

Московский государственный медико-стоматологический
университет

Кафедра микробиологии, иммунологии и вирусологии

**ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ,
ВЫЗЫВАЕМЫХ
ГРАМ (-) КОККАМИ
(нейссерии: *N.gonorrhoeae*,
N.meningitidis)**

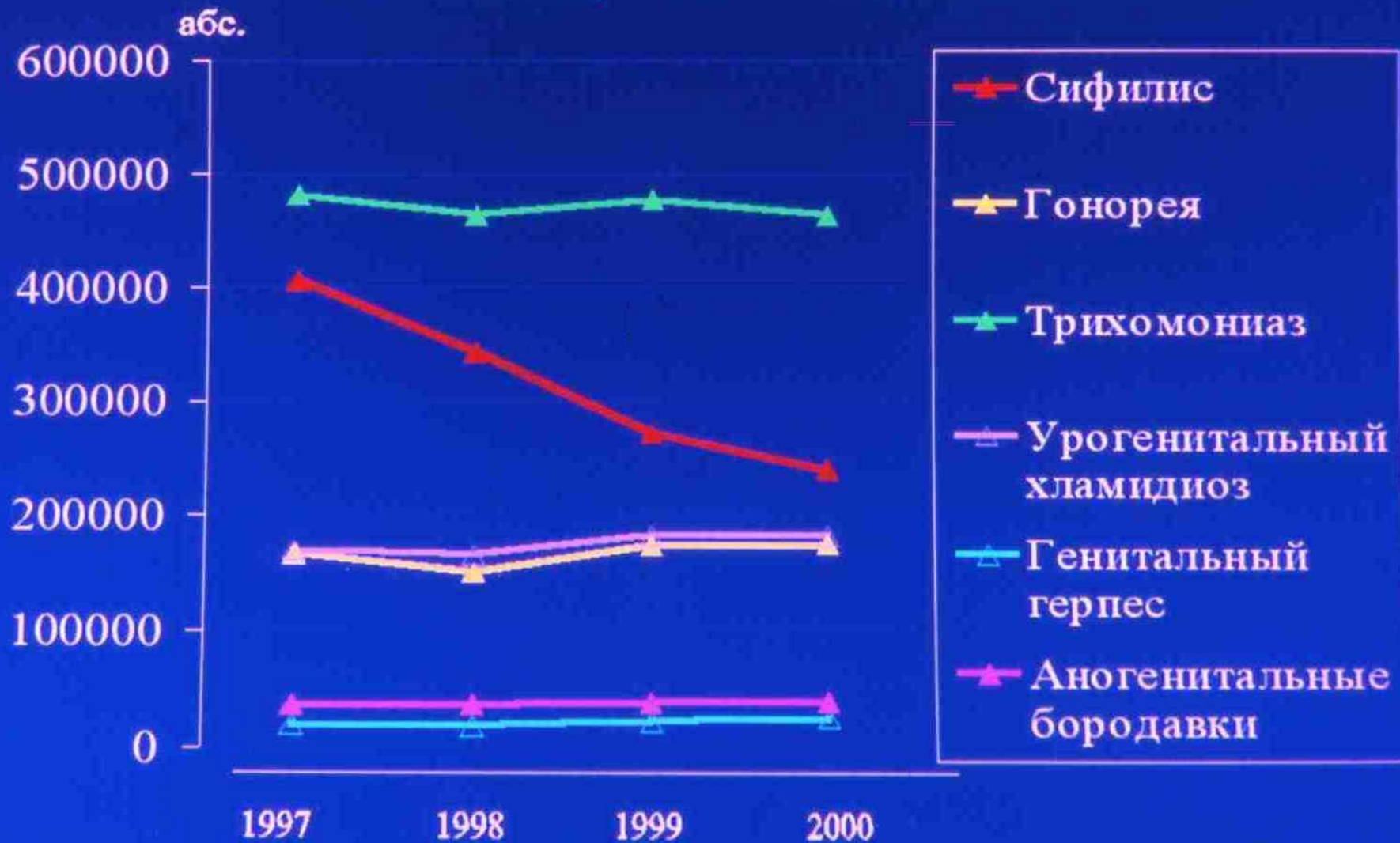
Москва



Жан (Fernel) —
франц.
математик,
астроном и
врач
(1497—1558).

IOANNES, FERNELIVS, DOCTOR, MEDICVS.
N. Larmessin, sculp.

Динамика заболеваемости ИППП в России, 1997-2000 гг.



Факторы риска заражения ИППП/ВИЧ при контакте с инфицированным лицом

- Рискованное сексуальное поведение
- Неиспользование презервативов и микробицидов
- Индивидуальная восприимчивость
- Воспалительные заболевания и другие инфекции репродуктивного тракта

Биологические кофакторы ИППП и ВИЧ-инфекции

- Эпидемиологический синергизм
- Нарушение целостности эпителиальных/слизистых барьеров при ИППП облегчает заражение ВИЧ
- Одни и те же особенности рискованного поведения:
 - многочисленные половые партнеры
 - неиспользование презервативов
 - партнеры из группы высокого риска
- Программы контроля ИППП снижают распространенность как ИППП, так и ВИЧ-инфекции

