

Занятие 12

Возбудители тканевых паразитарных инфекций (лейшманиоз, токсоплазмоз и пр.), их морфо-биологические свойства, патогенез, лабораторная диагностика, лечение и профилактика вызываемых ими заболеваний

Цель занятия: Ознакомить студентов с морфо-биологическими свойствами возбудителей кровяных и тканевых протозойных (лейшманиоз, токсоплазмоз) инфекций, дать информацию о патогенезе вызываемых ими заболеваний, методах диагностики, лечении и профилактике.

План занятия :

Тканевые протозозы :

Морфо-биологические свойства возбудителей лейшманиоза (*L.donovani*, *L.tropica*) патогенез вызываемых ими заболеваний, методы диагностики, лечение и профилактика

Морфо-биологические свойства возбудителей токсоплазмоза (*Toxoplasma gondii*), патогенез вызываемых ими заболеваний, методы диагностики, лечение и профилактика .

Возбудители лейшманиоза (*Leishmania*)

- Паразиты рода *Leishmania* вызывают у людей и животных **лейшманиоз**. Выделяют несколько клинических форм лейшманиозов.
- **Кожный лейшманиоз** (Лейшманиозы Нового и Старого Света),
- **Висцеральный лейшманиоз** (кала азар),
- **Лейшманиоз кожи и слизистых оболочек** (мукокутанозный, назо-оральный лейшманиоз, эспундия).
- Данные формы вызываются разными видами, однако некоторые виды могут вызывать несколько клинических форм.
- Возбудители лейшманиозов относятся к типу *Sarcomastigophorae* и подтипу *Mastigophora*.

Возбудители лейшманиоза (*Leishmania*)

- Виды, вызывающие патологию у человека, можно выделить в 4 комплекса.
- ***L.tropica*** (субвиды *tropica* и *mayor* вида *L.tropica*, вид *L.aethiopica*) – возбудители кожных лейшманиозов Старого Света (Африка и Азия);
- ***L.mexicana*** (Субвиды *mexicana*, *amazonensis*, *venesuelensis* и *pifanoi* вида *L.mexicana*, виды *L.peruviana* и *L.uta*) - возбудители кожных лейшманиозов Нового Света (Америка);
- ***L.braziliensis*** (Субвиды *braziliensis*, *guyanensis* и *panamensis* вида *L.braziliensis*) – лейшманиозы кожи слизистых оболочек ;
- ***L.donovani*** (субвиды *donovani*, *infantum*, *chagasi* и *archibaldii* вида *L.donovani*) – возбудители висцеральных лейшманиозов;

Leishmania– морфо-биологические особенности

- Различные виды лейшманий морфологически схожи. Однако, их можно дифференцировать при помощи молекулярного метода и моноклональных антител. В зависимости от стадии развития выделяют 2 формы лейшманий
- ***Промастиготы***, имеющие флагеллы
- ***амастиготы***- без флагелл

Leishmania– морфобиологические особенности:

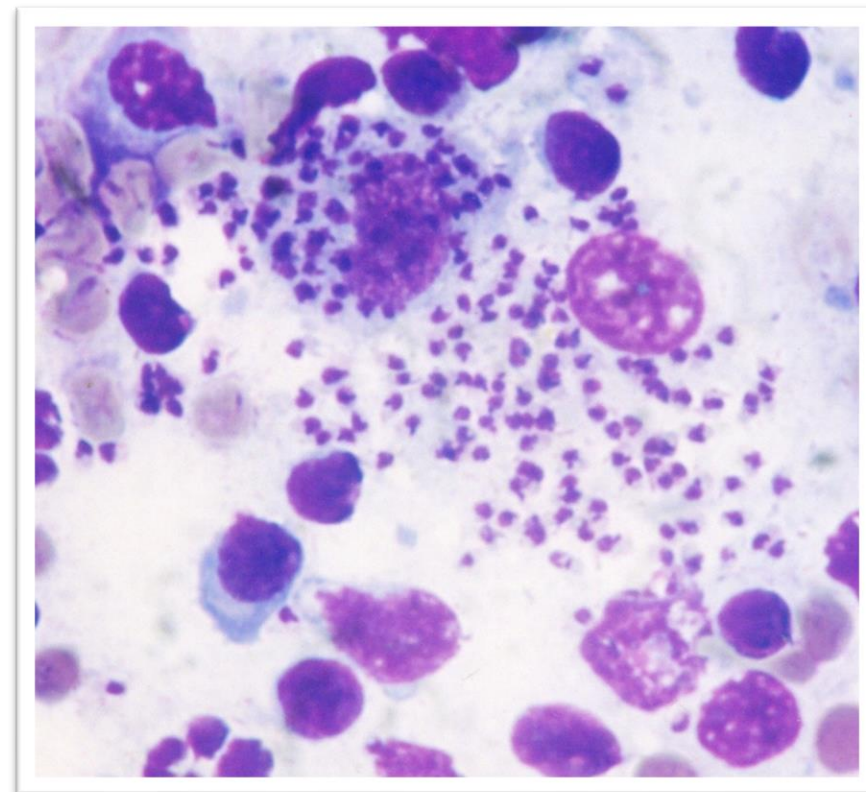
- В организме москитных мух и питательных средах живут **промастиготы**.
- **Промастиготы** –продолговатые, в длину 10-20 мкм, ширину - 5 мкм. Флагелла, расположенная на одном конце паразита, обеспечивает его движение. У основания флагеллы находится органоид – кинетопласт (митохондриального происхождения и имеющий ДНК), обеспечивающий ее энергией.



Promastigot forma

Leishmania– морфобиологические особенности:

- В тканях зараженных людей и животных – костном мозге, селезенке, печени, лимфатических узлах, макрофагах – живут ***амастиготы***.
- ***Амастиготы*** обладают размерами 2-6х1-3 мкм, сферической формы, не имеют флагелл. При окрашивании по Гимза цитоплазма окрашивается в синий цвет, ядро и кинетопласт – в красно-фиолетовый цвет.



Amastigot forma

Возбудители лейшманиозов (культивация)

- Лейшмании- культивируются при 26-28⁰С на среде NNN (*Novu, Neal, Nicole*), содержащей дефибринированную кроличью кровь, а также RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), *Tobie, Schneider* и др.
- В среде NNN размножается в виде **промастиготных** форм за 21 день, RPMI и *Schneider* - 4-5 дней.
- Лейшмании можно культивировать также в тканевых культурах (макрофагах и фибробластах), образуя **амастиготные** формы.

