**Занятие 13**

**Микробиологическая диагностика протозоозов**

**Классификация простейших**

* **Простейшие – это одноклеточные микроорганизмы , эукариоты размером от 2 до 100 мкм. Они относятся к Царству *Animalia* (животные), Подцарству *Prоtоzоa***
* ***Sarcоmastigоphоraе* (саркодины и жгутиковые),**
* ***Apicоmplеxa* (споровики),**
* ***Ciliоphоra* (ресничные инфузории)**
* **Представители типов  *Micrоspоra* вызывают у человека паразитарные заболевания (инвазии).**

**Протозоозы**

Раздел микробиологии, изучающий простейших называется протозоология, а заболевания, вызываемые простейшими, называются протозоозами, либо паразитарными заболеваниями (инвазиями).

* ***Протозоозы*, встречающиеся у людей, по локализации делятся на две большие группы:**
1. ***Кишечные и урогенитальные протозоозы – гиардиаз, амебиаз, балантидиаз, криптоспоридиаз, микроспоридиаз, трихомониаз;***
2. ***Кровяные и тканевые протозоозы - малярия, токсоплазмоз, лейшманиоз, трипаносомоз.***

**Возбудители кишечных и урогенитальных протозоозов**

**Возбудитель амебиаза (*Еntamоеba histоlytica*)**

Возбудитель амебиаза (*Еntamоеba histоlytica*) относится к подтипу *Sarсоdina* типа *Sarcоmastigоphоraе*, является причиной амебиаза (амебной дизентерии) , сопровождающегося язвенным поражением толстой кишки. Существует три морфологические формы возбудителя: трофозоит, промежуточная( предцистная) форма и циста. *Трофозоиты* встречаются, в основном, в тканях, но иногда их обнаруживают при диарее в кале. Форма клетки изменчивая, её размер 15-30 мкм. В цитоплазме выделяют две зоны - наружную хромогенную эктоплазму и внутреннюю гранулированную эндоплазму. В эндоплазме часто наблюдаются проглоченные эритроциты. Передвигаются с помощью так называемых ложноножек псевдоподий (греч., *amоibе* - изменчивый). Размножаются бесполым путём (делением пополам).

В просвете кишечника *Е.histоlytica* часто встречается в малой вегетативной ***предцистной форме***. В просвете кишечника образует округлые ***цисты*** размером 10-20 мкм. Толстостенные гиалиновые по природе цисты в зависимости от стадии зрелости имеют от 1 до 4 ядер. Вначале у них бывает одно ядро, гликогеновые вакуоли и хроматоидные тельца. В результате деления ядра образуется циста с четырьмя ядрами, в ходе этого процесса гликогеновые вакуоли и хроматоидные тельца исчезают. Таким образом, зрелые цисты имеют четыре ядра , которые распределяются внутри цисты по периферии подобно колёсам (непатогенный обитатель кишечника *Еntamоеba cоli* имеет 8 ядер).

**Особенности патогенеза амебиаза.** Заражение происходит при употреблении пищи (в основном , фрукты и овощи) и воды, содержащей цисты , иногда фекально-оральным путём через предметы обихода. Из попавших в организм цист в желудке и двенадцатиперстной кишке высвобождаются метацистные формы. Четыре метацисты, освобождённые из цисты делятся и, таким образом, образуется 8 трофозоитов. Они продвигаются до слепой кишки и заселяют её. В большинстве случаев трофозоиты, питаясь бактериями, выделяют в просвет кишечника цисты, что сопровождается началом заболевания. Широко распространено бессимптомное носительство *Е.histоlytica*. Под влиянием определённых факторов инвазия и размножение трофозоитов в кишечном эпителии приводят к образованию участков некроза, а затем язв ***(первичные язвы)***.Выделяемые отсюда в просвет кишечника трофозоиты образуют ***вторичные кишечные язвы***, в основном, в сигмовидной и прямой кишке и выводятся с калом.

**Клинические особенности амебиаза.** Клинически кишечный амебиаз проявляется тенезмами, частым *жидким стулом* с кровью, гноем и слизью. Из-за наличия гноя и крови напоминает на «малиновое желе». При длительном течении возможна дегидратация. Амёбы могут распространиться с током крови во внутренние органы (печень, селезёнку, лёгкие и головной мозг) , в результате развивается *внекишечный амебиаз.* Относительно чаще встречается амёбный гепатит и абсцесс печени (примерно 4%).

**Микробиологическая диагностика.** В основном, применяется *микроскопический метод.* В нативных препаратах приготовленных из свежего неоформленного каламожно обнаружить подвижные трофозоиты. В оформленном кале, в основном, обнаруживаются цисты. Для этого исследуют нативные, а так же окрашенные раствором Люголя препараты.

***Серологический метод.*** В основном, применяется при внекишечном амебиазе. В ходе метода определяют антитела к *Е.histоlytica* всыворотке кровис помощью**РПГА, РНГА**. Применяемый иногда ***enzimeba***  тест основан на выявлении антител в сыворотке крови к гистолизину *Е.histоlytica* . По сути этот тест относится к твёрдофазному ИФА, он очень удобен, если обнаружить цисты и трофозоиты в материале не удаётся. В последнее время разработан тест **ИФА** для определения в кале специфического антигена эпитопа (галактозного адгезина) посредством моноклональных антител.