Морфология и патогенные свойства гонококка

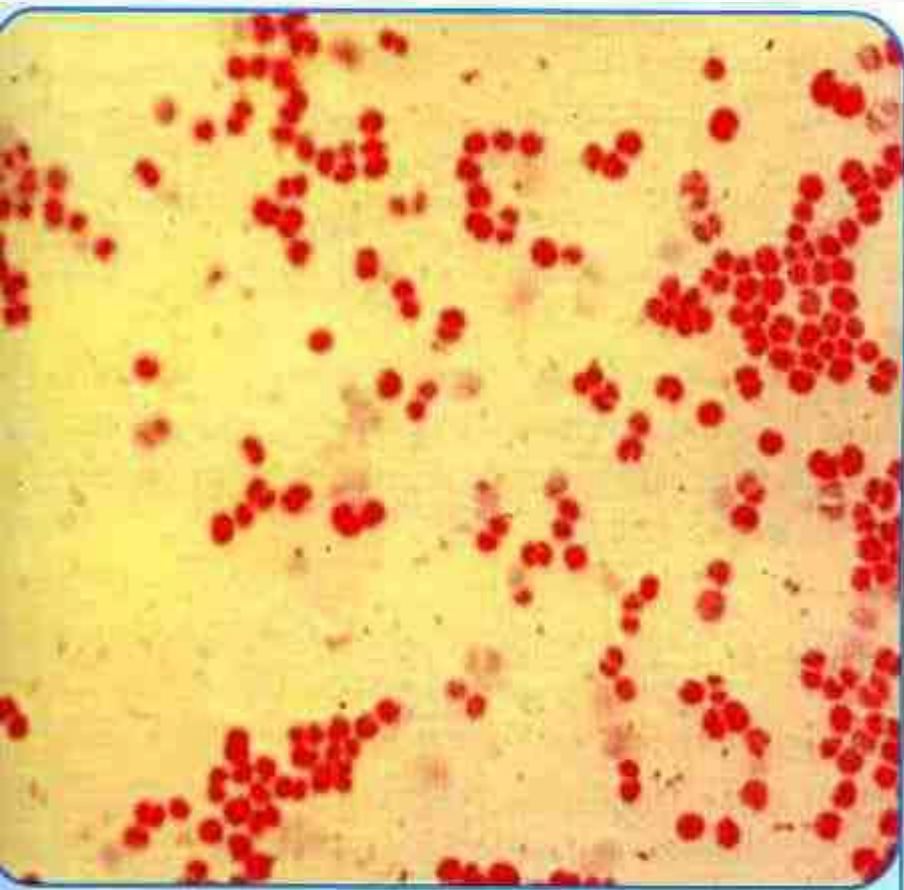


Рис. 3.33. Чистая культура *N. gonorrhoeae*. Окраска по Граму

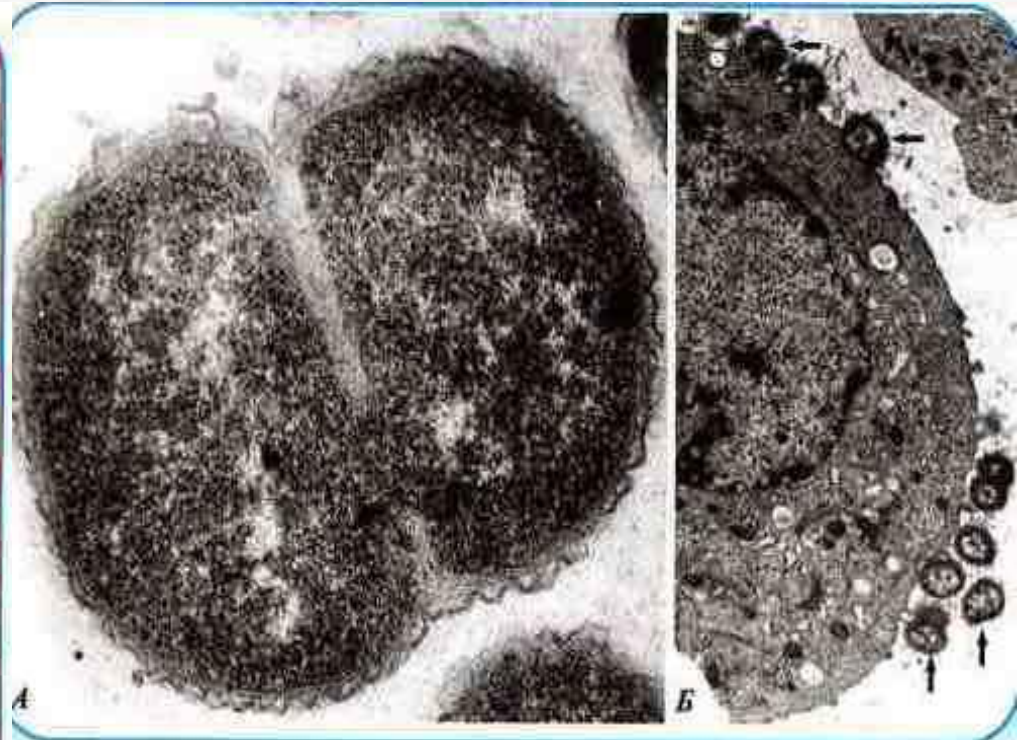


Рис. 3.34 а, б. Электронограмма ультратонких срезов гонококка: а) видна наружная мембрана клеточной стенки и бинарное деление гонококка; б) отделяемое уретры больного — гонококки на эпителиальной клетке (препараты Г. А. Дмитриева)

Морфология и патогенные свойства гонококка

Таблица 3.6. Факторы вирулентности *Neisseria gonorrhoeae*

Факторы вирулентности	Биологический эффект
Пили (белок пилин)	Прикрепление гонококков к эпителию влагалища, фаллопиевых труб и полости рта
Капсула	Антифагоцитарная активность
Белки наружной мембраны:	
Протеин I (Por-пориновый белок)	Способствует внутриклеточному выживанию бактерий, препятствуя слиянию лизосом с фагосомой нейтрофилов
Протеин II (Opa — Opacity protein; Opacity — мутность), т.е. протеин мутности;	Опосредует плотное прикрепление к эпителиальным клеткам и инвазию внутрь клеток
Протеин III (Rmp — Reduction modifiable protein)	Защищает поверхностные антигены (Por-белок, липоолигосахарид) от бактерицидных антител
LOS (Lipooligosaccharide)	Липоолигосахарид обладает свойствами эндотоксина
IgA1-протеаза	Разрушает IgA1
Бета-лактамаза	Гидролизует бета-лактамное кольцо пенициллинов

Патогенез и иммунитет при гонококковой инфекции

Основные тенденции патогенеза:

- 1. Адгезия на переходном эпителии
- 2. Формирование местного очага острого гнойного воспаления, гибель лейкоцитов
- 3. Сенсибилизация (ГНТ) и формирование местного секреторного иммунитета (sIgA)
- 4. Тенденция к хроническому течению и угнетению иммунологической реактивности организма
- 5. Тенденция к генерализации при дефектах иммунной системы или вследствие угнетения иммунологической реактивности
- 6. Активизация возбудителей-синнергистов: трихомонада, хламидии, уреоплазма, микоплазма, гарднерелла, дрожжеподобные грибы кандиды

Клинические формы гонореи



1. Острая

2. Подострая



3. Атипичная

4. Латентная

5. Хроническая

Бленнорея (конъюнктивит)



Методы лабораторной диагностики

• 1. Микроскопический

Картина «незавершённого» фагоцитоза обусловлена:

1. Пориновый протеин Por-1
-препятствует слиянию лизосом и эффективному лизису стенки кокков
2. Микрокапсула
– обеспечивает выживание кокков внутри фагоцитов
3. Лейкоцидин
- дезорганизует метаболизма клеток и приводит к их гибели

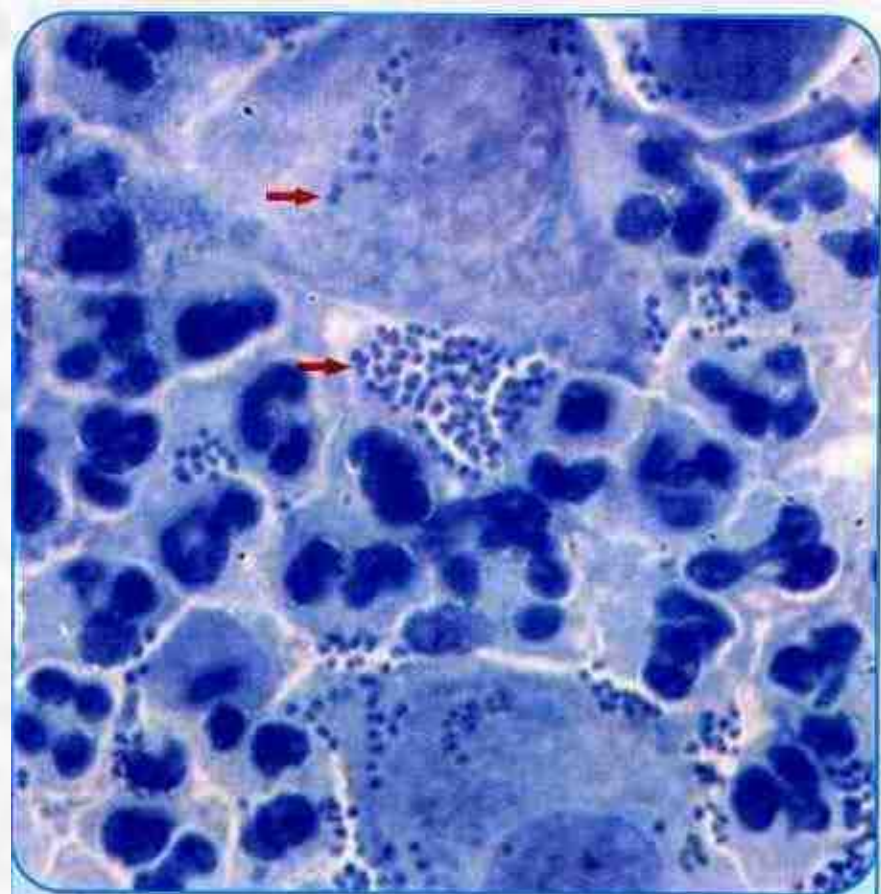


Рис. 3.35. *N. gonorrhoeae*. Мазок из гноя. Окраска метиленовым синим

Методы лабораторной диагностики

2. Бактериологический

- Изолированные колонии - на селективной среде (сыворотка) с антибиотиком ристомицином (гибель грам (+) флоры)
- Чистая культура представлена **грам (-)** бобовидными диплококками (нейссерии)
- Проба на **оксидазу** положительна; отличия от резидентных нейссерий – *N.catharrhalis*, *N.flava*, *N.mucosa*, *N.sicca* – биохимические свойства
- Чувствительны к бета-лактамам, макролидам, фторхинолонам

