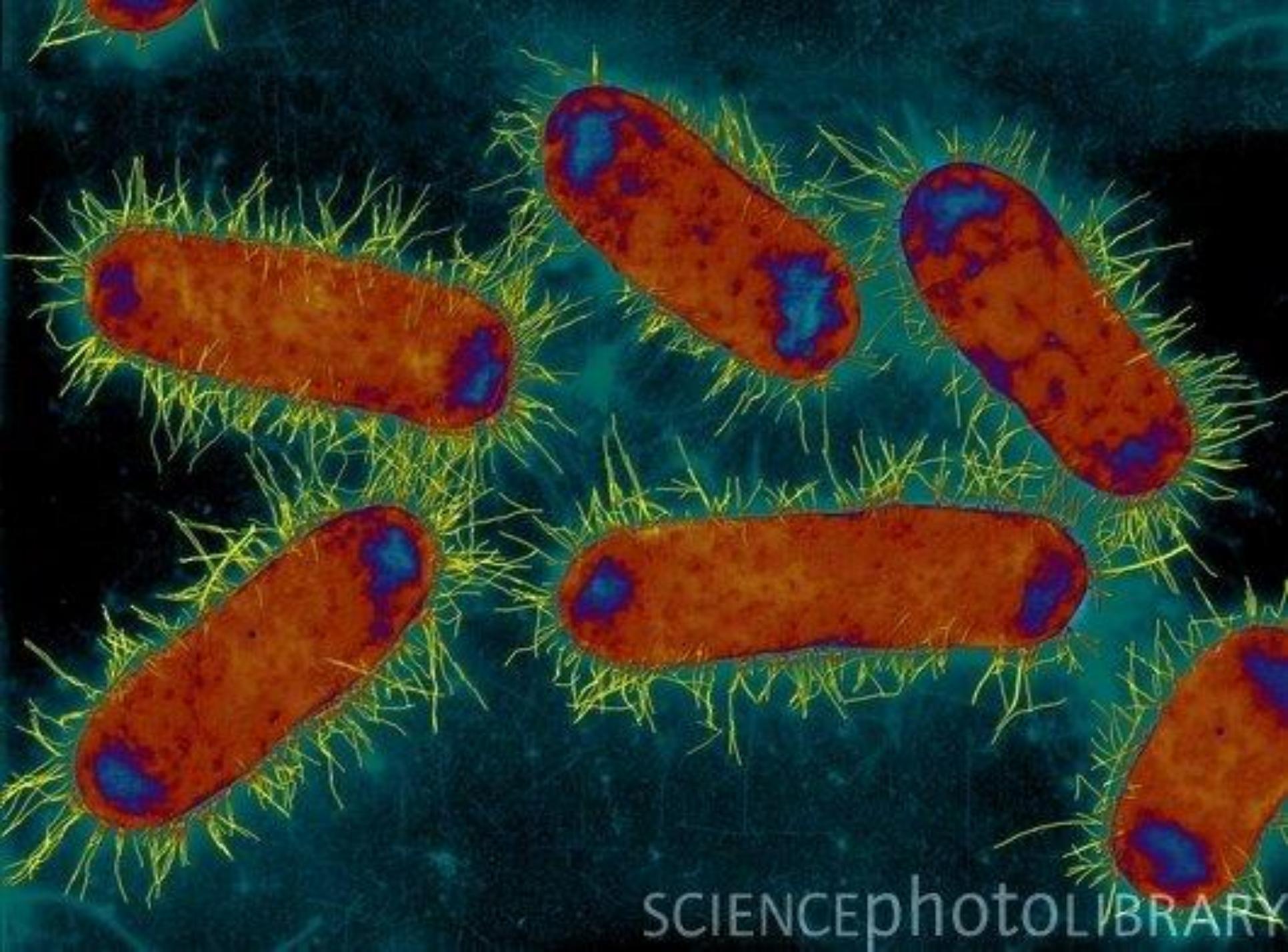
- Аэробно растущие клетки
- Бродящие клетки
- Покоящиеся клетки

Значение персистенции в биопленках

По данным Центра контроля заболеваний (CDC USA), около **65%** всех инфекций обусловлено формированием в макроорганизме биопленок

- Образование биопленок на всех вводимых в макроорганизм медицинских устройствах (катеторы, протезы, стенты и тд);
- Образование биопленок на медицинском инструментарии...