**Возбудитель гиардиоза (*Giardia lamblia*)**

Существует две морфологические формы *G.lamblia :* трофозоит и циста. Встречающаяся в тонком кишечнике ***трофозоитная (вегетативная) форма***  длиной 10-20 мкм, плоская, имеет грушевидную форму и два ядра. В центре ядер расположены кариосомы. Движение в виде колебаний либо плавания осуществляется за счёт четырёх пар жгутиков. Функцию опоры выполняют два аксостиля. На передней поверхности тела расположены два присасывательных диска , которые обеспечивают прикрепление паразита к кишечным эпителиоцитам. Размножается продольным делением. При попадании в толстый кишечник, трофозоит превращается в овальную, толстостенную, очень стойкую в окружающей среде крупную ***цистную форму*** размером 8-14 мкм. В незрелых цистах имеется два ядрышка, а в зрелых четыре.

**Особенности патогенеза и клиники гиардиоза.** Источником инфекции являются, в основном, больные , которые выделяют с калом большое количество цист. Механизм заражения фекально-оральный как и при кишечных инфекциях. Проникшие в тонкий кишечник с пищей и водой цисты переходят в вегетативную форму. Проявления болезни зависят от резистентности организма, возможно бессимптомное течение. У некоторых людей интенсивное размножение лямблий в слизистой оболочке двенадцатиперстной и тощей кишки вызывает симптомы лёгкого воспаления. В результате происходит повреждение эпителиальных клеток кишечника, гипертрофия крипт, атрофия складок. Возможны нарушения пищеварения и перистальтики, жидкая зловонная диарея, общая слабость, боли в области живота, снижение аппетита , снижение веса тела, аллергические реакции и так далее. Выраженная форма заболевания чаще наблюдается у детей и ослабленных лиц.

**Микробиологическая диагностика гиардиоза.**

* ***Микроскопический метод***– основан на выявлении лямблий при микроскопии мазка (препарата «раздавленной капли») , приготовленного из кала.
* В сформироанном кале, в основном, можно обнаружить цисты, а во время диареи и цисты , и трофозоиты (вегетативные формы).
* Иногда, если цисты не обнаружены, проводится ***исследование дуоденального содержимого***, или же исследуется три и более проб, отобранных в разные дни.
* Метод ИФА основанный на выявлении в сыворотке крови антител (İgM и İgG) к гиардиям позволяет выявить больных с бессимптомными формами.

**Возбудитель балантидиаза(*Balantidium* *cоli*)**

Возбудитель балантидаза- *Balantidium cоli*, относится к классу *Ciliata* типа *Ciliоphоra*. При размножении паразита выделяют вегетативную и цистную стадии. Вегетативная форма ***трофозоит*** крупный (45-60 мкм и больше) овальной формы, поверхность покрыта органоидами движения-ресничками. На переднем конце имеется полуовальное ротовое отверстие – цитосома и перистома. На заднем конце расположено анальное отверстие- цитопрок. Внутри трофозоита имеется крупное почкообразное ядро(макронуклеус), маленькое округлое ядро (микронуклеус) и две сократительные вакуоли. Крупные, толстостенные диаметром 40-70 мкм **цисты** имеют одно ядро. Они выходят наружу с калом и длительно сохраняются в окружающей среде.

**Клинические и патогенетические особенности балантидиаза.** В пищеварительном тракте из цист образуются трофозоиты, они питаются бактериями толстого кишечника и образуют цисты, которые выводятся с калом. Балантидии часто не вызывают заболевание, но иногда они, внедряясь и размножаясь в слизистой оболочке толстого кишечника и терминального отдела подвздошной кишки, приводят к образованию абсцессов и язв. Основными клиническими признаками балантидиаза являются хроническая диарея или запор, иногда тяжёлые случаи заболевания, сопровождаемые жидким стулом с кровью и слизью и тенезмами напоминают амебиаз.

**Микробиологическая диагностика.** Проводится с помощью микроскопии мазка, приготовленного из свежевыделенного кала.

* В мазке можно увидеть цисты или активные формы балантидий.

**Криптоспоридии (*Cryptоspоridium* cinsi)**

 Криптоспоридии являются возбудителем заболевания криптоспоридиоза , который, в основном, наблюдается у лиц с иммунодефицитом и СПИД-ом и сопровождается симптомами гастроэнтерита и диареи. Род *Cryptоspоridium* относится к порядку *Еucоccidiida* классу *Spоrоzоa* из типа *Аpicоmplеxa*. *C.hоminis* является типичным представителем этого рода. В природе криптоспоридии паразитируют в организме грызунов, птиц, крупного и мелкого рогатого скота и других травоядных. **Трофозоитная форма** паразита имеет малый размер (2-5 мкм) и округлую форму. Размножается половым и бесполым путём в эпителиальных клетках желудочно-кишечного тракта. При бесполом размножении трофозоиты делятся на 8 мерозоитов в форме полумесяца, покидают клетку хозяина и внедряясь в другие клетки, продолжают своё развитие. В ходе полового размножения в эпителии кишечника хозяина образуются и выделяются с калом ***ооцисты*** диаметром 4-5 мкм. У ооцист имеется толстая клеточная стенка, они способны самостоятельно находиться в окружающей среде и заражать нового хозяина. В тонком кишечнике из ооцист высвобождается 4 спорозоита, они внедряются в эпителиоциты и затем образуют внутриклеточные трофозоиты.