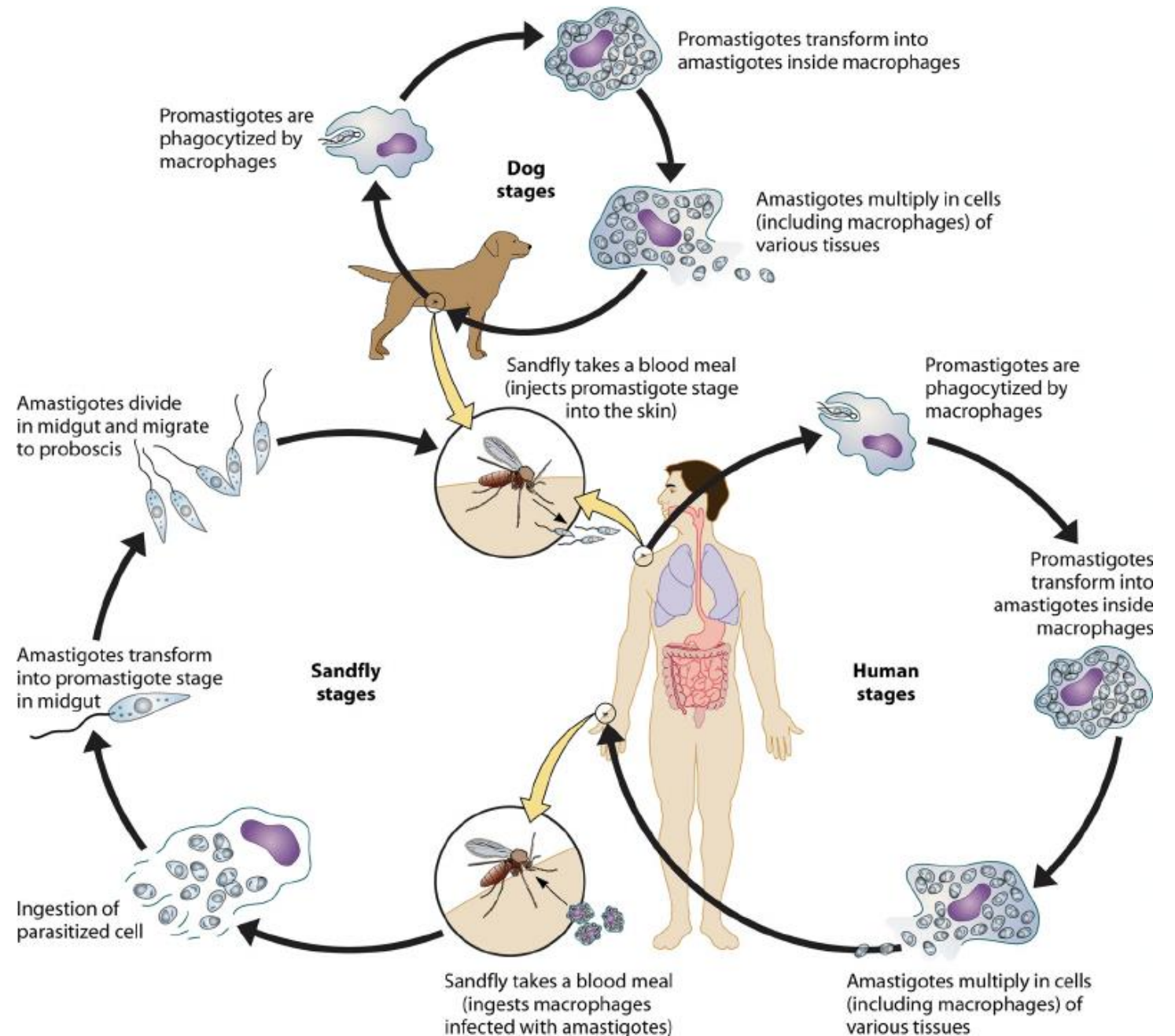


NNN mühiti

Источники инфекции и пути заражения:

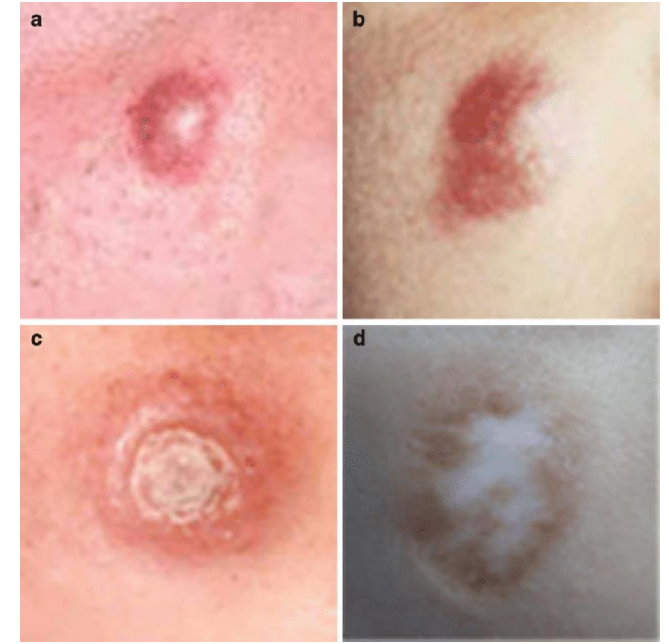
- Заражение происходит трансмиссивным путем при укусе москитных мух. Лейшманиозы Старого Света передаются москитами рода *Phlebotomus*, Нового Света - рода *Lutzomyia*.
- По эпидемиологическим особенностям разделяют **антропонозные** и **зоонозные**.
- При антропонозных лейшманиозах **источником инфекции** являются люди и различные животные, при зоонозных лейшманиозах – только животные.
- Эндемические очаги лейшманиоза в Азербайджане встречаются в северо-западных регионах страны.

Жизненный цикл лейшманиозов:



Патогенетические и клинические особенности лейшманиозов:

- ***Кожный лейшманиоз Старого Света.***
- При антропонозном кожном лейшманиозе (городского типа) на месте укуса москита образуются чешущиеся узелки, которые увеличиваются и через несколько месяцев превращаются в язвы.
- Зоонозный кожный лейшманиоз (деревенского типа) обладает сравнительно недолгим скрытым периодом и более острым течением. Узелки, возникшие на месте инокуляции, быстро превращаются в мокрые язвы.



