**Занятие 17**

**Микробиологическая диагностика инфекций, вызываемых риккетсиями, хламидиями и микоплазмами**

**Риккетсии**

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

**Характеристика риккетсиозов**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Группы** | **Возбудитель** | **Болезнь** | **Источник инфекции** | **Вектор** |
| Группа сыпного тифа | *Rickettsia prowazekii* | Эпидемический (вшивый) сыпной тиф | Человек | Платяные вши |
| *Rickettsia typhi* | Эндемический (крысиный, блошиный) сыпной тиф | Крысы, мыши | Блохи |
| *Orientia tsutsugamushi* | Kустарная лихорадка | Грызуны | Краснобрюхие клещи |
| Группа пятнистых лихорадок | *Rickettsia rickettsii* | Пятнистая лихорадка скалистых гор  | Грызуны | Клещи |
| *Rickettsia conorii* | Марсельская (Средиземноморская, Северо-африканская и пр. пятнистые лихорадки) | Грызуны, собаки | Клещи |
| *Rickettsia australis* | Квинслендская (Австралийская) клещевая лихорадка | Грызуны | Клещи |
| *Rickettsia akari* | Осповидный риккетсиоз | Грызуны | Клещи |
| *Rickettsia sibirica* | Северо-азиатский клещевой риккетсиоз | Грызуны | Клещи |
| *Rickettsia japonica* | Японская лихорадка | Клещи | Клещи |
| Группа Q-лихорадки | *Cохiella burnetii* | Q-лихорадка | Крупный и мелкий рогатый скот | Клещи |
| Группа *Ehrlichia*  | *Ehrlichia chaffeensis* | Моноцитарный эрлихиоз | Олени, собаки, грызуны | Клещи |
| *Ehrlichia sennetsu* | Моноцитарный эрлихиоз | Млекопитающие | Рыбы |
| *Ehrlichia ewineii*  | Гранулоцитарный эрлихиоз | Собаки | Клещи |
| *Anaplasma phagocytophilum* | Гранулоцитарный эрлихиоз | Мыши и другие грызуны | Клещи |

**Морфо-биологические особенности.** Риккетсии – это палочковидные или кокковидные микроорганизмы размером 0,3x1-2 мкм.Для риккетсий характерны плотные и слизистые микрокапсулы. Они неподвижны, не образуют спор, имеют фимбрии и пили. Все морфологические формы риккетсий имеют тройную клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, цитоплазматические включения, вакуоли и нуклеоиды. Нуклеоид состоит из 1-4 частиц. Клеточная стенка содержит пептидогликан, мурамин и диаминопимелиновые кислоты.

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

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

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

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

**Факторы патогенности риккетсий.** Патогенность риккетсий обеспечивается в основном их клеточными структурами – пилями, белками наружной мембраны (клеточной стенки) – *Omp-белками* и *ЛПС*. Риккетсии Провачека и Риккетса содержат фосфолипазу А2, которая играет важную роль при инфицировании клеток. Риккетсии не вырабатывают экзотоксины.

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

Процесс и механизм повреждения отдельных типов клеток-мишеней, зараженных риккетсиями в организме человека различны. Весьма характерно повреждение эндотелия сосудов риккетсиями. За исключением *C. burnetii*, риккетсии размножаются в эндотелии мелких кровеносных сосудов и вызывают ***васкулит***. Эти клетки набухают и некрозируются, закупорка тромбами кровеносных сосудов приводит к некрозу тканей. Хотя развитие васкулитов главным образом проявляется на коже, он также наблюдается во многих внутренних органах, что сопровождается нарушением кровообращения, синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания и закупоркой сосудов. В результате агрегации лимфоцитов, полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов на стенках кровеносных сосудов серого вещества мозга развивается менингоэнцефалит с образованием ***тифоидных узлов***. Тифоидные узлы также могут формироваться и во внутренних органах – на сердечных сосудах и щитовидной железе. В некоторых случаях после перенесенного заболевания, риккетсии могут длительно сохраняться (персистировать) в организме, не вызывая патологического процесса. Эта способность обеспечивается переходом риккетсий в L-формы, антигенной мимикрией или за счет экранирования иммуноглобулинами. Например, патогенез болезни Брилля-Цинссера - рецидива сыпного тифа связан с длительной персистенцией возбудителя в лимфатических узлах.