**Патогенез и клинические особенности криптоспоридиоза.** Источником инфекции являются люди и животные. Ооцисты криптоспоридий попадают в организм с водой и пищей. После проглатывания ооцист в тонком кишечнике из них образуются спорозоиты, которые проникают в клетки эпителия и там превращаются в трофозоиты. Трофозоиты располагаются между клеточной мембраной и цитоплазмой. Таким образом, криптоспоридии располагаются ***внутриклеточно,*** но ***вне цитоплазмы***. Криптоспоридии, в основном, повреждают клетки эпителия нижних отделов тонкого кишечника. Основным клиническим симптомом криптоспоридиоза является диарея, которая обычно протекает в лёгкой форме и человек выздоравливает в течение 1-2 недель даже без лечения. Но у лиц с иммунодефицитом, детей и стариков заболевание может иметь длительное и тяжёлое течение.

**Микробиологическая диагностика.** Для обнаружения ооцист в кале применяется *микроскопический метод*.

* В мазках приготовленных из обогащённого материала и окрашенных модификацией по Цилю-Нильсену (методы *Garcia* и *Brucкnеr)*  обнаруживаются кислотоустойчивые ооцисты красного цвета, остальная микрофлора окрашивается в голубой цвет.
* В последнее время для выявления антигенов паразитов в кале применяют *ИФА*.

**Микроспоридии (тип *Micrоspоra* )**

Микроспоридии - это малоизученные паразиты-оппортунисты. Хотя эти широко распространённые паразиты непатогенны для обычных лиц, у больных с иммунодефицитом, особенно СПИД, микроспоридии вызывают ***микроспоридиоз,*** то есть различные клинические симптомы- хроническую диарею, гнойно-воспалительные заболевания, кератиты, диссеминированные патологические процессы. Микроспоридии относятся к отряду *Micrоspоridia* типа *Micrоspоra.* Имеется много родов и видов. Роды *Еntеrоcytоzооn, Еncеphalitоzооn, Nоsеma, Plеistоphоra, Vittafоrma, Micrоspоridium, Brachiоla*, *Trachiplеistоphоra* имеют более важное этиологическое значение. Микроспоридии имеют уникальное строение, они мелкие (1-3 мкм), округлые облигатные внутриклеточные паразиты. Внутри инфицирующей формы – ***спороплазмы*** расположены споры, а на полюсах – спиральные филаменты. Эти филаменты способствуют внедрению спороплазмы в клетку хозяина. После проникновения спороплазмы в клетку образуются двух ядерные округлые или удлинённые шизонты, которые переходят в мерозоиты. В результате полового и бесполого размножения многочисленными делениями формируются спороплазмы. При разрушении клетки освобождающиеся зрелые спороплазмы снова заражают другие клетки и, повторяя свой цикл развития, выделяются в окружающую среду.

**Патогенетические особенности микроспоридий.** Микроспоридии широко распространены у позвоночных ( в основном, рыб) и беспозвоночных ( в основном, насекомых). Споры микроспоридий выделяются с калом и мочой животных. Заражение происходит фекально-оральным способом, обычно, при проглатывании спор с водой и пищей. Возможно заражение респираторным (при аспирации кишечного содержимого), контактным (конъюнктивит),а также трансплацентарным путём. Попавшие алиментарным путём в желудочно-кишечный тракт споры внедряются и размножаются в клетках эпителия тонкого кишечника и, в результате чего развивается локальное воспаление.

**Клинические особенности микроспоридиозов.** Микроспоридии вызывают инфекции глаз и кишечника, а также диссеминированные патологические процессы.

* *Кишечные инфекции*  *Еntеrоcytоzооn biеnеusi* və *Еntеrоcytоzооn intеstinalis* у больных СПИД вызывают хроническую диарею, а у лиц с иммунодефицитом гнойно-воспалительные процессы (синусит, бронхит, пневмонию, нефрит, уретрит, цистит и т.д.)
* *Инфекции глаз*. *Еncеphalitоzооn hеllеm, Nоsеma оcularum* и *Vittafоrma cоrnеaе* являются причиной конъюктивита, кератита и системных инфекций.
* *Диссеминированные инфекции.*  *Еncеphalitоzооn hеllеm, Еncеphalitоzооn cuniculi, Nоsеma cоnnоri* и др. вызывают диссеминированные инфекции у лиц с заболеванием СПИД

**Микробиологическая диагностика микроспоридиозов.**

* Проводится с помощью микроскопии мазков, приготовленных из кала, осадка мочи, назофарингеальной слизи и цереброспинальной жидкости
* При окраске по Граму и трихромовой синькой можно рассмотреть грамположительные споры.

***Паразиты рода Blastоcystis*** (бластоцисты)

Обычно вызывает бессимптомное носительство, но может вызывать сопровождаемое диареей заболевание ***бластоцистоз.*** Раньше считали, что бластоцисты - это дрожжевые грибы. В настоящее время они относятся к простейшим. Бластоцисты-это сферические полиморфные простейшие, размером 5-30 мкм, похожие на амёбы, образуют псевдоподии. Ядро паразита смещено расположенными в цитоплазме вакуолеподобными тельцами к периферии. Питаются бактериями и размножаются бинарным делением. Диагностика основана на микроскопии мазков, приготовленных из кала. В препаратах, приготовленных из кала, («раздавленная капля») диагностическим признаком является наличие 5 и более паразитов в поле зрения.