Патогенетические и клинические особенности лейшманиозов:

- **Кожный лейшманиоз Нового Света**

- Вызываются лейшманиями комплекса *L.texicana*, который в основном встречается в Америке. Передается москитами рода *Lutzomyia*. По клиническим проявлениям схож с лейшманиозом Старого Света.
- Однако, лейшманиоз вызываемый субвидом *L.texicana*, называемый «каучуковой язвой», немного отличается. Заболевание чаще встречается в Мексике у собирателей каучука, лесорубов.
- В области шеи и ушей образуются не распространяющиеся, неболезненные, хронические язвы, которые вызывают со временем деформацию ушных раковин.



Патогенетические и клинические особенности лейшманиозов:

- **Лейшманиоз кожи и слизистых оболочек(эспундия)**
- Вызывается комплексом *L.braziliensis*, встречается в основном в Средней и Южной Америке.
- Скрытый период продолжается 1-4 недели. Первичные симптомы похожи на кожный лейшманиоз. В большинстве случаев продолжается месяцами, годами и вызывает деформацию рта и носа.
- В слизистой оболочке языка, щек, носа образуются эрозивные язвы, возможна деструкция носовой перегородки, неба, зева.



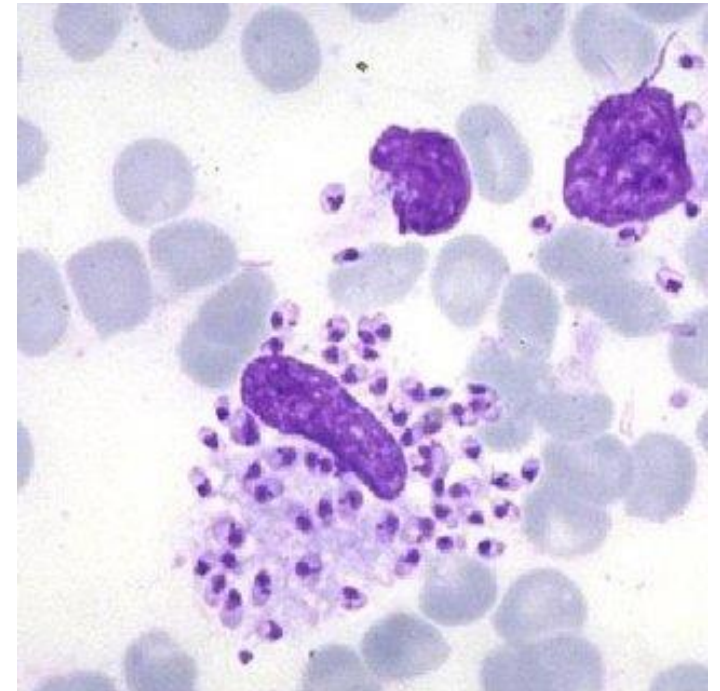
Патогенетические и клинические особенности лейшманиозов:

- **Висцеральный лейшманиоз(кала азар)**
- Вызывается комплексом *L.donovani*.
- В Евразии и Латинской Америке источниками инфекции являются грызуны, шакалы, лисы, собаки, в Юго-Восточной Азии (Индии и Бангладеше) – люди.
- Симптомы – лихорадка, увеличение печени, селезенки, лимфаденопатия, диарея. Развиваются дистрофия и некроз органов. Кожа приобретает почвенный оттенок (адисонизм).
- Вид *L.infantum* комплекса *L.donovani* вызывает средиземноморский висцеральный лейшманиоз (кала азар детей) .



Микробиологическая диагностика:

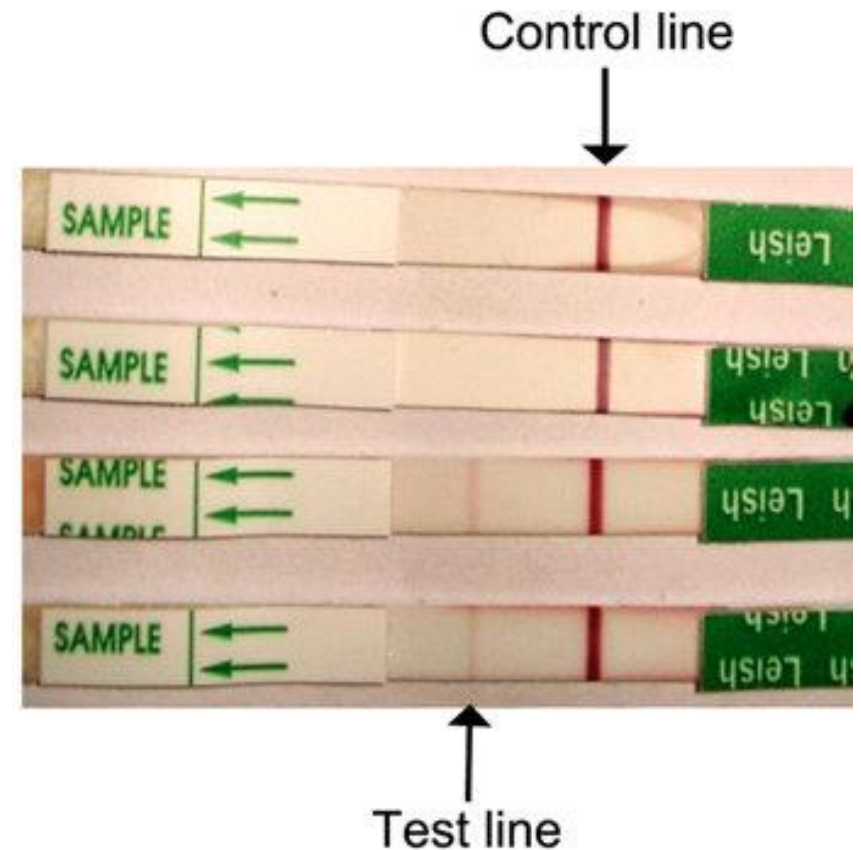
- При кожном лейшманиозе исследуются аспираты и соскобы из узелков и язв, при висцеральном – пунктат костного мозга.
- **Микроскопический метод.** Овальные, маленькие амастиготы выявляются в препаратах, окрашенных по методу Гимза.
- Возбудитель может быть обнаружен в патологическом материале и методом ПЦР.



