

**ЗПШШ 2**

**Кафедра микробиологии  
и вирусологии**

# Сифилис

Сифилис – антропонозное венерическое заболевание с длительным рецидивирующим течением, в ходе которого происходит смена нескольких периодов с разными клиническими проявлениями.

При сифилисе могут поражаться практически все системы и органы.

# Таксономическое положение возбудителя сифилиса

Семейство Spirochaetaceae

Род *Treponema*

Вид *Treponema pallidum*

*T.endemicum* – возбудитель беджель  
возбудитель пинты

*T.carateum* –

*T.pertenue* – возбудитель фрамбезии

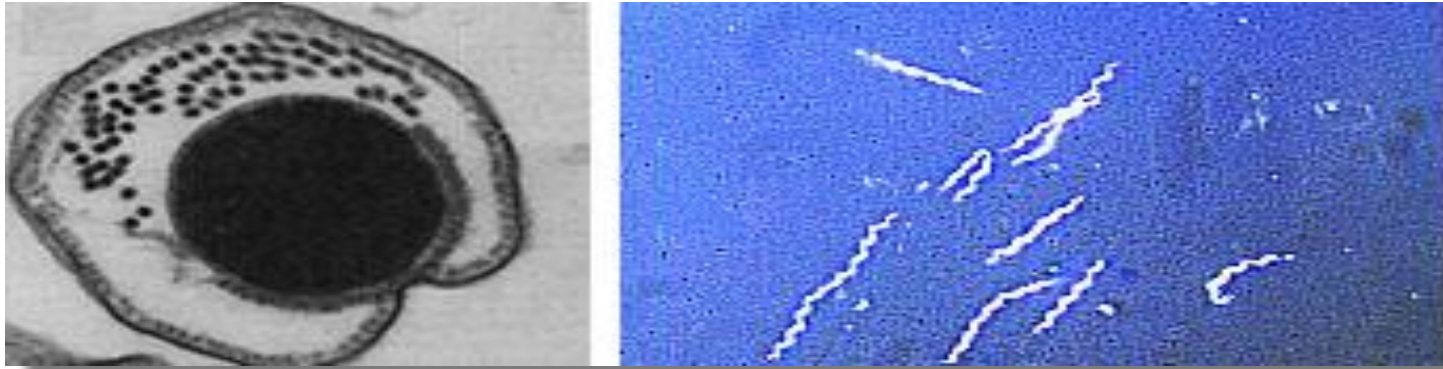
# Фриц Рихард Шаудин (1871-1906)



В 1905 г. немецкие учёные Ф. Шаудин и Э. Гоффман впервые обнаружили бледную трепонему -

*Treponema pallidum*

# Морфология T.pallidum



Трепонемы (*лат.* сгибающаяся, вращающаяся нить) – тонкие спиралевидные **прокариоты**,

Размеры клетки:

длина от 6-14 мкм, толщина 0,25-0,3 мкм,

амплитуда спирали 0,5x1,0 мкм.,

среднее количество равномерных завитков 8-12.

Снаружи трепонема иногда покрыта слизистым чехлом из кислых полисахаридов - псевдокапсулой,

спор не образует.

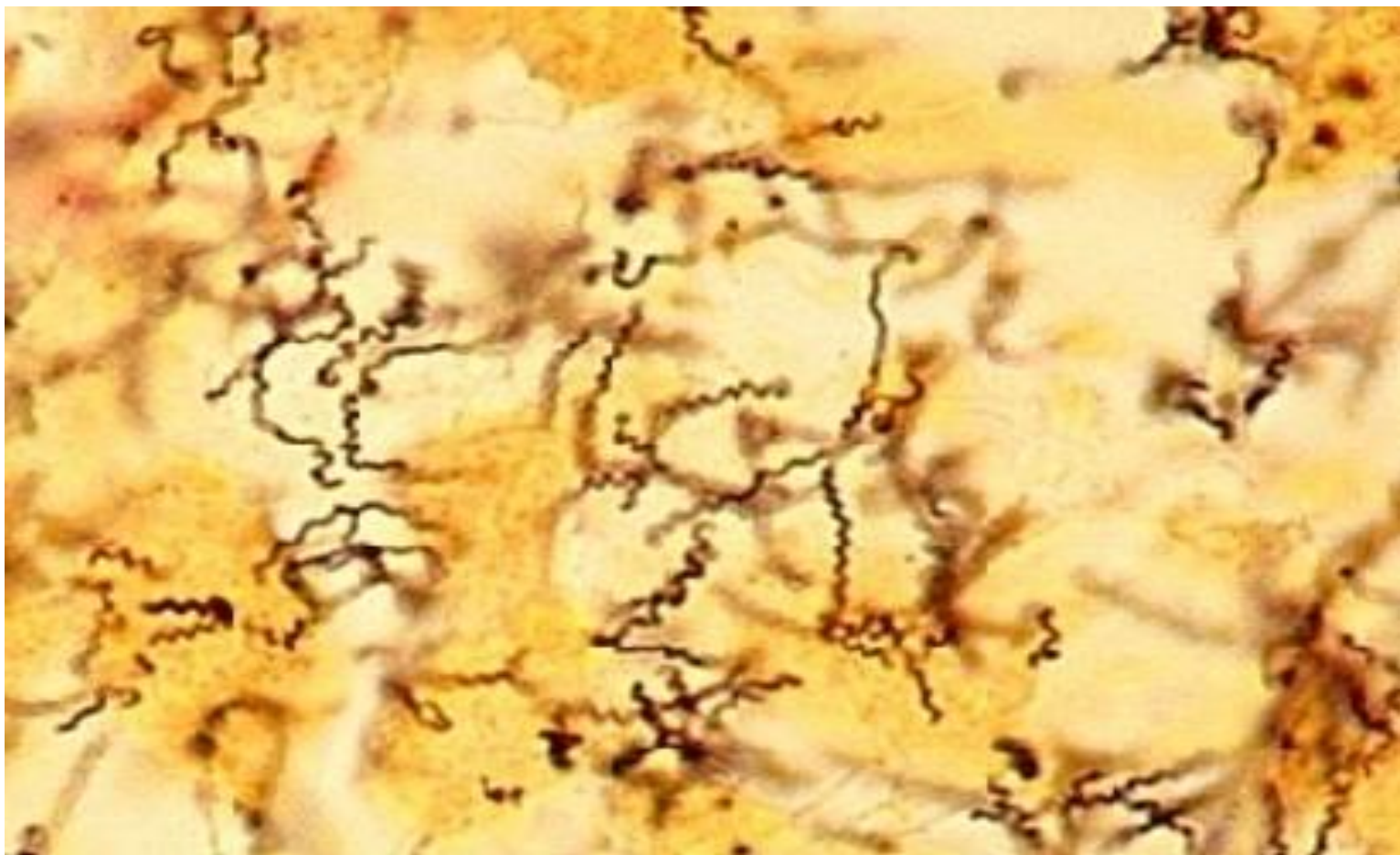
# Тинкториальные свойства

*T. pallidum* **плохо окрашивается.**

Для окрашивания трепонем применяют метод импрегнации серебром по Морозову или метод Романовского-Гимзы.

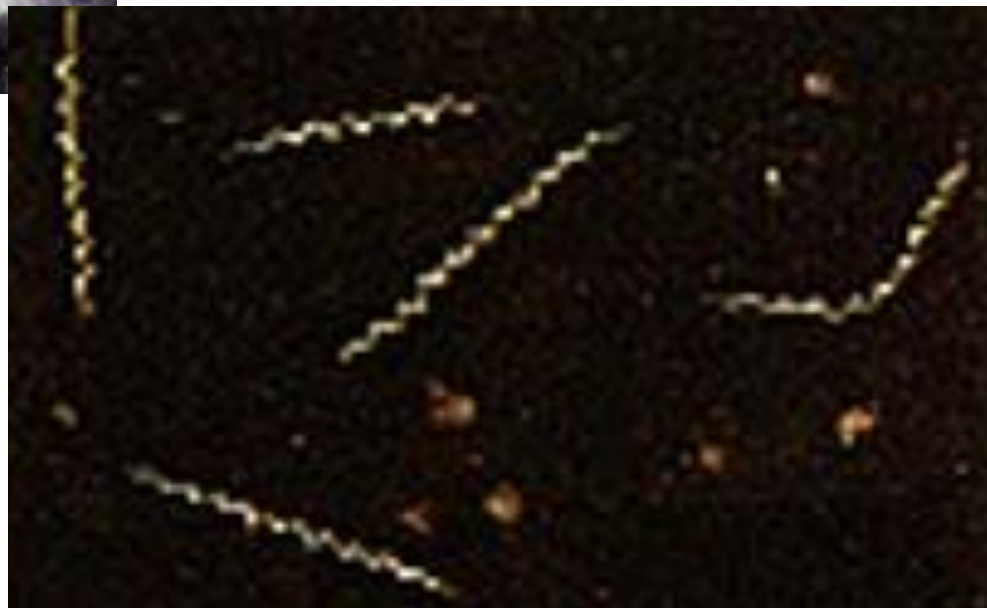
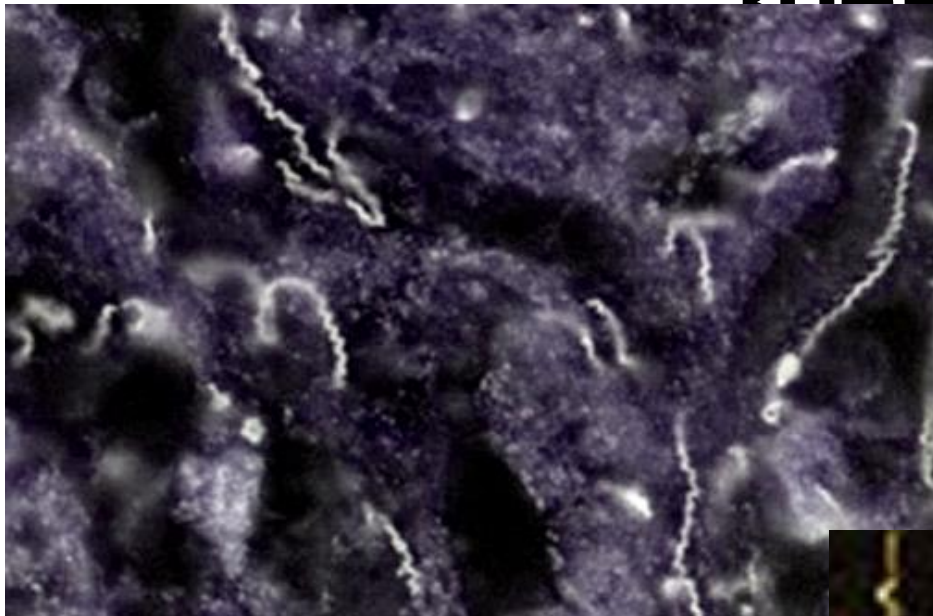
Можно изучать нативные препараты в темном поле зрения.

# Метод импрегнации серебром по Морозову



# Трепонемы в темном поле

зрения





# Трепоне́мы в электронном микроскопе



# Культивирование *T.pallidum*

Бледная трепонема не растет на искусственных питательных средах, ее культивируют, заражая кроликов-самцов в ткань яичка, где развивается воспалительный процесс (орхит) и накапливается большое количество вирулентных «тканевых» трепонем.



# Периоды заболевания сифилисом

Классическое течение сифилиса в виде первичного, вторичного и третичного периодов наблюдается у больных при отсутствии лечения.

В настоящее время сифилис излечивается в первичном или вторичном периоде.

# Периоды заболевания сифилисом

Первичный период – твердый шанкр образуется в области входных ворот инфекции – небольшая эрозия или язва на плотном основании (безболезненный воспалительный процесс).

В тканевом отделяемом содержится много трепонем. Через 3-4 недели в сыворотке больного появляются антитела.



# Периоды заболевания сифилисом

Вторичный сифилис продолжается 2-3 года.

В результате генерализации инфекции в процесс вовлекаются кровеносные сосуды, лимфатическая система, внутренние органы, костная система, ЦНС.

Течение рецидивирующее, приступообразное.

На коже и слизистых оболочках появляются различные высыпания, содержащие множество трепонем. Высыпания продолжаются 1,5-2 месяца, затем исчезают и вновь появляются.

Серологические реакции на Ат положительные в течение всего периода.

# Периоды заболевания сифилисом

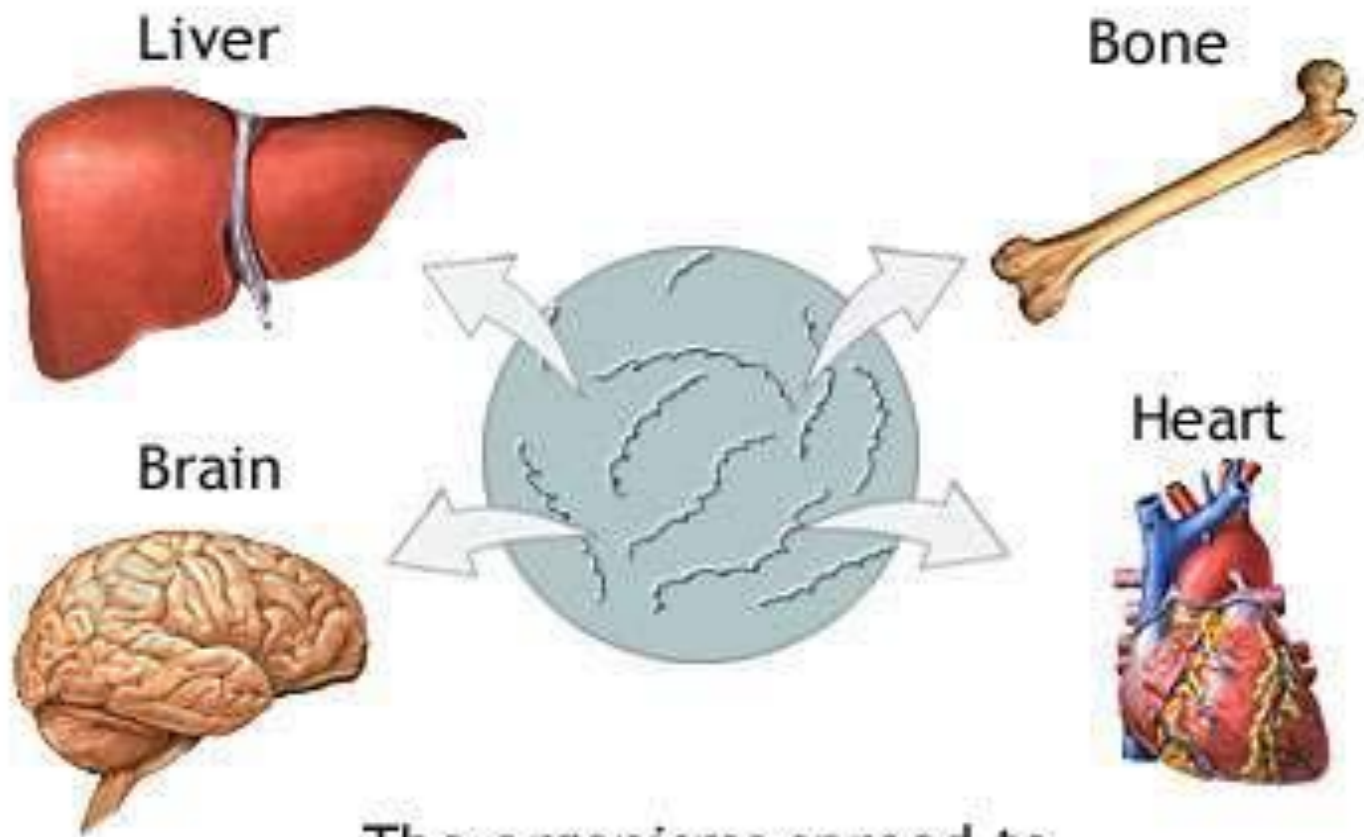
Латентный период – бессимптомный период, может длиться несколько лет

# Периоды заболевания сифилисом

Третичный период – наиболее тяжелый, имеет рецидивирующее течение, продолжается многие годы. Трепонемы не всегда обнаруживаются. Развивается ГЗТ.