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

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

**Источник инфекции и механизмы заражения эпидемического сыпного тифа**

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

**Клинические проявления эпидемического сыпного тифа.** Инкубационный период составляет в среднем 1-2 недели. Эпидемический сыпной тиф проявляется лихорадкой, поражением эндотелия кровеносных сосудов жизненно важных органов (мозг, сердце, почки), розеолезно-петехиальной сыпью. Летальность без лечения - до 20%.

**Микробиологическая диагностика эпидемического сыпного тифа**

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

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

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

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

**Возбудитель эндемического (крысиного) сыпного тифа (*Rickettsia typhi*)** *относится к роду Rickettsia семейства* *Rickettsiaсеае*. Как и все риккетсии являются внутриклеточными паразитами. Морфологические, тинкториальные и прочие характеристики идентичны таковым у возбудителя эпидемического сыпного тифа.

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

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

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

**Лечение и профилактика эндемического сыпного тифа**

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

**Возбудитель лихорадки Ку(*Coxiella burnetii)***

Заболевание получило название Ку лихорадки от начальной буквы английского слова «*query*»*,* означающей неясный, неопределенный. Рода и вид были названы в честь исследователей Кокса и Бернетта. *C.burnetii* представляют мелкие, полиморфные ланцетовидные микроорганизмы размером 0,2-0,4х0,4-1 мкм, могут иметь форму палочек или коккобацилл. Могут образовывать фильтрующиеся формы. Окрашиваются по Здродовскому и Романовскому –Гимзе в красный цвет. Как и бактериям им присущи R-S диссоциации. соответствующая, обладает изменчивостью. Возбудители образующие в естественных условиях фазу I, в результате длительных пассажей в тканевых культурах и куриных эмбрионах переходят в фазу II. Фаза I отличается от фазы II наличием ***структурных липополисахаридов*** в клеточной стенке.

*C.burnetii* являются облигатными внутриклеточными паразитами. Коксиеллы размножаются преимущественно в вакуолях и фаголизосомах клеток хозяина. Культивируются в желточном мешке куриного эмбриона при температуре 35°. Устойчивы к факторам внешней среды, в частности высушиванию и высокой температуре, при температуре 80-900C в течение 30 мин. сохраняют жизнеспособность. Пастеризация молока при температуре 600C в течение 30 мин. коксиелл не убивает. Они сохраняются в твороге, кефире и др. молочных продуктах. Устойчивы к действию желудочного сока, не погибают в 5% растворе формалина и в 1% растворе фенола. Образуют спороподобные формы, обеспечивающие высокую устойчивость к факторам внешней среды.

**Источник инфекции и механизмы заражения**. Источником инфекции являются животные. Существует несколько путей заражения человека:

 -аэрогенное заражение – в результате вдыхания аэрозолей, содержащих возбудителя

 - пероральное заражение – при употреблении в пищу мясных и молочных продуктов больных животных

 -возможен трансмиссивный путь передачи при укусах клещей.

*C.burnetii*  в естественных условиях вызывают у крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, собак, грызунов, а также птиц хронические заболевания*.* Риккетсии выделяются от больных животных с молоком, мочой и выделениями, а также с околоплодными водами во время отела.

**Патогенез лихорадки Ку** отличается от риккетсиозов. Возбудитель при проникновении в организм человека внедряется в кровь и лимфу , а затем в клетки тканей и органов. *Фагоцитированные C.burnetii не лизируются – за счет незавершенного фагоцитоза они размножаются в лейкоцитах.*  Коксиеллы поражают клетки эндотелия кровеносных сосудов и обуславливают развитие периваскулитов, но не панваскулитов в отличие от прочих риккетсий.

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

**Микробиологическая диагностика**.

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

**Лечение** препаратами тетрациклинового и хинолонового ряда. Лечение хронических форм и осложнений требует длительного применения (несколько месяцев) антибиотиков – тетрациклина.

* **Неспецифическая профилактика** сводится к постоянному эпидемиологическому и санитарно-ветеринарному надзору за коксиеллезом в эндемичных районах с последующей выбраковкой больных сельскохозяйственных животных. Рекомендуется пастеризация молока при температуре71,50C в течение 15 секунд .
* **Специфическая профилактика.** Проводят вакцинацию сотрудников лабораторий, работающих с C.burnetii.