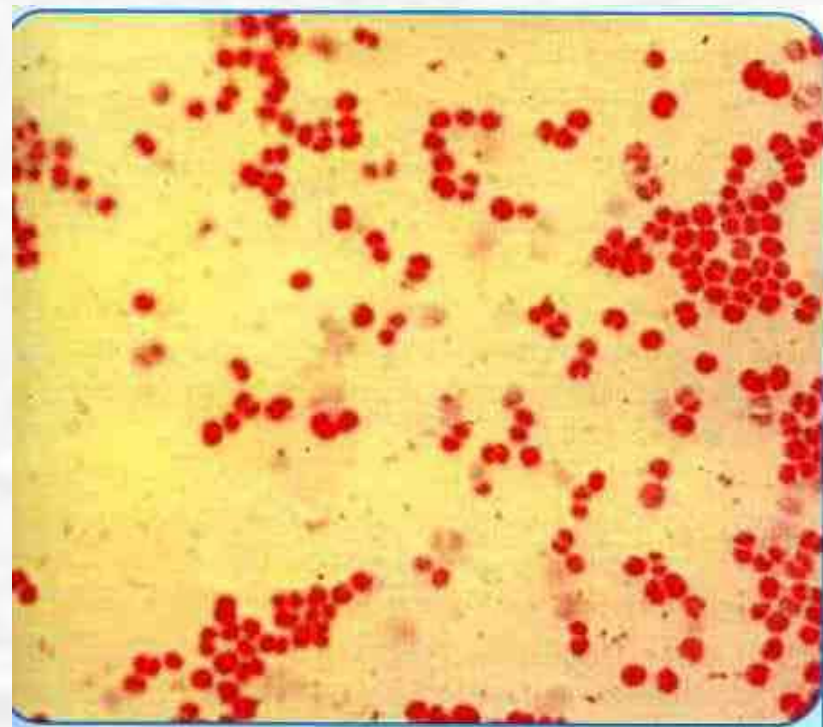
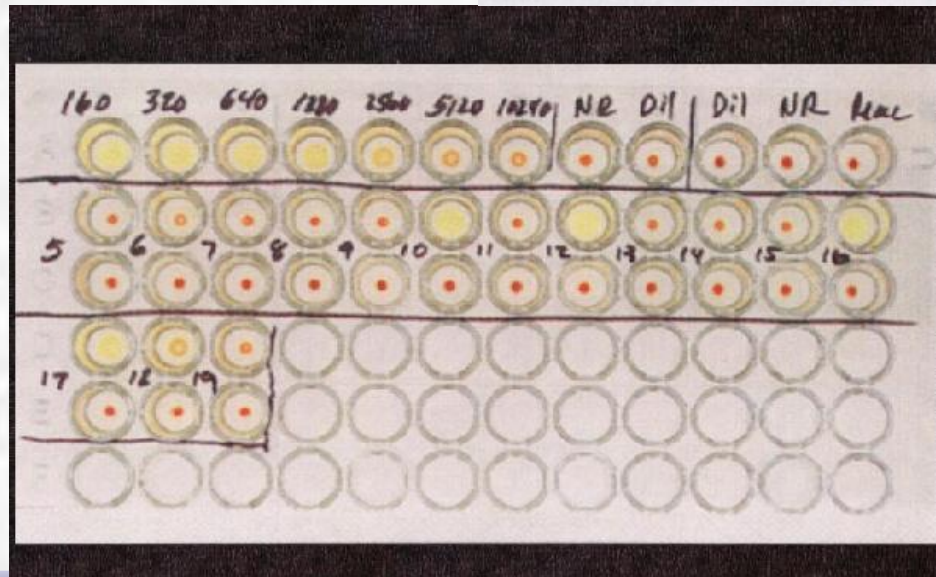
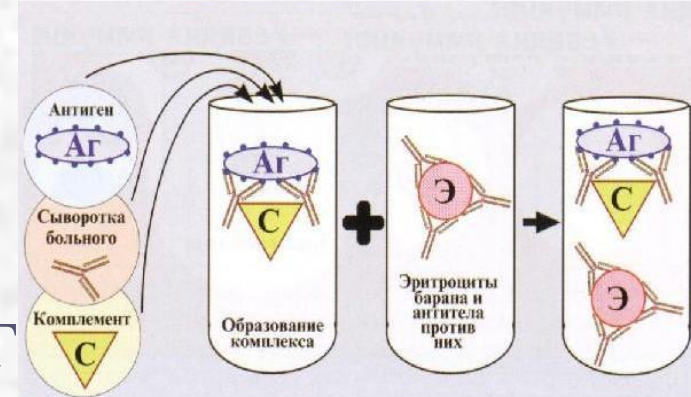


Рис. 3.33. Чистая культура *N. gonorrhoeae*. Окраска по Граму

Методы лабораторной диагностики

3. Серологический

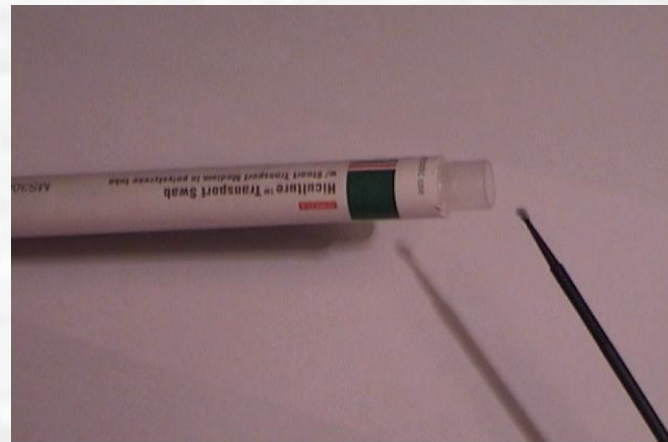
- Реакция связывания комплемента по Борде-Жангу (РСК) – с молек. диагностикумом из ЛПС фракции АГ
- Реакция пассивной гемагглютинации с эритроцитарным диагностикумом (РПГА)
- Иммуноферментный анализ (ИФА)



Методы лабораторной диагностики

4. Молекулярно-биологический

- Полимеразная цепная реакция-
ПЦР-диагностика:
определение
специфических генетических
маркеров возбудителя в соскобе
из уретры, цервикального канала,
в крови при септическом течении.
С помощью стандартных реагентов:
ДНК-праймеров и соответствующей
аппаратуры (термоциклер и др.)



Методы лабораторной диагностики

- **5. Аллергический**

Провокационная проба с помощью введения убитой гонококковой вакцины: через 1-3 дня за счёт сенсibilизации, имеющейся у больного хронической гонореей, развивается обострение воспалительной реакции, происходит слущивание эпителия и лейкоцитов с картиной «незавершённого фагоцитоза», что позволяет поставить диагноз при исследовании материала **микроскопическим и бактериологическим методами**. В настоящее время **диагноз хронической гонореи ставят серологическим или молекулярно-биологическим методами**

Гонорея ?

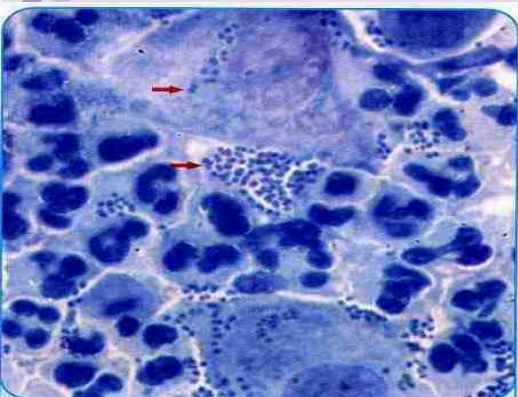


Рис. 3.35. *N. gonorrhoeae*. Мазок из гноя. Окраска метиленовым синим

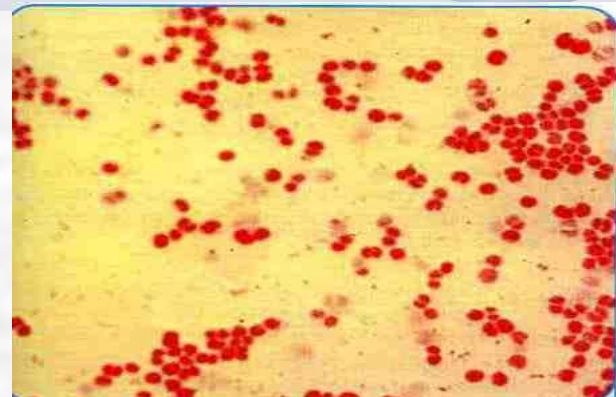


Рис. 3.33. Чистая культура *N. gonorrhoeae*. Окраска по Граму

**Анамнез
Клиника**

+

-

Отделяемое

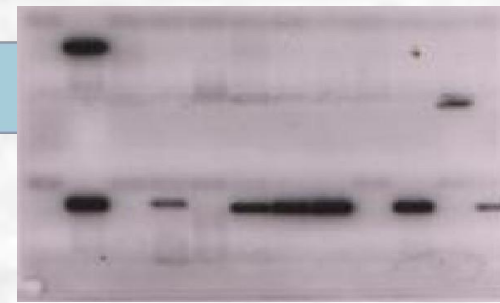
Соскоб

Микроскопия

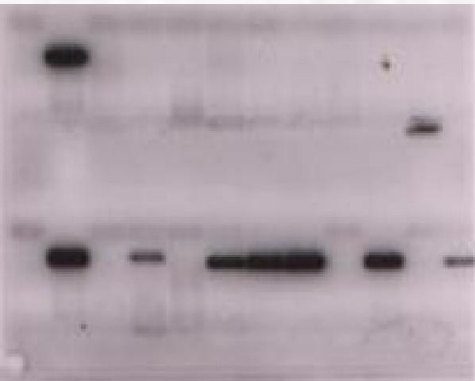
ПЦР

Бак.посев

ПЦР



Первичный прием



Женщина

Соскоб из ц/к

**Отделяемое со
сводов вл.
на 5-9 д.м/ц**

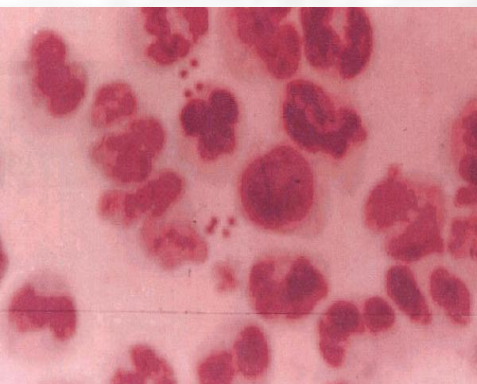
Кровь

ПЦР

Микроскопия

ИФА

Первичный прием



Мужчина

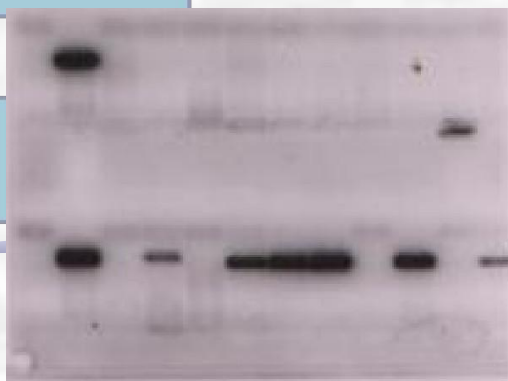
Соскоб из уретры
Слизистое отделяемое

Кровь

Микроскопия

ИФА

ПЦР



Принципы профилактики и лечения гонореи

- Экстренная профилактика ИППП:

антисептики для наружного применения –

мирамистин, хлоргексидин, гекситидин, грамицидин С

- Обязательная и полноценная антибактериальная терапия: пенициллины, цефалоспорины, макролиды, фторхинолоны, антибиотики «широкого спектра»





Урогенитальный хламидиоз

- Урогенитальный хламидиоз – это инфекционное заболевание, вызываемое определенными серотипами *Chlamydia trachomatis*, передающееся половым путем и характеризующееся многочисленными поражениями разных органов и тканей мочеполовой системы, часто приобретает хроническое течение

Таксономическое положение хламидий

- **Семейство Chlamydiaceae**
- **Род Chlamydia**
- **Вид Chlamydia trachomatis
(C.trachomatis)**
- **Генитальные серовары
C.trachomatis – D, F, G, H, I, J, K**

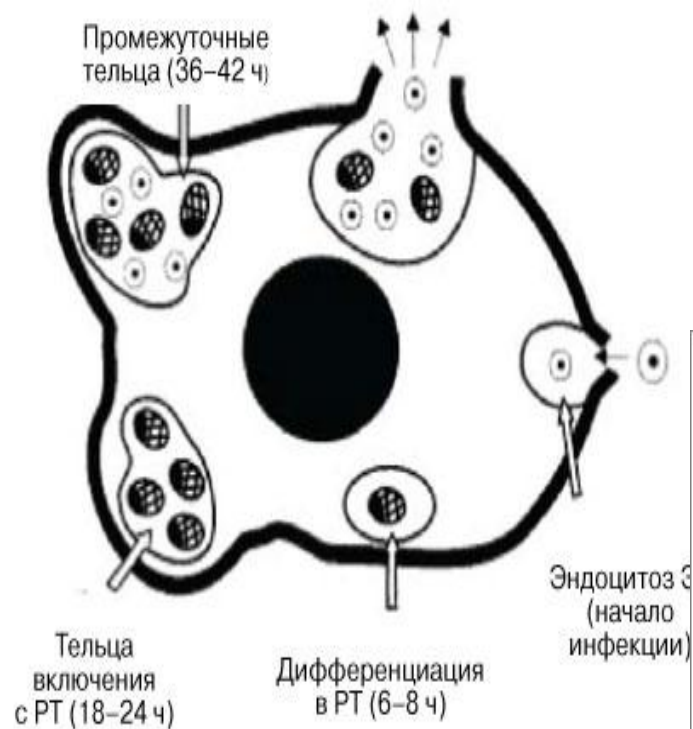
Морфология хламидий

- Хламидии – мелкие грамотрицательные прокариоты шаровидной или овоидной формы, не образуют спор, неподвижны, не имеют капсулы. В составе клеточной стенки отсутствует пептидогликан, ригидные функции выполняют белки наружной мембраны. Хламидии существуют в двух формах:
- Элементарное тельце (0,2-0,3 мкм) – внеклеточная инфекционная форма хламидий, ответственное за процесс прикрепления к клетке-мишени и проникновение в них.
- Ретикулярное тельце (0,8-1,5 мкм)- внутриклеточная метаболически активная форма

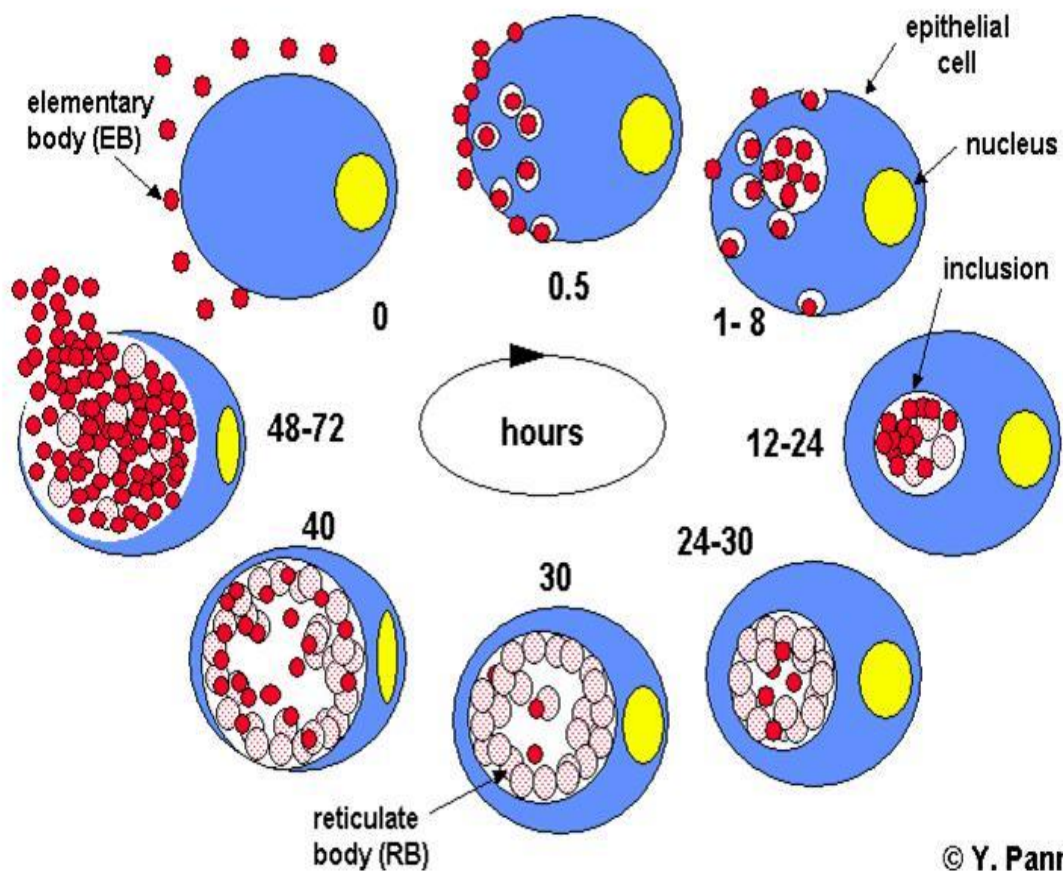
Жизненный цикл хламидий – **(продолжительность 48-72 часа)**

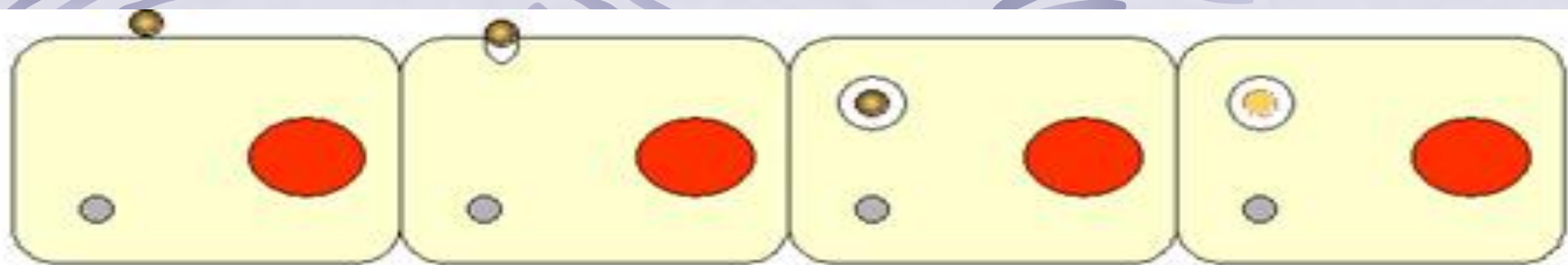
- **1.Адсорбция ЭТ на мембране клетки мишени и внедрение по типу эндоцитоза с образованием фагоцитарной вакуоли (7-10 часов).**
- **2.Преобразование ЭТ в более крупное РТ, которое многократно делится бинарно, образуя хламидийные включения, окруженные мембраной клетки-хозяина (18-24 часа).**
- **3.Созревание хламидий – образование промежуточных телец и трансформация РТ в ЭТ (36-42 часа).**
- **4.Выход ЭТ из разрушенной клетки.**
- **5.Проникновение ЭТ в новые клетки и начало нового цикла развития**