- **Культуральный метод.** Для получения культуры паразита материалы инокулируются на соответствующие питательные среды (NNN и др.) инкубируются 15-30 дней при 27⁰С.
- В последнее время для быстрого получения культуры возбудителя используется метод микрокультур. При этом патологический материал инокулируется в жидкие питательные среды, после чего 50-100 мкл питательной среды вводится в стерильный гематокритный капилляр, который в свою очередь запечатывается с обеих сторон и инкубируется 2-7 при 27⁰С.



- **Серологический метод** используется в основном в диагностике **висцерального лейшманиоза**, используются РИФ, ИФА, при помощи которых в крови определяются антитела к паразиту. Специфичность данных методов недостаточно высока.
- Также используется «**leishmania dipstick rapid test**», который качественно определяет специфические антитела к паразиту. Метод основан на иммунохроматографическом определении антител.
- **Аллергический метод (проба Montenegro)**. РГЗТ к убитым промастиготам может быть выявлена при помощи кожно-аллергической реакции. Данная реакция становится положительной после 4-6 недели и используется чаще при эпидемиологических исследованиях.



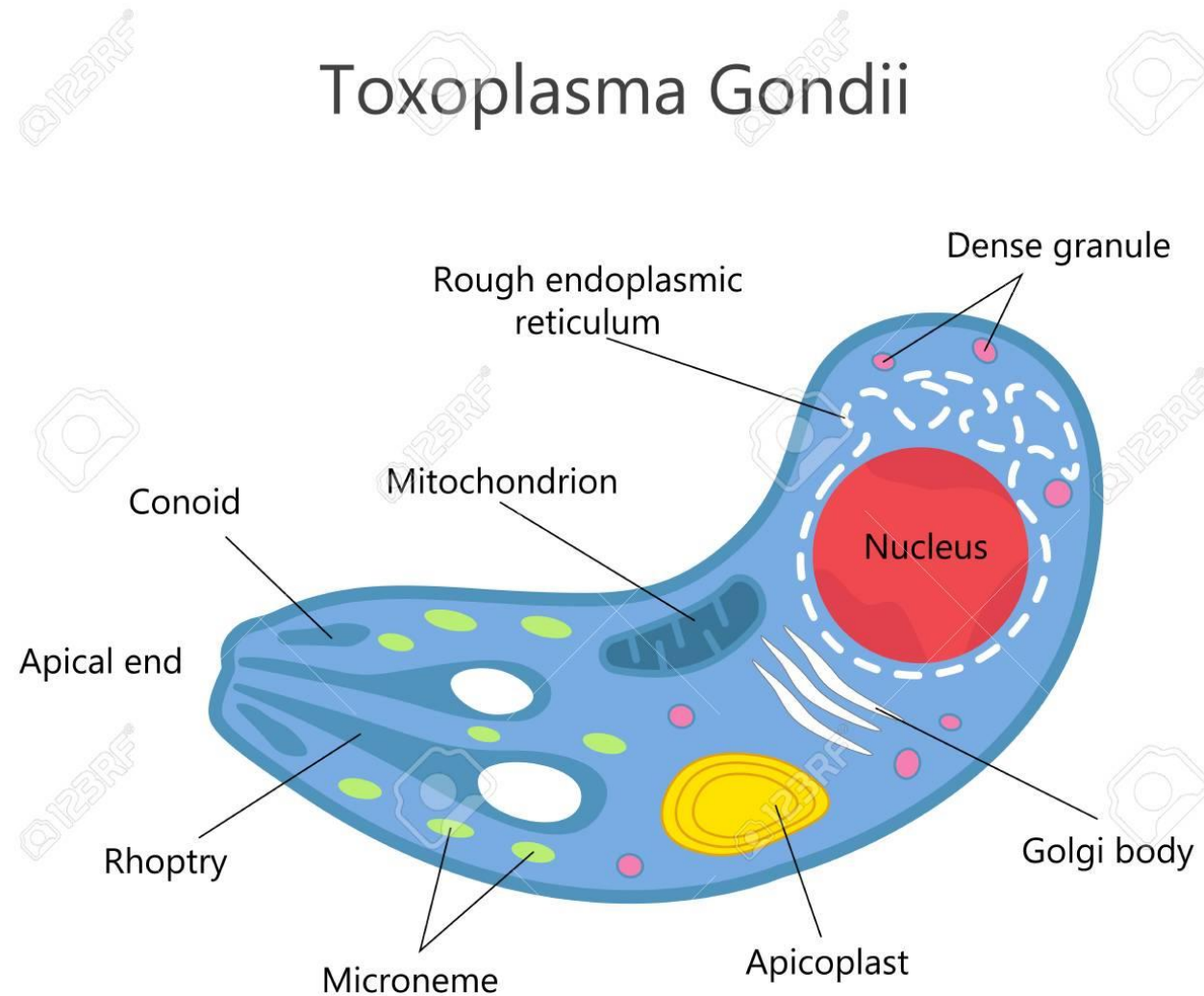
Лечение лейшманиозов:

- При малых поражениях кожного лейшманиоза этиотропного лечения не проводится.
- Большие и долго заживающие язвы лечились раньше пентавалентными препаратами сурьмы. В настоящее время используются ***милтефоцин, глюкантим*** и ***алкилфосфохолин***.
- При рецидивирующем кожном лейшманиозе эффективны кетоконазол (4-8 недель), экспозиция ультрафиолетовыми и инфракрасными лучами на 20 минут в день в течение 1 месяца.
- При висцеральном лейшманиозе используются ***милтефоцин*** и ***алкилфосфохолин***.

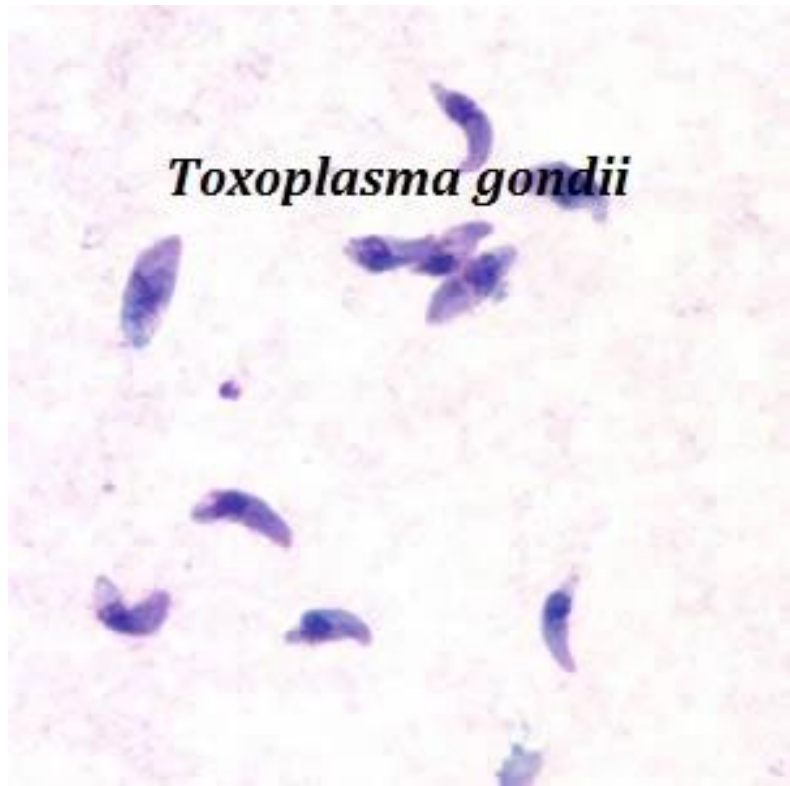
Возбудитель токсоплазмоза(*Toxoplasma gondii*)