**Ориенции (род Orientia)**

**Ориенции (род Orientia)** - грамотрицательные палочковидные бактерии. Облигатные внутриклеточные паразиты. Входят в семейство **Rickettsiaceae**, род **Orientia**. Представлены видом **Orientia tsutsugamushi** (ранее R. tsutsugamushi), который имеет 6 сероваров. Отсутствует пептидогликан клеточной стенки. **Orientia tsutsugamushi** вызывает **кустарниковый тиф (лихорадку цуцугамуши)**, сопровождающийся первичным аффектом, лихорадкой, макулопапулезной сыпью, поражением нервной и сердечно-сосудистой систем и лимфаденопатией.

**Морфо-биологические свойства ориенций.** По морфо-биологическим свойствам сходны с риккетсиями. Однако у них отсутствуют некоторые компоненты пептидогликана и ЛПС клеточной стенки (мурамовая кислота, глюказамин и окисленные жирные кислоты). Культивируются в 4-5-дневных куриных эмбрионах и культуре клеток, размножаются только в цитоплазме пораженных клеток. По антигенной структуре имеет 6 сероваров, а также общие антигены с протеем ОХк. Патогенность связана с пилями, ЛПС и протеинами внешней оболочки.

**Патогенез эрлихиозов.** Патогенез эрлихиозов связан с лимфо-гематогенным распространением возбудителей по организму и поражением моноцитов крови и макрофагов печени, селезенки, лимфатических узлов, костного мозга с развитием инфильтратов и очагов некроза. Формируется миелоидная гипоплазия, отмечается лейкопения, тромбоцитопения, при лихорадке Сеннетсу – моноцитоз. Это приводит к кровотечениям. Нарушается функция печени и почек. В процесс вовлекается также эндотелий капилляров, образуется сыпь.

**Эпидемиология эрлихиозов**

Источником моноцитарного и гранулоцитарного эрлихиозов являются мелкие грызуны, олени, косули, собаки и домашний скот, на которых паразитируют иксодовые клещи. Передача возбудителей происходит при укусе клеща через его слюну. На месте укуса первичный аффект, как правило, не возникает. Источником инфекции при эрлихиозе Сеннетсу являются моллюски рыб. Заражение происходит, очевидно, при употреблении в пищу сырой рыбы. Входные ворота ротоглотка.

**Хламидии**

Хламидии относятся к порядку *Chlamydiales* , семейству *Chlamydaceae*, роду *Chlamydia/* Различают три вида хламидий - *C.trachomatis, C.psittaci* , *C.pneumoniae,- вызывающих заболевания у человека.* Согласно последней классификации, семейство *Chlamydaceae подразделяют на два рода:* *Chlamydia* и *Chlamidophila.* Род *Chlamydia представлен видом*  *C.trachomatis*, в род *Chlamidophila* включены виды *C.psittaci* и *C.pneumoniae*

**Морфо-биологические свойства.** *Свое название хламидии получили от греч. chlamyda* – мантия, так как в клетке хозяина, проходя уникальный цикл развития, образуют внутриклеточные включения, окруженные оболочкой, напоминающей мантию. Жизненный цикл развития хламидий характеризуется чередованием морфологически различных форм существования – элементарных и ретикулярных телец.

**Репродукция хламидий.** Размножение хламидий происходит в клетках, преимущественно эпителиальных. Элементарные тельца попадают в клетки-мишени путем эндоцитоза. Размножение заканчивается транформацией элементарных телец в ретикулярные. Ретикулярные тельца являются вегетативной формой хламидий, могут быть овоидной, полулунной формы и крупнее элементарных телец (0,3х1,5 мкм). Они располагаются внутриклеточно около ядра и окрашиваются по Романовскому-Гимзе в голубой или фиолетовый цвет. Ретикулярные тельца многократно делятся бинарным делением, затем превращаются в элементарные тельца Цикл развития хламидий продолжается 1-2 дня, завершается гибелью клетки хозяина и выходом элементарных телец.