Жизненный цикл хламидий



Developmental cycle of *C. trachomatis*



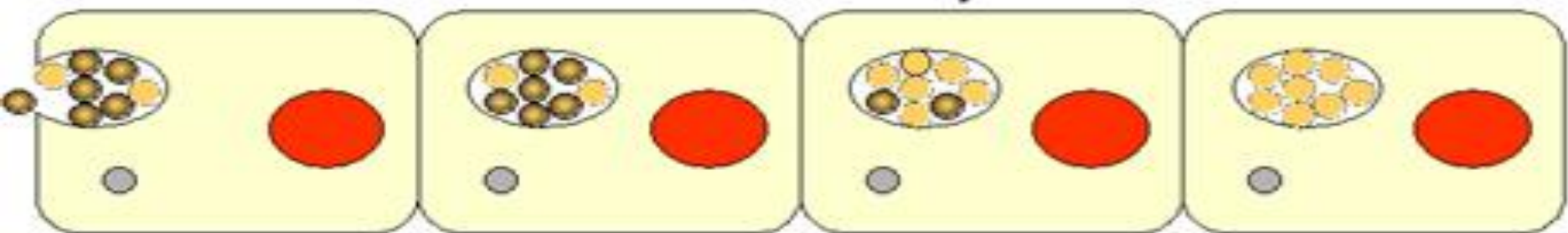


A. Elementary body (EB) attaches to surface of cell

B. Endocytosis of EB occurs

C. EB is in endosome which does NOT fuse with lysosome

D. EB reorganizes into reticulate body (RB) in endosome

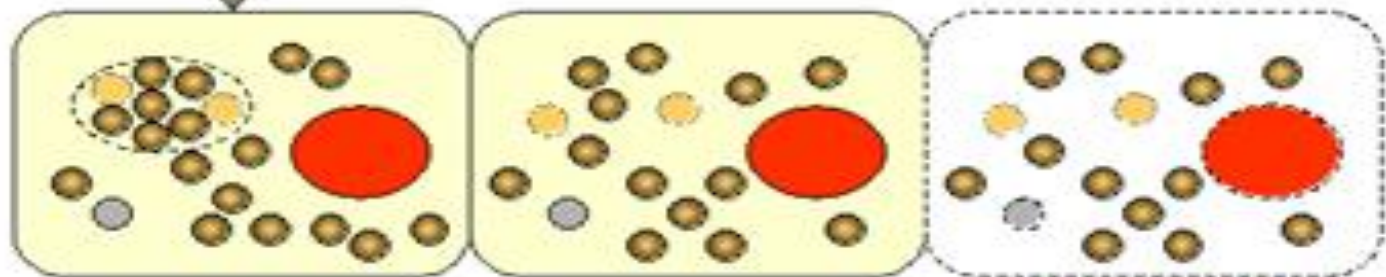


H. *C.pneumoniae* and *C.trachomatis*: reverse endocytosis

G. Inclusion granule has both RBs and EBs

F. RBs are reorganized to EBs

E. RB replicates by binary fission



I. *C.psittaci*: Lysis of cells and inclusions

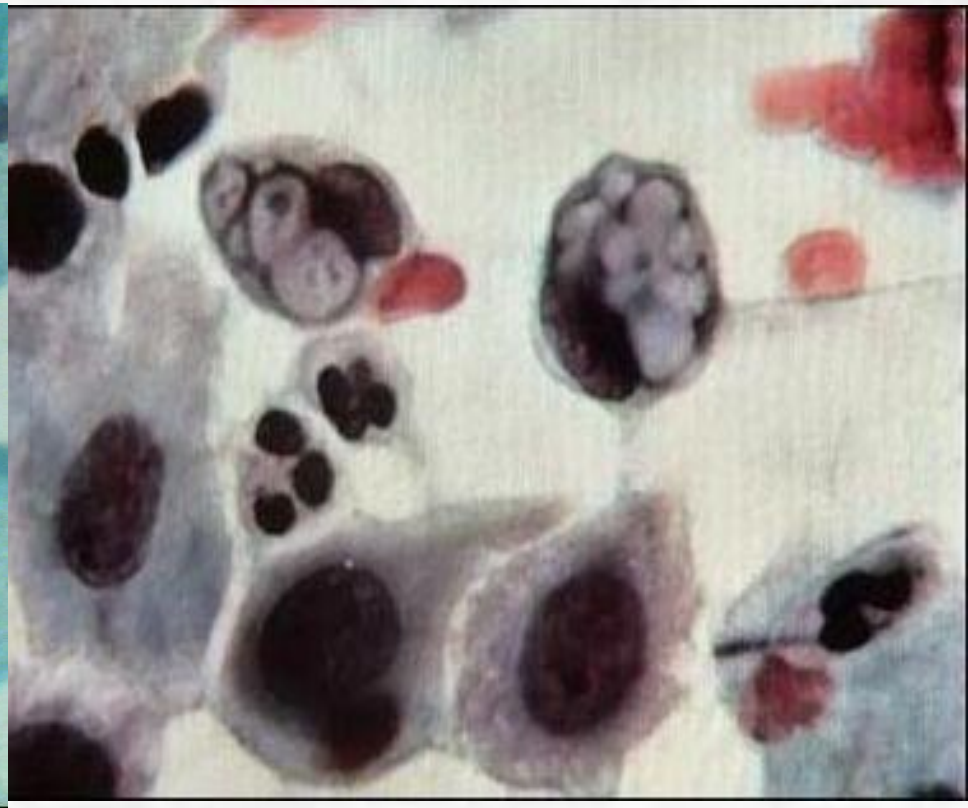
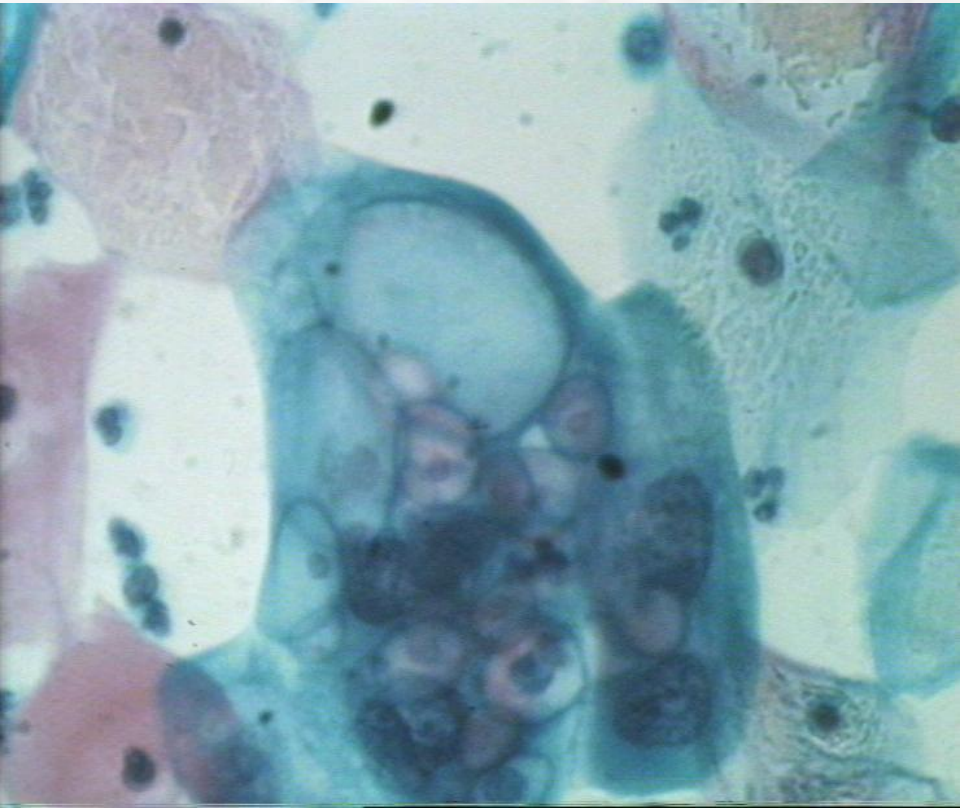
Методы изучения хламидий

- **Хламидии окрашиваются по методов Романовского-Гимза. Цвет окраски зависит от стадии жизненного цикла:**
- **ЭТ окрашивается в пурпурный цвет и четко выделяется на голубом фоне цитоплазмы клетки-мишени**
- **РТ окрашивается в голубой цвет**