SCIENCEPHOTOLIBRARY

бактерия

+ *dnaJ* (синтез шаперона)
yE. coli
rnrC (синтез фосфолипидов)
yS. typhimurium

Неблагоприятные условия

Экспрессия SOS
генов

Ген *gmf*, ингибитор
трансляции

Гены теплового
холодового шока

Гены системы
«токсин-
антитоксин»

recA,
umuDC,
uvrAB,
sulA

htrA,
htpX,
cspH,
clpB,
cbpAB

dinJ/yafQ,
yefM,
relBE,
mazEF

Клетки-персистеры

Ген А

Ген Т

Ген Р

АНТИТОКСИН

ТОКСИН

антибиотик

рибосома

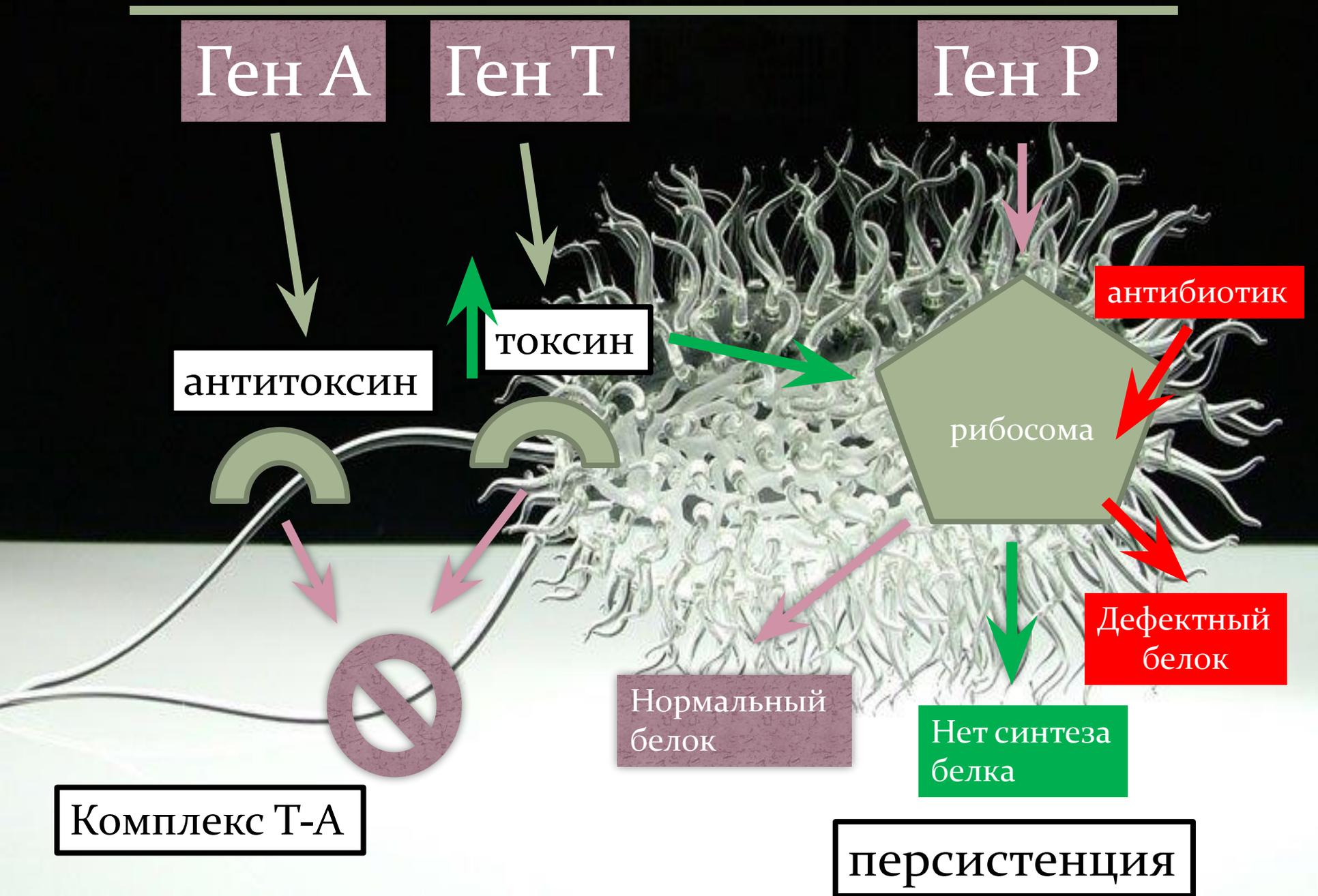
Дефектный белок

Нормальный белок

Нет синтеза белка

Комплекс Т-А

персистенция



Основные токсины и место их приложения у E. Coli:

токсин	мишень	активность	Процесс
Ccd B	ДНК-гираза	Двухцепочечные разрывы	Репликация
Rel E	Транслирующие рибосомы	Расщепление мРНК	Трансляция
Maz F	РНК	Эндорибонуклеаза	Трансляция
Par E	ДНК-гираза	Двухцепочечные разрывы	Репликация
Dos	Транслирующие рибосомы	Расщепление мРНК	Трансляция
Var C	РНК	Эндорибонуклеаза	Неизвестно
E-токсин	Неизвестно	Фосфотрансфераза	Неизвестно
Hip A	EF-TU	Протеинкиназа	Трансляция
Hip B	Транслирующие рибосомы	Расщепление мРНК	Трансляция



Адаптивный мутагенез:

- “Адаптивными” называют мутации, которые возникают в медленно размножающейся или покоящейся популяции микроорганизма в период продолжительного стресса и которые противодействуют причинам, вызывающим данный стресс.

Veillonella parvula

Streptococcus mutans

Устойчивость к антибиотикам

*Lewis K. 2008 год считает,
что главным способом борьбы
с персистенцией в биопленках
является «рассеянность пациентов»...*