 **Характеристика хламидий.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Признаки** | ***Chlamydia trachomatis*** | ***Chlamydia pneumoniae*** | ***Chlamydia psittasi*** |
| Морфология элементарных телец | Округлой формы | Грушевидной,округлой формы  | Округлой формы |
| Форма внутриклеточных включений | Шаровидная, имеет вакуоль | Шаровидная, компактная | Крупные,полиморфные, компактная |
| Внутриклеточные включения, содержащие гликоген | **+** | **-** | **-** |
| Чувствительность к сульфаниламидам | **+** | **-** | **-** |
| *Chlamydia pneumoniae* ilə DNT hоmоlоgiyası | <10% | 100% | <10% |
| Серовары | 15 (A, B, Ba, C, D-K, L1, L2, L3) | 1 | 1 |
| Естественный хозяин  | Человек | Человек | Птицы |
| Вызываемые заболевания | Трахома и паратрахома;Урогенитальный хламидиоз и пневмония новорожденных; Венерическая лимфогранулема | Пневмония,острые респираторные инфекции,атеросклероз, саркоидоз,бронхиальная астма  | Орнитоз(пситтакоз)  |

**Культивирование.** Поскольку хламидии являются облигатными внутриклеточными паразитами, их можно размножать только в живых клетках. Культивируются хламидии в желточном мешке развивающихся куриных эмбрионов, организме чувствительных животных и в культуре клеток при температуре 350C. Больше всех используют культуру клеток McCоy. *C.pneumoniae лучше размножается в культуре клеток типа*  Hep-2.

**Антигенная структура.** Хламидии имеют родоспецифический термостабильный антиген –липополисахарид, находящийся в клеточной стенке хламидий. *Видоспецифический или серовароспецифический антиген – главный белок наружной мембраны*. По своей антигенной структуре некоторые виды хламидий делятся на серовары.

**Факторы патогенности.** Факторы патогенности хламидий связаны с белками наружной мембраны, обладающие адгезивными свойствами. Эти адгезины обнаруживают только у элементарных телец. Белки наружной мембраны обладают антифагоцитарными свойствами, так как способны подавлять слияние фагосомы с лизосомой. Эндотоксины представлены липополисахаридом хламидий.

*В настоящее время известно 15 сероваров C.trachomatis* - A, B, Ba, C, D-K, L (L1, L2, L3), которые вызывают разные нозологические формы. Серовары A, B, Ba и C вызывают трахому; Серовары D-K вызывают урогенитальный хламидиоз. Серовары L1, L2, L3 вызывают венерическую лимфогранулему .

**Трахома**

Хроническое инфекционное заболевание, характеризующееся воспалением конъюнктивы и роговицы, и приводящее к формированию грубых рубцов. *Заболевание вызывают C.trachomatis сероваров* A, B, Ba, и C. Возбудитель проникает в эпителий конъюнктивы и роговицы, где размножается, разрушая клетки. Развивается фолликулярный кератоконъюнктивит. В запущенных случаях вся конъюнктива больного глаза усеяна зернышками тесно прилегающими друг другу, что напоминает «лягушачью икру».Название этой болезни в переводе с греч. «*trachys*» означает «шероховатый, неровный».

**Микробиологическая диагностика трахомы.** Исследуют соскобы с конъюнктивы. Препараты окрашивают по Романовскому-Гимзе, где при микроскопии обнаруживаются цитоплазматические включения фиолетового цвета с красным центром, расположенные около ядра – тельца Хальберштедтера-Провачека. Для выявления специфического хламидийного антигена в пораженных клетках применяют РИФ.

**Урогенитальный хламидиоз.**

* Одно из самых распространенных заболеваний, вызываемых *C.trachomatis* сероваров D-K. Заболевание сопровождается поражением мочеполовой системы, передается половым путем. ***У мужчин при урогенитальном хламидиозе*** поражается эпителий уретры и клинически проявляется развитием уретрита. Урогенитальный хламидиоз часто называют «негонококковый уретрит», так как у больных отмечаются симптомы, напоминающие гонорею: зуд, выделения, боль при мочеиспускании.
* ***У женщин при урогенитальном хламидиозе*** первоначально поражается шейка матки, что приводит к цервициту. Восходящая инфекция клинически проявляется развитием уретрита, эндометрита, сальпингита. Воспалительный процесс в органах малого таза приводит к образованию спаек и рубцов, следствием чего является развитие непроходимости маточных труб у женщин и бесплодия.