Внутриклеточное включение, содержащее размножающиеся хламидии



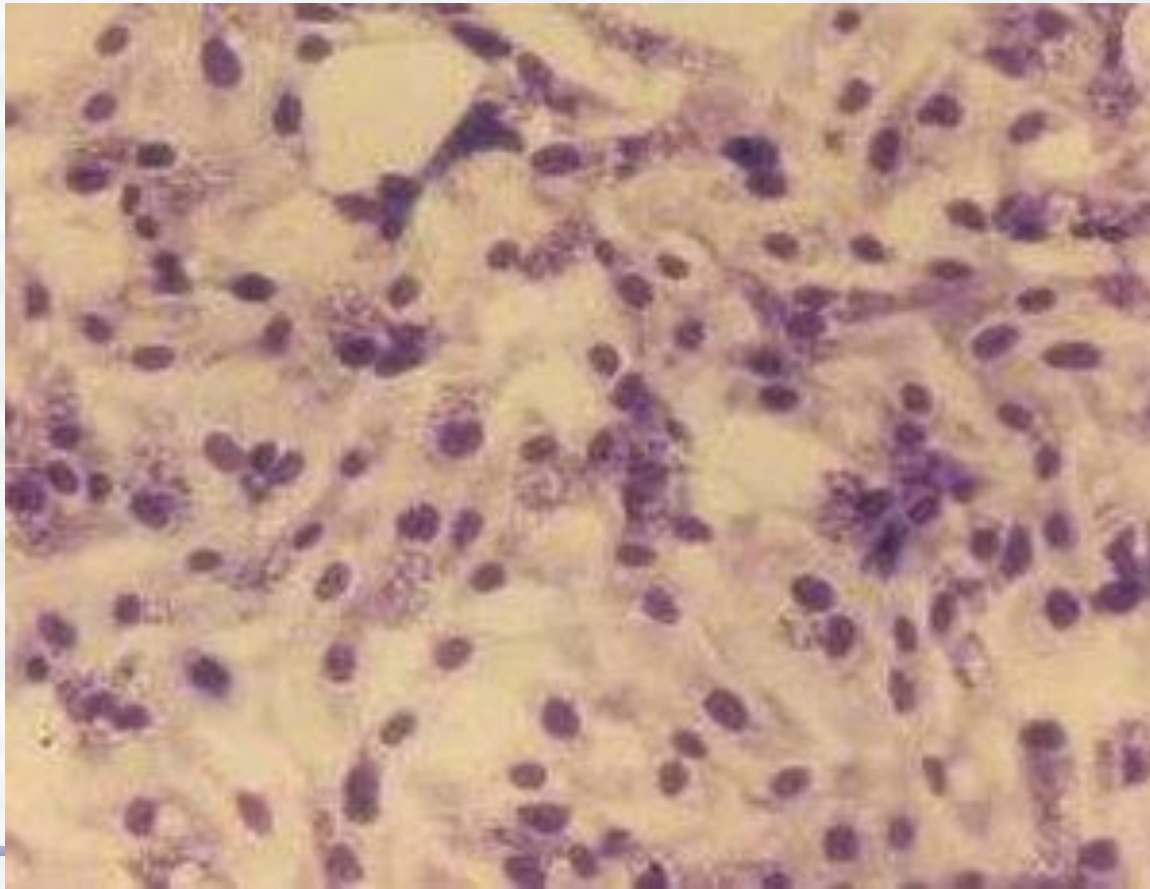
Микроколонии хламидий в клетке



Культивирование хламидий

- **Хламидии являются облигатными внутриклеточными энергетическими паразитами, поэтому не растут на искусственных питательных средах.**
- **Хламидии не способны синтезировать АТФ и для своей жизнедеятельности используют экзогенные источники энергии**
- **Хламидии культивируют в культуре клеток HeLa, McCoу и в желточных мешках куриных эмбрионов.**

Однослойная культура клеток после инкубирования в присутствии *Chlamydia trachomatis*. Цитоплазма инфицированных клеток выглядит «гранулированной».



Антигены хламидий (по Р.А. Mardh, 1990)

Антиген	Химический состав	Примечание
Родоспецифический (общий для всех видов хламидий. Chlamydia psittaci, Chlamydia trachomatis, Chlamydia pneumoniae)	Липосахарид	Три различных антигенных домена <u>Используются в диагностике иммунофлуоресцентным методом</u>
Видоспецифический (различен для всех видов хламидий Chlamydia psittaci, Chlamydia trachomatis. Chlamydia pneumoniae}	Белки наружной мембраны	Более 18 различных компонентов 155 кДа у Chlamydia trachomatis, эпитопы в белке 40 кДа, белок теплового шока hsp-60
Типоспецифический (различен для сероваров Chlamydia trachomatis)	Белки наружной мембраны	Эпитопы в 40 кДа протеине (МOMP), протеине 30 кДа у серотипов А и В

Факторы патогенности

Белки наружной мембраны – обеспечивают адгезию

Эндотоксин – ЛПС

Патогенез

- ведущую роль в патогенезе хламидийной инфекции играют иммунопатологические механизмы
- Из-за способности хламидий ингибировать слияние фагосом с лизосомами фагоцитоз при хламидийной инфекции непродуктивный
- Жизненный цикл хламидий может приводить к гибели клетки и запуску комплекса воспалительных реакций
- доказана возможность персистенции хламидий в эпителиальных клетках и фибробластах инфицированных слизистых мембран.
- Хламидии поглощаются периферическими моноцитами и распространяются в организме,
- моноциты оседают в тканях и превращаются в тканевые макрофаги (в суставах, в сосудах, в области сердца).
- Тканевые макрофаги могут сохранять жизнеспособность в течение нескольких месяцев, являясь при этом мощным антигенным стимулятором, приводя к образованию фиброзных гранул в здоровой ткани.

Мужчины	Женщины	Дети
Заболевания		
<ul style="list-style-type: none"> • Уретрит • Эпидидимит • Конъюнктивит • Венерическая лимфогранулема 	<ul style="list-style-type: none"> • Уретрит • Эндометрит • Сальпингит • Периаппендицит • Перигепатит • Конъюнктивит • Венерическая лимфогранулема 	<ul style="list-style-type: none"> • Конъюнктивит новорожденных • Пневмония
Осложнения		
<ul style="list-style-type: none"> • Нарушение фертильности • Постинфекционный (реактивный) артрит-синдром Рейтера • Поражение гениталий и желудочно-кишечного тракта с отеком и стенозом (после венерической лимфогранулемы) 	<ul style="list-style-type: none"> • Бесплодие • Нарушение фертильности • Эктопическая беременность • Хронические абдоминальные боли • Постинфекционный (реактивный) артрит-синдром Рейтера • Поражение гениталий и желудочно-кишечного тракта с отеком и стенозом (после венерической лимфогранулемы) 	<ul style="list-style-type: none"> • Обструктивные заболевания легких

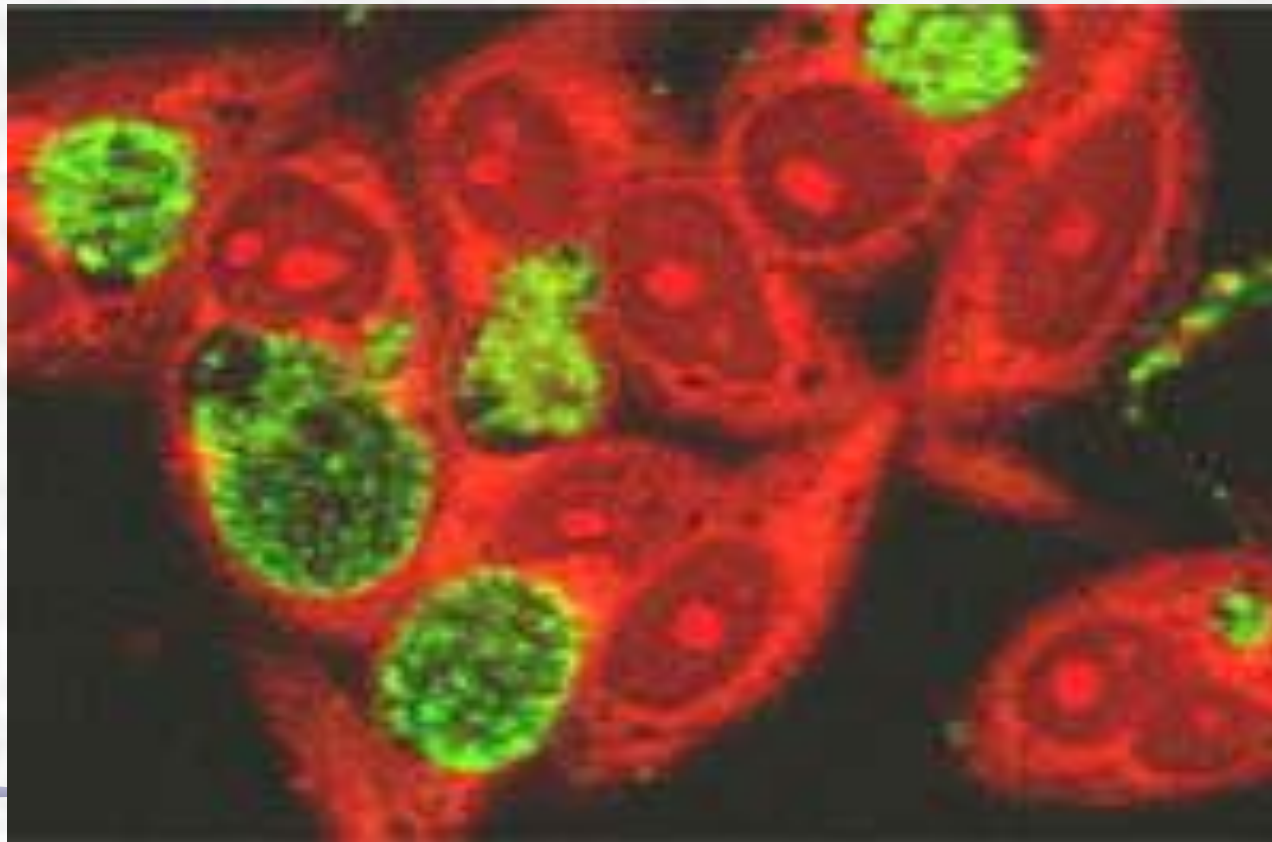
Иммунитет

- Защитная реакция на начальной стадии инфекции осуществляется полиморфоядерными лимфоцитами
- Существенную роль в защите организма играет поликлональная активация В-лимфоцитов. В сыворотке крови и секреторных жидкостях при хламидиозе обнаруживают значительное количество иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA к хламидийному липополисахаридному антигену.
- Показано локальное образование секреторного иммуноглобулина А;
- ведущую роль в защите от хламидийной инфекции занимают Т-хелперы, активирующие фагоцитарную активность макрофагов и цитотоксическую защиту посредством Т-лимфоцитов;
- Постинфекционный иммунитет не изучен