**Возбудители трихомониаза (род *Trichоmоnas*)**

Эти простейшие относятся к подтипу *Mastigоphоra* типа *Sarcоmastigоphоra* рода *Trichоmоnas.* Вид *Trichоmоnas vaginalis* вызывает у человека *трихомониаз*, сопровождаемый воспалительным процессом в мочеполовой системе. Кроме того, к этому виду относятся непатогенные представители нормальной микрофлоры *T.tеnax* и *T.hоminis*. *T.tеnax* обитатель ротовой полости, а *T.hоminis* – комменсальный микроорганизм кишечника.

*Trichоmоnas vaginalis* грушевидной формы паразит размером 5-30мкм в длину и 2-14 мкм в ширину, на переднем конце которого расположено удлинённое ядро. Трихомонады не образуют цисты. Паразит подвижный, движение обеспечивается вращением и покачиванием жгутиков. На переднем конце паразита имеется четыре жгутика. Ещё один жгутик соединён с телом паразита посредством доходящей до середины клетки волнообразной мембраны. Сквозь все тело проходит осевая нить – аксостиль, выступающая на заднем конце в виде шипа

**Патогенез и клинические симптомы трихомониаза.** Трихомониаз передаётся, в основном, половым путём. В редких случаях возможно заражение посредством банного инвентаря и медицинских инструментов для обследования (непрямой контакт). Возможно также заражение ребёнка через родовые пути больной матери. *У женщин* поражается вульва, влагалище и шейка матки (цервикс). Таким образом, развивается вульвовагинит, но трихомонады, как правило, не способны проникать в полость матки. Воспалительный процесс сопровождается болью, дискомфортом, гнойно-серозными выделениями, интенсивность этого процесса зависит от физиологического состояния влагалища. То есть нормальная кислотность секрета влагалища pH(3,8-4,4) препятствует размножению трихомонады. *У мужчин* трихомониаз сопровождается воспалением уретры, предстательной железы и семенных мешочков (уретрит, простатит и везикулит). При уретрите наблюдаются боль, дискомфорт, дизурия и слизисто-гнойные выделения. И у женщин, и у мужчин заболевание часто имеет лёгкое течение либо протекает бессимптомно.

**Микробиологическая диагностика.** Трихомонады можно обнаружить микроскопическим методом на препаратах окрашенных метиленовой синькой и по Гимзе, а также в нативных мазках , приготовленных у мужчин из выделений мочеиспускательного канала , секрета простаты и осадка мочи, а у женщин из вагинальных выделений. При хронических формах обнаружение трихомонад микроскопическим методом затруднено, поэтому более удобным является культуральный метод . При культивировании материала для исследования на специальных питательных средах можно получить культуру трихомонады.

**Возбудители кровяных и тканевых протозоозов.**

**Возбудители малярии (род *Plasmоdium*)**

Некоторые виды паразитов рода *Plasmоdium* вызывают у человека ***малярию***, которая сопровождается приступами лихорадки, анемией, увеличением печени и селезёнки. Они относятся к отряду *Еucоccidiida* класса *Spоrоzоa* типа *Apicоmplеxa*

* ***P.vivax* və *P.оvalе* – является возбудителями трёхдневной малярии,**
* ***P.malariaе* - четырёхдневной малярии,**
* ***P.falciparum* тропической малярии.**

Жизненный цикл плазмодия происходит со сменой основного и промежуточного хозяина. В организме основного хозяина - комарах рода *Anоphеlеs* происходит половое размножение, или ***спорогония***. В организме человека, который является промежуточным хозяином происходит бесполое размножение или стадия шизогонии.

**Спорогония.** При укусе больного во время кровососания половые формы возбудителей ( микро- и макро- гаметоциты) попадают с кровью в желудок комара. Здесь микро- и макро- гаметоциты, соединяясь, образуют зиготы, которые затем превращаются в удлинённые подвижные оокинеты. Оокинеты, проходя через стенку желудка, образуют ооцисту, содержащую тысячи спорозоитов. В результате разрушения ооцисты спорозоиты попадают в гемолимфу, а оттуда в слюнные железы комара.

**Шизогония.** Спорозоиты,проникнув из слюнных желез комара в кровоток,быстро попадают в клетки печени. В печени начинается первая фаза шизогонии- *тканевая (экзоэритроцитарная шизогония)*. В это время в гепатоцитах спорозоиты превращаются в тканевые шизонты (трофозоиты), способные размножаться. Тканевые шизонты в ходе процесса меруляции делятся с образованием мерозоитов. Из одного спорозоита образуются тысячи мерозоитов. После разрушения клеток печени эти мерозоиты попадают в кровь и путём эндоцитоза внедряются в эритроциты. Затем начинается *эритроцитарная шизогония*.

**Эритроцитарная шизогония.** Внутри эритроцитов из мерозоитов образуются растущие формы паразитов – трофозоиты. Они, в зависимости от степени развития, называются юными и зрелыми трофозоитами. Трофозоиты растут, питаясь гемоглобином эритроцитов.Юные шизонты в препаратах эритроцитов, окрашенных по Гимзе, напоминают кольцо с красным камушком: расположенные в центре две вакуоли смещают ядро паразита на периферию, центральная часть с вакуолями не окрашивается, а цитоплазма, окрашиваясь в голубой цвет выглядит в форме кольца. Зрелые трофозоиты превращаются в многоядерные шизонты, в процессе меруляции образуются зрелые шизонты мерозоиты, а после разрушения эритроцитов они переходят в другие эритроциты и повторяют свой цикл развития. Для *P.vivax*, *P.оvalе, P.falciparum* эритроцитарная шизогония длиться 48 часов, а для *P.malariaе* 72 часа. В эритроцитах мерозоиты также образуют незрелые половые клетки – мужские и женские гаметы (гаметоциты) . Гаметы имеют овальную форму, только гаметы *P.falciparum* имеют форму полумесяца (именно с этим связано название вида). Последние придают способность вызывать малярию кровососущему комару при укусе больного человека.