**Урогенитальный хламидиоз (синдром Рейтера*).*** В некоторых случаях урогенитальный хламидиоз может осложниться развитием синдрома Рейтера. Синдром Рейтера сочетает в себе триаду последовательных признаков: ***уретрит, конъюнктивит (иридоциклит или увеит) и реактивный артрит.*** Поражение глаз при урогенитальном хламидиозе отмечается спустя 1-4 недели.

В основе патогенеза синдрома Рейтера лежит аутоиммунный механизм, обусловленный «белком теплового шока» хламидий, который схож по своему аминокислотному составу с человеческим. Накапливаясь в организме человека, этот белок может запускать аутоиммунные процессы, приводящие к развитию реактивных артритов, уретриту и конъюнктивиту.

**«Конъюнктивит бассейнов».** Возбудители урогенитального хламидиоза могут попасть на слизистую оболочку глаз здоровых лиц при купании в нехлорированных бассейнах, в результате чего развивается кератоконъюнктивит («конъюнктивит бассейнов»). Хламидийный конъюнктивит также может развиться в результате аутоинфекции (инокуляция выделений уретры в конъюнктиву). Хламидийный конъюнктивит обычно является односторонним процессом и носит название «паратрахома», или «конъюнктивит с включениями».

**Инфекционные заболевания новорожденных, вызываемые *C.trachomatis***

Новорожденные могут заражаться от больной матери при прохождении через родовые пути. У младенцев через 3 месяца после рождения может развиться атипичная **пневмония хламидийной этиологии**. *C.trachomatis* попадает в конъюнктиву новорожденным детям от больной матери. Через 7-12 дней болезнь протекает с явлениями гнойно-слизистого конъюнктивита –конъюнктивит новорожденных с внутриклеточными включениями.

**Диагностика урогенитального хламидиоза (материалы исследования)**

* Материалом для исследования служат соскобы с эпителия уретры (у мужчин), влагалища, шейки матки, которые забирают при помощи специальных «щеток», а также при помощи дакроновых или ватных тампонов.
* При конъюнктивите исследуют соскобы с эпителия конъюнктивы.
* Основным условием взятия соскоба является наличие в нем большого числа эпителиальных клеток, так как хламидии в основном выявляются внутри клетки.
* РИФ, используемая при диагностике урогенитального хламидиоза позволяет обнаружить антигены хламидий в эпителии конъюнктивы и мочеполового тракта.
* С этой целью для определения видоспецифичных антигенов хламидий (белов наружной мембраны) используют моноклональные антитела, Чувствительность метода 80-90%, специфичность приближается примерно к 100%.
* ***В препаратах окрашенных по Романовскому-Гимзе обнаружить хламидии удается крайне редко.***
* РИФ позволяет определить внутриклеточные включения в однослойных **культурах клеток**, заражаемых патологическим материалом через 2-3 дня инкубации при температуре 35-37С. Наиболее часто используют культуры клеток типа McCоу.
* Антитела в сыворотке крови больного можно обнаружить с помощью ИФА. Однако специфические антитела остаются в сыворотке переболевших людей в течение длительного времени.
* Этот метод исследования может быть использован для обнаружения İgM против *C.trachomatis* при диагностике пневмонии новорожденных.
* Чаще всего используется ***ПЦР.***

**Лечение урогенитального хламидиоза.** Применяют тетрациклин или доксициклин. Наиболее эффективен азитромицин. Одновременное лечение половых партнеров является важным условием терапии. Лечение конъюнктивитов хламидийной этиологии (в основном местное) проводят с помощью антибиотиков (тетрациклин, эритромицин).

**Венерическая лимфогранулема (*Lymphоgranulоma venereum*)**

Заболевание, передающееся половым путем, характеризуется развитием гнойных лимфаденитов в паховой области и иногда симптомами генерализации инфекции **Венерическая лимфогранулема** вызывается C.trachomatis сероваров L (L1, L2, L3) . Заболевание встречается преимущественно в странах с тропическим климатом – в Юго-восточной Азии, Центральной и Южной Америке. Входные ворота инфекции – слизистая оболочка половых органов. В наружных половых органах, прямой кишке, анусе образуются небольшие папулы, эрозии, язвочки, заживающие через несколько дней. Через 2-6 недель развивается воспаление лимфатических узлов(лимфаденит) с характерными поражениями паховых, тазовых и бедренных лимфатических узлов и проявляется увеличением лимфоузлов, мышечными болями. В воспалительный процесс вовлекается прилегающая соединительная ткань, формируются плотные, спаянные с окружающей тканью узлы (бубоны). Вскоре бубоны вскрываются, образуя долго незаживающие фистулы с желтовато-зеленым отделяемым.