- *Toxoplasma gondii* относится к типу **Apicomplexa** классу **Sporozoa**, отряду **Eucoccidiida**.
- Вызывает у людей **токсоплазмоз**, сопровождающийся полиморфными клиническими симптомами, паразитемией, повреждением внутренних органов.
- *T.gondii* – облигатный внутриклеточный паразит. Жизненный цикл проходит в организмах основного и промежуточного хозяинов посредством полового и бесполого размножения. Половое размножение происходит в кишечнике основного хозяина – кошачьих, бесполое – в организме промежуточных хозяинов – птиц, грызунов, млекопитающих(в том числе и людей).

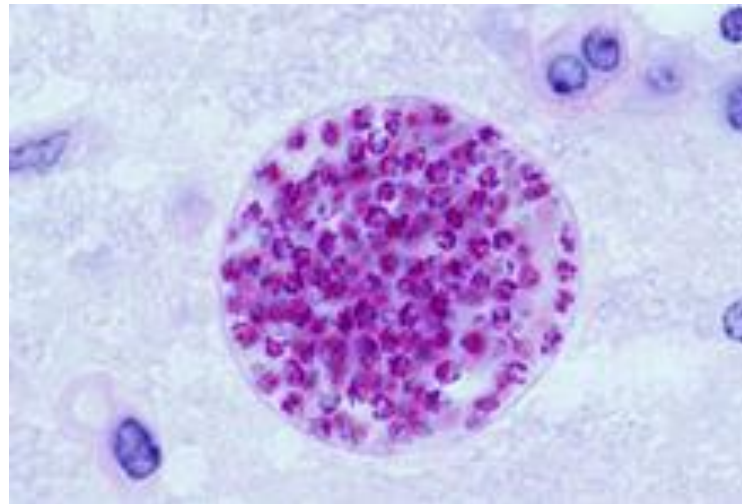
Toxoplasma gondii – морфо-биологические особенности:



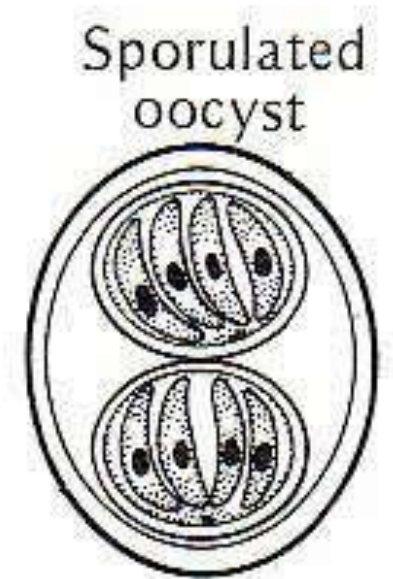
Toxoplasma gondii – морфо-биологические особенности:



Тахизоиты



Брадизоиты

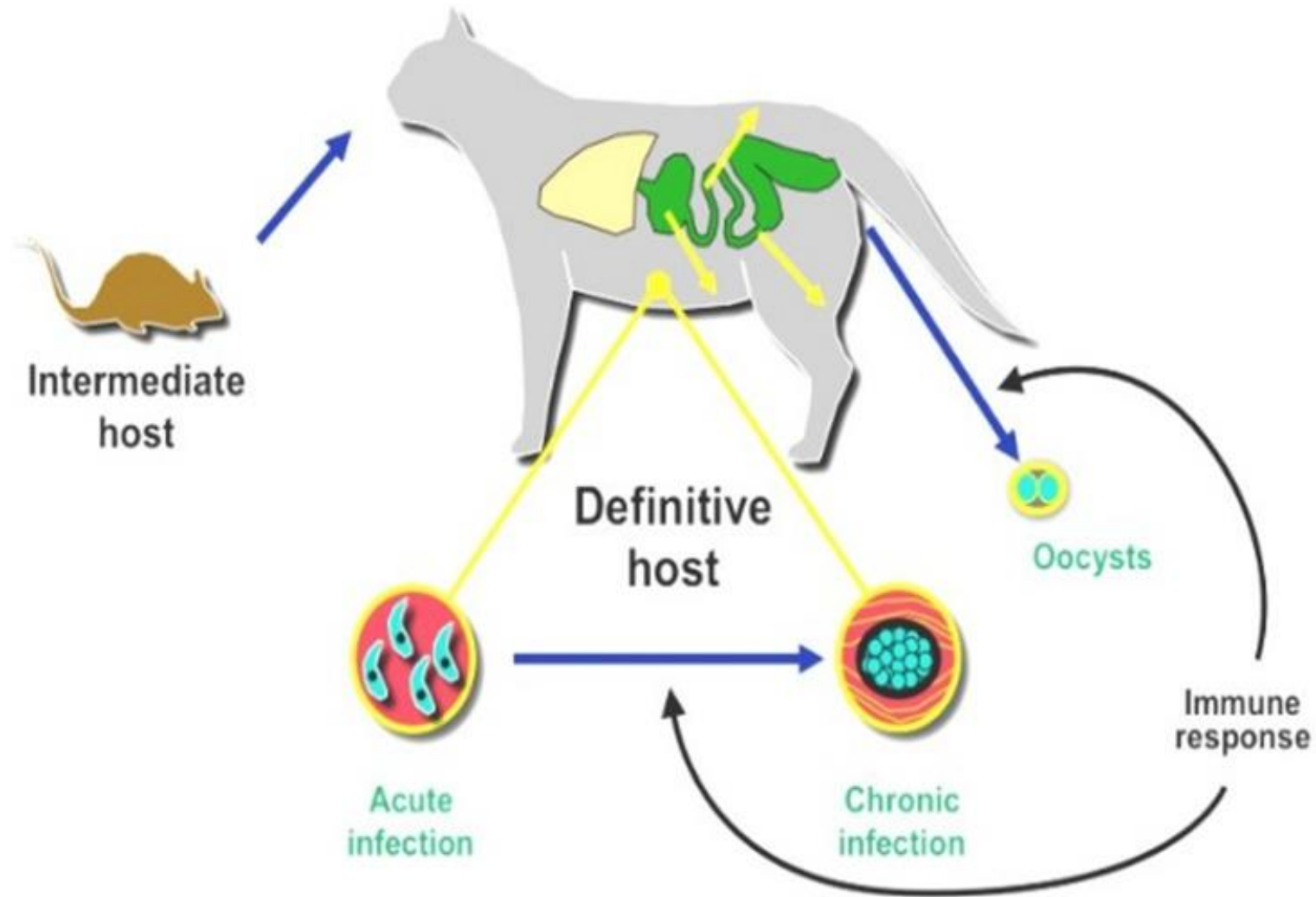


Ооцисты

Toxoplasma gondii (половое размножение)

- Ооцисты и бразидзоиты тканевых цист *T.gondii* проникают в эпителий кишечника кошачьих и размножаются половым путем с образованием шизонтов и гаметоцитов.
- Гаметоциты объединяются с образованием овальной формы ооцисты (10-12 мкм). Ооцисты высвобождаются из кишечника с фекалиями животного в окружающую среду, где в течение 2-х дней происходит их созревание. Ооцисты жизнеспособны в окружающей среде в течение одного года.
- Зрелая ооциста имеет 2 спороцисты с 4-мя спорозоитами.

Toxoplasma gondii – жизненный цикл



Toxoplasma gondii (бесполое размножение)

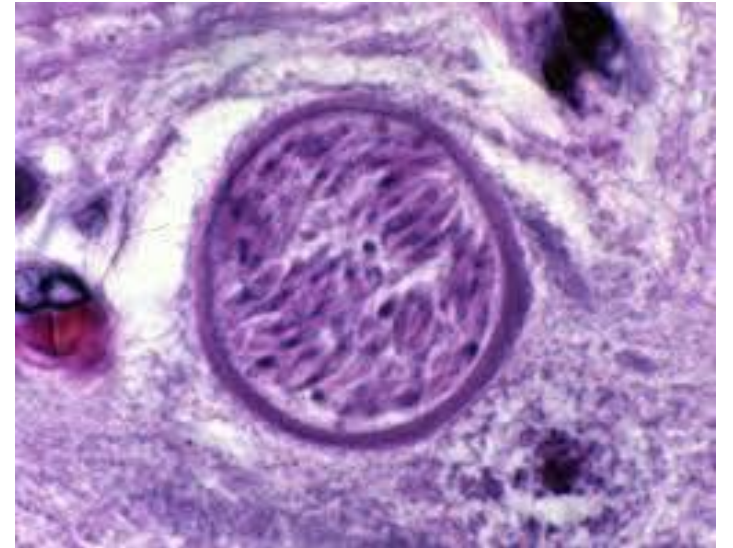
- Из ооцист, проникших в организм промежуточного хозяина алиментарным путем (немытые овощи, фрукты и т.д.), высвобождаются спорозоиты.
- Спорозоиты проникают в кровь и диссеминируют в различные органы и ткани, в особенности в лимфатические узелки, макрофаги, где происходит их бесполое размножение с образованием **трофозоитов (тахизоитов)**. Данный процесс соответствует острой фазе заболевания.
- Трофозоиты имеют характерную форму – в виде дольки апельсина, полумесяца (3х7 мкм). При окрашивании по Гимза цитоплазма принимает синий, ядро – красный цвет.

Toxoplasma gondii (бесполое размножение)

- Далее паразит проникает в нервную ткань, в особенности в головной мозг и ткани глаз, образуя бадизоиты и **тканевые цисты** (раньше назывались псевдоцистами). Данный процесс соответствует хронической фазе заболевания.
- Тканевые цисты состоят из скоплений трофozoитов без специальной оградительной стенки. Тканевые цисты заразны и при проникновении в организм кошачьих размножаются половым путем, образуя ооцисты, при попадании же в организм других плотоядных – размножаются бесполом путем, образуя тканевые цисты.

Toxoplasma gondii (бесполое размножение)

- Токсоплазмы также могут образовывать ***настоящие цисты*** – в тканях мозга и глаз.
- Данные цисты состоят из тысячи спорообразных брадизоитов и имеют специальную стенку.
настоящие цисты – заразные.

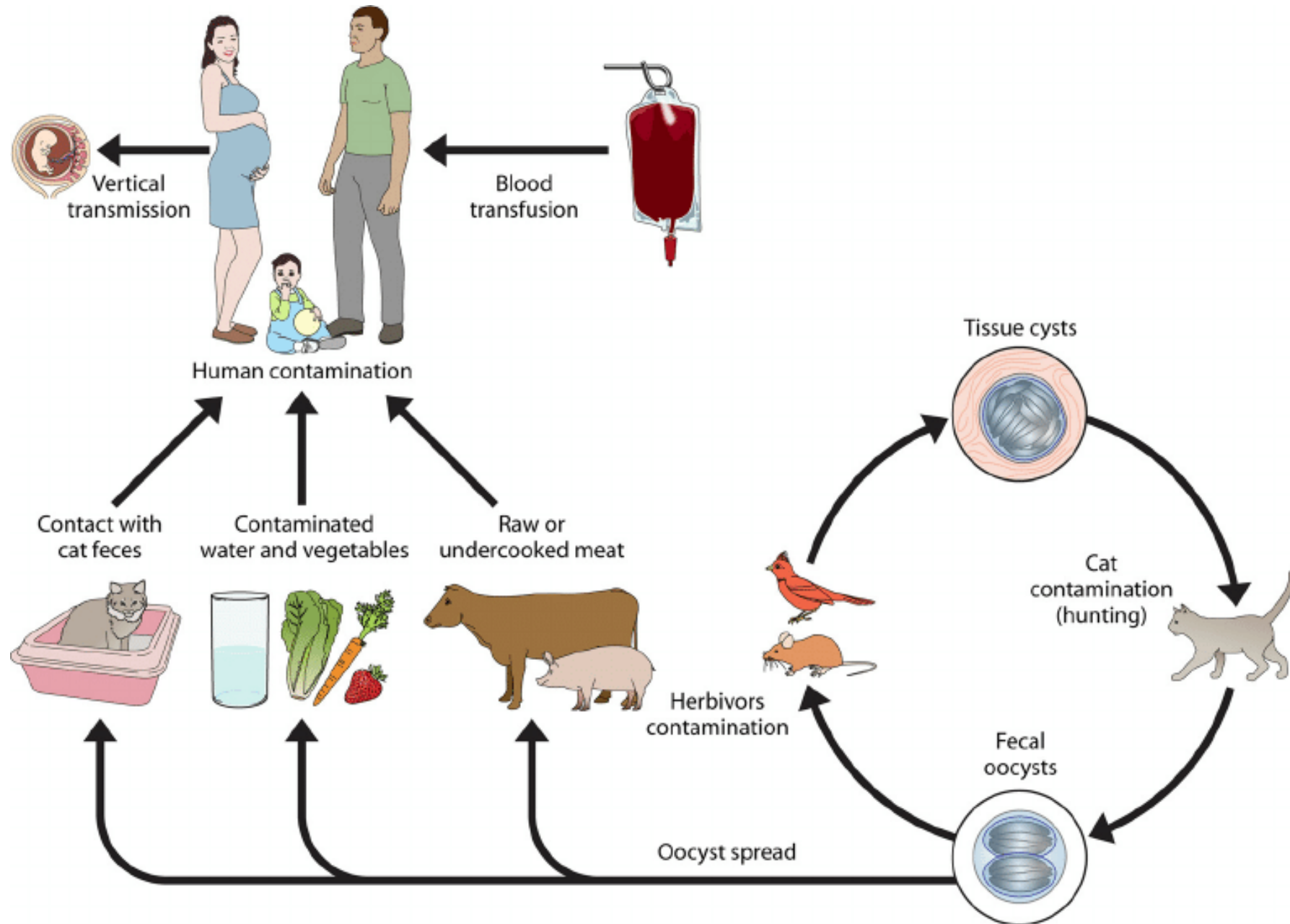


Источники инфекции и пути заражения:

- Источниками инфекции являются домашние животные и плотоядные млекопитающие, а также птицы.
- Заражение происходит при употреблении недоваренных животных продуктов (мяса, молока, яиц), содержащих тахизоиты и настоящие и тканевые цисты паразита. Люди и животные могут заразиться также ооцистами, выделяемыми кошками.
- При врожденном токсоплазмозе паразит проникает в организм плода через плаценту. Иногда заражение может происходить при переливании крови, трансплантации.



Источники инфекции и пути заражения:



Патогенез и клинические симптомы токсоплазмоза:

- Попавшие в организм токсоплазмы переносятся лимфой в регионарные лимфатические узлы, где они размножаются (тахизоиты), проникают в кровоток, распространяются по телу, проникают в ретикулоэндотелиальные клетки практически всех органов, образуя тканевые и настоящие цисты.
- Скрытый период при токсоплазмозе длится в среднем 10-15 дней. Клинические проявления очень разнообразны. Могут присутствовать симптомы легкой аденопатии (особенно в шейных лимфатических узлах), как при инфекционном мононуклеозе. В зависимости от локализации возбудителя и пораженного органа может проявляться как лихорадка, сыпь, гепатоспленомегалия, фарингит, менингоэнцефалит, пневмония и др.
- У лиц с ослабленным иммунитетом, включая СПИД, токсоплазмоз принимает тяжелое течение и часто сопровождается некротическим энцефалитом, эндокардитом и пневмонией, что часто приводит к летальному исходу.

Врожденный токсоплазмоз

- При заражении токсоплазмозом в 3-м триместре беременности развивается **врожденный токсоплазмоз**.
- При этом плод или погибает (аборт, мертворожденный ребенок), или же ребенок рождается с врожденными дефектами (хориоретинит, слепота, макро- и микроцефалия и т.д.).
- При заражении на более поздних этапах беременности неврологические симптомы у ребенка проявляются слабее и в более поздние периоды.

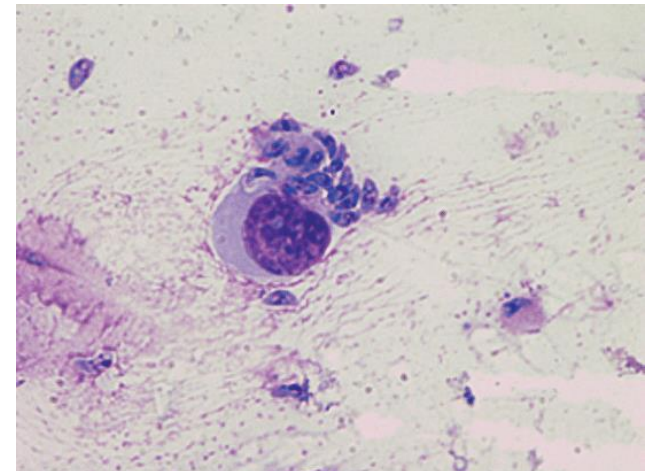


Иммунитет:

- **Иммунитет** опосредован клеточными и гуморальными факторами. Специфические антитела обладают определенным протективным эффектом.
- При **врожденном токсоплазмозе** в сыворотке крови новорожденного выявляются высокие титры специфических антител (**IgM и IgG**).

Микробиологическая диагностика:

- При острой инфекции **микроскопия** препаратов крови, спинномозговой жидкости, мокроты, костного мозга, окрашенных по методу Гимза, позволяет выявить паразит. При хронической инфекции цисты можно обнаружить в биоптатах, взятых из лимфатических узлов и внутренних органов.
- **Биологический метод** заключается во внутрибрюшинном заражении белых мышей и исследовании крови и внутренних органов зараженного животного. Зараженные животные обычно умирают через 7-10 дней, в противном случае через 6 недель проводится серологическое исследование крови, взятой из полости сердца. Также цисты паразита можно выявить в тканях мозга животного.



Микробиологическая диагностика:

- Основным методом диагностики токсоплазмоза является серологический метод, основанный на обнаружении специфических антител в сыворотке крови. Для этого в настоящее время используется ИФА.
- Определение титра *IgM* помогает диагностировать начальную фазу заболевания.
- Титр *IgG* повышается через месяц после начала заболевания и остается в крови длительное время.
- В некоторых случаях проводится подкожная проба с токсоплазмином. Проба на кожную аллергию (проба Френкеля) становится положительной начиная с 1-месяца после начала заболевания.