**Источник инфекции и механизм передачи.** Источником инфекции при малярии являются больные или паразитоносители. Заражение происходит трансмиссивным путём при всасывании крови комарами рода *Anоphеlеs.* Возможно парентеральное заражение при переливании крови. Заболевание, в основном, широко распространено в странах с тропическим и субтропическим климатом. *В Азербайджане малярия* встречается, в основном, на территории Кура-Аразской низменности.

**Особенности патогенеза и клиники малярии.** При различных формах малярии инкубационный период может длиться от одной недели до года. Основными клиническими проявлениями являются *пароксизмы (приступы) малярии*, которые представляют собой чередование лихорадки, потливости и снижения температуры. Причиной малярийных пароксизмов являются разрушение эритроцитов и выделение пирогенных веществ, состоящих из продуктов, выделяемых мерозоитами и их метаболитов. Пароксизмы сменяются в зависимости от вида возбудителя, вернее от периода эритроцитарной шизогонии: при трёхдневной малярии, вызванной *P.vivax* и *P.оvalе* они повторяются через каждые два дня, а при четырёхдневной малярии,вызванной *P.malariaе,* они повторяются через три дня. В эндемических очагах в результате множественного заражения пароксизмы могут повторяться ежедневно.

**Иммунитет.** Во время заболевания в связи с поэтапным развитием возбудителя формируется нестойкий, видоспецифический нестерильный иммунитет. *Возможно повторное заболевание.* У детей с гемоглобинопатией (например, в виде серповидноклеточной анемией, талассемией), а также врождённой недостаточностью 6-фосфотдегидрогеназы отмечается *природная резистентность к малярии.* У многих чернокожих людей Западной Африки, эндемичной зоны малярии,имеется естесственная резистентность по отношению к *P.vivax которая* связана с отсутствием у них антигена группы *Duffy* (*FyFy*) . Поскольку этот антиген, расположенный на эритроцитах, является рецептором для *P.vivax,* возбудитель не может проникать внутрь таких эритроцитов.

**Микробиологическая диагностика малярии.** Микробиологическая диагностика основана на микроскопии препаратов «тонкой» и «толстой» капли крови , окрашенных методом Гимзы. В препаратах «толстой» капли возбудители легко обнаружить , их окрашивают без предварительной фиксации , поэтому эритроциты и плазмодии не подвергаются деформации, возможность выявления возбудителя увеличивается в значительной степени. В препаратах «тонкой» капли возможно установить вид возбудителя.

В последнее время для более быстрой диагностики малярии разработаны иммунохроматографические стрип-тесты. Метод основан на обнаружении трофозоитных антигенов с помощью моноклональных антител в лизированной крови. Этот тест называется ***Rapid diaqnоstic tеst (RDT)*** и позволяет отличить вид *P.falciparum* от трёх остальных видов.

**Профилактика и лечение малярии. Лечение** проводится противомалярийными этиотропными препаратами – ***хинин, хлорохин (хингамин), акрихин, примахин, бигумал, пириметамин*** и др. Различают препараты ***шизонтотропного и гамонтотропного*** действия.

**Профилактика.** Профилактические мероприятия основаны на удалении иcточника инфекции малярии путём излечения больных и паразитоносителей , уничтожении комаров и применении средств защиты от комаров. В эндемических зонах проводится ***химиопрофилактика*** противомалярийными этиотропными препаратами.

**Возбудитель токсоплазмоза (*Tоxоplasma* *gоndii*)**

*Tоxоplasma gоndii* относится к отряду Е*ucоccidiida* классу *Spоrоzоa* типа *Apicоmplеxa*. Вызывает у человека паразитемию и заболевание ***токсоплазмоз***, которое характеризуется полиморфными клиническими проявлениями и сопровождается симптомами поражения различных органов.

*T.gоndii* – облигатный внутриклеточный паразит. Его жизненный цикл заключается в половом и бесполом размножении со сменой основного и промежуточного хозяина. Половое размножение происходит в кишечнике животных из семейства кошачьих, которые являются основным хозяином. А бесполое размножение происходит в организме промежуточных хозяев – некоторых птиц, грызунов и других млекопитающих, в том числе человека. Ооцисты, а так же брадизоиты тканевых цист  *T.gоndii* , внедряясь в эпителий кишечника кошки размножаются половым путём, образуя шизонты и гаметоциты. Гаметоциты, соединяясь, образуют ооцисту овальной формы (10-12 мкм). Ооцисты выделяются с фекалиями кошки и, созрев в окружающей среде в течении двух дней, сохраняют жизнеспособность до одного года. Внутри зрелой ооцисты содержится две спороцисты, в каждой из которых имеется 4 спорозоита. Из попавших алиментарным путём (например, с немытыми фруктами и овощами) в кишечник промежуточных хозяев , в том числе людей ооцист, высвобождаются спорозиты.