Лабораторная диагностика урогенитального хламидиоза

- **Исследуемый материал: соскобы эпителия слизистых уретры, цервикального канала, сыворотка крови.**
- **Методы диагностики:**
- **Метод иммунофлюоресценции прямой**
- **ПЦР – самый чувствительный метод исследования**
- **Культуральный метод – трудоемкий и длительный, используют культуры клеток.**
- **Серологический – выявляют специфические антитела в сыворотке больных, применяют РНГА, ИФА, МИФ непрямой.**

**C.trachomatis в пораженных клетках
методом прямой
иммунофлюоресценции – зеленые
включения**





Морфология и патогенные свойства менингококка

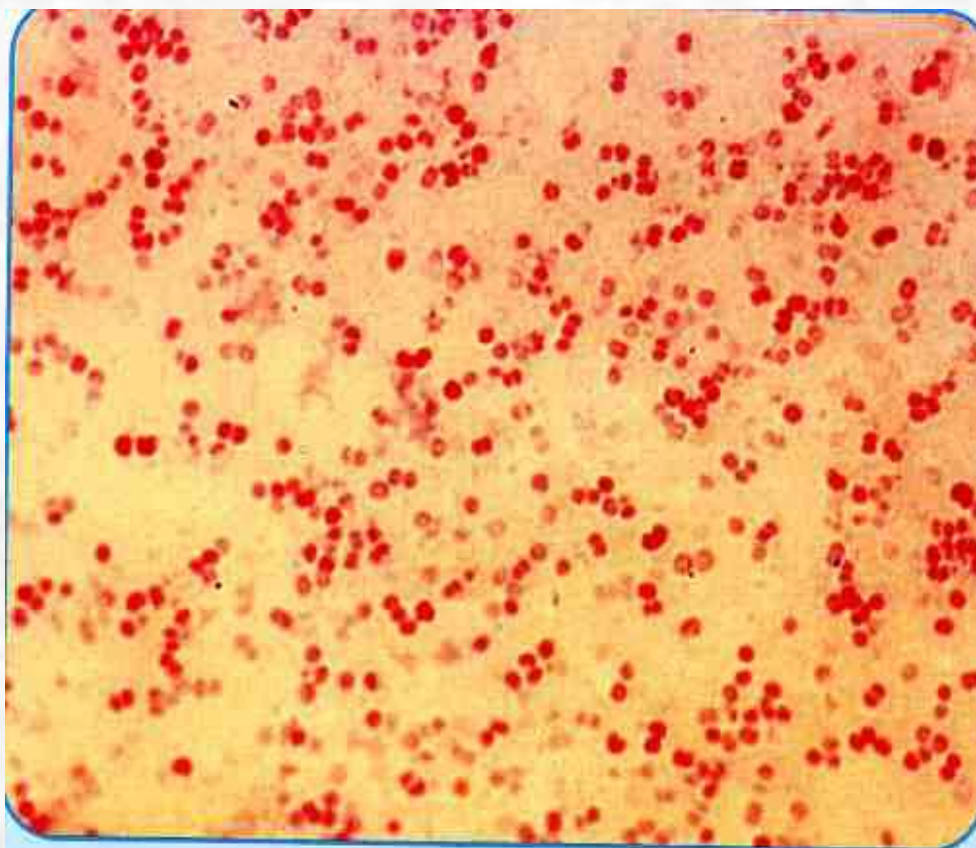


Рис. 3.36. Чистая культура *N. meningitidis*. Окраска по Граму

Пили – адгезия к эпителию и клеткам мозговых оболочек

Микрокапсула – антифагоцитарная активность

Эндотоксин – опосредует клиническую картину болезни (парез капилляров, падение АД, эндотоксиновый шок, внутрисосудистое свёртывание крови – геморрагич. синдром)

IgA- и IgG-протеазы – расщепление АТ в шарнирной зоне молекулы Ig

Патогенез и иммунитет при менингококковой инфекции

Основные тенденции патогенеза:

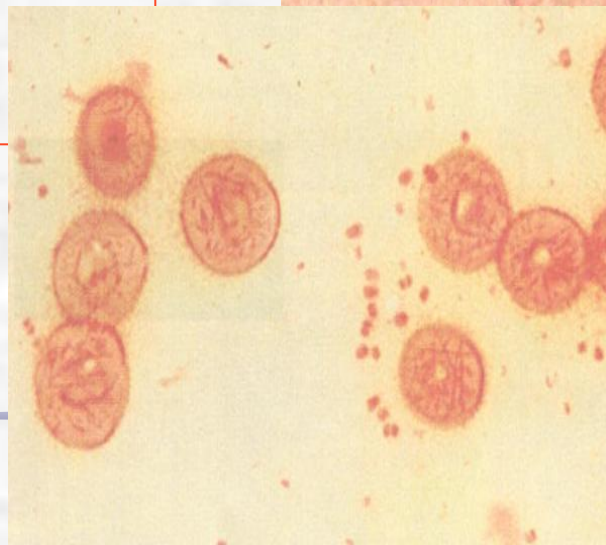
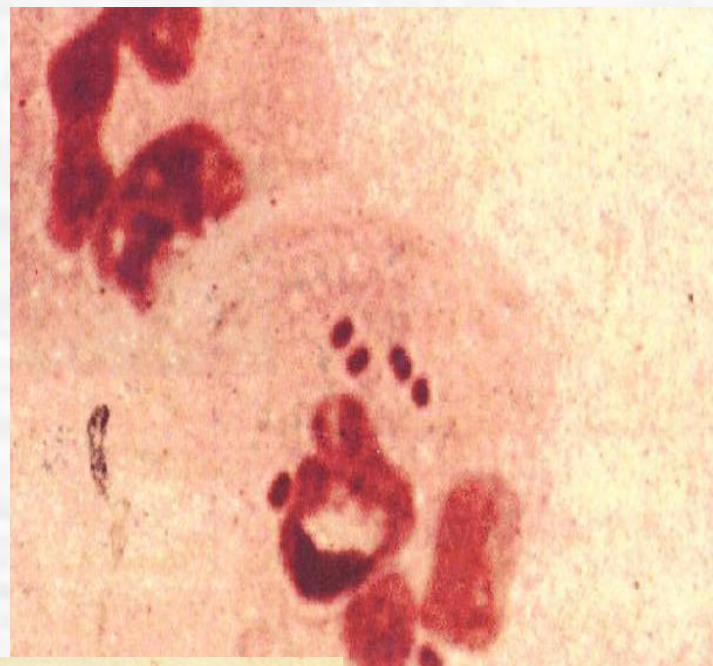
- 1. Адгезия на эпителии респираторного тракта, а после диссеминации – в клетках мозговых оболочек
- 2. Формирование местного очага острого гнойного воспаления, гибель эпителиоцитов – картина ОРЗ; (клинич. форма – назофарингит); возможно бессимптомное носительство у 20-25% населения в период эпидемии
- 3. Проникновение в лимфо- и кровотоки, сохранение внутри лейкоцитов («незавершённый фагоцитоз»)
- 4. Тенденция к генерализации разной степени тяжести в зависимости от состояния иммунной системы: цереброспинальный менингит или менингококкоцемия (сепсис)
- 5. Утяжеление клиники заболевания при некорректном применении бактерицидных антибиотиков (пенициллины) вследствие усиленного выброса эндотоксина

Методы лабораторной диагностики

- 1. Микроскопический

Картина «незавершённого» фагоцитоза при микроскопии спинномозговой жидкости или крови.