**Венерическая лимфогранулема (микробиологическая диагностика).** Получение культуры возбудителя, а также ее морфологическую и серологическую идентификацию можно провести путем культивирования бубонного содержимого, а также гноя в ***культуре клеток McCoy***. Выявление антител в сыворотке крови больного проводят в РСК со 2-4-й недели заболевания (диагностический титр – 1:64). Внутрикожная проба с аллергеном хламидий в этот период дает положительный результат (***реакция Фрея***).

***Clamydia psittaci***

*C.psittaci* является возбудителем орнитоза. У человека вызывает тяжелую пневмонию с геморрагическими проявлениями.

* Заболевание было описано 1875 году Т. Юргенсом и названо «пситтакоз» (от греч. *psittakos* -попугай), так как возникло после контакта с попугаями.
* Позже было замечено, что заражение возможно не только от попугаев, но и от других птиц, поэтому получило название «орнитоз» (от греч. *ornis* - птица).

**Орнитоз (источник инфекции и пути заражения)**

Заболевание передается воздушно-капельным и воздушно-пылевым путями. Заражение иногда может происходить алиментарным путем – при употреблении в пищу мяса птицы, недостаточно хорошо обработанного термически. Также возможна передача возбудителя через грязные руки – контактный путь передачи инфекции. Эпидемические вспышки орнитоза чаще встречаются среди птицеводов и животноводов. Заболевание редко передается от человека к человеку, так как количество возбудителя, выделяемого больными очень мало, но все же, протекает в более тяжелой форме, если источником инфекции является человек.

**Патогенез и клинические проявления орнитоза.** Возбудители попадают в организм через слизистые оболочки верхних дыхательных путей, проникают в эпителий бронхов, бронхиол и альвеол, где и размножаются. Развивается воспаление. Хламидии попадают в кровь (бактериемия), разносятся по всему организму, поражая паренхиматозные органы (печень, селезенку). Сопровождается некротическими гранулематозными поражениями с множественными геморрагиями в легких и лимфатических узлах. Инкубационный период составляет около 10 дней. Заболевание начинается остро – повышение температуры, признаки интоксикации. Через 8-12 дней развивается пневмония, очаг поражения охватывает нижние доли легких, в частности правого. Орнитоз иногда напоминает грипп, микоплазменную или вирусную пневмонию.

**Микробиологическая диагностика.**

* Основным методом диагностики орнитоза является серологический метод (РСК, ИФА) для определения *специфических антител в сыворотке* крови больного.
* Диагностическое значение имеет увеличение, по крайней мере, в четыре раза титра антител в сыворотке крови, забранной с недельным интервалом, а также выявление в ней высоких титров IgM.
* Выявление возбудителя в мокроте, крови, а также в тканях посредством ***ПЦР*** характеризуется относительно высокой чувствительностью по сравнению с культуральными и серологическими методами.

***Chlamydia pneumoniae***

*C.pneumoniae* вызывает у человека респираторные заболевания. Путь передачи – воздушно-капельный. Обладая тропизмом к эпителию дыхательных путей, эти бактерии вызывают воспаление верхних отделов респираторного тракта и легких. Внедряясь в легочную ткань и размножаясь, хламидии вызывают гибель клеток и тяжелое воспаление легких. Инфекции, вызываемые *C.pneumoniae* проявляются в виде фарингита, синусита, отита и атипичной пневмонии. Хламидийные пневмонии клинически неотличимы от поражений легких, вызываемых *Mycоplasma* *pneumоniae*. Возбудителем пневмонии в молодом возрасте примерно в 5-20% предполагается *C.pneumoniae*.