Лечение и профилактика токсоплазмоза:

- **Лечение.** Эффективна комбинация пириметамина и сульфаниламидов. Спирамицин, клиндамицин, сульфаметоксазол-триметоприм могут использоваться как альтернативное лечение. При беременности рекомендуется лечение спирамицином(ровамицином).
- **Профилактика.** Важно избегать контакта с кошками (особенно бездомными) и термически обрабатывать животные продукты. Беременным женщинам рекомендуется тщательно мыть руки после обработки сырого мяса и периодически проверяться на наличие в крови специфических антител IgM и IgG.



Naegleria

- Маленькие паразиты рода Naegleria вызывают инфекции центральной нервной системы людей и животных. Только один вид - *Naegleri fowleri* вызывает заболевание. Данный паразит обитает в почве, воде и т.д.

Naegleria fowleri –морфо-биологические особенности:



Cyst stage

Циста— диаметр 8-12 мкм, тонкостенные, сферической формы.



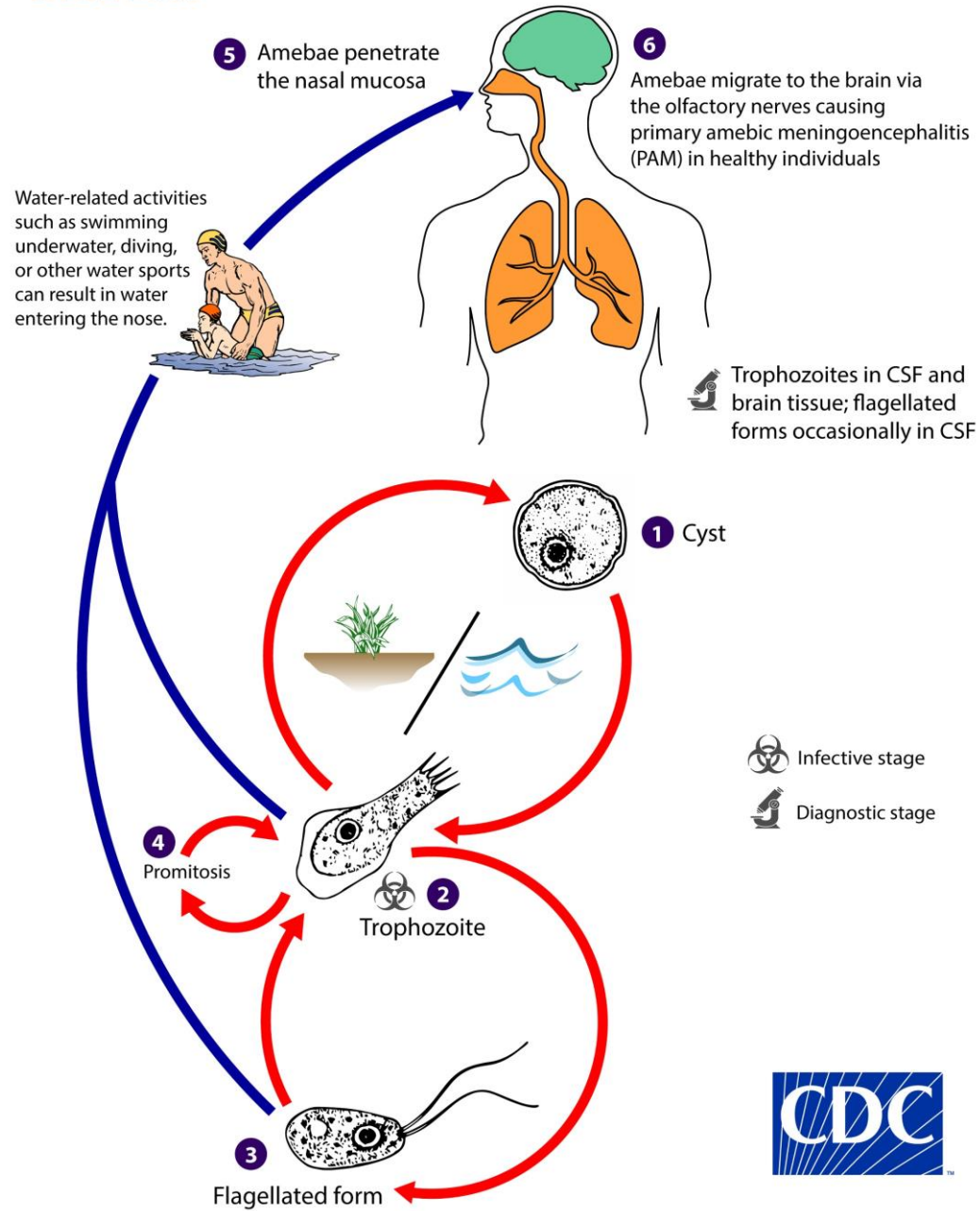
Trophozoite stage

Трофозоит- инфекционная форма диаметром 10-35 мкм, размножается.



Flagellated stage

Жгутиковая форма— цитостомой не обладает.



Naegleria fowleri – жизненный цикл

- Naegleria fowleri обладает 3-мя стадиями жизненного цикла: цистой, трофозоитом и жгутиковой формами. Трофозоиты размножаются в промитозной форме (ядерная мембрана остается цельной). N.fowleri обитает в питьевой воде, почве, геотермальных водах, в слабохлорированных бассейнах. Трофозоиты могут превращаться в жгутиковые формы, которые не питаются и могут обратно превращаться в трофозоиты. При нырянии трофозоиты могут проникать в носовую полость, заражать обонятельный нерв и как следствие могут вызвать первичный амёбный менингоэнцефалит животных и людей. Трофозоиты Naegleria fowleri обнаруживаются в ликворе, тканях, иногда в ликворе могут встречаться и жгутиковые формы. Цисты в тканях мозга не обнаруживаются.

Микробиологическая диагностика:

- Диагноз инфекций *Naegleria fowleri* проводится микроскопией ликвора. Активные трофозоиты можно обнаружить в препарате «раздавленная капля», при окрашивании по Гимза можно обнаружить типичной формы трофозоиты .
- **Паразитологический метод**— культуральный метод
- **Полимеразная цепная реакция**- используется для определения *N.fowleri* в цереброспинальной жидкости (ликворе) и тканях мозга.