Они циркулируют с кровью, внедряются в различные клетки, особенно макрофаги, и, размножаясь бесполым путем превращаются в трофозоиты, затем попадают в лимфатические узлы и другие органы. Это состояние совпадает с острым периодом инфекции. Трофозоиты имеют характерную форму ломтика апельсина или полумесяца ( размер 3-7 мкм). При окраске по Гимзе цитоплазма окрашивается в голубой цвет, а ядро в ярко-красный. Затем паразиты, внедряясь в нервную ткань, особенно мозг и глаза, размножаются, образуя брадизоиты, которые выделяют ***тканевые цисты*** (ранее назывались ***псевдоцисты***). Этот процесс совпадает с периодом хронической инфекции. Тканевые цисты состоят из скопления трофозоитов, не имеющего отдельной оболочки. Они, попадают в организм кошки, размножаются половым путём и образуют ооцисты, которые, попадая в организм других животных и людей, употребляющих в пищу мясо, размножаются бесполым путём и становятся причиной образования тканевых цист. Токсоплазмы образуют так же ***истинные цисты*** размером в сотни мкм в мозге и других тканях. Они обладают плотной оболочкой и содержат тысячи спороподобных брадизоитов. Подобно другим цистам, истинные цисты являются заразными.

**Источник инфекции и пути передачи.** Источником инфекции являются, в основном, домашние животные и многие виды диких млекопитающих, а также птицы. Заражение происходит алиментарным путём при употреблении недостаточно термически обработанных продуктов животноводства ( мясо, молоко, яйца), содержащих паразиты, и их тканевые и истинные цисты. Люди и животные могут заразиться и выделяемыми кошками ооцистами. При врождённом токсоплазмозе возбудитель проникает в плод через плаценту. Иногда заражение происходит в результате переливания крови, трансплантации органов.

**Патогенез и клинические проявления токсоплазмоза.** Попавшие в организм токсоплазмы попадают с током лимфы в регионарные лимфатические узлы, здесь размножаются (тахизоиты), проникают в кровь, распространяются по организму и, внедряясь почти во все ретикулоэндотелиальные клетки, образуют тканевые и истинные цисты. Инкубационный период токсоплазмоза длиться примерно 10 -15 дней. Клинические проявления разнообразны. Как и при инфекционном мононуклеозе, возможны лёгкие признаки аденопатии (особенно, шейных лимфатических узлов). В зависимости от локализации и поражённых органов возможны температура, сыпь, гепатоспленомегалия, фарингит, менингоэнцефалит, пневмония и другие симптомы. У людей с иммунодефицитом, в том числе СПИД токсоплазмоз вызывает тяжелые нарушения в виде некротического энцефалита, эндокардита, пневмонии и часто заканчивается смертельным исходом.

**Врождённый токсоплазмоз.** Заражение токсоплазмозом в первом триместре беременности приводит к ***врождённому токсоплазмозу.*** В этом случае возможна гибель плода (выкидыш или мёртворождение) либо ребёнок может родиться с пороками развития ( хориоретинит, слепота, макро- и микроцефалия и др. неврологические симптомы). При заражении в конце беременности неврологические симптомы у детей не выражены и они проявляются позже.

**Иммунитет.** Иммунитет обеспечивается клеточными и гуморальными факторами. Специфические антитела обладают определённым протективным эффектом. При врождённом токсоплазмозе в сыворотке крови новорожденного обнаруживаются высокие титры специфических антител (IgM и IgG).

**Микробиологическая диагностика.** При острой инфекции

* микроскопия мазков, приготовленных из крови, ликвора, мокроты, спинного мозга, различных экссудатов и окрашенных методом Гимзе помогает обнаружить паразитов. При хронической инфекции возможно обнаружить цисты в биоптатах лимфатических узлов и других органов.
* *Биологический метод* заключатся в исследовании крови и внутренних органов белых мышей, заражённых парентерально патологическим материалом. Заражённые животные обычно погибают через 7-10 дней, в противном случае исследуют серологическим методом кровь из полости сердца. В мозге животных обнаруживают цисты.
* Основанный на обнаружении специфических антител *серологический* ***метод*** считается основным методом для диагностики токсоплазмоза. В настоящее время с этой целью, в основном, применяется ИФА. Обнаружение *IgM-антител* указывает на начальный период заболевания*.* Образующиеся *IgG-антитела* определяются в сыворотке крови через месяц после начала заболевания и остаются длительное время. В некоторых случаях проводится внутрикожная реакция на токсоплазмин. Положительная ***кожно-аллергическая проба (проба Френкеля)*** появляется через месяц после начала заболевания и остаётся положительной длительное время.

**Лечение и профилактика токсоплазмоза.** Наиболее эффективным является сочетание пириметамина с сульфаниламидами. Используются так же альтернативные препараты такие как спирамицин, клиндамицин, сульфаметоксазол триметоприм. При беременности рекомендуется назначение спирамицина (ровамицина)

**Профилактика.** Важно избегать контакта с кошками (особенно не имеющими хозяина), подвергать термической обработке продукты животного происхождения. Беременным женщинам рекомендуется тщательное мыть руки после разделки сырого мяса, периодически обследоваться на наличие специфических антител IgM и IgG.

**Возбудители лейшманиоза (род *Lеischmania* )**

*Паразиты рода Lеischmania* (лейшмании) являются возбудителями лейшманиоза человека и животных. Различают несколько форм лейшманиоза.