**Микробиологическая диагностика инфекций, вызываемых *C.pneumoniae***

* Для выявления внутриклеточных включений в материале из зева, его обрабатывают циклогексимидом и культивируют культуре клеток McCoy при 35-37 ° C в течение 3 дней. Далееприпомощи РИФ с использованием моноклональных антител, меченых флюорохромом к обнаруживают внутриклеточные включения образованные *C.pneumoniae*.
* Наиболее чувствительным методом выявления специфических антител в сыворотке крови пациентов является ***ИФА***. Во время первичной инфекции IgM обнаруживается примерно через 3 недели, а IgG – через 6-8 недель.
* Хламидии также можно обнаружить в патологических материалах при помощи ***ПЦР.***

**Микоплазмы**

Микоплазмы (*mykes*-гриб, *plasma*-нечто имеющее форму) прокариоты, не имеющие клеточной стенки. Микоплазмы относятся к классу *Mоllicutes* (*mоllis*-мягкий, *cutis*-кожа; мягкокожие) порядка *Mycоplasmatales*. Патогенными для человека являются виды родов *Mycоplasma* и *Ureaplasma*.

**Характерные признаки микоплазм**

* Отсутствие клеточной стенки определяет полиморфизм микоплазм;
* Микоплазмы покрыты трехслойной цитоплазматической мембраной, содержащей стеролы (добавление к питательной среде холестерина ускоряет рост микоплазм);
* Микоплазмы устойчивы к бета-лактамным препаратам, подавляющим синтез клеточной стенки;
* Способны расти на питательных средах, при внесении в среду специфических иммунных сывороток рост микоплазм ингибируется;
* Обладают тропизмом к клеточной мембране млекопитающих

В связи с отсутствием клеточной стенки микоплазмы полиморфны. В экспоненциальной фазе роста они имеют сферическую или овальную форму. Грамотрицательны, хорошо окрашиваются по Романовскому-Гимзе , различают подвижные и неподвижные виды.

**Культуральные свойства.**

* Факультативные анаэробы, требовательны к условиям культивирования.
* Многие штаммы микоплазм растут на средах, содержащих 30% дрожжевого экстракта , а также экстракты говяжьего сердца и мозга, лошадиную сыворотку при температуре 36-370C в течение 48-96 часов.
* На жидких средах не вызывают помутнения. На плотных средах образуют мелкие круглые колонии размером 20-500 мкм , напоминающие «яичницу-глазунью». За счет перекиси водорода на кровяном агаре образуют зоны альфа- и бета-гемолиза.

 **Биохимические свойства микоплазм, патогенных для человека**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Вид**  | **Гидролиз мочевины** | **Гидролиз аргинина** | **Образование кислоты при ферментации глюкозы**  | **Образование кислоты при ферментации маннозы** |
| **M. pneumoniae** | **-** | **-** | **+** | **+** |
| **M. hominis**  | **-** | **+** | **-** | **-** |
| **M. genitalium** | **-** | **-** | **+** | **±** |
| **M. fermentans** | **-** | **+** | **+** | **-** |

**Факторы патогенности**

* ***Адгезины*** входят в состав поверхностных антигенов и обусловливают адгезию на клетках хозяина.
* ***Экзотоксины*** идентифицированы у непатогенных для человека микоплазм - *M.neurolyticum* и *M.gallisepticum*. Мишенями их действия являются мембраны астроцитов.
* ***Эндотоксины*** выделены у многих патогенных микоплазм***.***
* ***Гемолизины*** встречаются у некоторых видов (*M.pneumonie)*
* ***Ферменты агрессии -*** фосфолипаза A , нейраминидаза, протеазы

**Болезни, вызываемые микоплазмами**

* **Респираторный микоплазмоз** – возбудитель *Mycoplasma pneumoniae.*
* ***Фарингит*** вызванный М. pneumoniae, сопровождается лихорадкой, гиперемией глотки и лимфаденитом, его трудно отличить от фарингита вирусного и бактериального происхождения.
* ***Трахеобронхит*** – характеризуется вялым течением, сопровождается общей слабостью, лихорадкой, головной болью и кашлем.
* ***Пневмония.*** Около 20% всех пневмоний вызваны M. pneumoniae. В большинстве случаев атипичная, имеет легкое течение по сравнению с другими бактериальными пневмониями. Интерстициальные и очаговые, в редких случаях наблюдаются сегментарные, долевые или смешанные пневмонии.
* Возбудителями ***урогенитального микоплазмоза*** являются M. hominis, M. genitalium и M. fermentans. Заболевание передается половым путем и характеризуется деструктивными воспалительными процессами в мочеполовом тракте.
* ***Микоплазменный артрит***. Основная роль в патологии суставов принадлежит виду *M.fermentans,* который встречается примерно в 40% случаев артрита. Примерно у 45% больных ревматоидным артритом выделяется *M.fermentans* (часто в сочетании с *M. arthridis*). Инфекции *M.fermentans* сопровождаются образованием антител к иммуноглобулинам IgG (***ревматоидный фактор***).