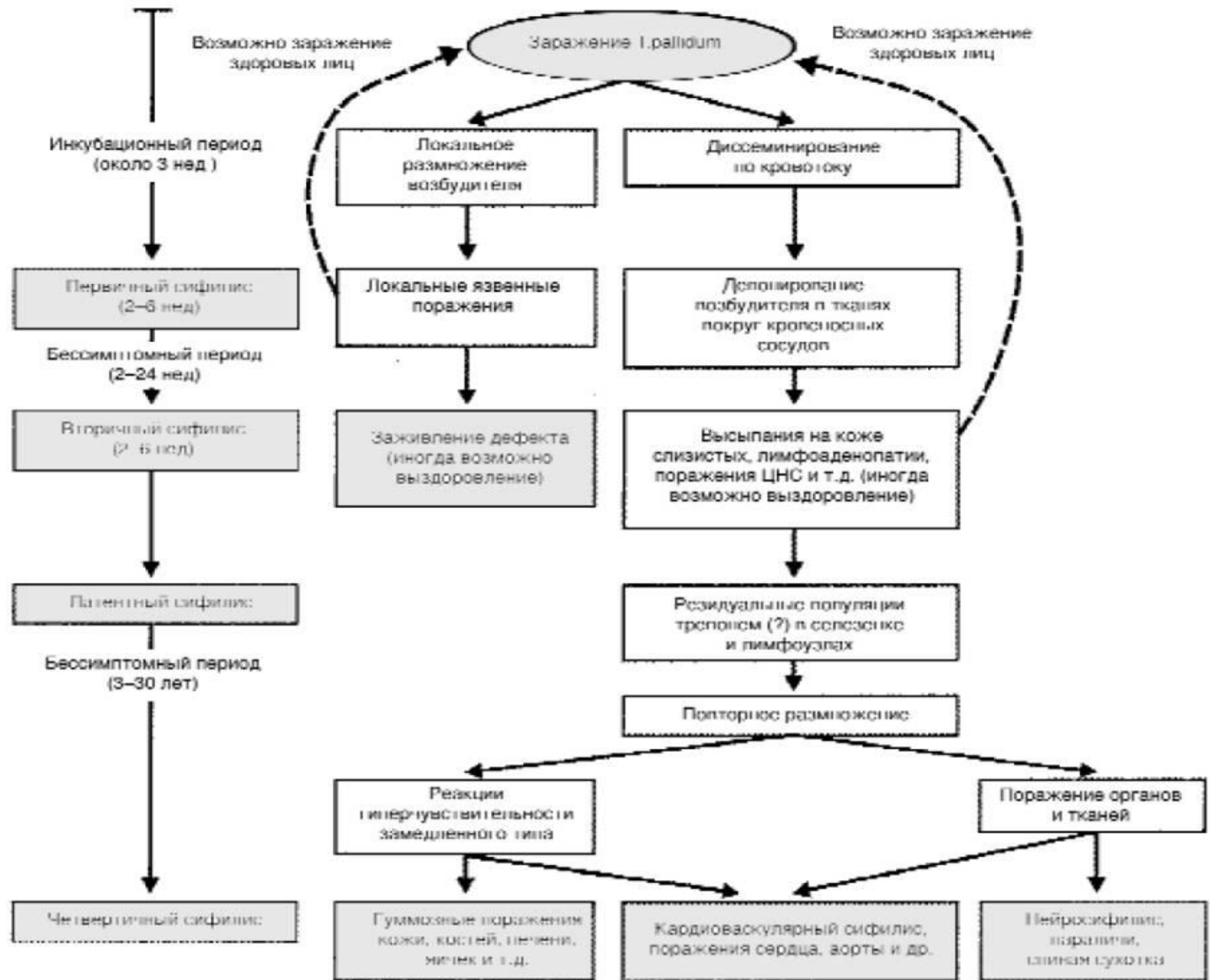
Для этого периода характерны сифилитические гранулемы – гуммы, они склонны к некрозу и распаду, при их заживлении образуются грубые втянутые рубцы и участки склерозированной ткани. Гуммы могут образовываться в любых органах и тканях, в том числе и жизненно важных.

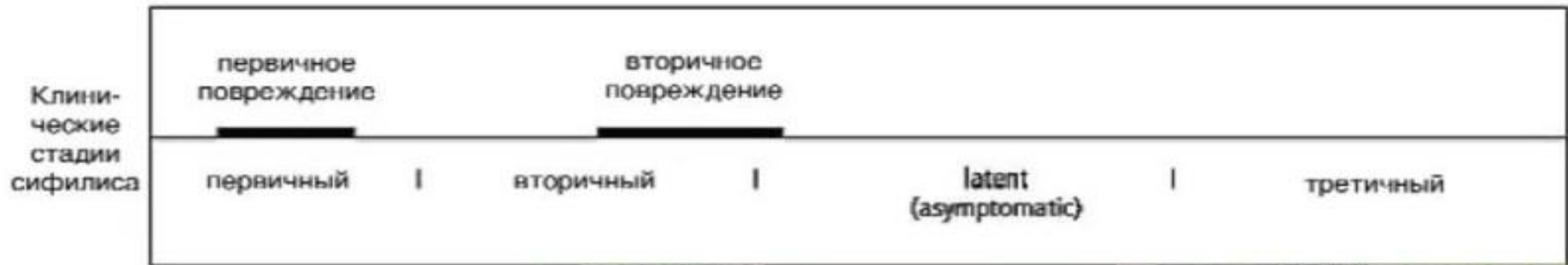
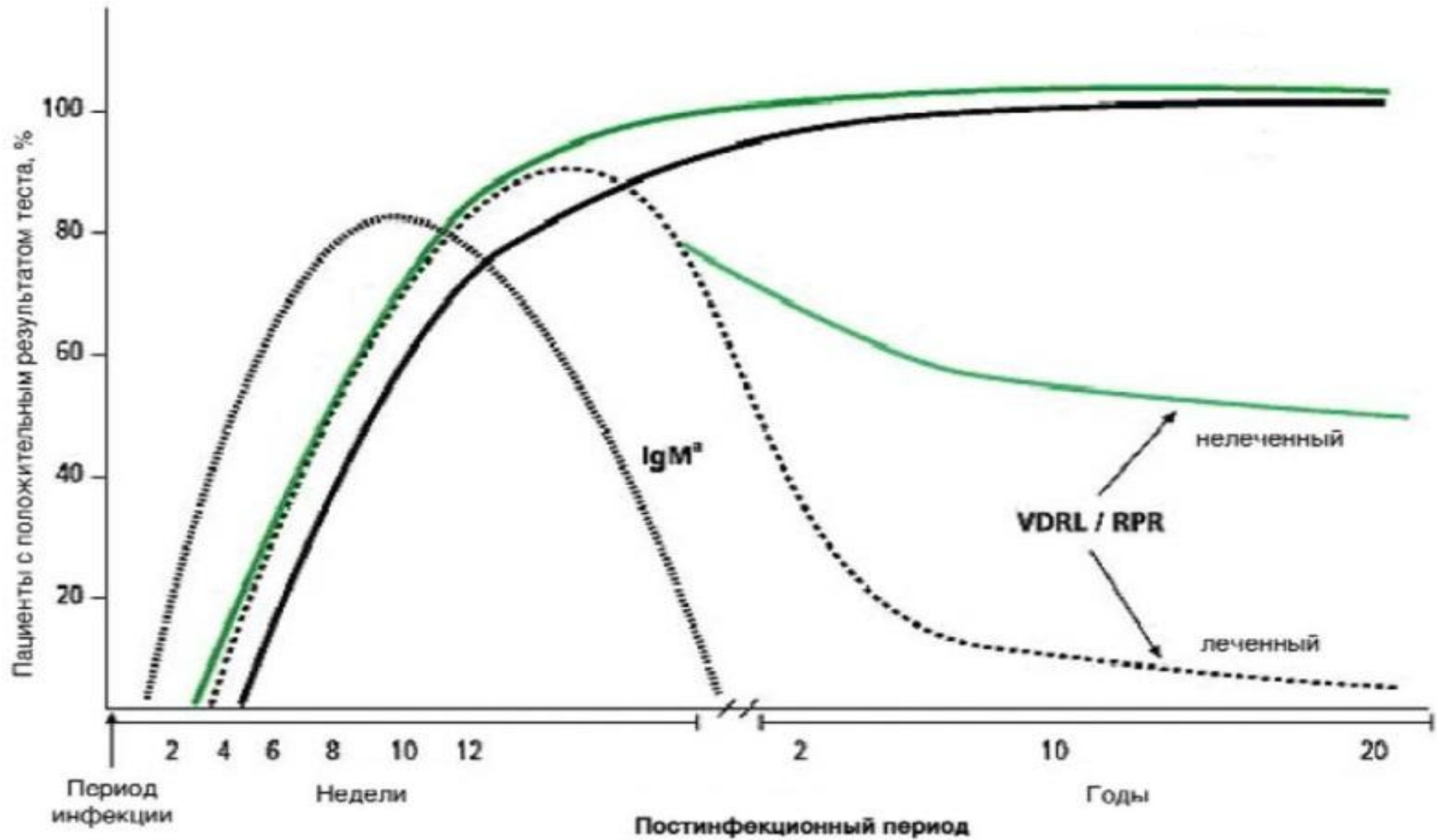
Серологические реакции положительны менее чем у 70% больных.



The organisms spread to various organs causing lesions or gummas







# Микробиологическая диагностика сифилиса

Методы диагностики:

- микроскопический
- серологический

# Микробиологическая диагностика сифилиса

Микроскопическое исследование проводят в первичном и вторичном периоде сифилиса.

Исследуемый материал: отделяемое твердого шанкра, язв, эрозий, содержимое разных высыпаний на коже или слизистых оболочках и др.

Применяют метод иммунофлюоресценции, реже окрашивают препараты (метод импрегнации).

# Антигены *T.pallidum*

- **Белковый антиген**, высокоиммуногенный, термостабильный. Антитела к нему появляются в конце инкубационного периода или в течение первой недели после появления твердого шанкра. Длительно сохраняются после излечения.
- **Полисахаридный антиген**, слабо иммуногенный, термостабильный. Антитела к нему в диагностике не имеют значения.

# Антигены T.pallidum

- **Липидный «вездесущий» антиген**, иммуногенный, на его долю приходится около 30% сухого вещества клетки спирохеты. Имеет сходство с фосфолипидами митохондриальных мембран тканей человека.

Антитела к нему называются реагинами - они появляются на 5-6 неделе после заражения и исчезают после успешного лечения.

# Серологическая диагностика сифилиса

Серологические реакции применяют для выявления **Ат**.

Они подразделяются на:

- неспецифические – выявляющие противOLIпидные Ат (реагины), в них используют неспецифический кардиолипиновый антиген.
- специфические – в них используют специфические трепонемные антигены.

# Серологическая диагностика сифилиса

Серологическая диагностика сифилиса проводится в нашей стране согласно приказу № 87 МЗ РФ от 26.03.2001 г с применением следующих тестов:

- отборочные (скрининговые) тесты;
- подтверждающие тесты.



# Отборочные серологические тесты

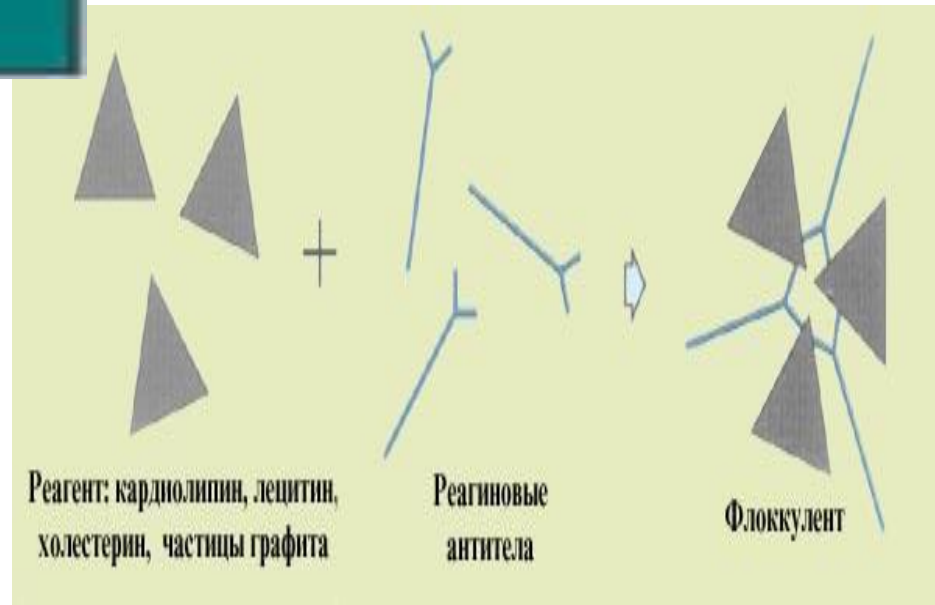
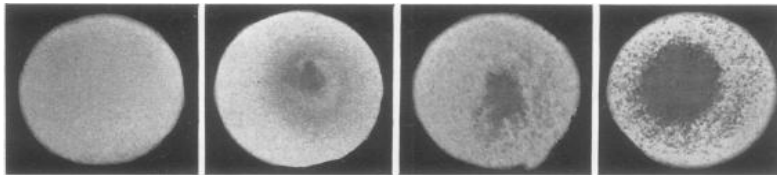
## 1. Реакция микропреципитации (РМП) или ее модификации (РПР и др.)