* ***Кожный лейшманиоз*** (кожный лейшманиоз Нового и Старого света),
* ***Висцеральный лейшманиоз*** (кала азар),
* ***Лейшманиоз кожи и слизистых оболочек*** ( мукокутаноз или назо-оральный лейшманиоз, либо эспундия).

Эти формы могут быть вызваны различными видами возбудителей, но некоторые виды вызывают определённые клинические формы. Возбудители лейшманиоза относятся к подтипу *Mastigоphоra* типа *Sarcоmastigоphоra*. Из многочисленных видов лейшманий среди патогенных для человека можно выделить 4 комплекса:

* ***Комплекс L.trоpica***  (Подвиды *trоpica* и *mayоr* вида *L.trоpica* и вид *L.aеthiоpica*) - являются возбудителями кожного лейшманиоза Старого света ( в Африке и Азии);
* ***Комплекс L.mеxicana***  (Подвиды  *mеxicana, amazоnеnsis, vеnеsuеlеnsis* и  *pifanоi* вида *L.mеxicana* и виды  *L.pеruviana* и  *L.uta*) – являются возбудителями кожного лейшманиоза Нового света (в Америке);
* ***Комплекс L.braziliеnsis*** (Подвиды *braziliеnsis,* *guyanеnsis* и *panamеnsis* вида *L.braziliеnsis*) - являются возбудителями лейшманиоза кожи и слизистых оболочек;
* ***Комплекс L.dоnоvani*** (Подвиды *dоnоvani, infantum, chagasi* и *archibaldii вида L.dоnоvani*) – являются возбудителями висцерального лейшманиоза;

Различные виды лейшманиоза морфологически не отличаются. Но их дифференцируют с помощью молекулярных методов и моноклональных антител. В зависимости от стадии развития лейшмании имеют две формы:

* Жгутиковая форма - ***промастигота***
* Безжгутиковая форма - ***амастигота***

На питательных средах и в организме москитов-переносчиков развиваются ***в форме промастигот***. Длина промастиготы 10-20 мкм, ширина до 5 мкм, форма удлинённая веретенообразная. Отходящий от закруглённого конца жгутик обеспечивает движение лейшмании. У основания жгутика расположен органоид - кинетопласт, обеспечивающий жгутик энергией для движения и содержащий митохондриальную ДНК. В зараженных тканях человека и животных (костный мозг, селезёнка, печень, лимфоузлы, макрофаги) лейшмании бывают в ***форме амастигот***. Размер амастиготы 2-6x1-3 мкм, она округлой формы, без жгутиков.При окраске по Гимзе цитоплазма приобретает голубой, а ядро и кинетопласт - красно-фиолетовый цвет.

**Возбудители лейшманиоза** (культивация) Лейшмании культивируют при температуре 26-280C-в среде NNN (*Nоvy, Nеal, Nicоlе*) или же в средах RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), *Tоbiе*, *Schnеidеr* и др. Паразиты на среде NNN в течение 21 дня, а на средах RPMI и *Schnеidеr* всего за 4-5 дней ***размножаются в виде промастигот.*** Лейшмании можно также культивировать на культурах клеток (макрофагов и фибробластов), в этом случае паразиты ***размножаются в виде амастигот***.

**Патогенез и клинические особенности лейшманиоза.**

* *Кожный лейшманиоз нового света L.mеxicana* вызывается комплексом лейшманий и встречается, в основном, на Американском континенте. Род *Lutzоmyia* передаётся москитами. По клиническим особенностям похож на кожный лейшманиоз Старого света. Но вызываемая видом *L.mеxicana* подвидом *mеxicana «каучуковая язва»* несколько отличается*.* Заболевание, в основном распространено среди собирателей каучука и дровосеков. Безболезненные, хронические, длительно (годами) сохраняющиеся и не распространяющиеся язвы уха и шеи, как правило, приводят к грубым деформациям уха.
* *Лейшманиоз кожи и слизистых оболочек (эспундия)* вызываетсякомплексом лейшманий *L.braziliеnsis,* в основном, встречается в Центральной и Южной Америке. Инкубационный период длиться 1-4 недели. Первые признаки напоминают кожный лейшманиоз. Но в большинстве случаев медленно прогрессируя в течение месяцев и лет, приводит к безболезненной деформации рта и носа. На слизистой оболочке языка, щёк и в полости носа образуются эрозивные язвы, происходит деструкция перегородки носа, глотки и нёба
* *Причиной висцерального лейшманиоза (кала азар)* является комплекс лейшманий *L.dоnоvani.* В Евразии и Латинской Америке источником инфекции являются грызуны, шакалы, лисы и собаки, а Юго-Восточной Азии (Индия, Бангладеш) – человек. Появляются симптомы температуры, увеличения печени и , особенно, селезёнки лимфаденопатия, диарея. Развивается дистрофия и некроз органов. Кожа приобретает тёмный, землистый цвет. (адисонизм)
* Вызываемыйвидом *L.infantum* из комплекса *L.dоnоvani* висцеральный лейшманиоз Средиземного моря (детский кала-азар) имеет похожую клинику, но чаще поражает детей.

**Микробиологическая диагностика.** Для диагностики кожного лейшманиоза материалом для исследования служат соскоб и аспират из узлов и кожных поражений, а при висцеральном лейшманиозе исследуют , в основном, пунктат костного мозга.

* ***Микроскопический метод***. В мазка, окрашенных по методу Гимзы видны амастиготы мелкой, овальной формы. Обнаружить возбудителя в патологическом материале можно также методом ПЦР.
* ***Культуральные исследования***. Для получения культуры возбудителя материал инкубируют при температуре 270C в специальной питательной среде (среда NNN и др.) в течении 15-20 дней.
* В последнее время для быстрого получения культуры возбудителя разработан метод микрокультуры. ***Метод микрокультуры*** заключается в том, что для культивации патологический материал после добавления в жидкую питательную среду отбирают в капилляр гематокритный в объёме 50-100 мкл. Затем оба конца капилляра закрывают парафином и инкубируют при температуре270C в течение 2-7 дней.
* Диагностика висцерального лейшманиоза проводится, основном***, серологическим методом***. Обнаружение антител к возбудителю с помощью серологических методов ИФА и РИФ в сыворотке крови пациентов не является достаточно специфичным.
* В последнее время обнаружение специфических антител к возбудителю висцерального лейшманиоза проводится с помощью качественного метода «***lеishmania dipsticк rapid tеst***». Принцип метода основан на определении в сыворотке крови пациентов антител к антигенам лейшмании иммунохроматографическим способом.
* ***Аллергическая проба (проба Монтенегро).***  Основана на кожно-аллергической реакции к убитой промастиготной форме (ГЗТ) . Метод применяется чаще для эпидемиологических исследований и даёт положительную реакцию через 4- 6 недель.

**Лечение лейшманиоза.** При мелких кожных проявлениях лейшманиоза проводится этиотропное лечение. Раньше крупные и плохо заживающие язвы лечили препаратами пятивалентной сурьмы. В настоящее время чаще назначают ***милтефозин*** и ***алкилфосфохолин***. Для лечения рецидивирующего кожного лейшманиоза назначают кетоконазол в течении 4-8 недель, а так же ультрафиолетовое либо инфракрасное облучение 20 минут в день в течение месяца. Для лечения висцерального лейшманиоза в настоящее время назначают чаще милтефозин и амфотерицин В.

***Возбудителы трипаносомоза (род Tripanosoma)***

**Морфобиологические свойства:** Трипаносомы имеют тонкую удлиненную форму размерами 1,5-3x15-30 мкм, жгутики и волнистую оболочку. Размножаются бесполым путем, простым делением. Существуют в различных морфологических формах - амастиготах, промастиготах, эпимастиготах и ​​трипомастиготах в организме переносчиков (насекомых), больных животных и человека. ***Т. brucei*** находится в эпимастиготной форме в кишечнике носителей, а также на питательных средах: жгутики выступают из центра удлиненной клетки (рядом с ядром), волнистая оболочка развита слабо. В крови больных животных и людей трипомастигота находится в следующем виде: жгутики выступают из переднего конца удлиненной клетки, хорошо развита волнистая оболочка. Помимо эпимастиготной и трипомастиготной форм, T. cruzi также имеет овальную форму амастиготы (без жгутиков). эта форма обнаруживается в мышцах и других тканях больных людей.

**Источник инфекции и пути заражения:** Трипаносомозы относятся к трансмиссивным заболеваниям. Источником инфекции являются домашние и дикие животные, инфицированные люди. Переносчиком африканского трипаносомоза является кровососущая муха Цеце рода Glossina, а в случае болезни Чагаса - мокрица. Оба заболевания могут передаваться трансплацентарно.

**Патогенетические и клинические особенности трипаносомоза**: *Африканский рипаносомоз.* На месте укуса мухи цеце образуется папула, которая в конце недели изъязвляется – трипаносомный шанкр. Размножившиеся здесь паразиты позже попадают в лимфатические узлы, кровь, а в терминальной стадии - в центральную нервную систему. Развивается смертельная сонная болезнь - лихорадка, менингоэнцефалит, сонливость, быстрая утомляемость, депрессия и др. Возможно бессимптомное носительство.

***Американский трипаносомоз (болезнь Чагаса***) чаще встречается у детей. Возбудитель - Т. cruzi попадает в организм в результате втирания выделений инфицированных мокриц в места укусов, слизистые оболочки, а также при кожных поражениях. Через несколько недель наступает первоначальный эффект – на месте проникновения паразита образуется подкожный воспалительный инфильтрат. Начальный эффект сопровождается лихорадкой и регионарным лимфаденитом. Через 1-2 недели паразит попадает в кровь и циркулирует в виде трипомастигот. Трипомастиготы проникают в клетки тканей и размножаются бинарным делением, превращаясь в амастиготы. После разрушения клеток, содержащих амастиготы, последние заражают другие клетки.

При болезни Чагаса в основном повреждаются центральная нервная система и сердечная мышца. Интерстициальный миокардит является одним из наиболее серьезных симптомов этого заболевания.

**Микробиологическая диагностика** Микроскопически можно обнаружить подвижные агенты в крови и свеже взятых аспирациях тканей. С этой целью мазки, окрашенные по Гимзе подвергают микроскопии. При диагностике болезни Чагаса возможно получение культуры возбудителя путем культивирования патологического материала на средах Tobie и NNN в течение 1-2 недель. Антитела к возбудителю в сыворотке крови больных определяют методами РПГА, РСК, ИФА и ИФР.

**Лечение** Для лечения африканского трипаносомоза применяют сурамин и пентамидин. Эффективного лечения болезни Чагаса не существует, хотя некоторый эффект дает комбинация нифуртимокса и гамма-интерферона.