**Микробиологическая диагностика**

***При респираторном микоплазмозе*** исследуются мазки, взятые тампоном из носоглотки, мокрота и бронхиальный лаваж. ***При урогенитальных инфекциях*** исследуется моча, соскоб с уретры, матки, содержимое цервикального канала, материалы, полученные при лапароскопии, амниоцентезе, а также органы мертворожденных и абортированных плодов. При простатите исследуется секрет простаты, а при мужском бесплодии – сперма. При заборе материала соблюдают правила исследования при хламидиозах

* Для выявления антигенов к микоплазмам в мазках, приготовленных из материалов используется прямой и непрямой ***РИФ***.
* В последнее время стало возможным идентифицирование микоплазм в исследуемых материалах с использованием ***ПЦР***.
* Можно получить и идентифицировать культуру патогена путем культивирования исследуемого материала в ***элективных питательных средах.***
* ***Серодиагностика*** респираторного микоплазмоза основана на четырехкратном и большем увеличении специфических антител в сыворотке пациента.
* Поскольку патогены обладают слабыми антигенными и иммуногенными свойствами, определение антител при урогенитальных инфекциях имеет относительно меньшее диагностическое значение.

 ***Род Ureaplasma***

* Род *Ureaplasma* включает виды *U.urealiticum* и *U.parvuм*. Первоначально они входили в группу Т-микоплазм, названных вследствие способности образовывать мелкие (англ. *tiny ,* - маленький ) колонии, не превышающие в диаметре 10-30 мкм .
* Уреаплазмы по морфологическим признакам не отличаются от других микоплазм. В зависимости от размера различают мелкие (120-150 нм), средние (500-750 нм) и крупные морфологические типы. Уреаплазмы быстро растут в оптимальных средах (рН 6,5-7) при 37 ° С. Их можно культивировать, добавляя в среду до 1,5% мочевины.
* Не расщепляют углеводы, каталазаотрицательны, синтезируют гипоксантин. Продуцируют фосфолипазы,протеазы и уреазы, избирательно действующие на молекулу IgA.

**Болезни, вызываемые уреаплазмами**

Заражение уреаплазмами отмечается у 25-80% людей, ведущих активную половую жизнь, имеющих трех и более половых партнеров. Заражение уреаплазмозом происходит половым путем. Более половины ***негонококкных уретритов*** у мужчин вызваны *U. urealiticum*. Заболевание часто проявляется как ***уреаплазменный простатит.*** У женщин инфекция обычно протекает бессимптомно, но грибковые, паразитарные и бактериальные инфекции обостряют заболевание и приводят к развитию ***вагинитов, сальпингитов и циститов***. У женщин уреаплазмы могут попадать в верхние отделы половых путей посредством сперматозоидов, что приводит к нарушению фертильной функции, а колонизация эндометрия может привести к абортам и послеродовому сепсису. При проникновении уреаплазм в мочевые пути развивается ***острый уретральный синдром***. Хроническое воспаление мочевыводящих путей и фермент уреаза способствуют развитию ***мочекаменной болезни***.

* Исследуют мочу, соскобы со слизистой уретры, сводов влагалища, цервикального канала, материал, полученный при лапароскопии, амниоцентезе, мазки-отпечатки тканей органов мертворожденных и абортированных плодов.
* При простатите исследуют секрет простаты, при мужском бесплодии – сперму.
* При заборе материала соблюдают те же правила исследования как и при хламидиозах.

Антигены уреаплазм в исследуемом материале выявляют с помощью прямого и непрямого метода РИФ.

* Выявить уреаплазмы в исследуемом материале возможно постановкой ПЦР
* Выделить чистую культуру возбудителя и идентифицировать ее можно путем ***культивирования*** исследуемого материала в соответствующих питательных средах.
* Уреаплазмы от прочих микоплазм дифференцируют по способности секретировать уреазу.