Их ставят с кардиолипиновым антигеном для

- подтверждения свежего сифилиса
- контроля эффективности лечения.

2. РПГА и ИФА - со специфическими трепонемными АГ , применяются как отборочные при исследовании лиц из групп риска, беременных и доноров.

# Механизм реакции микропреципитации (РМП) с кардиолипиновым антигеном



Реагент: кардиолипин, лецитин,  
холестерин, частицы графита

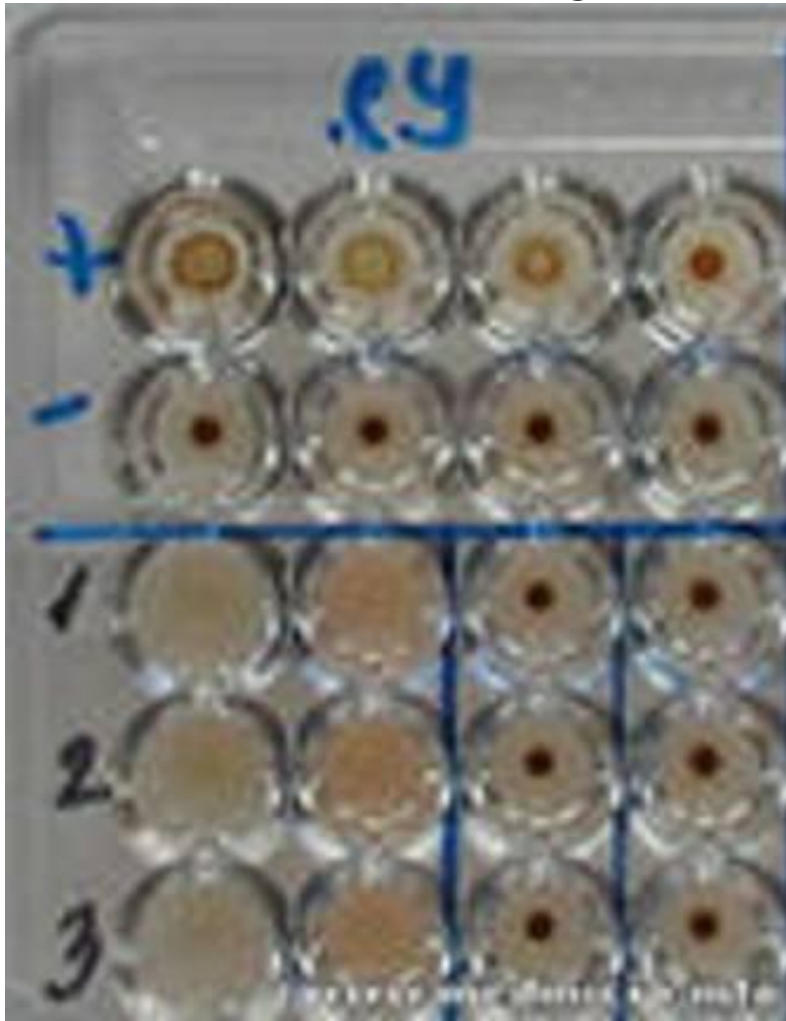
Реагиновые  
антитела

Флоккулент

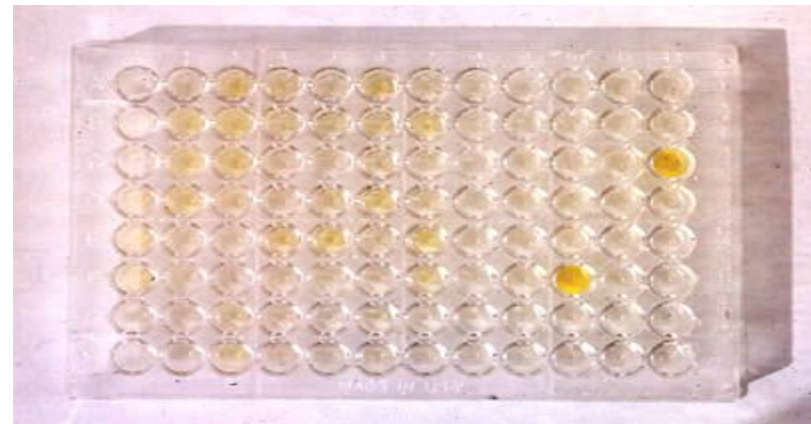
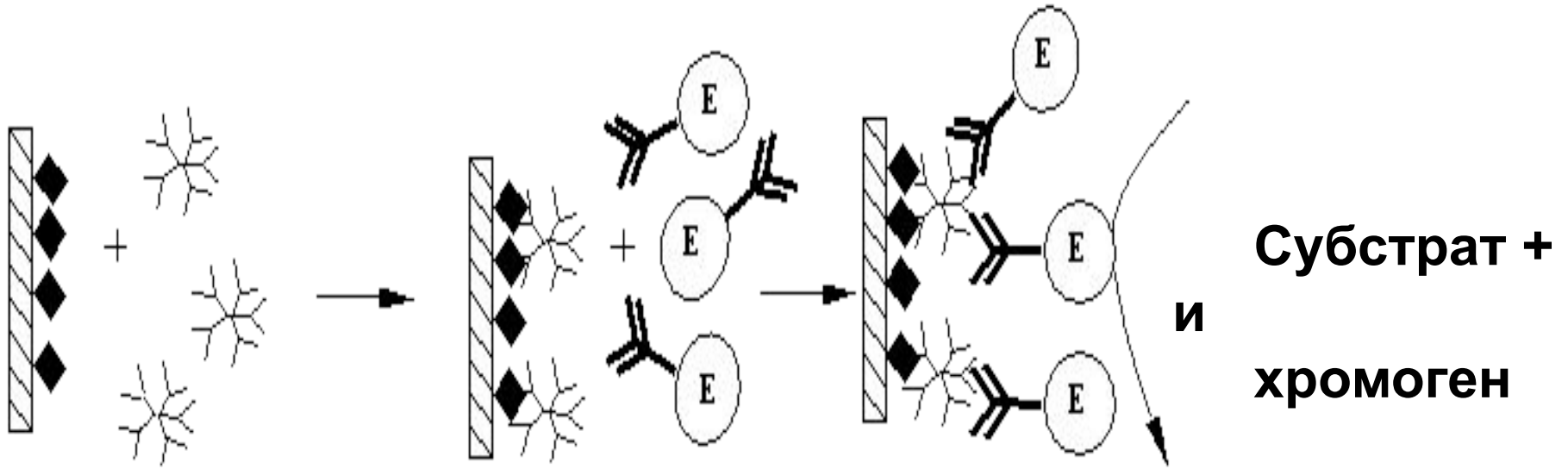
# Подтверждающие серологические тесты

1. РПГА (РНГА) – реакция пассивной (непрямой) гемагглютинации
2. ИФА – иммуноферментный анализ
3. Иммуноблотинг – при сомнительном результате РПГА или ИФА

# Реакция непрямой гемагглютинации со специфическим трепонемным антигеном



# Схема ИФА для определения IgM



# Подтверждающие серологические тесты

Эти реакций ставят в специализированных институтах и в качестве антигена используют **живые** тканевые T.pallidum штамма Никольс .

МИФ – метод иммунофлюоресценции  
непрямой

РИТ – реакция иммобилизации трепонем

# Метод иммунофлюоресценции непрямой



# ПЦР – полимеразная цепная реакция.

*Метод заключается в многократном увеличении количества ДНК*

*диагностируемого микроорганизма.*

*С помощью данного анализа можно выявить*

- врожденный сифилис,
- нейросифилис,
- первичный серонегативный сифилис,
- обнаружить сифилис у ВИЧ-инфицированных.

Подготовка к сдаче и

время сдачи:

забор крови

производится натощак в количестве 5-6 мл из локтевой вены.



# ПЦР

**Specimen**  
(Urine, Plasma, Serum,  
Saliva, Milk, etc...)



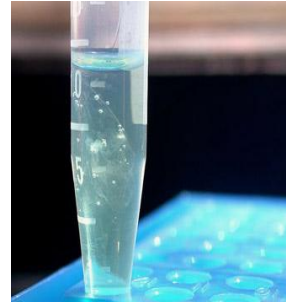
**Nucleic Acid Isolation**  
(35 minutes)



**PCR Amplification**  
(90 minutes)



**Accurate and Sensitive Results  
In few hours**

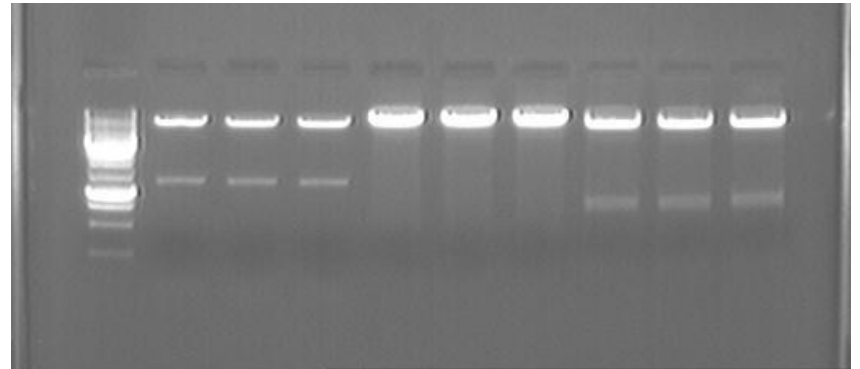


**Two Options for Detection:**

**1) Agarose Gel**



**2) Real-Time PCR  
Melt Curve**



# Биопрепараты для специфической профилактики и лечения

**Специфическая**  
профилактика и  
лечение  
не разработаны.



# ГОНОРЕЯ

- Гонорея – антропонозное венерическое заболевание, характеризующееся воспалением слизистых оболочек преимущественно урогенитальной системы, часто приобретает хроническое течение.

# Таксономическое положение возбудителя гонореи

Семейство Neisseriaceae

Род Neisseria

Вид Neisseria gonorrhoeae  
(N.gonorrhoeae)

# Альбер Людвиг Нейссер (1855-1916)

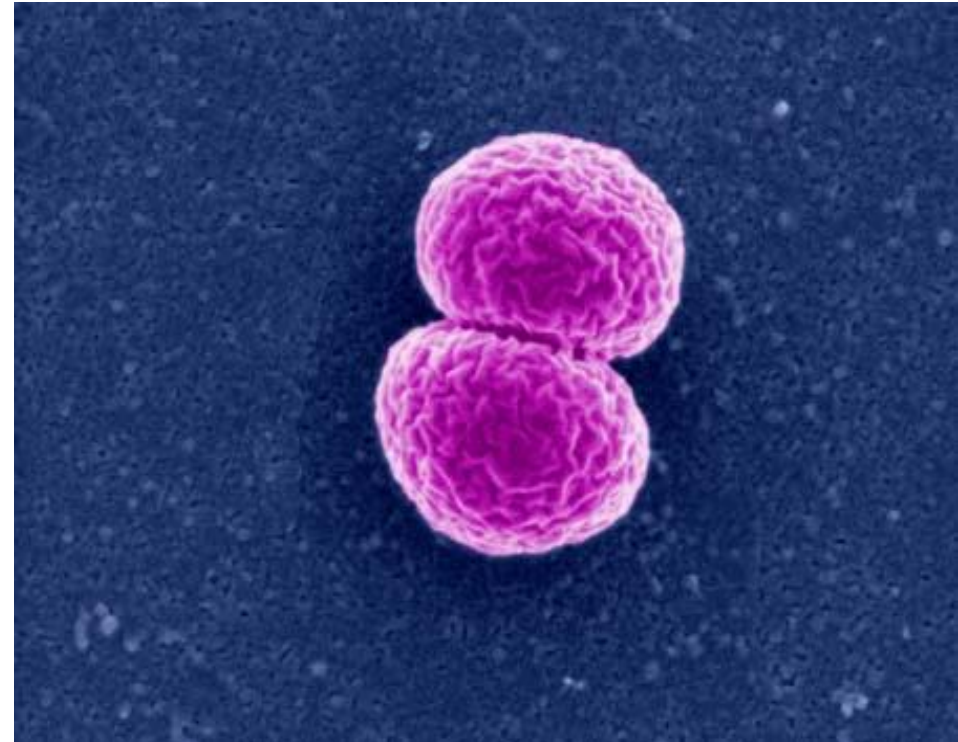


В 1879 г. немецкий врач-дерматолог А. Нейссер впервые обнаружил возбудителя гонореи - **Neisseria gonorrhoeae**

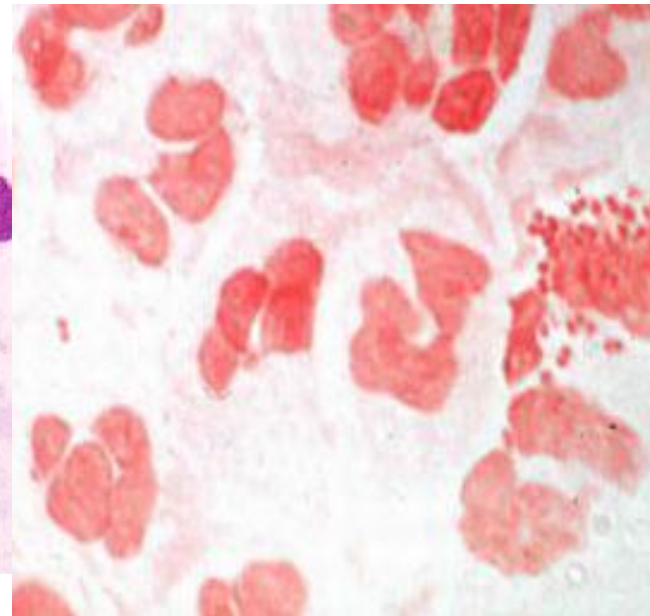
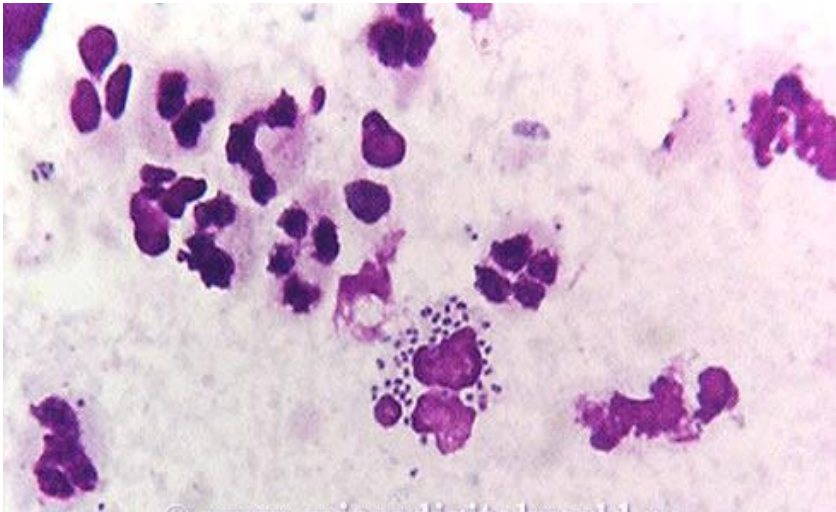
# Морфология *N.gonorrhoeae*

Грамотрицательные  
диплококки

бобовидной формы,  
размеры 1,0-1,3 x  
0,6-0,8 мкм,  
неподвижные,  
спор не образуют,  
имеют пили,  
в организме образуют  
нежную капсулу



# Гонококк в гное, окраска по Леффлеру (метиленовым синим) и по Граму





# Культуральные свойства ГОНОКОККОВ

Растут на  
питательных  
средах с  
добавлением  
крови,  
сыворотки,  
асцитической  
жидкости





# Факторы патогенности гонококков

фактор	биологический эффект
Пили	адгезия на эпителиальных клетках влагалища, фаллопиевых труб и полости рта
капсула	антифагоцитарная активность
<b>Por-протеин (АГ)</b>	препятствует слиянию лизосом и фагосом
Ора - протеин	адгезия и инвазия
RMP- протеин	маскирует АГ
sIgA-протеаза	разрушает sIgA
<b>ЛОС (АГ)</b>	эндотоксин

# Пути заражения

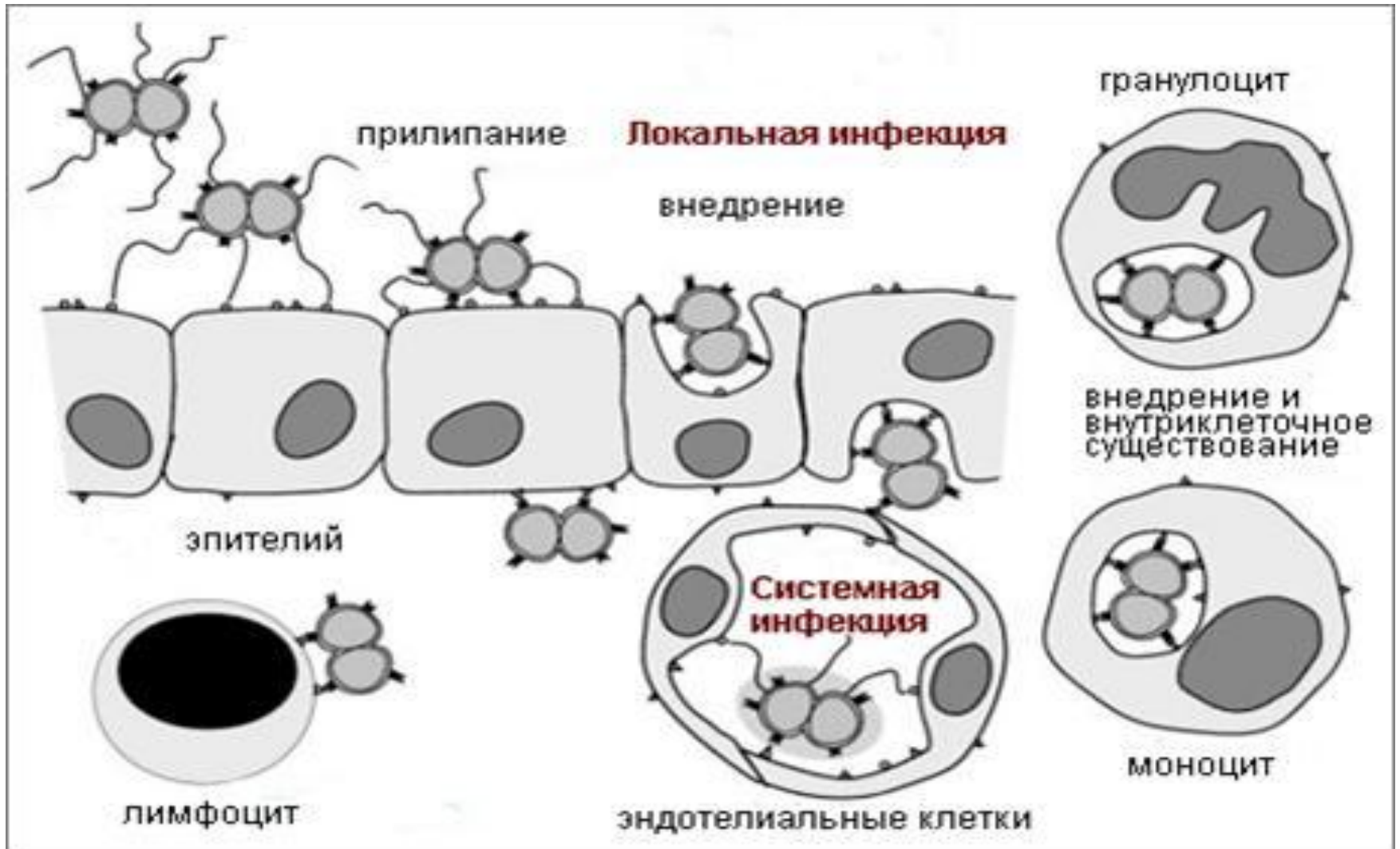
Пути заражения

гонококками:

- половой,
- вертикальный



# Патогенез гонореи



# Микробиологическая диагностика гонореи

Исследуемые материалы: гной из уретры, слизь из шейки матки, отделяемое других пораженных слизистых оболочек, осадок мочи, пунктат из суставов (при артрите), кровь.

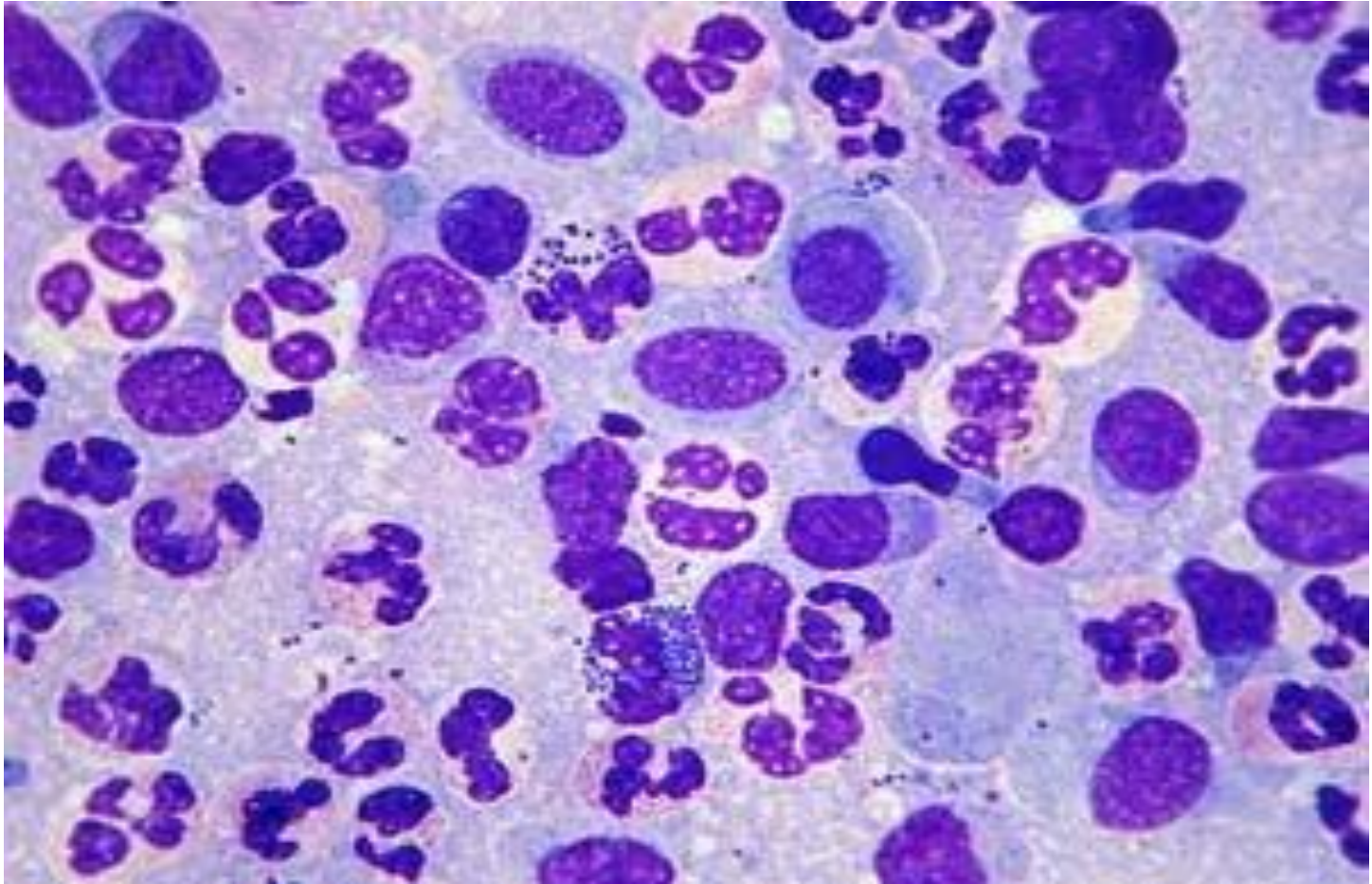
## Методы диагностики

1. Микроскопический.
2. Бактериологический.
3. Серологические тесты для выявления Аг гонококка в клиническом материале – МИФ, ИФА.
4. Полимеразная цепная реакция – ПЦР.

# Микроскопическая диагностика острой гонореи

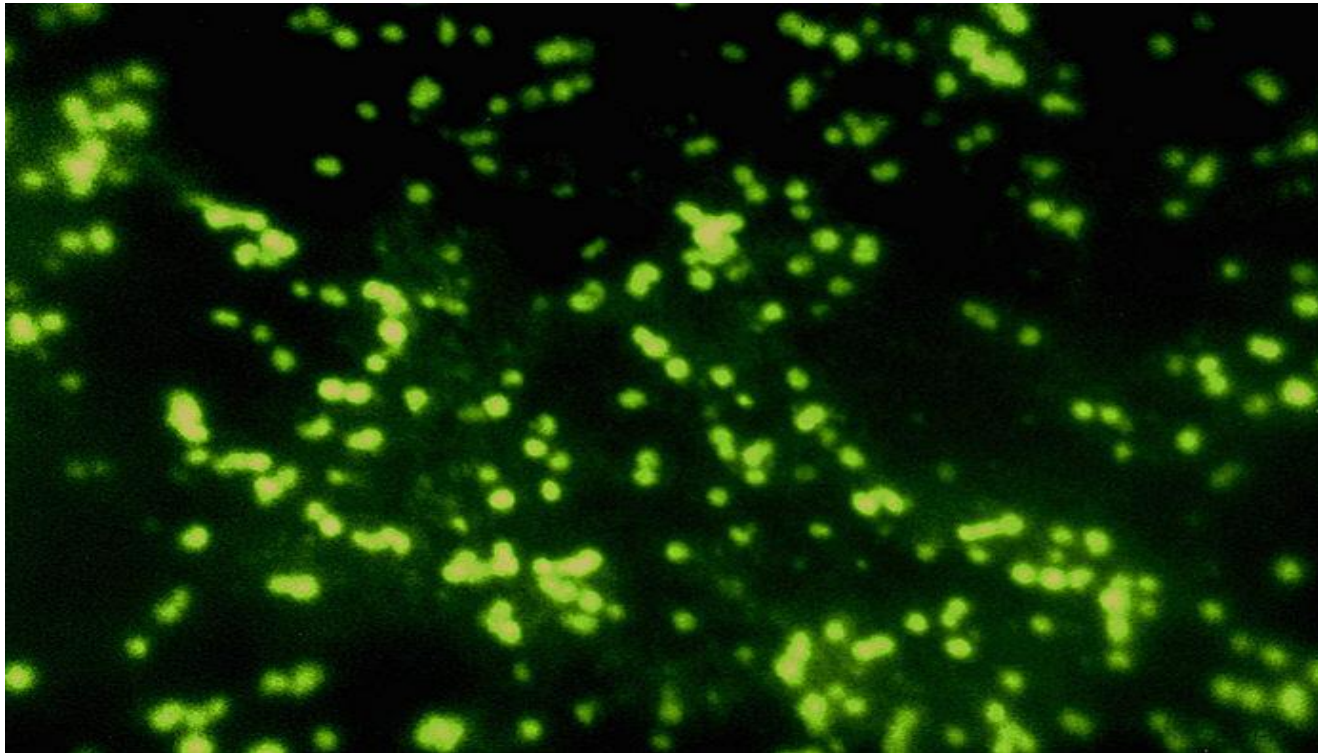
- Исследуемый материал (гной из уретры) красят по Граму и Лёффлеру.
- При положительном результате в поле зрения препарата видны многочисленные лейкоциты и диплококки бобовидной формы, расположенные преимущественно внутри лейкоцитов.
- При свежей острой гонорее этот метод является окончательным.

# Микроскопический метод диагностики





# Метод иммунофлюоресценции



# Бактериологический метод диагностики гонореи

Исследуемый материал засевают на элективные питательные среды в чашки Петри, инкубируют при 37° С в атмосфере 10% CO<sub>2</sub> 2-5 суток. Выросшие колонии напоминают капли росы (вирулентные штаммы). Далее получают чистую культуру, которую идентифицируют по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам, определяют чувствительность к антибиотикам.





# **Биопрепараты для специфической профилактики и лечения гонореи**

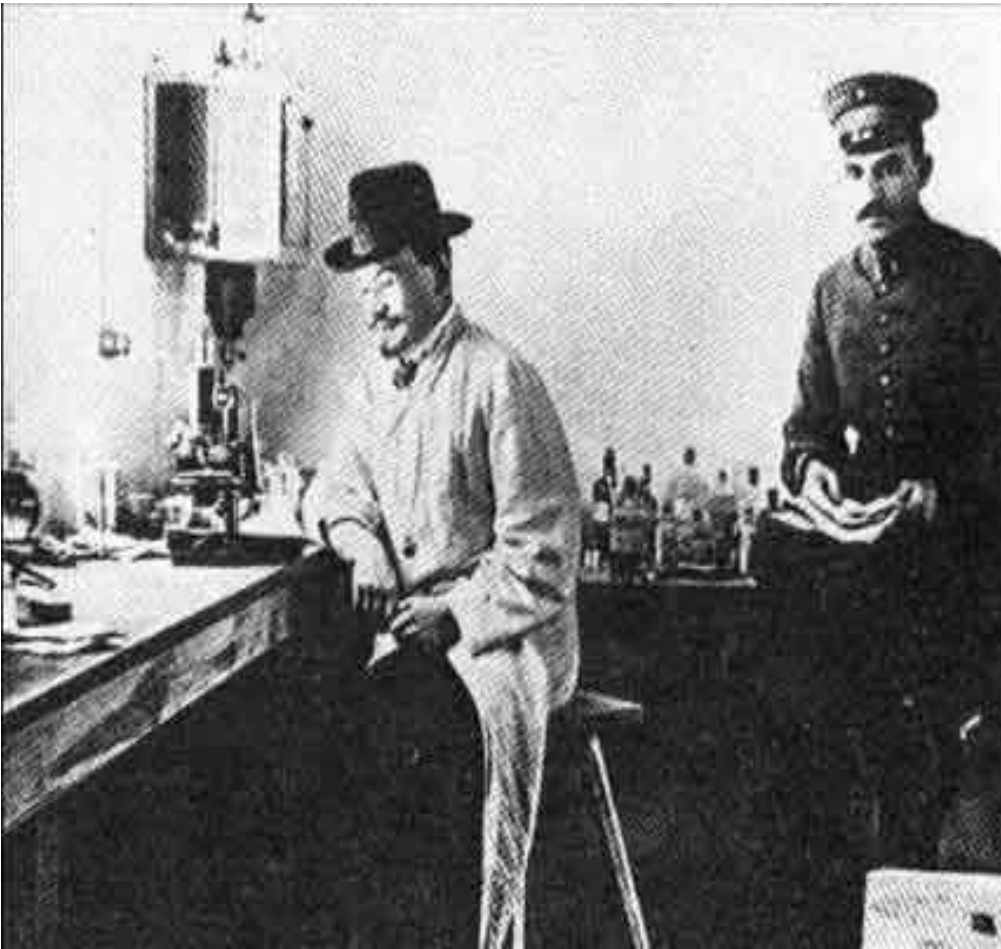
- Гонококковая вакцина –  
инактивированная вакцина, лечебная

# Урогенитальный хламидиоз

## Урогенитальный хламидиоз

антропонозное инфекционное заболевание,  
(возбудитель - **Chlamydia trachomatis**)  
передающееся половым путем и  
характеризующееся многочисленными  
поражениями разных органов и тканей  
мочеполовой системы, часто приобретает  
хроническое течение.

# Станислав Провачек



Польский  
учёный  
Станислав  
Провачек  
впервые  
обнаружил  
хламидии в  
1907 году.

# Таксономическое положение хламидий

порядок Chlamydiales

семейство Chlamydiaceae

- род Chlamydia

вид Chlamydia trachomatis (C.trachomatis)

УГС **C.trachomatis** – серовары D, Da, E, F, G, H, I, Ia, J, K.

- род Chlamydophila

# Морфология хламидий

**Хламидии** – мелкие грамотрицательные прокариоты шаровидной или овоидной формы, не образуют спор, неподвижны, не имеют капсулы. В составе клеточной стенки отсутствует пептидогликан, ригидные функции выполняют белки наружной мембраны.

Хламидии существуют в двух формах:

**Элементарное тельце** (0,2-0,3 мкм) – внеклеточная инфекционная форма, ответственная за процесс прикрепления к клетке-мишени и проникновение в них.

**Ретикулярное тельце** (0,8-1,5 мкм)- внутриклеточная метаболически активная форма

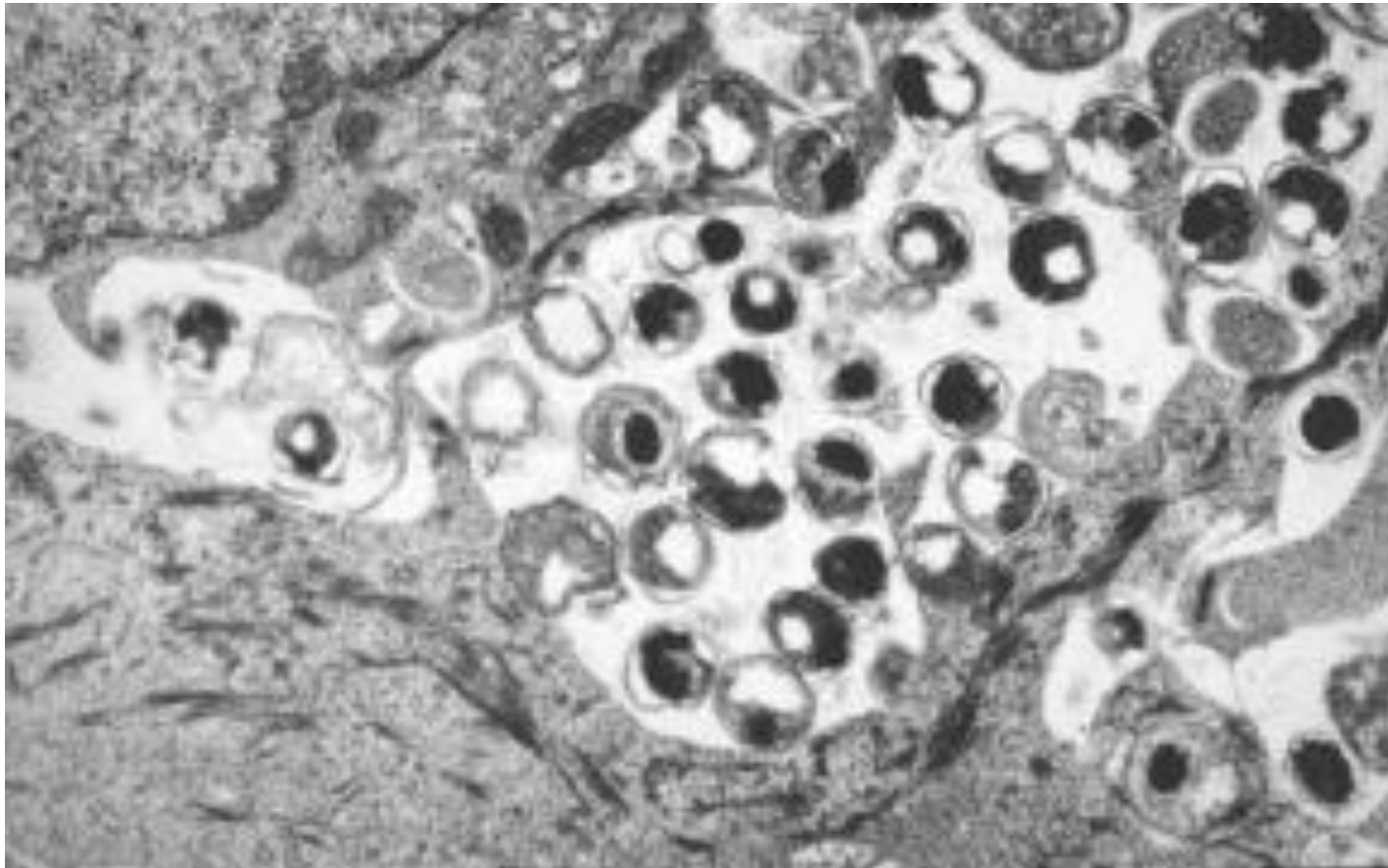
# Методы изучения хламидий

Хламидии окрашиваются по методу Романовского-Гимзы. Цвет окраски зависит от стадии жизненного цикла:

**ЭТ** окрашивается в пурпурный цвет и четко выделяется на голубом фоне цитоплазмы клетки-мишени,

**РТ** окрашивается в голубой цвет.

# Внутриклеточное включение при хламидиозе



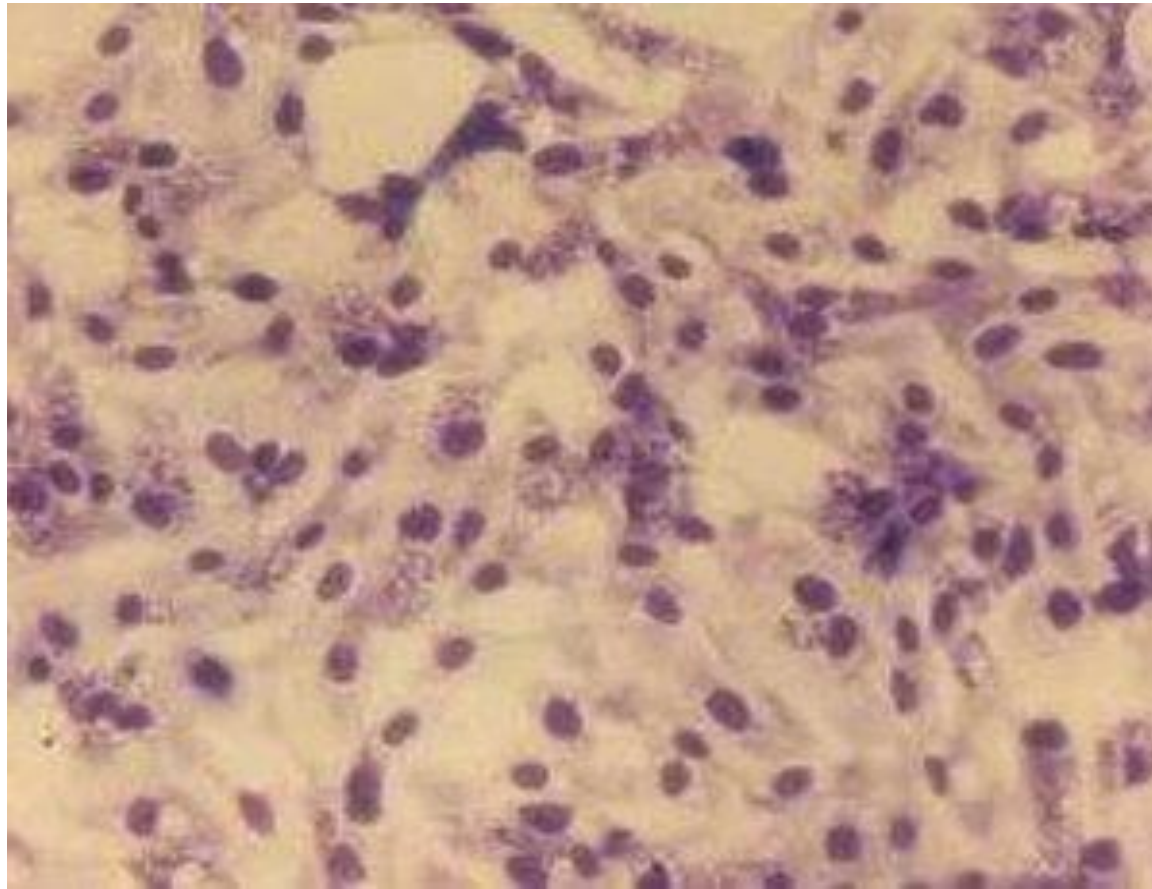
# Культивирование хламидий

Хламидии являются облигатными внутриклеточными энергетическими паразитами, **не способны к синтезу АТФ**, поэтому не растут на искусственных питательных средах.

Хламидии культивируют в культуре клеток *HeLa*, *McCoу* и в желточных мешках куриных эмбрионов.



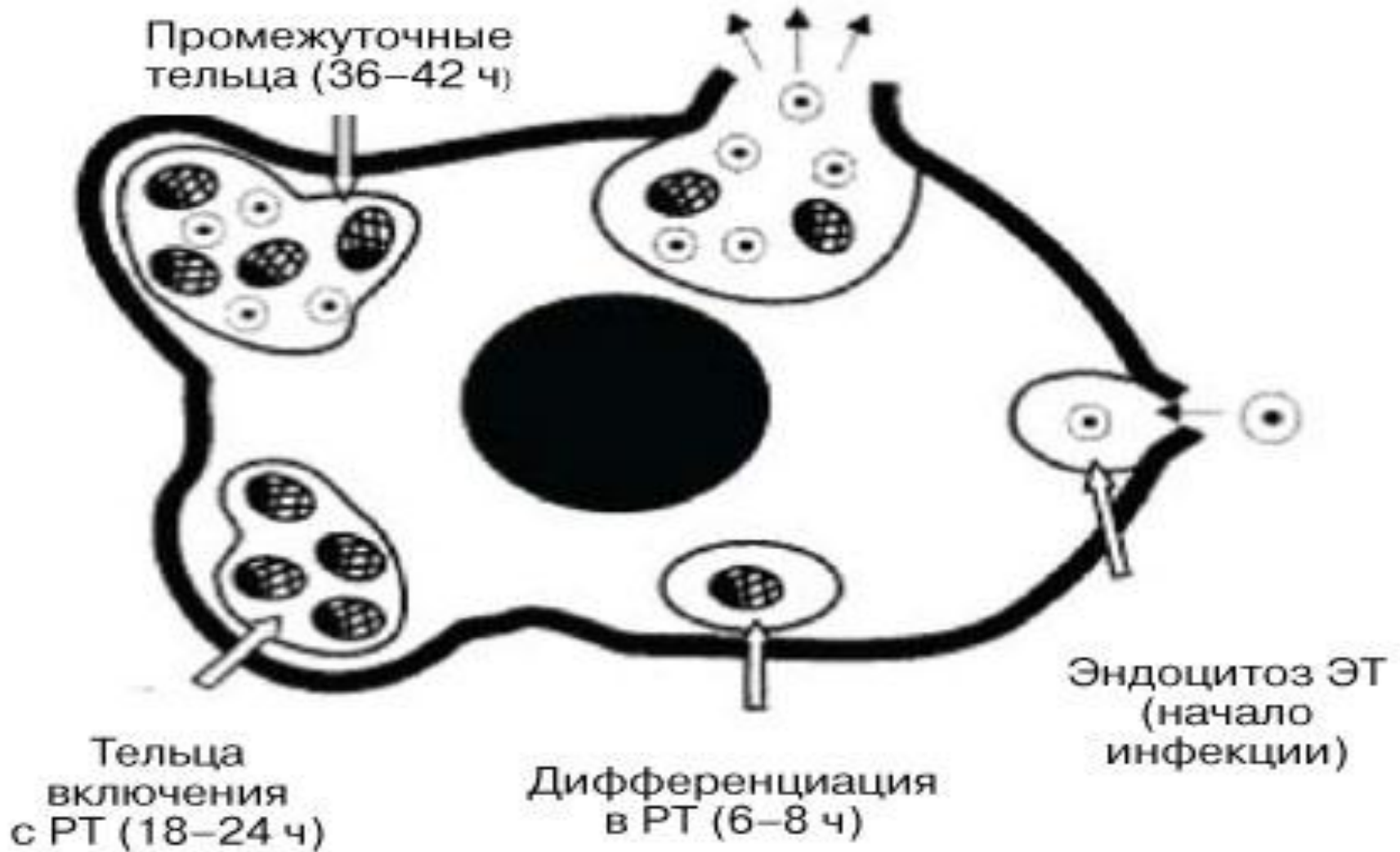
Однослойная культура клеток после инкубирования в присутствии *Chlamydia trachomatis*. Цитоплазма инфицированных клеток выглядит «гранулированной».



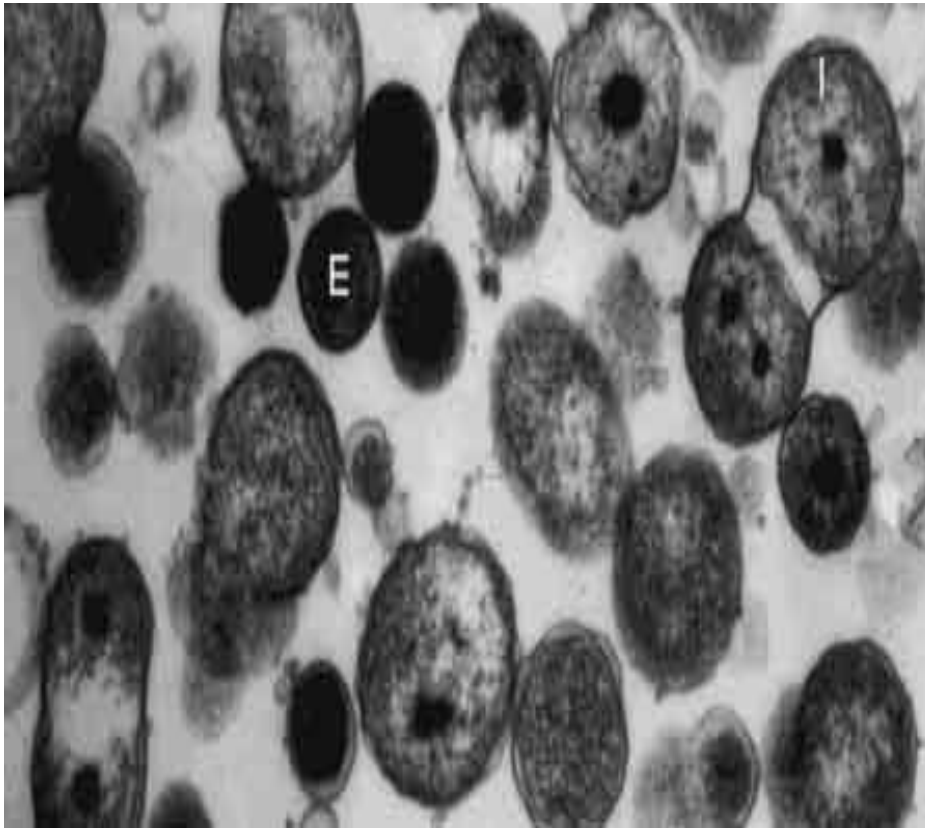
# **Жизненный цикл хламидий – (продолжительность 48-72 часа)**

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

# Жизненный цикл хламидий



# патогенез



ЭТ, внедряясь в клетку, использует для роста и размножения клеточную АТФ и через 6-8 часов превращается в РТ.

**После инфицирования, через 18-22 ч. (РТ превр. в ЭТ)**

# патогенез

- В результате размножения *C. trachomatis* в инфицированных эпителиальных клетках развивается воспалительный процесс, выраженность которого зависит от состояния местного и общего специфического и неспецифического иммунитета организма.
- После инвазии хламидий образуется комплемент, который приводит к стимуляции гранулоцитов. Воспалительная реакция сопровождается локальной гибелью клетки и разрушением ткани, что дополняется высвобождением фосфолипазы  $A_2$  и простагландинов, это приводит к отеку и гиперемии слизистой оболочки, нарушению целостности эпителиального слоя с частичной десквамацией эпителия.

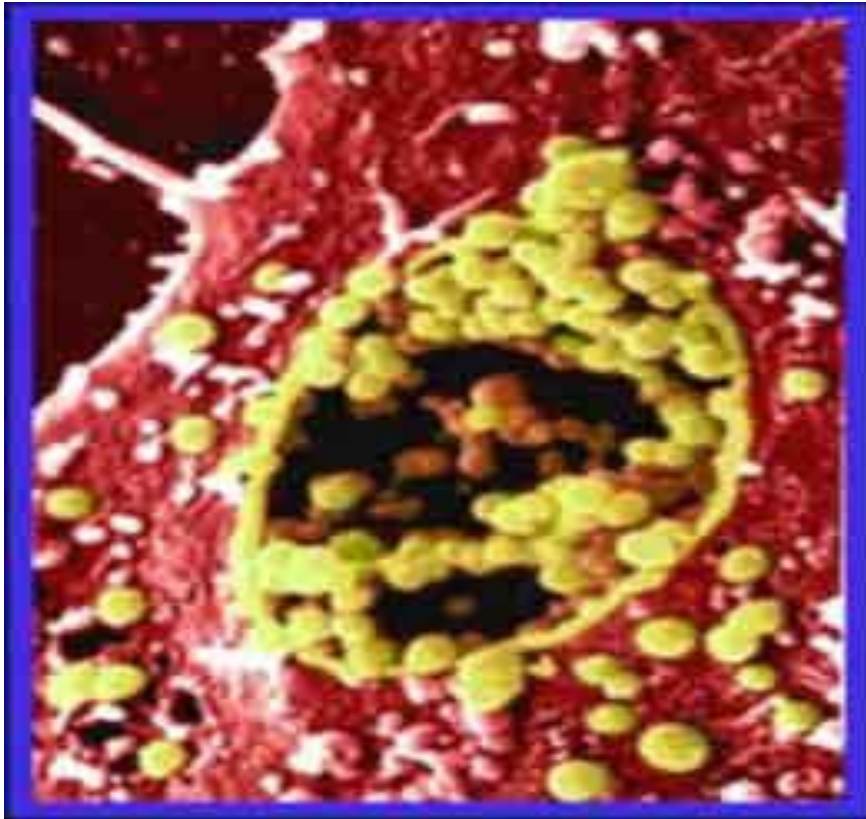
# патогенез

- Превращение РТ в ЭТ требует не только энергии, но зависит от присутствия биологических субстратов, среди которых важнейшее место занимает аминокислота триптофан.
- В процессе воспаления лимфоциты выделяют разнообразные цитокины (в т. ч. интерферон g), который индуцирует клеточный фермент индоламин-диоксигеназу (ИДО), разрушающий триптофан. Уменьшение триптофана приводит или к гибели хламидий, или к замедлению процессов репликации (клеточного деления), и в эпителиальной клетке начинают накапливаться неинфекционные, неделящиеся РТ.

# патогенез

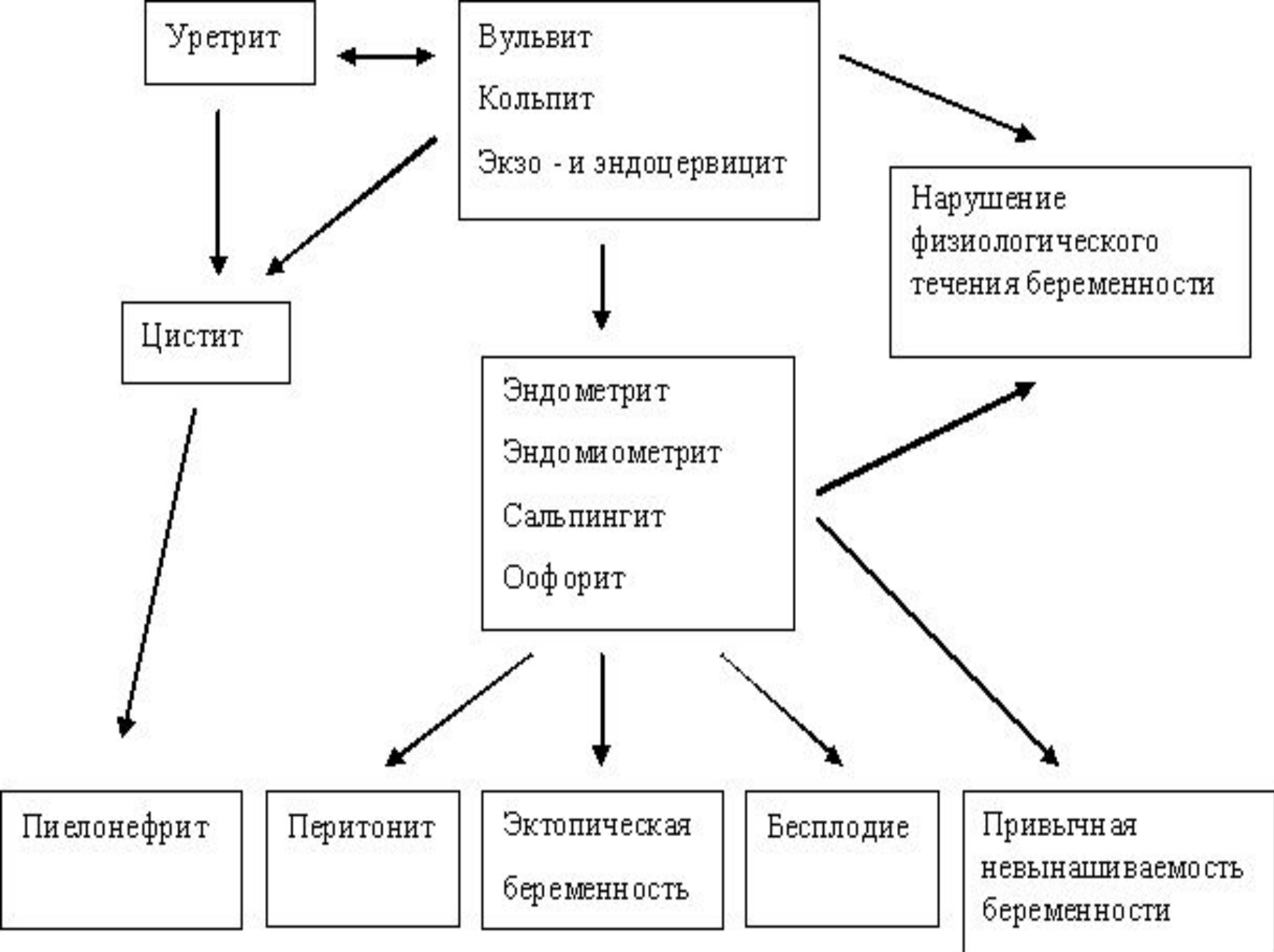
- Цикл развития хламидий приостанавливается, но, несмотря на неблагоприятные условия, РТ сохраняют свою жизнеспособность (персистируют).
- Дальнейшее развитие и исход этого состояния зависят от продолжительности и уровня содержания триптофана.
- Уменьшение содержания интерферона  $\alpha$  и, соответственно, увеличение внутриклеточного пула триптофана приводят к редифференцировке персистирующих форм в инфекционные ЭТ, их выходу из клетки и продолжению инфекционного процесса.
- Хламидии могут высвобождаться из инфицированной клетки, сохраняя жизнеспособность клетки (при выходе ЭТ путем экзоцитоза), что приводит к бессимптомному течению.

# Внутриклеточное включение, содержащее размножающиеся хламидии



При возникновении неблагоприятных биохимических условий продолжительность жизненного цикла может значительно увеличиваться.

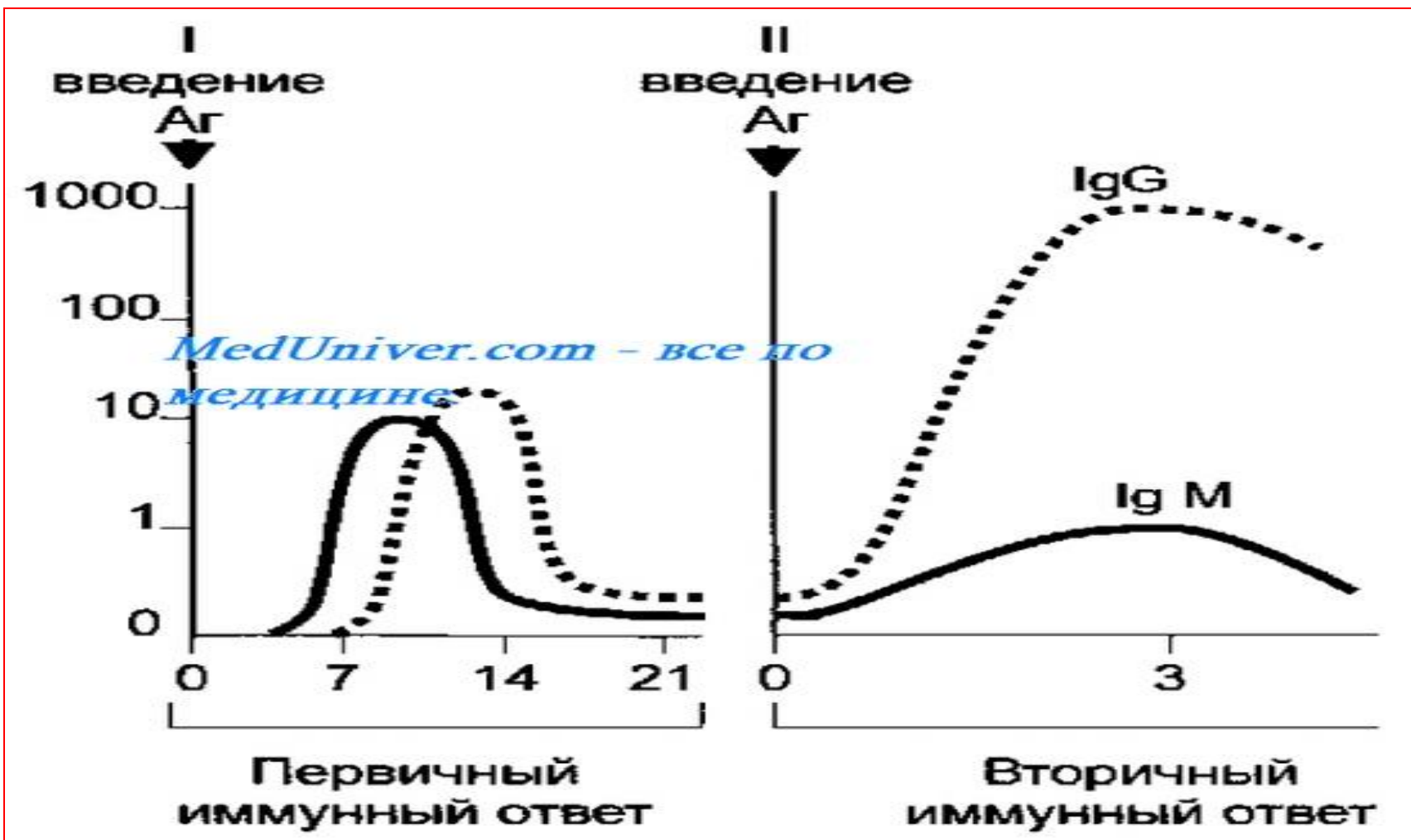




## Антигены хламидий (по Р.А. Mardh, 1990)

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

# Формирование иммунного ответа



# Иммунитет

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

# Микробиологическая диагностика урогенитального хламидиоза

Исследуемый материал: соскобы эпителия  
слизистых уретры, цервикального канала,  
сыворотка крови.

Методы диагностики:

**Метод иммунофлюоресценции прямой**

**ПЦР** – самый чувствительный метод  
исследования

**Серологический** – выявляют специфические  
антитела в сыворотке больных в **РНГА, ИФА,**  
**МИФ непрямой.**

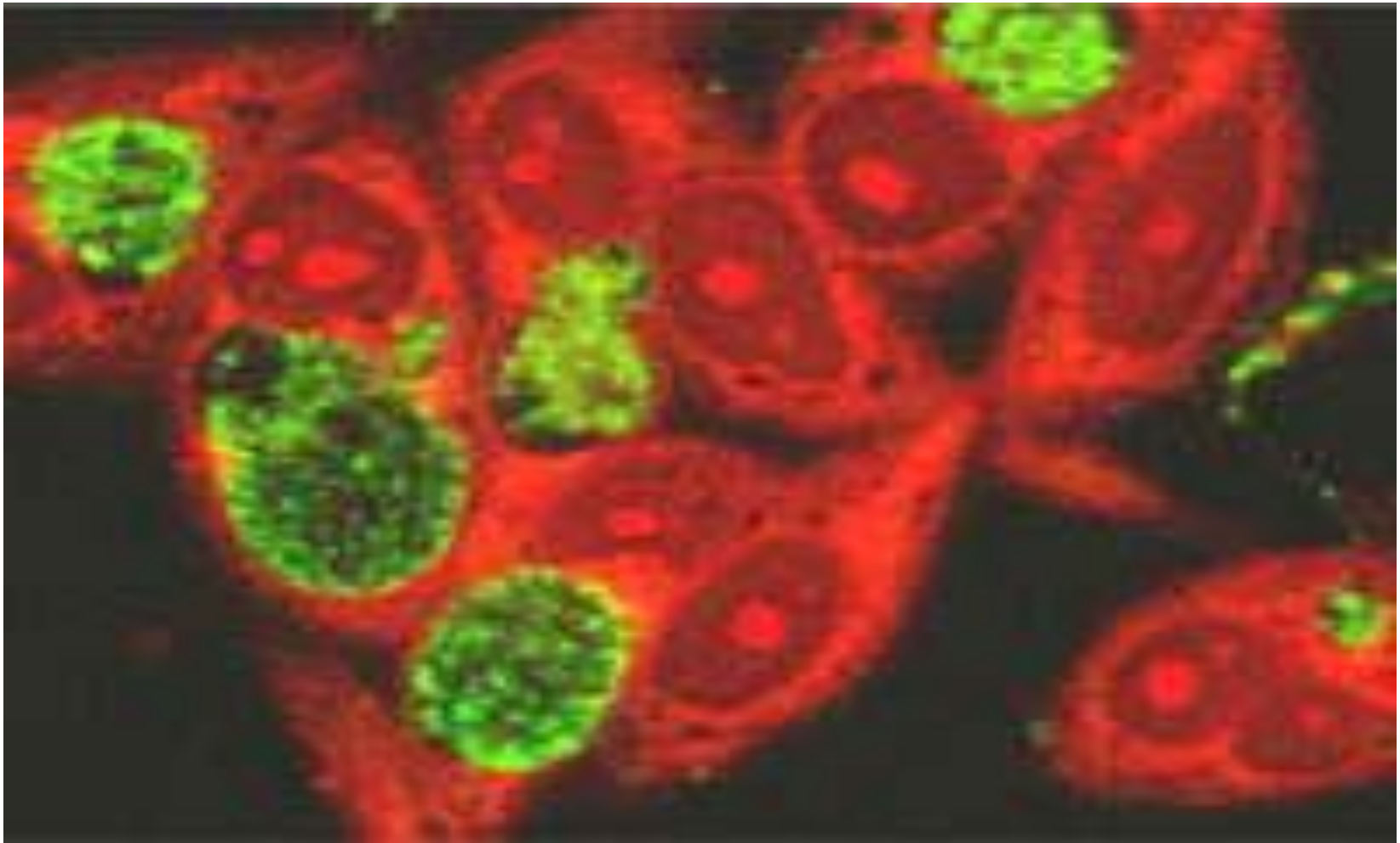
**Культуральный метод** – трудоемкий и  
длительный, используют культуры клеток.

Транспортная система для хранения  
клинического материала (до 72 час.)  
при диагностике урогенитального хламидиоза



# ПЦР в диагностике урогенитального хламидиоза – механизм ПЦР

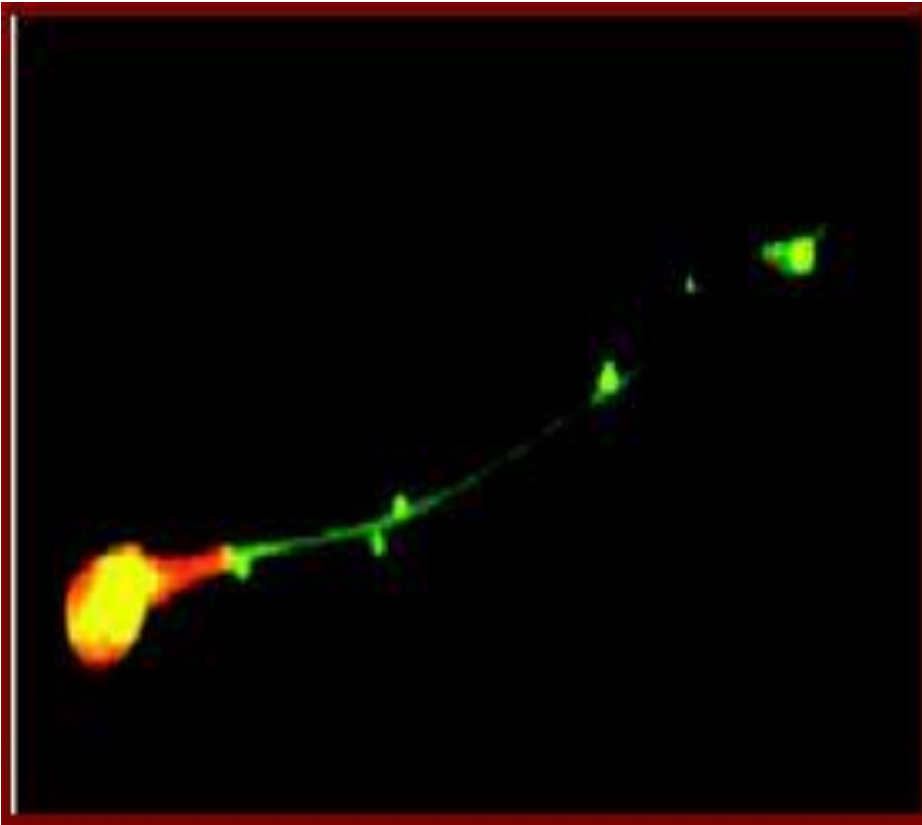




***C.trachomatis*** в пораженных клетках методом  
прямой иммунофлюоресценции – зеленые  
включения

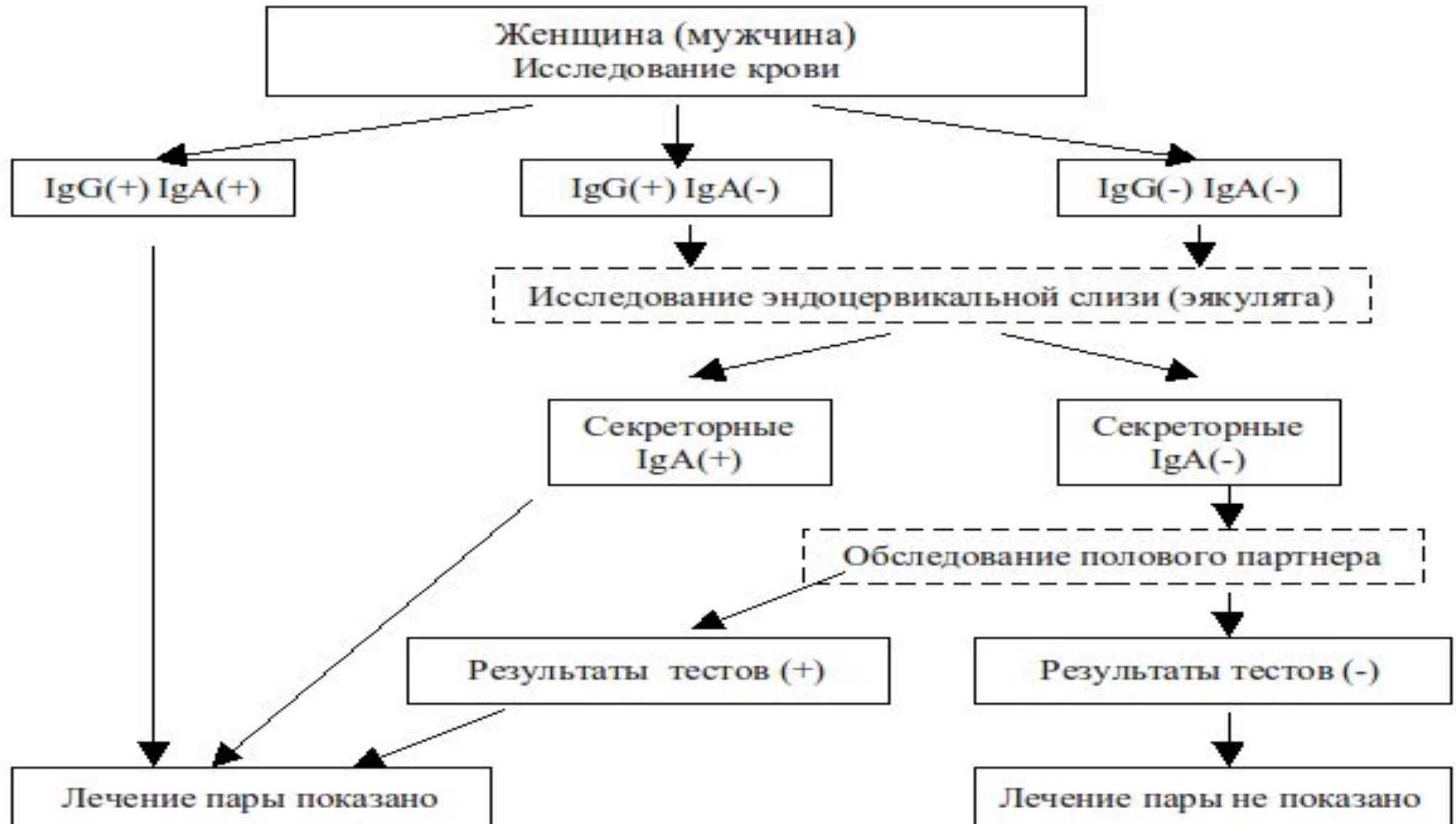


# Метод иммунофлюоресценции

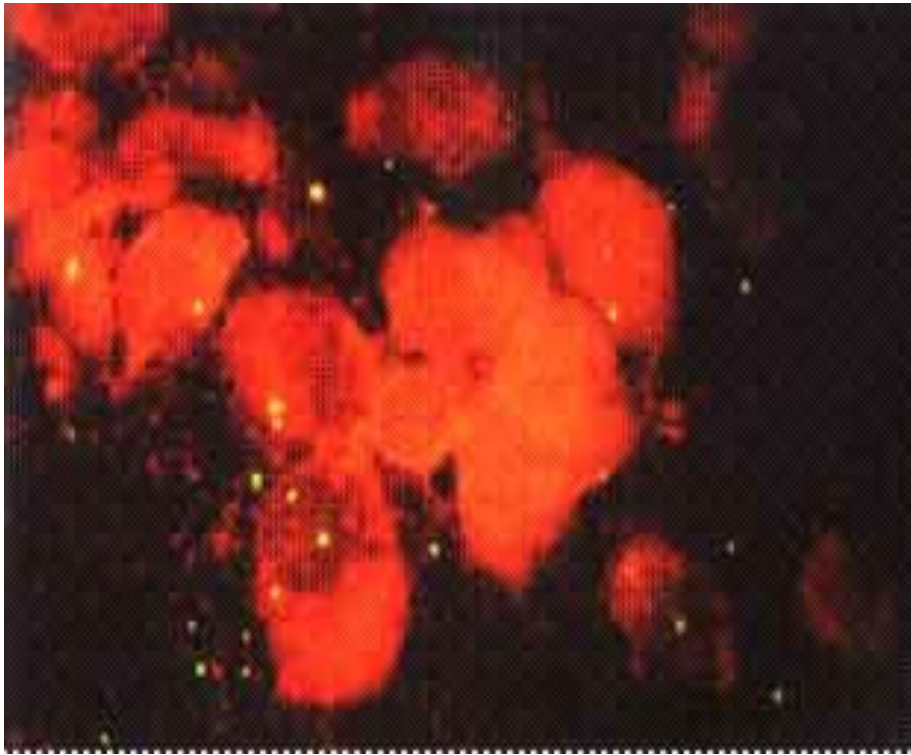


**Элементарные  
тельца хламидий  
(ярко зеленый  
цвет) в  
человеческой  
сперме  
(Courtney S.)**

# ИФА схема исследования для диагностики хронического урогенитального хламидиоза



# Культуральный метод



Элементарные тельца *C.trachomatis* светятся зеленовато-желтым цветом.

Эпителиальные клетки – хозяйина характеризуются красным цветом.  
(Х. Хансфилд)

# **Биопрепараты для специфической профилактики и лечения урогенитального хламидиоза**

- Не разработаны

# **МИКПЛАЗМОЗЫ**

Антропонозные инфекции, часто протекающие бессимптомно.

# Таксономическое положение МИКОПЛАЗМ

класс Mollicutes

Патогенные микоплазмы включены в  
подсемейство Mycoplasmataceae:

содержит 2 рода: Mycoplasma и Ureaplasma.

Виды:

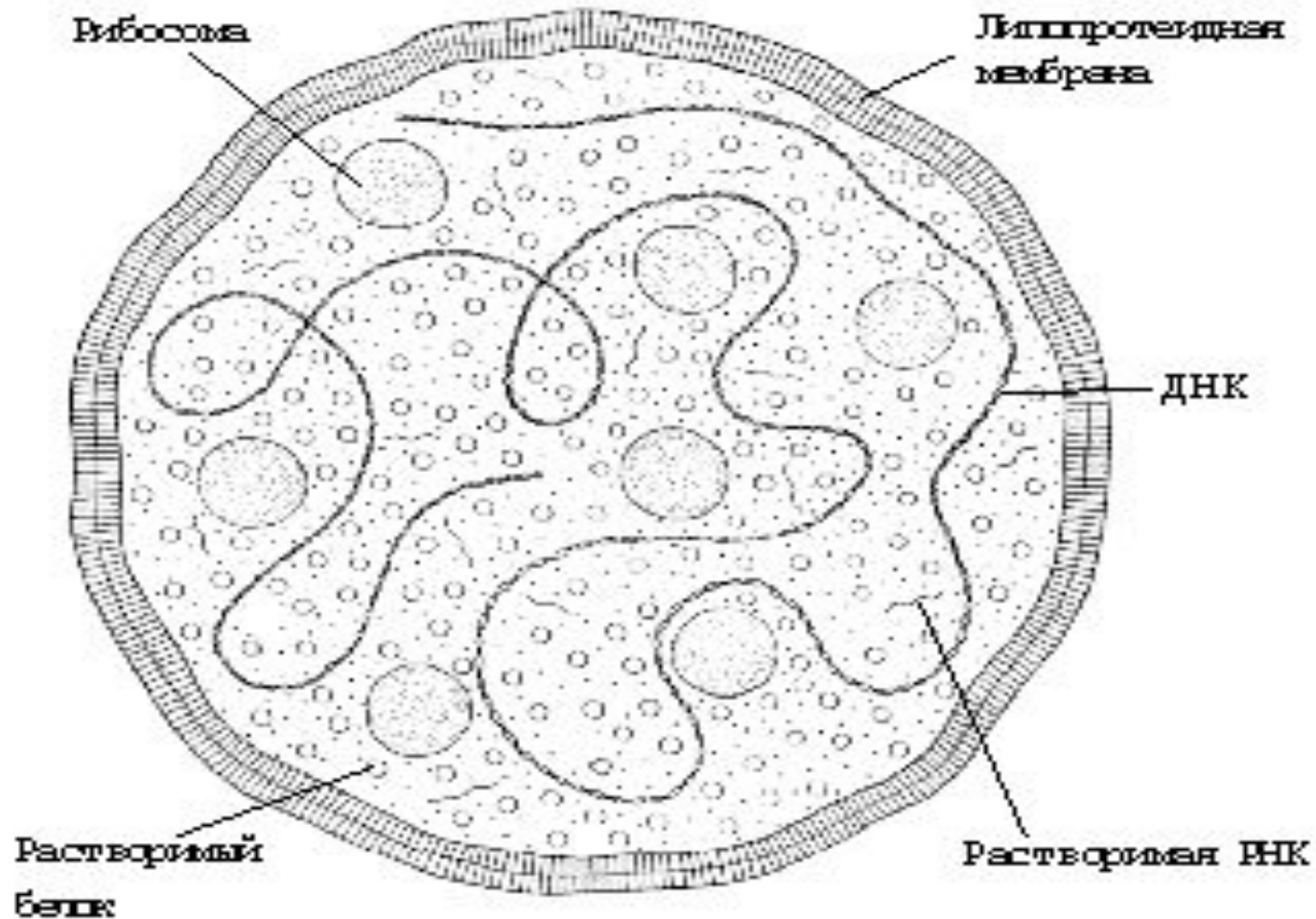
респираторные - M.pneumoniae

урогенитальные - M.hominis, M.genetalium,  
U.urealiticum

# Морфология микоплазм

- поверхностная оболочка микоплазм представлена ЦПМ. Она более прочная чем у бактерий, что связано с присутствием в ней холестерина;
- не имеют мезосом;
- имеют самый маленький размер генома среди всех саморепродуцирующихся живых клеток –  $0,4-0,5 \times 10^9$  Д (у бактерий -  $1-3 \times 10^9$  Д).
- вокруг крупных форм иногда образуется мукозный слой, подобный капсуле (липидный, полисахаридный или липополисахаридный)

# Морфология микоплазм



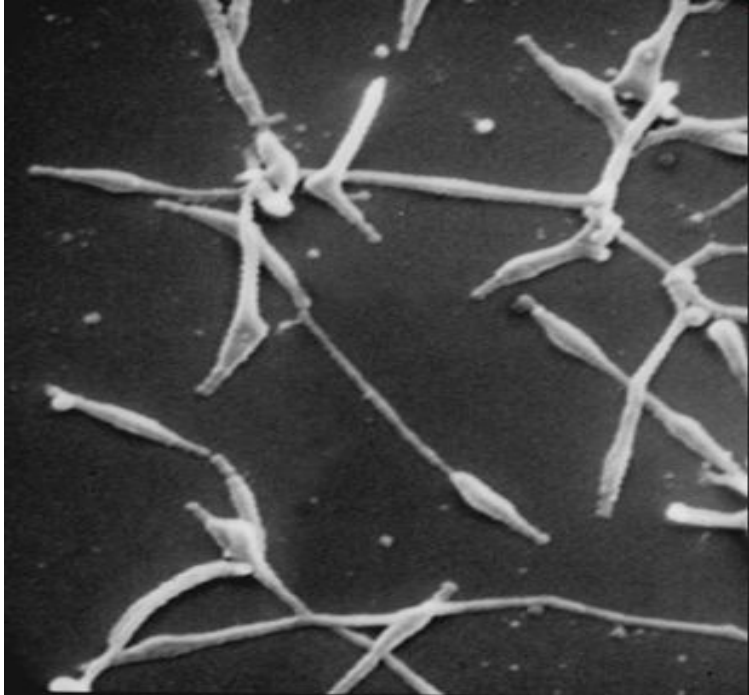


# Морфологические формы микоплазм

Микоплазмы лишены ригидной клеточной стенки (формообразующей структуры), поэтому они полиморфны:

- крупные шаровидные тела диаметром до 10 мкм.;
- мелкие зерна «элементарные тельца» меньше 0,1-0,2 мкм.;
- нитевидные, иногда ветвящиеся формы, подобные мицелиям – длиной до 150 мкм диаметром до 0,3 мкм.;
- грушевидные, эллипсоидные, гантелевидные, шаровидные, палочковидные – различных размеров.

# Морфологические формы МИКОПЛАЗМ



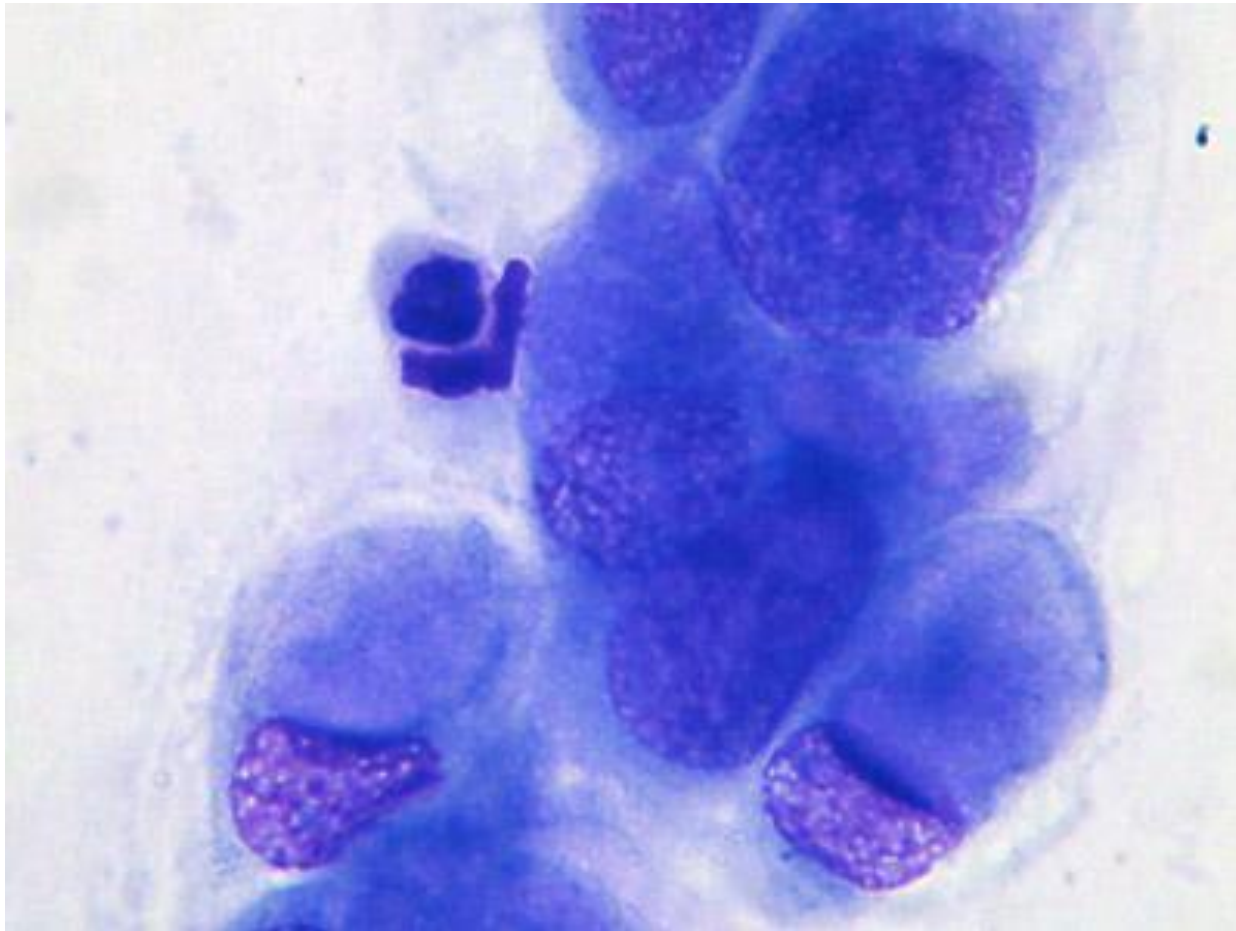
# Методы микроскопического изучения микоплазм

- Микоплазмы слабо окрашиваются анилиновыми красителями, их можно окрасить методом Романовского-Гимзы.
- Чаще микоплазмы изучают в нативных препаратах, применяя фазово-контрастную микроскопию. В препаратах видна гетерогенность популяции по размерам, форме, оптической плотности.

# Роль микоплазм в патологии человека

- Урогенитальные микоплазмы (*M.hominis*, *M.genetalium*, *U.urealiticum*) часто вызывают хронические заболевания (негонококковый уретрит, спонтанные аборты, бесплодие) у 25-80% людей, ведущих активную половую жизнь.
- *M.incognitos* выделяется при генерализованных процессах.

# Возбудитель уретрита



# UREAPLASMA urealyticum

- Морфология, ультраструктура и способы размножения сходны с другими микоплазмами.
- Оптимальная температура 36,5-37 °C
- оптимальный pH 6,5-7,0. При незначительном защелачивании среды клетки быстро погибают.
- Уреаплазмы инертны к сахарам
- каталаза-отрицательны.
- Проявляют  $\beta$ -гемолитическую активность по отношению к эритроцитам кролика и морской свинки.
- Секретируют фосфолипазы A1, A2, C. а также протеазы, селективно действующие на молекулы IgA.
- **Культуральные свойства.**
- В жидких питательных средах растут плохо; предпочтителен посев на плотные обогащенные среды. Для роста нуждаются в создании газовой среды, включающей 5% CO<sub>2</sub> и 95% N<sub>2</sub> либо 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> и 85% N<sub>2</sub>.

# Эпидемиология

- Резервуар возбудителя – больной человек;
- основной путь передачи – воздушно – капельный. Заболевание регистрируют повсеместно.
- К заражению наиболее чувствительны подростки в возрасте 5-15 лет.
- у детей младше 6 мес. инфекции выявляют редко.
- Пик заболеваемости – конец лета и первые осенние месяцы.

# Клинические проявления

- У мужчин *Ureaplasma urealyticum* вызывает уретриты и уреаплазменные простатиты.
- У женщин инфекция обычно протекает стёрто; обострения могут провоцироваться присоединившимися инфекциями.
- Проникновение возбудителя в верхние отделы женской половой системы реализуется через сперматозоиды (носители уреаплазм). Колонизация эндометрия часто приводит к самопроизвольным абортам.
- Проникновение уреаплазм в более глубокие отделы мочеполового тракта вызывает я, например острый уретральный синдром.
- Доказана роль уреаплазм в развитии мочекаменной болезни, обусловленной действием бактериальной уреазы.



# Роль микоплазм в патологии человека

Микоплазмы являются «мембранными паразитами».

Они прочно прикрепляются к мембране клеток, усваивая через мембрану необходимые питательные вещества, воздействуя при этом своими токсическими продуктами метаболизма на клетку-хозяина.

Эпителиоциты повреждаются, нарушается их жизнедеятельность, но они не погибают.

## **Микробиологическая диагностика.**

- Особенности метаболизма уреоплазм позволяют легко дифференцировать их от прочих микоплазм по способности секретировать уреазу. В настоящее время **метод определения уреазной активности** (образование аммиака из мочевины) — основной способ диагностики уреоплазмозов.
- **Серодиагностика –ИФА**
- **ПЦР**

## **Лечение и профилактика.**

Препараты выбора — тетрациклины, макролиды и фторхинолоны.

Профилактика урогенитальных микоплазмозов аналогична методам предупреждения прочих венерических заболеваний.

Спасибо за внимание!