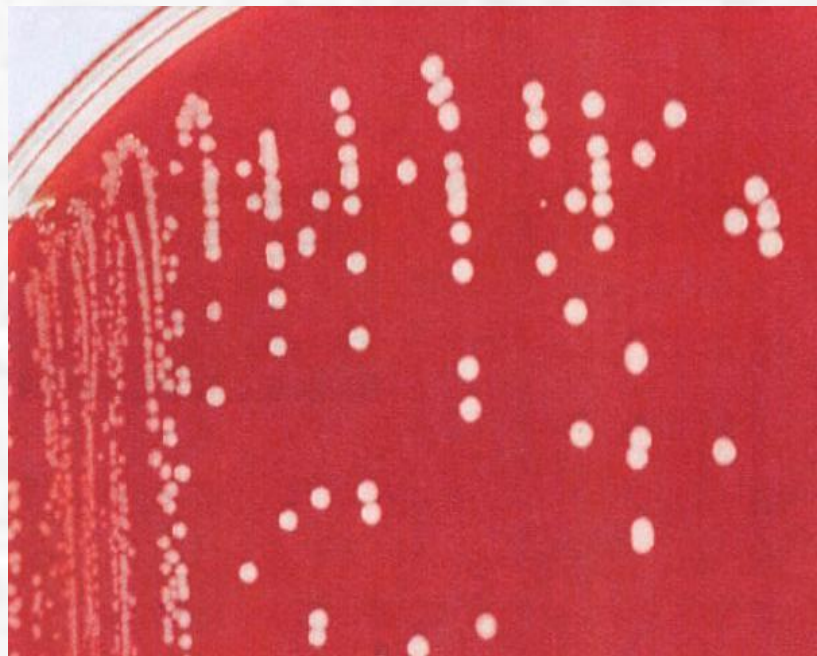
Окраска по Граму (**грам-**) и метиленовым синим



Методы лабораторной диагностики

2. Бактериологический

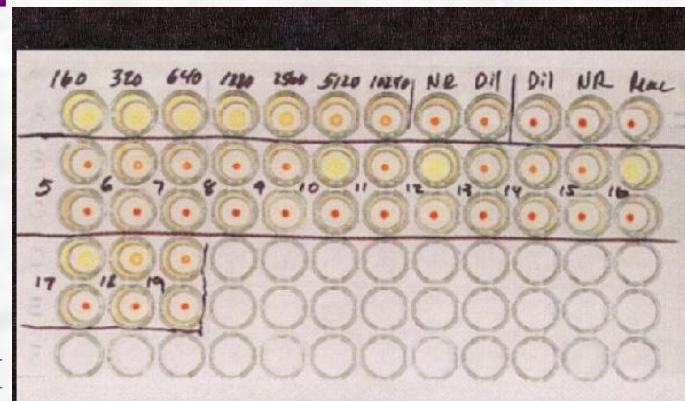
- Изолированные колонии - на селективной среде (сыворотка) с антибиотиком ристомицином (гибель грам (+) флоры)
- Чистая культура представлена **грам (-)** бобовидными диплококками (нейссерии)
- Проба на **оксидазу** положительна; отличия от резидентных нейссерий – *N.catharrhalis*, *N.flava*, *N.mucosa*, *N.sicca* – биохимические свойства
- Чувствительны к бета-лактамам, макролидам, фторхинолонам



Методы лабораторной диагностики

3. Серологический

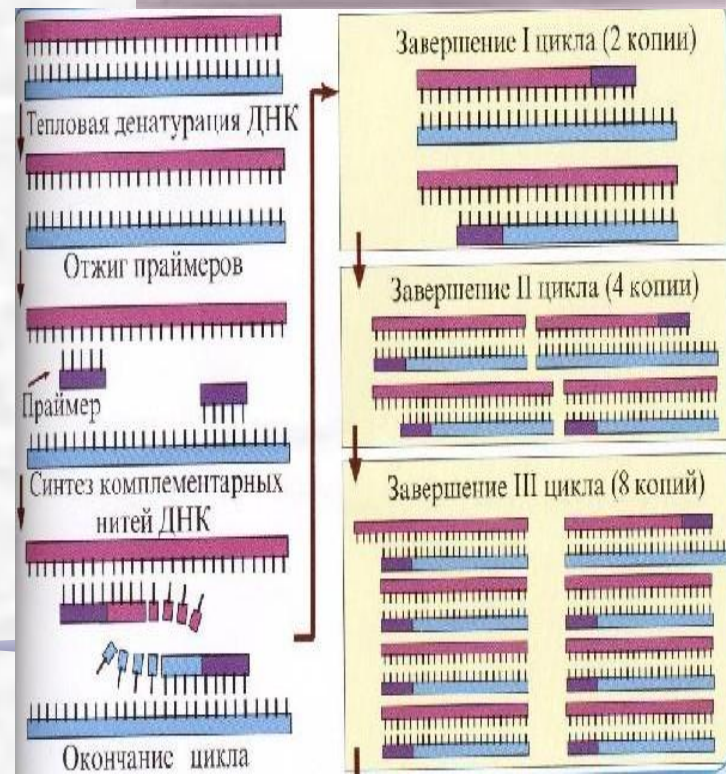
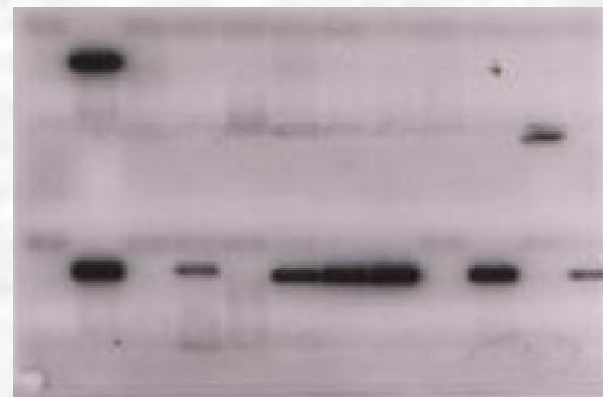
- Реакция связывания комплемента (РСК) – с молек. диагностикумом
- Реакция пассивной гемагглютинации с эритроцитарным диагностикумом (РПГА)
- Иммуноферментный анализ (ИФА)
- Реакция непрямой иммунофлюоресценции (РИФ)



Методы лабораторной диагностики

4. Молекулярно-биологический

- Полимеразная цепная реакция-
ПЦР-диагностика:
определение
специфических генетических
маркеров возбудителя в соскобе
из носоглотки, ликвора или из
крови при септическом течении.
С помощью стандартных реагентов:
ДНК-праймеров и соответствующей
аппаратуры (термоциклер и др.)



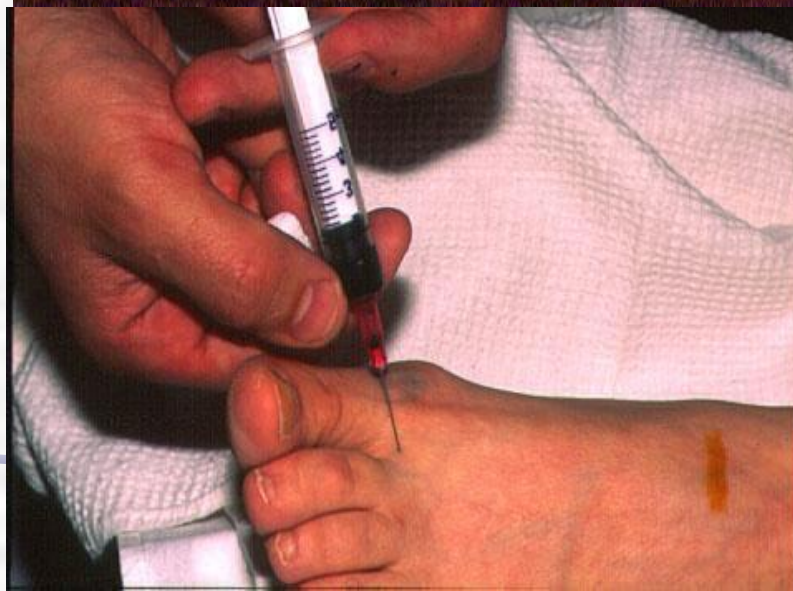
Методы лабораторной диагностики и специфической профилактики

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — цереброспинальная жидкость, слизь из носоглотки, кровь. *Бактериоскопический метод:* окраска мазков по Граму или метиленовым синим. *Бактериологический метод:* выделение чистой культуры на средах с добавлением нормальной лошадиной сыворотки или сыворотки крупного рогатого скота и ее идентификация по биохимической активности, антигенной структуре. *Серологический метод:* исследование сыворотки в РНГА с эритроцитарными менингококковыми диагностикумами, в РСК и с помощью РИФ (непрямой метод).

Специфическая профилактика. Применяется менингококковая химическая полисахаридная вакцина серогрупп А, В, С (в зависимости от циркулирующих штаммов). Весьма перспективна поливалентная менингококковая вакцина с полисахаридами групп А, С, У и W-135.

Принципы лечения менингококковой инфекции

- **Обязательная антибактериальная терапия:** пенициллины, цефалоспорины, макролиды в комбинации с сульфаниламидами, проходящими через гематоэнцефалический барьер
- **Интенсивная дезинтоксикационная и противошоковая терапия:** реополиглюкин, гемодез
- **В тяжёлых случаях** – струйное внутривенное, эндолимфатич. или внутриартериальное введение антибиотиков на фоне интенсивной дезинтоксикационной терапии и реанимационных мероприятий
- **Санация бактерионосителей**





БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ !