

Handwritten signature

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра загальної та клінічної епідеміології та біобезпеки
з курсом мікробіології та вірусології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної роботи

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

02 вересня 2024 року



МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
ДО ЛЕКЦІЙ З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
«МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ»

Рівень вищої освіти: другий (магістерський)

Галузь знань: 22 «Охорона здоров'я»

Спеціальність: 221 «Стоматологія»

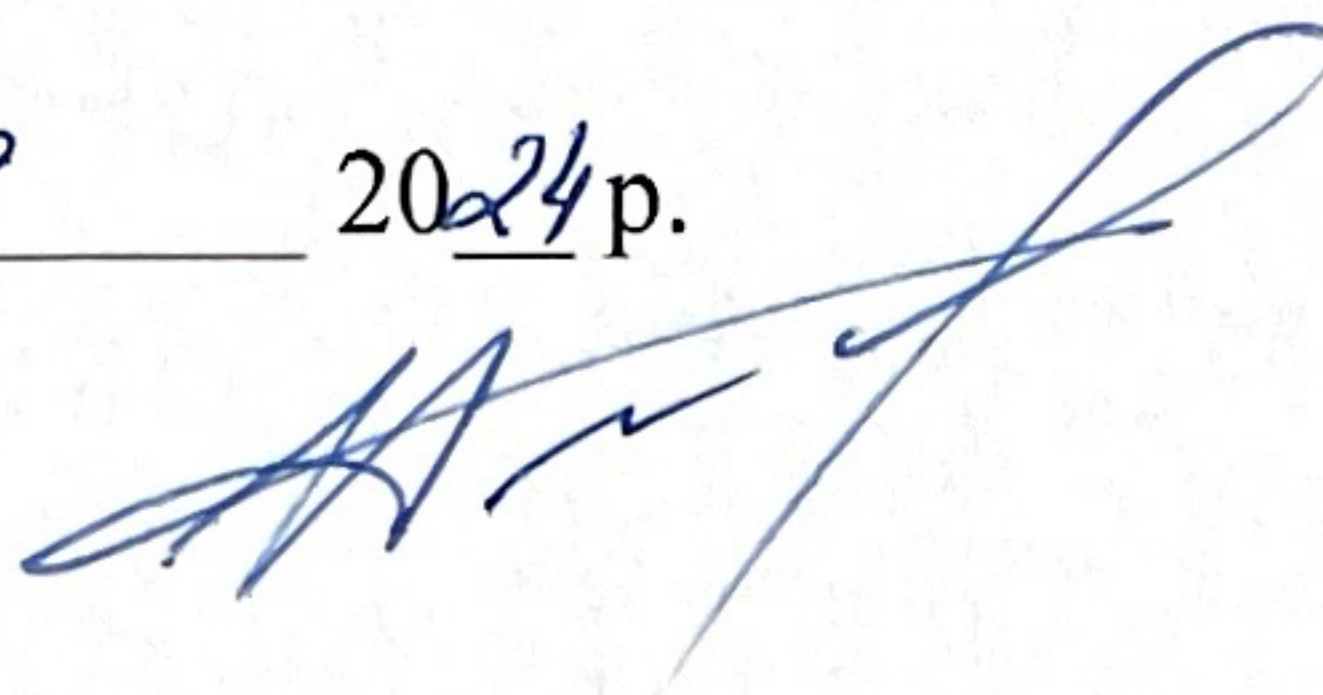
Освітньо-професійна програма: Стоматологія

Затверджено:

Засіданням кафедри загальної та клінічної епідеміології та біобезпеки з курсом мікробіології та вірусології
Одеського національного медичного університету

Протокол № 1 від "26" 08 2024р.

Завідувач кафедри



Микола ГОЛУБЯТНИКОВ

Розробники:

завідувач кафедри, професор закладу вищої освіти, професор, д.мед.н. Микола ГОЛУБЯТНИКОВ
завучка кафедри, доцентка закладу вищої освіти, доцентка, к.біол.н. Ганна ШЕВЧУК
професор закладу вищої освіти професор, д.мед.н. Олександр ГРУЗЕВСЬКИЙ
доцентка закладу вищої освіти, доцентка, к.мед.н. Ірина КОЛЬЦОВА
доцентка закладу вищої освіти, доцентка, к.мед.н. Маріанна КУРТОВА
старший викладач закладу вищої освіти Євген ТАРАСОВ

ЗМІСТ

«Значення медичної мікробіології для практичної діяльності лікаря. Історія мікробіології. Морфологія та структура мікроорганізмів. Еволюція і класифікація мікроорганізмів. Фізіологія мікроорганізмів. Хімічний склад і метаболізм у мікроорганізмів. Генетика бактерій і вірусів. Основи біотехнології і генної інженерії».....	4
«Вчення про інфекцію. Імунна система організму. Антигени, властивості. Антигени мікроорганізмів. Антитіла, структура. Класи імуноглобулінів. Закономірності імунної відповіді. Взаємодія клітин імунної системи в імунній відповіді»	19
«Імунопрофілактика та імунотерапія. Імунопатологія»	27
«Введення в спеціальну мікробіологію. Гноєрідні коки. Збудники анаеробних інфекцій»	35
«Спірохети. Вібріони»	45
«Збудники дифтерії і туберкульозу»	55
«Патогенні ентеробактерії. Ешеріхії та шигели. Сальмонели»	66
«Рикетсії, хламідії, мікоплазми»	76
«Морфологія і ультраструктура вірусів. Культивування вірусів. Взаємодія вірусу і клітини»	90
«РНК-вмісні віруси. ДНК-вмісні віруси»	99
«Ретровіруси. Онковіруси. Віруси гепатитів. Вірус імунодефіциту людини»	116
«Мікрофлора ротової порожнини в нормі та при патології. Мікробіологія, вірусологія та імунологія захворювань порожнини рота»	137

ЛЕКЦІЯ
«ЗНАЧЕННЯ МЕДИЧНОЇ МІКРОБІОЛОГІЇ ДЛЯ ПРАКТИЧНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ ЛІКАРЯ.
ІСТОРІЯ МІКРОБІОЛОГІЇ. МОРФОЛОГІЯ ТА СТРУКТУРА МІКРООРГАНІЗМІВ.
ЕВОЛЮЦІЯ І КЛАСИФІКАЦІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ. ФІЗІОЛОГІЯ
МІКРООРГАНІЗМІВ. ХІМІЧНИЙ СКЛАД І МЕТАБОЛІЗМ У МІКРООРГАНІЗМІВ.
ГЕНЕТИКА БАКТЕРІЙ І ВІРУСІВ. ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ І ГЕННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ»

Актуальність теми: Розуміння фундаментальних основ мікробіології є критично важливим для майбутніх лікарів-стоматологів, оскільки більшість стоматологічних захворювань має мікробну етіологію. Порожнина рота є унікальною екосистемою, що містить понад 700 видів мікроорганізмів, які відіграють ключову роль у розвитку карієсу, пародонтиту та інших патологій. Знання морфології та метаболізму бактерій дозволяє зрозуміти механізми формування біоплівки на поверхні зубів, роль кислотопродукції в демінералізації емалі, а також обирати оптимальні антимікробні засоби. Генетичні механізми, включаючи передачу генів антибіотикорезистентності, мають пряме значення для клінічної практики в умовах зростання стійкості мікроорганізмів до антибіотиків. Біотехнологічні досягнення відкривають нові можливості для діагностики, створення біоматеріалів, пробіотиків і персоналізованої терапії стоматологічних захворювань.

Мета:

Навчальна мета:

- Сформувати у здобувачів базове розуміння структури, фізіології та генетики мікроорганізмів
- Ознайомити з основними етапами розвитку мікробіології як науки
- Пояснити принципи класифікації мікроорганізмів
- Розкрити механізми метаболізму та генетичної мінливості бактерій
- Ознайомити з біотехнологічними застосуваннями мікроорганізмів у медицині та стоматології

Виховна мета:

- Сформувати науковий світогляд та критичне мислення
- Виховати відповідальне ставлення до застосування антимікробних засобів
- Розвинути інтерес до інноваційних біотехнологій у стоматології

Основні поняття (перелік питань):

Медична мікробіологія – розділ мікробіології, що вивчає мікроорганізми-збудники інфекційних захворювань людини, їх біологічні властивості, взаємодію з макроорганізмом та методи діагностики, лікування і профілактики інфекцій

Морфологія бактерій – форма та структурна організація мікробних клітин (коки, палички, спірохети, вібріони)

Структура бактеріальної клітини – клітинна стінка, цитоплазматична мембрана, нуклеоїд, рибосоми, плазмід, капсула, джгутики, пілі

Таксономія мікроорганізмів – система класифікації на основі філогенетичних, морфологічних, біохімічних та молекулярно-генетичних характеристик

Метаболізм бактерій – сукупність анаболічних та катаболічних процесів (аеробне та анаеробне дихання, ферментація)

Генетика бактерій – структура бактеріального геному, плазмід, механізми передачі генетичного матеріалу (трансформація, трансдукція, кон'югація), мутації

Генетика вірусів – організація вірусних геномів (ДНК/РНК, одно-/двониткові), механізми реплікації, мутагенез та рекомбінація

Біотехнологія – використання мікроорганізмів та їх компонентів для виробництва

біологічно активних речовин, вакцин, діагностичних систем

Генна інженерія – технології рекомбінантних ДНК для створення генетично модифікованих організмів, продукції білків (інсулін, інтерферони, фактори росту)

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

1. ВСТУП

На кафедрі мікробіології вивчаються три самостійні дисципліни - медична мікробіологія, вірусологія та імунологія

Мікробіологія – наука про мікроорганізми, які інакше називають мікробами. Слово походить від слів *mikros* (грец) – малий, *bios* (лат) – життя, *logos* (лат) – вчення.

Всі мікроорганізми діляться на 4 царства - бактерії, гриби, найпростіші та віруси (таб. 1-4).

Предмет вивчення медичної мікробіології - це патогенні (хвороботворні, здатні викликати захворювання, умовно-патогенні і непатогенні мікроорганізми, які складають нормальну мікрофлору організму.

Медична мікробіологія вивчає біологічні властивості мікроорганізмів, їх систематику, екологію, взаємовідносини з іншими організмами, патогенез захворювань, а також розробляє методи мікробіологічної діагностики, специфічної профілактики, етіотропної терапії, тобто направленої на причину захворювання, мікроорганізм - збудник.

Наступний важливий розділ нашої дисципліни – вірусологія, наука про віруси. Віруси кардинально відрізняються від інших мікроорганізмів п'ятьма основними ознаками: вони не мають клітинної організації, містять лише один тип нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК), мають несамостійний обмін речовин, унікальний розрізнений спосіб розмноження, здатні паразитувати на генетичному рівні, вбудовуючи свій геном в геном клітини-хазяїна.

Нарешті, надзвичайно велике значення має для сучасної біології та медицини **імунологія** – наука про імунітет. Імунітет - спосіб захисту організму від речовин і живих тіл з ознаками генетичної чужорідності, здійснює імунологічний нагляд над генетичною постійністю клітин організму, підтримує генетичний гомеостаз, забезпечує протиінфекційний, протипухлинний захист і визначає диференціювання клітин організму.

2. ІСТОРИЧНИЙ ОГЛЯД РОЗВИТКУ МІКРОБІОЛОГІЇ

В становленні і розвитку медичної мікробіології зазвичай виділяють чотири історичних періоди.

1. Початковий період (друга половина XVIII - середина XIX ст.) коли відбулось відкриття мікроорганізмів і зародилась мікробіологія як наука.

2. Пастеровський період (друга половина XIX ст.), який характеризується становленням і розвитком мікробіології та імунології, як єдиної наукової дисципліни, розвитком медичної мікробіології.

3. Третій період - перша половина XX ст., коли проходив бурний розвиток мікробіології та імунології, їх досягнення використовувались в практиці, відбувалось становлення вірусології.

4. Сучасний період, що характеризується підвищенням значення мікробіології та імунології в науково-технічному прогресі в медицині та біології.

Першовідкривачем мікробів став голандський комерсант Антоній ван Левенгук (1632 - 1723), Левенгук став першовідкривачем сперматозоїдів, червоних кров'яних тілець, капілярів, завдяки сконструйованому ним першого мікроскопа.

Сучасний складний мікроскоп має систему із об'єктива і окуляра й забезпечує збільшення в сотні разів, межа спроможної здатності його є половиною довжини хвилі видимого світла — 0,2 мкм, тобто 200 нанометрів.

Новий етап в розвитку мікробіології пов'язаний з іменем геніального французького вченого Л. Пастера (1822 - 1895). Про основні роботи Л. Пастера можна судити по напису на меморіальній

дощі на будинку, де розміщувалась лабораторія Пастера в Вищій нормальній школі в Парижі: Тут була лабораторія Пастера.

1857 р. – Бродіння

1860 р. – Самовільне зараження

1865 р. – Хвороби вина та пива

1868 р. – Хвороби шовковичних червів

1881 р. – Зараза і вакцина

1885 р. – Оберігання від сказу

Ідеї Пастера дозволили Джозефу Лістеру в 1867 р. запропонувати антисептичний метод в хірургії, заснований на застосуванні розчину карболової кислоти для знищення мікроорганізмів.

Послідовник Пастера, англійський фізик Джон Тіндаль, повторюючи експерименти Пастера, виявив, що для повної стерилізації достатньо прогрівати при невисокій температурі, але багаторазово, щоб встигали прорости спори бактерій в вегетативні форми, які гинуть при відносно невисокій температурі, в той час, як спори витримували багатогодинне кип'ятіння. Надалі такий метод стерилізації був названий тіндалізацією і широко застосовується зараз.

Пастер зумів геніально запропонувати принцип профілактики інфекційних захворювань шляхом введення атенуйованого (ослабленого) збудника. Вершиною наукового подвигу Пастера заслужено вважається розробка вакцини проти сказу викликаного вірусом, який неможливо було ні побачити в мікроскоп, ні виділити на живильних середовищах.

Роберт Кох (1843 – 1910) - один із основоположників медичної мікробіології. Кох прийняв постулати Генле, які дозволяють визнати мікроорганізм збудником захворювання. Суть тріади «Генле – Коха»:

1) мікроб-збудник, що викликає інфекцію, повинен виявлятися при даному захворюванні і не зустрічатися при інших хворобах і у здорових;

2) збудник повинен бути виділений в чистій культурі;

3) чиста культура мікроба повинна викликати у експериментально заражених тварин захворювання, подібне до захворювання у людини.

Р. Кох відкрив збудника туберкульозу і холери, отримав туберкулін і використав його для діагностики і лікування, відкрив явище нестерильного імунітету і інфекційної алергії, розробив і впровадив метод виділення чистих культур на щільних поживних середовищах, запровадив в мікробіологічній практиці анілінові барвники для фарбування бактерій, вперше застосував імерсійні об'єктиви, вперше використав мікрофотографування. Заслуги Р. Коха перед наукою були відзначені вищим признанням – Нобелівською премією по медицині в 1905 р.

Після основних робіт Пастера і Коха за дуже короткий період в кілька десятиліть були відкриті збудники більшості інфекційних захворювань. Тоді ж були відкриті токсини бактерій, в 1888 році Ру і Йерсен виділили дифтерійний токсин, в 1890 р. Беєринк і С. Кітазато отримали протидифтерійну сироватку, яка врятувала життя багатьом хворим. Цей період називають «золотим віком мікробіології».

3. ОСНОВНІ ПРИНЦИПИ КЛАСИФІКАЦІЇ МІКРООРГАНІЗМІВ

Предмет вивчення мікробіології, світ мікроорганізмів, настільки різноманітний, що за найголовнішу спільну ознаку можна вважати лише їхні мікроскопічні розміри. Мікроорганізми суттєво розрізняються за рівнем організації генетичного матеріалу, за наявністю та складом білоксинтезуючих ферментних систем, за будовою клітинної стінки та іншими властивостями. За цими ознаками всі відомі мікроскопічні істоти діляться на три царства: еукаріот, прокаріот або царство вірусів.

Характерні особливості зазначених царств життя є такі.

Еукаріоти мають диференційоване ядро з ядерною мембраною, ядерцем та апаратом мітозу, мають, як правило, диплоїдний геном, рибосоми 80 S, розвиті внутрішні мембранні структури у

вигляді ендоплазматичної сітки, мітохондрій, лізосом, та інші характерні ознаки, що їх представлено в таблиці 1. Патогенні еукаріотичні мікроорганізми є серед найпростіших і грибів.

Таблиця 1. ДЕЯКІ ВІДМІННІ ВЛАСТИВОСТІ КЛІТИН ПРОКАРІОТ ТА ЕУКАРІОТ

Ознака	Прокаріотична клітина	Еукаріотична клітина
Середній розмір	1-10 мкм	10-100 мкм
Ядро	Аналог ядра - нуклеоїд	Є ядро
Ядерна мембрана	Відсутня	Є
Хромосома	Однакільцева (може бути декілька)	Декілька
Гістони в хромосомі	Відсутні	Є
Тип ділення	Бінарний	Мітотичний
Апарат Гольджі	Відсутній	Є
Рибосоми	70 S	80 S
Клітинна стінка	Утворена пептидогліканом	Містить хітин або целюлозу
Стерини клітинної стінки	Відсутні	Є
Анаеробне дихання	Можливо	Звичайно відсутнє
Фіксація азоту	Можлива	Неможлива
Фагоцитоз і піноцитоз	Відсутні	Є
Стійкість до γ - опромінення	Висока	Низька
Чутливість до антибіотиків	Пеніциліни, аміноглікозиди, тетрацикліни, макроліди	Полієнові

Прокаріоти – це клітинні організми, у яких немає оформленого ядра, їх ядерний апарат організовано значно простіше, ніж у еукаріот, він є гаплоїдним, може вважатися за попередника ядра та має назву «нуклеоїд». Прокаріоти позбавлені апарату мітозу, в їх цитоплазмі немає мембранних структур типу мітохондрій, лізосом, ендоплазматичної сітки, але в їхній клітинній стінці є пептидоглікан, відсутній у еукаріот, є рибосоми 70 S. До патогенних прокаріотів належать бактерії.

Систематика описує види організмів, з'ясовує ступінь спорідненості між ними та об'єднує їх в класифікаційні одиниці (таксони). Останнє входить в задачу складової частини систематики — класифікації.

Таксономія - наука про принципи та методи класифікації організмів. Центральне поняття в систематиці та номенклатурі організмів – вид (species).

Вид – еволюційно сформована сукупність популяцій з подібним генотипом, який за стандартних умов проявляється подібними морфологічними, фізіологічними, біологічними та іншими ознаками.

Генотип виду забезпечує лише відносну стабільність ознак, через те в самому виді розрізняють ще й варіанти мікроорганізмів: морфологічні (морфовари), біологічні (біовари), біохімічні (хемовари або ферментовари), антигенні (сировари) та інші. Наприклад, варіанти, резистентні до антибіотиків, тепер називають резистенсвари.

Види, споріднені генетично, об'єднуються в **підроди (Subgenus)**, підроди – в **роди (Genus)**, роди – в **триби (Tribus)**, триби – в **родину (Familia)**, родини – в **півпорядки (Subordo)**, півпорядки – в **порядок (Ordo)**. Далі йдуть **підкласи (Subclassis)**, **класи (Classis)**, **тип (Phylum)**, **царства (Regnum)** й **домен (Domain)**.

Відповідно підручника Д.Х. Берджі (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology – 9) царство прокариот поділено на 4 відділи, які відрізняються один від одного за будовою клітинної стінки та відношенням до забарвлення за Грамом:

- I. Gracilicutes (грацилікути, або тонкошкірі) - грамнегативні бактерії;
- II. Firmicutes (фірмікути, або товстошкірі) - головним чином грампозитивні бактерії;
- III. Tenericutes (тенерикути, або ніжношкірі, що не мають клітинної стінки)-мікоплазми;
- IV. Mendosicutes (мендосикути, бактерії, більшість яких хоч і має клітинну стінку, але вона не містить пептидоглікану) - до них належать архебактерії. Патогенні для людини бактерії є в порівняно невеликій кількості груп перших трьох відділів. Нижче наводимо тільки такі групи.

4. МОРФОЛОГІЯ БАКТЕРІЙ

До морфологічних властивостей бактерій належать: величина, форма, характер розміщення в препараті, наявність диференційованих структурних елементів - спор, капсул, включень, джгутиків.

Форма бактерій може бути різноманітною. Бактерії за формою поділяються на кулясті, паличкоподібні, спіралеподібні, ниткоподібні та ті, що розгалужуються. Крім форми, важливе значення має характер розміщення клітин у мікроскопічному препараті.

Кулясті (сферичні) бактерії, або коки (грец. kokkos – зерно, кісточка) мають округлу форму. Вони можуть мати правильну сферичну форму, овальну, бобовоподібну (один з країв сплюснений або навіть вогнутий, другий – випуклий), ланцетовидну (один з країв округлий, другий – загострений, має вид ланцету або полум'я свічки). Залежно від розміщення клітин після їхнього ділення коки підрозділяються на групи.

Поліморфізм, або плеоморфізм – це різноманітність морфології бактерій. Яскраво виражений поліморфізм притаманний бактеріям, позбавленим клітинної стінки – мікоплазмам і L-формам, а також нокардієподібним і коринібактеріям, у яких в циклі розвитку спостерігається зміна форм кліток: кок- паличка- кок, можуть бути також і форми, які слабо розгалужуються.

5. УЛЬТРАСТРУКТУРА БАКТЕРІЙ

Морфологічно всі бактерії побудовані за однаковим планом і складаються, як і всі клітинні організми, з ядерного апарату, цитоплазми і оболонки. Крім того, бактерійні клітки можуть мати додатки – джгутики, пілі.

Ядерний апарат бактерій – нуклеоїд, який представлений гігантською молекулою ДНК і має форму замкненого кільця. ДНК знаходиться в супер спіралізованому стані, містить РНК і білок (в основному РНК-полімеразу), 1 – 3 % сухої маси клітини припадає на ДНК. Бактерії можуть також містити в цитоплазмі автономну позахромосомну ДНК у вигляді невеликих колекцій - плазмід, які детермінують синтез білків і ферментів, в тому числі і тих, що забезпечують стійкість бактерій до лікарських препаратів.

Цитоплазма бактерій являє собою напіврідку колоїдну масу, що складається на 70 – 80 % з води, мінеральних сполук, РНК, білків, ферментів, продуктів і субстрат обміну речовин.

Цитоплазма оточена цитоплазматичною мембраною, в ній знаходяться клітинні органели - нуклеоїд, рибосоми, мезосоми, включення.

Рибосоми у бактерій складаються з двох субодиниць 30 S і 50 S, які перед початком синтезу білка об'єднуються в одну розміром 70 S. Рибосоми бактерій можуть бути мішенню для дії багатьох антибіотиків.

Включення – це морфологічно диференційовані частки, які з'являються у цитоплазмі бактерій у процесі життєдіяльності: гранули волютину, ліпопротейні тільця, глікоген, гранульоза, скупчення пігменту, краплини сірки, кальцію гідрокарбонат та ін.

У цитоплазмі деяких бактерій можуть формуватися спори - утворення круглої або овальної форми, які можуть розташовуватися в цитоплазмі або знаходиться у вільному стані після відмирання і лізису вегетативної клітини. Спороутворення властиве деяким мікроорганізмам (бацили і клостридії). Утворюються спори у зовнішньому середовищі при несприятливих для життєдіяльності умовах. Для загибелі спор необхідно автоклавування під тиском 1,5 – 2,0 атмосфери, тобто при температурі 112 – 120 °C, при стерилізації гарячим повітрям спори гинуть при температурі 170 – 180 °C.

Всередині цитоплазми можуть також знаходитися **мезосоми**. Мезосоми являють собою мішкоподібної форми інвагінації цитоплазматичної мембрани. Вважають, що мезосоми виконують функцію додаткових мембранних структур і є функціональними аналогами мітохондрій еукаріот, забезпечують енергією процеси життєдіяльності бактеріальної клітини.

Оболонки бактерій представлені цитоплазматичною мембраною, клітинною стінкою, зовнішнім слизовим шаром, мікрокапсулою або макрокапсулою. Ці структури беруть участь в обміні речовин, через них поступають поживні речовини і виводяться продукти метаболізму, вони виконують утворюючу функцію і захищають клітину від дії шкідливих факторів середовища, зумовлюють поверхневі властивості бактеріальної клітини.

Зовні від цитоплазматичної мембрани знаходиться **клітинна стінка** яка забезпечує постійність форми клітини, її поверхневий заряд, анатомічну цілісність, контакт з навколишнім середовищем, захист від несприятливих зовнішніх впливів, здатність до адсорбції вірусів бактерій, участь в реакціях імунітету.

Основним компонентом клітинної стінки бактерій є **пептидоглікан**, який називають ще «**мурейном**» (від лати. mureus стінка). Кістяк пептидоглікану складається з паралельно розміщених молекул глікану (аміносахарів), які складаються із залишків, N- ацетилглюкозаміну і N-ацетилмурамової кислоти, зв'язаних між собою глікозидними зв'язками. Гліканові молекули зв'язані бічними і поперечними пептидними містками, звідси і назва полімеру пептидоглікан. Бічні ланцюжки представлені тетрапептидами, поперечні пентапептидами.

Склад і будова клітинної стінки є однією з найважливіших диференціальних ознак бактерій, їх можна поділити за здатністю забарвлюватися методом Грама на грампозитивні і грамнегативні.

Клітинна стінка грампозитивних бактерій має однорідну структуру. Вона значно товстіше, ніж у грамнегативних бактерій, її товщина 20 – 60 нм. Основну масу стінки складає пептидоглікан, він може бути представлений 5 - 40 шарами, а не 1 - 2, як у грамнегативних бактерій. На відміну від грамнегативних бактерій в складі клітинної стінки грампозитивних містяться тейхоеві кислоти, які є основними поверхневими антигенами багатьох грампозитивних бактерій, вони виступають назовні через пори пептидоглікану.

Клітинна стінка грамнегативних бактерій значно тонша, її товщина становить 14 – 18 нм, як правило, є один (рідко - два) шар пептидоглікану, відсутні тейхоеві кислоти, міститься багато ліпопротейнів, фосфоліпідів, ліполісахаридів, більше білка.

Подвійний ліпідний шар зовнішньої мембрани складається з ліпідів А, полісахаридів і фосфоліпідів. Полісахаридна частина ліпополісахаридів володіє антигенними властивостями і є О-антигеном грамнегативних бактерій. Ліпополісахарид більшості бактерій токсичний, він є ендотоксином, отруйність якого визначається ліпідом А зовнішньої мембрани.

При обробці грампозитивних бактерій ферментами, що руйнують пептидоглікан (наприклад – лізоцимом), виникають протопласти, тобто структури, повністю позбавлені клітинної стінки. Незалежно від форми вихідних кліток бактерій протопласти завжди набувають сферичну форму. Сферопластами називають бактерійні клітки, частково позбавлені клітинної стінки. Вони виявляються в старих культурах, а також при дії пеніциліну, що порушує синтез клітинної стінки, обробці лізоцимом грамнегативних бактерій, при якій руйнується тільки пептидоглікановий шар, а зовнішня мембрана зберігається. Сферопласти відрізняються від протопластів тим, що вони можуть розмножуватися, легко повертаються в вихідну бактерійну форму. І протопласти, і сферопласти можуть існувати тільки в ізотонічних і гіпертонічних розчинах, в гіпотонічних розчинах вони легко розриваються. Порушення синтезу клітинної стінки лежить в основі L-трансформації бактерій, яка буде розглянута пізніше.

Зовні клітинної стінки всі бактерії оточені слизовим шаром, який захищає клітки від висихання. Якщо слизовий шар досить товстий, міцний і оформлений, його називають капсулою. Морфологічно капсули розрізняють двох типів мікрокапсули (товщиною менше за 0,2 мкм, що виявляються тільки при електронній мікроскопії у вигляді шара мукополісахаридних фібрил) і макрокапсули (більше за 0,2 мкм товщиною, добре помітні при світловій мікроскопії). Більшість капсул складаються з складних полісахаридів, капсули деяких хвороботворних бактерій (збудника сибірки) складаються з полісахаридів і поліпептидів, що містять переважно L- і D-глутамінової кислоти. Капсула захищає патогенні бактерії від чинників резистентності макроорганізму – фагоцитозу, комплементу тощо. Капсулу відносять до зовнішніх (надоболонкових) структур клітки.

До них відносять також структури, які об'єднуються під загальною назвою пілі. Будова і функції пілей різні, у однієї клітки можуть бути присутніми пілі різної природи.

Мікрроворсинки або **фімбрії** (латин. *fimbriae* нитка, бахрома, волокно) білкові волоски (числом від 10 до декількох тисяч на одній клітці) утворені білком піліном, основна функція - прикріплення бактерій до субстрату, вони є фактором колонізації. F-пілі (їх ще називають статевими ворсинами, секс-пілями, донорськими ворсинами), існують в невеликій кількості (1 – 2 на клітину), служать для кон'югації – з їхньою допомогою встановлюється контакт між клітиною-донором і клітиною-реципієнтом і відбувається передача ДНК.

Джгутики (війки) є органом руху бактерій. За кількістю і розміщенню джгутиків бактерії розділяють на монотрихи, з одним полярно розміщеним джгутиком, лофотрихи, це пучок джгутиків на одному полюсі, амфітрихи, з одним або пучком джгутиків на обох полюсах, перитрихи, з великою кількістю (від декількох десятків до 1000 джгутиків), розміщених по всій поверхні клітини.

Джгутики складаються з білка флагеліну, який має антигенну специфічність (H – антиген) і схожий з міозином м'язових клітин. Вони складаються з трьох частин: спіральної нитки, крюка поблизу поверхні клітини і базального тільця. Конструкція джгутика виконує функцію «флагелинового мотора», в якому розміщене в цитоплазматичній мембрані кільце внутрішньої пари діє як привідний диск, а друге кільце цієї пари відіграє роль «підшипника».

Рухливість бактерій має диференціальне значення і досліджується при мікроскопії роздушеної краплі в темному полі зору або за допомогою фазово-контрастної мікроскопії.

Внаслідок того, що товщина джгутиків значно менше роздільної здатності світлового мікроскопа, їх вивчають або при електронній мікроскопії, або за допомогою спеціальних методів забарвлення, що дозволяють збільшити товщину джгутиків (наприклад, срібленням).

Тінкторіальні властивості бактерій (латин. *tinctoria*-фарба) – здібність до забарвлення. Для виявлення бактерій в нативних препаратах використовують мікроскопію в темному полі зору, фазово-контрастну мікроскопію, а також мікроскопію в звичайному світловому мікроскопі з опущеним конденсором. У мікробіології найчастіше застосовують для забарвлення мікроскопічних препаратів анілінові барвники. При простому забарвленні використовують один

барвник (візуалізація бактерій), складні методи забарвлення проводяться із застосуванням ряду барвників і інших речовин в декілька етапів (диференціація).

У 1884 р. Х. Грам запропонував метод забарвлення на відношенні до якого засноване розділення переважної більшості бактерій на грацилікутні (грамнегативні) і фірмікутні (грампозитивні). Техніку різних методів забарвлення бактерій здобувачі детально вивчають на практичних заняттях.

6. ФІЗІОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

ФІЗІОЛОГІЯ БАКТЕРІЙ вивчає фізичні, хімічні та біологічні процеси в бактеріальній клітині, а також фізичні, хімічні й біологічні перетворення, викликані бактеріями в навколишньому середовищі.

Життєдіяльність бактерій забезпечують відповідні клітинні структури (цитоплазма, оболонки, апарат ядра, органоїди) і хімічний склад. Бактерії містять воду (75 – 85 % в вегетативних клітинах, 40 – 50 % в спорах) та сухий залишок. Сухий залишок містить мінеральні речовини (2 – 14 %) й органічну частину, яка складається з 50 – 75 % білків, на 10 – 30 % нуклеїнових кислот (ДНК та РНК), 12 – 28 % з вуглеводів, включаючи полісахариди, з 10 – 40 % ліпідів. Бактерії містять основні хімічні елементи — органогени (С, Н, О, Р, S, N) і мікроелементи.

ЖИВЛЕННЯ БАКТЕРІЙ. Находження поживних речовин у бактеріальну клітину відбувається без енергетичних витрат, за рахунок пасивної дифузії (по градієнту концентрації) або полегшеної дифузії (за допомогою ферментоподібних білків — пермеаз).

Необхідна обставина — сприйнятлива форма поживних речовин, у якій вони можуть бути засвоєні мікроорганізмом. Згідно цього ми виділяємо три різних типи живлення мікроорганізмів. **Автотрофи (аутотрофи)** використовують за єдине джерело вуглецю — CO₂, для **гетеротрофів** джерелом вуглецю є різноманітні органічні, вуглецевмісні сполуки. В свою чергу гетеротрофи поділяють на **метатрофи** (які потребують відносно простих органічних сполук й використовують мертвий поживний матеріал, їх називають «сапрофіти») й **паратрофи**, або «паразити» (які потребують складних сполук, які здебільшого знаходяться тільки в живих істотах). Згідно типу живлення всі бактерії поділяють, залежно від вимог до поживних середовищ, на невибагливі (розмножуються на загальних, універсальних, простих поживних середовищах) й вибагливі (потребують особливих поживних середовищ).

ДИХАННЯ БАКТЕРІЙ.

За типом дихання всі мікроорганізми поділяють на 4 групи.

Облігатні аероби потребують вільного кисню у високій концентрації (біля 21 %). Прикладом може бути *Pseudomonas aeruginosa* — синьогнійна паличка.

Мікроаерофіли в невеликій кількості потребують кисню, висока концентрація кисню хоч і не вбиває бактерій, але може затримувати їх ріст. Такі бактерії не ростуть в аеробних та анаеробних умовах, вміст кисню може бути 1 – 15 %. Як правило, такі бактерії ростуть краще при більш високій концентрації вуглекислого газу (10 – 15 %). Прикладом можуть бути *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*, лептоспіри.

Виділяють також **капнофіли**, наприклад *Brucella abortus* — збудник бруцельозу великої рогатої худоби та людини, який у перших генераціях виростає лише в присутності високої концентрації CO₂.

Факультативні анаероби, або факультативні аероби, здатні змінювати тип дихання з аеробного на анаеробний, найбільше зустрічаються серед патогенних мікроорганізмів — коки, ентеробактерії, вібріони та багато інших.

Облігатні анаероби отримують енергію при відсутності кисню, за рахунок прискореного, але не повного розщеплення поживних речовин внаслідок субстратного фосфорилування.

Для вирощування суворих анаеробів застосовують три способи культивування: в анаеростаті (спеціальний прилад, з якого можна відкачувати повітря або замінювати його інертним газом), в спеціальному поживному середовищі Кітта-Тароцці (пробірка з глюкозним

бульйоном і шматочками печінки, залита зверху вазеліновим маслом), в товщі глюкозного поживного агару (в високих пробірках, трубках Буррі, трубках Віньяль-Вейона), одноразові полімерні пакети або коробки, у яких утворюються потрібні умови відсутності кисню або підвищеного вмісту вуглекислого газу завдяки спеціальним хімічним регенераторам.

КУЛЬТИВУВАННЯ БАКТЕРІЙ.

Чиста культура — культура одного виду мікроорганізмів. Культура може бути змішаною, якщо складається з декількох видів мікроорганізмів.

Клон — мікробна популяція, отримана шляхом вегетативного розмноження однієї клітини. По визначенню клонова культура повинна складатись з бактерій, ідентичних за генотипом та фенотиповими ознаками.

Штам — культура мікроорганізмів, виділена з певного джерела.

Штами бактерій, отримані з різних джерел, практично можуть не відрізнятися, але деякі штами можуть мати суттєві відмінності.

Для росту й розмноження бактерій необхідно створити спеціальні умови, для кожного виду бактерій — певні:

1. Відповідне живильне середовище. Вимоги до поживного середовища: вміст необхідних поживних речовин в формі засвоєння, відповідної рН (найчастіше слаболужної, 7,2–7,6), необхідна консистенція (рідкі, густі, напіврідкі середовища), стерильність, якщо можливо — прозорість, зручна розфасовка, економічність. За призначенням поживні середовища класифікують на 5 груп (таблиця 2).

2. Певні умови аерації. В залежності від типу дихання бактерій їм необхідно створити відповідні умови аерації.

3. Певна температура. Потрібні температурні умови створюються в термостатах. Більшість патогенних мікроорганізмів є мезофілами й оптимальна температура для них становить 37 °C (температура тіла людини). Проте є й винятки. Наприклад, для збудників чуми та ієрсиніозу оптимальна температура — 25-28 °C.

4. Відсутність шкідливих впливів. Ріст та розмноження бактерій можливий тільки в тому випадку, якщо нема шкідливого впливу на мікроорганізми. Фактори навколишнього середовища можуть згубно впливати на бактерії з такою силою, що бактерії не зможуть не тільки розмножуватись, але й жити.

Таблиця 2. КЛАСИФІКАЦІЯ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ

Вид поживного середовища	Призначення поживного середовища	Приклади поживних середовищ
Прості (основні)	Для культивування невибагливих мікроорганізмів	МПБ, МПА
Спеціальні	Для культивування вибагливих мікроорганізмів	Глюкозний МПБ, сироватковий МПБ, кров'яний МПА
Диференційно - діагностичні	Для диференціювання мікроорганізмів за біохімічними властивостями	Середовища Ендо, Левіна, Гісса
Елективні	Для переважного накопичення певних мікроорганізмів, в той час як ріст інших пригнічено	Лужна пептонна вода, середовище РУ, Плоскирева Мюллера
Консервуючі	Для збереження життєдіяльності мікроорганізмів під час транспортування в лабораторію	Гліцерінова суміш

7. РІСТ І РОЗМНОЖЕННЯ БАКТЕРІЙ

Якщо проаналізувати число живих клітин після засіву бактерій на рідке поживне середовище в залежності від часу, то можна побудувати криву росту бактеріальної культури. Розрізняють 8 фаз, та більш наглядно виділяти 5 основних.

I. Фаза адаптації або початкова стаціонарна фаза. В цей час не відбувається розмноження бактерій, йде пристосування до поживного середовища, інколи навіть зменшується число живих клітин за рахунок відмирання таких, які пройшли вершину своєї біологічної активності.

II. Фаза логарифмічного росту, коли йде експоненціальне збільшення числа живих клітин за рахунок розмноження. Логарифм концентрації живих клітин зростає пропорційно часу.

III. Фаза стаціонарного максимуму. В цій фазі зберігається приблизно постійне число живих клітин внаслідок того, що число відмерлих клітин зрівнюється з числом знову утворених. Культура досягає М-концентрації, максимальної концентрації. М-концентрація величина постійна для певного виду бактерій в певних умовах.

IV. Фаза логарифмічного відмирання, коли гине маса бактерій, логарифм їх концентрації зменшується пропорційно до часу.

V. Фаза спокою. Поступово сповільнюється швидкість відмирання бактерій, окремі клітини зберігають життєдіяльність якийсь час, але потім культура гине повністю. Звичайно, спороутворюючі бактерії можуть переходити в стан спори й невизначено довгий час зберігати життєдіяльність в такому стані.

8. ГЕНЕТИКА МІКРООРГАНІЗМІВ

Генетика мікроорганізмів — наука про закони спадковості і мінливості мікроорганізмів, тобто про те, як успадковуються ознаки у мікроорганізмів і як відбувається їх зміна.

Таблиця 3. КЛАСИФІКАЦІЯ ФОРМ МІНЛИВОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ

Підстава для класифікації	Мінливість
ЗА ХАРАКТЕРОМ ОЗНАК, ЩО ЗМІНЮЮТЬСЯ	Властивостей: • Морфологічних; • Тинкторіальних; • Культуральних; • Біохімічних; • Біологічних; • Серологічних; • Фаголізабельних; • Бактеріоциногенних; • Чутливості до лікарських препаратів.
ЗА ДІАПАЗОНОМ МІНЛИВОСТІ	Внутрішньовидова неспадкова; Внутрішньовидова спадкова; Видоутворююча.
ЗА МЕХАНІЗМОМ МІНЛИВОСТІ	Мутаційна: • Спонтанні; • Індуковані мутації; Адаптивна: • Модифікація; • Тривала модифікація; Комбінативна: • Трансформація;

	• Трансфузія; • Лізогенна конверсія; • Кон'югація.
--	--

Таблиця 4. ВЛАСТИВОСТІ КЛІТИН З S — ТА R-КОЛОНІЙ

S тип	R-тип
Колонії гладенькі, правильні, випуклі	Колонії шорсткі, нерівні, сплюснені
Колонії утворюють дочірні вузлики	Рідко утворюють дочірні вузлики
У рухомих видів є джгутики	У рухомих видів джгутиків може не бути
У капсульних видів добре помітний слизовий шар	Капсули можуть не утворюватися
За біохімічними властивостями більш активні	За біохімічними властивостями менш активні
У більшості патогенних видів вірулентна стадія	Слабко або зовсім не вірулентна стадія
Звичайно виділяється у гострому періоді захворювання	Зв'язаний більшою мірою із хронічними формами захворювання та здоровим носійством
Чутливі до фагу	Менш чутливі до фагу
Фагоцитуються слабо	Легко фагоцитуються

Більшість патогенних бактерій має вірулентність в S-формі а при переході в R-форму їхня вірулентність знижується. Деякі бактерії, навпаки, є вірулентними в R-формі. До них відносяться збудники чуми, туляремії, сибірки, туберкульозу, дифтерії, стрептокок і деякі інші.

Своєрідною формою мінливості є перехід бактерій в L – форму, вони втрачають здатність утворювати клітинну стінку, перетворюються на гігантські кулі, які розшнуровуються на дрібні, авізуальні форми, що фільтруються.. Можлива реверсія L – форм у початковий вид.

Ген — функціональна і структурна одиниця генотипу (ділянка молекули нуклеїнової кислоти), що контролює синтез одного поліпептидного ланцюга.

Генотип — система самовідтворюючих структур (генів), що контролюють обмін речовин і здійснюють передачу ознак у ряді поколінь. У цьому визначенні підкреслюється функція генотипу.

Фенотип — комбінація ознак в конкретних умовах існування. У фенотипі проявляється лише частина ознак, закладених в генотипі, тому потенційні можливості генотипу завжди ширші фенотипічного прояву ознак.

Необхідно відмітити, що **генетика мікроорганізмів — популяційна генетика**. Генетика мікроорганізмів вивчає звичайно не властивості окремих особин, а властивості популяції мікроорганізмів. Це пов'язано не стільки із складністю вивчення властивостей окремих мікроорганізмів, оскільки з тим, що мікробні популяції завжди гетерогенні і містять мікроорганізми, які іноді суттєво відрізняються за рядом ознак. Швидке розмноження мікроорганізмів, гаплідність генів, відсутність надійних механізмів стабілізації генетичного матеріалу ведуть до швидкої мінливості мікробів, тому навіть клонові культури невдовзі стають гетерогенними.

Генетичний код:

- 1.Триплетний (одну амінокислоту кодують три нуклеотиди).
2. Той, що не перекривається (нуклеотид, що входить до одного триплету, не може брати участь в утворенні наступного триплету).

3. Той, що не має ком (триплети нічим не розділяються, випадіння одного нуклеотиду робить беззмисловою наступну інформацію, але при випадінні повністю одного триплету зміст інформації може не згубитися, лише в цьому місці буде відсутньою одна амінокислота).

4. Вироджений (одну амінокислоту можуть кодувати кілька різних триплетів, що забезпечує велику стійкість генетичного кода, не всяка зміна триплету змінює зміст інформації).

Перенесення спадкової інформації йде згідно з формулою Ф.Кріка: **ДНК – РНК – білок**.

До цієї формули тепер додано процес зворотньої транскрипції — побудова ДНК-ової копії РНК за допомогою РНК-залежної ДНК-полімерази, відкритої у онкогенних вірусів Г. Теміним у 1970 році.

Плазмід — позакромосомні генетичні елементи, що являють собою невеликі замкнені в кільце нитки ДНК в. Плазмід можуть знаходитися в цитоплазмі в автономному, вільному або можуть бути вбудовані до складу хромосоми, тоді їх називають **епісомами**.

У теперішній час описано декілька десятків плазмід. Ми можемо зупинитися лише на деяких: профагу, F-плазміді, плазміді бактеріоциногенності і R-плазміді.

Профаг може служити моделлю плазмід, тому що він здатний існувати в автономному й інтегрованому стані і не є обов'язковим генетичним елементом бактерій. Із інтегруванням профагу в бактеріальну хромосому і надбанням бактеріями лізогенних властивостей одночасно у бактерій можуть проявлятися нові властивості, привнесені профагом. Цей процес називають лізогенною конверсією. Наприклад, дифтерійна паличка є токсигенною лише тоді, коли вона лізогенна (токсигенна конверсія).

F-плазміда, або статевий фактор (фактор фертильності, плодовитості), контролює синтез статевих ворсинок. Бактеріальна клітина, яка має F-плазмиду, утворює кон'югативні ворсини, за допомогою яких встановлюється зв'язок між F^+ («чоловічими») та F^- («жіночими») клітинами і по яких відбувається передача генів під час кон'югативного процесу, аналогові статевому процесу у бактерій.

Бактеріоциногенні плазмід контролюють синтез антибіотичних речовин бактеріоцинів. **Бактеріоцини** згубно діють на бактерії того ж або близьких видів, які не мають фактору бактеріоциногенності.

R – плазміда, фактор лікарської стійкості — визначає стійкість бактерій до одного або ж багатьох лікарських препаратів.

Транспозони являють собою послідовності в декілька тисяч пар нуклеотидів, які несуть генетичну інформацію для транспозиції.

Is – послідовності (англ. insertion — вставка, sequence — послідовність), являють собою фрагменти ДНК довжиною в 100 пар і більше нуклеотидів, що містять інформацію лише для транспозиції, переміщення в різні ділянки ДНК.

Мутаційна мінливість.

Мутації — швидкі, неспрямовані, випадкові зміни властивостей мікроорганізмів, зв'язані зі змінами в генотипі. Їх умовно поділяють на спонтанні й індуковані.

Спонтанні мутації відбуваються з невеликою частотою (10^{-4} – 10^{10}). Вони з'являються під впливом різноманітних причин: мутагенного фону випромінювань, помилок в реплікації нуклеїнових кислот, включення в бактеріальну хромосому плазмід, транспозонів, Is — послідовностей та інші.

Індуковані мутації виникають під впливом мутагенних факторів (рентгеновського, гамма-, ультрафіолетового випромінювання, дії радіоміметиків) з більшою частотою (10^{-4} – 10^{-2}).

Мутації можуть бути нейтральними (що не проявляються у фенотипі), умовно-летальними та летальними (з повною втратою життєздатності). Внаслідок мутацій змінюються різноманітні властивості мікроорганізмів, наприклад, здатність продукувати певні ферменти, чутливість до лікарських препаратів та інші

Адаптивна мінливість.

Адаптивна мінливість (модифікаційна) — це фенотипічні зміни ознак мікроорганізмів, що не супроводжуються змінами структури геному і незабаром втрачаються. Вони є пристосувальними у відповідь на мінливі умови зовнішнього середовища і зумовлені індукцією або репресією відповідних генів.

Яскравим прикладом модифікації може служити утворення під впливом пеніциліну L-форм бактерій, здатних реверсувати в початкову форму після припинення дії пеніциліну. Модифікаційні зміни не успадковуються, тому що не зв'язані зі структурними змінами генотипу.

Комбінативна форма мінливості є геномною, вона успадковується і може відбуватися при процесах трансформації, трансдукції (а також лізогенної конверсії) і кон'югації.

Трансформація — перетворення одного різновиду бактерій в інший у результаті безпосередньої передачі фрагменту ДНК від клітини-донора до клітини-реципієнта.

Трансдукція — перенесення спадкових ознак за допомогою бактеріофагу.

Кон'югація — перенесення спадкових ознак з клітини-донора до клітини-реципієнта при їх безпосередньому контакті, схрещуванні.

ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ І ГЕННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ.

Для утворення генно-інженерних бактерій необхідно виконати наступні основні кроки:

1. ДНК, що містить індивідуальний ген, якій використовується для трансплантації, повинна бути виділена з організму донора, або, в деяких випадках, може бути синтезована з нуклеотидів в лабораторних умовах.

2. Повинна бути виділена плазмідна ДНК (екстрахромосомна циклічна ДНК), що служить вектором для переносу індивідуального гену.

3. І донорську, і плазмідну ДНК обробляють ферментом, рестрикційною ендонуклеазою, яка розщеплює або розрізає ДНК так, щоб утворилися комплементарні розгорнуті кінці («липкі кінці»). Ці кінці можуть з'єднуватися з іншими фрагментами ДНК, що мають такі ж комплементарні липкі кінці.

4. «Липкі» кінці уламку донорської ДНК сполучаються з липкими кінцями плазмідної ДНК, формуючи таким чином модифіковану плазмиду з фрагментом ДНК – донора.

5. Плазмиду додають до суспензії бактерій-реципієнтів, які сприймають плазмиду в процесі трансформації. Ці бактерії, що містять плазмиду, ідентифікують та ізолюють.

6. Після цього ідентифікують колонії бактерій, що містять плазмиди, які або мають ген або здатні виробляти продукт трансплантованого гену.

7. Генно-інженерні бактерії розмножують у великій кількості, виділяють з культури і очищають продукт (білок) трансплантованого гена.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекцій: питання, тести, ситуативні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекцій:

Проблемне питання на початку: «Мікоплазми не мають клітинної стінки, тому β -лактамі антибіотики на них не впливають. Як розуміння структури клітинної стінки бактерій допомагає об'яснити механізми дії різних антибіотиків та їхню селективність до різних видів мікроорганізмів?»

Інтерактивне питання: «*Streptococcus mutans* формує біоплівки на поверхні зубів та продукує молочну кислоту, що демінералізує емаль. Як знання про метаболізм цього мікроорганізму (гліколіз, кислотопродукцію) та механізми його адаптації до кислого середовища допомагає розробити більш ефективні стратегії профілактики карієсу?»

Питання для роздумів: «Біотехнологія дозволяє отримувати рекомбінантні вакцини та терапевтичні білки за допомогою генної інженерії. Проте часто виникають питання щодо безпеки та етики таких препаратів. Як лікар повинен інформувати пацієнтів про те, що вакцина отримана за допомогою генної інженерії, але не містить генно-модифіковану ДНК?»

Клінічне питання: «При тривалій антибіотикотерапії широкого спектру часто розвивається

дисбіоз кишечника за рахунок горизонтального переносу генів антибіотикорезистентності. Як розуміння механізмів генетичної мінливості бактерій та трансдукції допомагає прогнозувати та запобігати цьому явищу?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Визначте предмет і завдання медичної мікробіології. Яке значення має ця дисципліна для стоматологічної практики?
2. Перерахуйте основні етапи розвитку мікробіології. Які відкриття Л. Пастера, Р. Коха, І. Мечникова мали найбільше значення?
3. Опишіть основні морфологічні форми бактерій. Наведіть приклади патогенних мікроорганізмів кожної форми, що мають значення в стоматології.
4. Поясніть будову бактеріальної клітини. Які структурні компоненти є обов'язковими, а які факультативними?
5. Порівняйте будову клітинної стінки грам-позитивних та грам-негативних бактерій. Як ці відмінності впливають на вибір антибіотикотерапії?
6. Що таке капсула, джгутики, пілі? Яке значення цих структур для вірулентності бактерій?
7. Охарактеризуйте хімічний склад бактеріальної клітини (білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди, вуглеводи).
8. Поясніть різницю між анаболізмом та катаболізмом у бактерій.
9. Опишіть типи живлення бактерій (автотрофи, гетеротрофи; аероби, анаероби, факультативні анаероби).
10. Що таке бактеріальні ферменти? Наведіть приклади ферментів патогенності.
11. Поясніть механізми продукції енергії в бактеріях: аеробне дихання, анаеробне дихання, бродіння.
12. Опишіть будову бактеріального геному. Що таке нуклеоїд, плазмід?
13. Які типи мутацій у бактерій ви знаєте? Яке значення мутацій для розвитку антибіотикорезистентності?
14. Охарактеризуйте механізми горизонтального переносу генів: трансформація, трансдукція, кон'югація.
15. Поясніть сучасну систему класифікації мікроорганізмів. Що таке домени, царства, типи, класи, родини, роди, види?
16. Яке значення має молекулярна таксономія (аналіз 16 S рРНК, повногеномне секвенування) для класифікації бактерій?
17. Визначте поняття "біотехнологія" та "генна інженерія". Які біотехнологічні продукти застосовуються в медицині?
18. Як створюють рекомбінантні білки (інсулін, інтерферони, фактори росту)?
19. Які перспективи застосування генетично модифікованих мікроорганізмів у стоматології?
20. Що таке CRISPR/Cas9? Які можливості ця технологія відкриває для медицини?

Список джерел до теми:

Основні:

1. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.
2. Ширококов В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.

Додаткові:

3. Samaranayake L.P. Essential microbiology for dentistry. Churchill Livingstone Elsevier, 2018, 5th ed.: 1-400.
4. Davies J., Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2010, 74(3): 417-433.

ЛЕКЦІЯ

«ВЧЕННЯ ПРО ІНФЕКЦІЮ. ІМУННА СИСТЕМА ОРГАНІЗМУ. АНТИГЕНИ, ВЛАСТИВОСТІ. АНТИГЕНИ МІКРООРГАНІЗМІВ. АНТИТІЛА, СТРУКТУРА. КЛАСИ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ. ЗАКОНОМІРНОСТІ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ. ВЗАЄМОДІЯ КЛІТИН ІМУННОЇ СИСТЕМИ В ІМУННІЙ ВІДПОВІДІ»

Актуальність теми: Розуміння механізмів інфекційного процесу та імунної відповіді є фундаментальною основою для клінічної практики лікаря-стоматолога. Інфекційні захворювання порожнини рота (карієс, пародонтит, періостит, абсцеси) розвиваються внаслідок порушення балансу між мікробною агресією та імунним захистом. Місцевий імунітет ротової порожнини, зокрема секреторний IgA у слині, є першою лінією захисту проти патогенів. Хронічні запальні процеси в пародонті демонструють складну взаємодію між мікробіомом та імунною системою, де надмірна імунна активація призводить до деструкції тканин. Знання про антигени мікроорганізмів необхідне для розуміння серологічної діагностики інфекцій. У сучасній стоматології все частіше працюють з імунокомпрометованими пацієнтами (ВІЛ-інфекція, трансплантація органів, імуносупресивна терапія), що вимагає глибокого розуміння імунної системи для прогнозування ускладнень та вибору тактики лікування.

Мета:

Навчальна мета:

- Сформувати уявлення про інфекційний процес, його стадії та форми
- Ознайомити з організацією та функціонуванням імунної системи
- Вивчити будову та властивості антигенів і антитіл
- Пояснити механізми вродженого та адаптивного імунітету
- Розкрити взаємодію клітин імунної системи в формуванні імунної відповіді
- Показати особливості місцевого імунітету порожнини рота

Виховна мета:

- Сформувати розуміння важливості імунного статусу пацієнта для планування стоматологічного лікування
- Виховати відповідальне ставлення до пацієнтів з імунодефіцитними станами
- Розвинути клінічне мислення на основі імунологічних знань

Основні поняття (перелік питань):

Інфекційний процес – сукупність взаємодій між мікроорганізмом та макроорганізмом, що включає адгезію, колонізацію, інвазію, вироблення факторів вірулентності та розвиток імунної відповіді

Імунна система – комплекс органів, тканин та клітин, що забезпечують розпізнавання та елімінацію чужорідних антигенів, підтримання генетичного гомеостазу

Вроджений імунітет – неспецифічний захист (фізичні бар'єри, фагоцити, система комплементу, природні кілери, цитокіни), що діє негайно без попереднього контакту з патогеном

Адаптивний імунітет – специфічний імунітет, опосередкований Т- та В-лімфоцитами, з формуванням імунологічної пам'яті

Антиген – речовина, здатна специфічно взаємодіяти з антитілами або Т-клітинними рецепторами та індукувати імунну відповідь

Антигени мікроорганізмів – структурні компоненти бактерій (ліполісахариди, пептидоглікан, капсульні полісахариди, білки, джгутики) та вірусів (капсидні та оболонкові білки)

Антитіла (імуноглобуліни) – глікопротеїни, що продукуються В-лімфоцитами (плазматичними клітинами) і специфічно зв'язуються з антигенами

Структура антитіл – два важких та два легких ланцюги, з'єднані дисульфідними зв'язками,

що утворюють Y-подібну структуру з Fab-фрагментами (антигензв'язувальні) та Fc-фрагментом (ефекторний)

Класи імуноглобулінів:

IgM – перші антитіла первинної імунної відповіді, пентамерна структура

IgG – основний клас антитіл вторинної відповіді, проникають через плаценту

IgA – секреторний імуноглобулін слизових оболонок (включаючи порожнину рота), димерна форма

IgE – медіатор алергічних реакцій та протипаразитарного імунітету

IgD – рецептор на поверхні В-лімфоцитів

Первинна і вторинна імунна відповідь – характеризуються різною швидкістю, інтенсивністю та класами антитіл

Антигенпрезентуючі клітини (АПК) – дендритні клітини, макрофаги, В-лімфоцити, що презентують антигенні пептиди у комплексі з МНС

Т-хелпери (CD4+) – регулюють імунну відповідь через секрецію цитокінів (Th1, Th2, Th17 субпопуляції)

Цитотоксичні Т-лімфоцити (CD8+) – знищують інфіковані вірусами або пухлинні клітини

Взаємодія клітин імунної системи – кооперація між АПК, Т-хелперами та В-лімфоцитами для ефективної гуморальної відповіді; активація макрофагів Т-хелперами для клітинного імунітету

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

Інфекція (інфекційний процес) — це еволюційно утворена форма взаємодії патогенного мікроорганізму зі сприйнятливим макроорганізмом в певних умовах зовнішнього та соціального середовища, крайнім ступенем якої є інфекційна хвороба.

Процеси, спричинені найпростішими та гельмінтами, прийнято називати не інфекціями, а **інвазіями**.

Збудник інфекційного захворювання — мікроорганізм, що спричиняє це захворювання.

Патогенні мікроорганізми — це мікроорганізми, здатні спричиняти інфекційний процес.

Умовно-патогенні мікроорганізми — мікроорганізми, здатні спричиняти захворювання лише за певних умов. Вони найчастіше є природними мешканцями організму людини і викликають захворювання при різкому зниженні загальної та місцевої несприйнятливості організму.

Непатогенні (апатогенні) мікроорганізми — сапрофітні мікроорганізми, які, як правило, нездатні спричиняти захворювання.

Патогенність — потенційна здатність певних мікроорганізмів спричиняти інфекційний процес.

Патогенність — **генотипова** ознака, яка обумовлена відповідним набором генів.

Вірулентність — кількісна міра патогенності певного штаму мікроорганізму. Це — **фенотиповий** прояв патогенного генотипу. Для характеристики вірулентних властивостей мікроорганізмів використовують умовні одиниці вірулентності: — D_{1m}, D_{cl}, L_{d50}.

ФАКТОРИ ВІРУЛЕНТНОСТІ:

- **адгезивність** (лат. adhaesio – прилипаю);
- **інвазійність** (лат. invasio – вторгнення);
- **агресивність** (лат. aggressio – напад);
- **токсичність**.

Адгезивність (прилипливість) забезпечується взаємодією між **адгезинами** та клітинними рецепторами.

Рецептори клітин поділяють на **нативні, індуковані й набуті**.

Інвазійність збудника забезпечується продукцією ферментів, що руйнують тканини.

Агресивність збудника забезпечує йому здатність долати захисні бар'єри організму, перед усім — фагоциткування нейтрофілами та макрофагами.

Токсичність мікроорганізмів-збудників обумовлюється утворенням отруйних речовин — токсинів.

Екзотоксини — токсини білкової природи, які більш — менш легко дифундують із бактеріальної клітини, накопичуючись у культуральному середовищі й надходячи в тканини та рідини макроорганізму.

Ендотоксини міцно зв'язані з бактеріальною клітиною і можуть виділятися лише при їхньому розпаді.

Таблиця 1. ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРІАЛЬНИХ ТОКСИНІВ

Екзотоксини	Ендотоксини
Білки, деякі мають властивості ферментів і отримані в кристалічному стані	Глюцидо-ліпідно-протеїнові комплекси
Продукуються бактеріями назовні	Міцно зв'язані з тілом бактерій і виділяються при їх розпаді
Високотоксичні, характеризуються вибірковістю дії	Менш токсичні, токсична дія різних ендотоксинів практично не розрізняється
Термолабільні	Термостабільні
Переходять в анатоксини під дією формаліну	Під дією формаліну в анатоксини не переходять
Повністю нейтралізуються антитілами — антитоксинами	Нейтралізація антитілами неповна

У розвитку інфекційного процесу прийнято розрізняти 4 періоди.

Інкубаційний період (лат. incubo – перебуваю в спокої) — час від проникнення збудника до перших клінічних проявів захворювання. **Продромальний період** (грец. prodromos – предтеча) — період передвісників захворювання, коли з'являються перші, часом невиразні симптоми хвороби

Розпал хвороби — період основних клінічних проявів захворювання.

Кінець хвороби — період закінчення інфекційного процесу. Кінці можуть бути різними: реконвалесценція (одужання), летальний кінець (смерть), хронізація процесу (перехід у хронічне захворювання), перехід у здорове мікробоносійство (збереження і виділення збудника з організму при відсутності клінічних проявів захворювання).

Збудник проникає в сприйнятливий макроорганізм через **вхідні ворота**. Далі він поширюється в макроорганізмі різними шляхами: **гематогенним** (з кров'ю), **лімфогенним** (через лімфатичну систему), **нейрогенним** (через периневральні піхви), **фізіологічними шляхами**.

Бактеріємія — циркуляція бактерій в крові без їх розмноження. При **септицемії** відбувається розмноження мікроорганізмів в крові, при **септикопіємії** одночасно з розмноженням мікробів спостерігаються метастази гнійних осередків в тканинах організму. Нарешті, клініцисти розрізняють ще **сепсис** — перебування мікробів у крові на фоні різкого зниження захисних сил організму. **Виділення збудника** із організму може відбуватися з калом, сечею, харкотинням, гнійним виділеннями протягом інкубаційного періоду, продрами, розпалу і реконвалесценції, що забезпечує тривалий період заразливості інфекційного хворого.

Інфекція може виявлятися в різних формах.

Таблиця 2 ФОРМИ ІНФЕКЦІЇ

Ознака	Форми інфекції
Природа збудника:	• бактеріальна, • вірусна, • грибова, • протозойна
Походження:	• екзогенна, • ендогенна, • аутоінфекція
Локалізація збудника в організмі хазяїна:	місцева (осередкова), загальна (генералізована): • бактеріємія, • септицемія (сепсис), • септикопіїмія, • токсико-септичний шок, • вірусемія
Число видів збудника:	• моноінфекція, • змішана інфекція, • вторинна інфекція
Повторні захворювання:	• реінфекція, • суперінфекція, • рецидив
Клінічні прояви:	• гостра, • хронічна, • мікробоносійство, • маніфестна, • безсимптомна
Джерело інфекції: • людина • тварина, • зовнішнє середовище	• антропоноз • зооноз • сапроноз

Епідемічний процес — процес поширення інфекційних захворювань серед населення.

Епідемічна низка, що забезпечує поширення захворювання, включає три фактори: **джерело** і резервуар інфекції, **механізм передачі** й **сприйнятливий населення**.

Механізм передачі включає шляхи передачі й фактори передачі. За пропозицією академіка Л.В. Громашевського, інфекційні захворювання класифікують за основними шляхами передачі:

- кишкові інфекції (фекально-оральний шлях передачі);
- інфекції дихальних шляхів (повітряно — крапельний);
- кров'яні інфекції (трансмисивний);
- інфекції шкіри (контактний);
- інфекції з різними (багато якими) шляхами передачі.

За характером поширення інфекційні хвороби можуть бути **спорадичними, епідеміями і пандеміями**.

ІМУННА СИСТЕМА ОРГАНІЗМУ

Імунна система має **центральні** (тимус, кістковий мозок) та **периферійні органи** (лімфовузли, селезінка, накопичення лімфоїдної тканини в кишечнику та інших місцях організму), зв'язані між собою лімфо - та кровообігом.

Імунна система - система лімфоїдно-макрофагальних клітин, вона складається з системи моноклеарних фагоцитів (СМФ), Т- та В-систем лімфоїдної тканини. **Особливості імунної системи:**

1. Постійна **рециркуляція** клітин з центральних в периферійні органи, потім - в тканини та знову повернення в лімфообіг та кровообіг.

2. Постійна **репопуляція** клітин, що забезпечує здійснення функції імунологічного нагляду молодими, функціонально повноцінними клітинами та дає можливість адекватної відповіді на мінливу антигенну ситуацію.

ВИДИ ІМУНІТЕТУ

ІМУНІТЕТ			
Видовий		Набутий	
Природний		Штучний	
активний	пасивний	активний	пасивний

Розрізняють такі форми прояву імунітету: **антибактеріальний, антитоксичний, протівірусний, протипаразитарний, протипухлинний, трансплантаційний.**

Протиінфекційний імунітет в принципі може бути **стерильним та нестерильним (інфекційним).**

Клітинна форма захисту, або тканинна, включає захисні механізми, зв'язані з фагоцитозом, бар'єрною функцією шкіри, слизових, лімфовузлів та інших тканин, а також діяльністю спеціалізованих клітин лімфоїдної системи (антиген-реактивних Т-лімфоцитів).

Фагоцитоз - поглинання та перетравлення часток спеціалізованими клітинами-фагоцитами. Процес фагоцитозу включає декілька стадій:

1. **Хемотаксис**
2. **Адгезія**
3. **Ендоцитоз**

4. **Внутрішньоклітинне перетравлення** відбувається в **фаголізосомах**, які утворюються в результаті злиття **фагосоми** з клітинними **лізосомами**, всередині яких знаходяться бактерицидні фактори фагоциту.

І. І. Мечников виділив дві форми фагоцитів – **макрофаги та мікрофаги.**

До мікрофагів відносять нейтрофільні гранулоцити. Виділяють рухомі макрофаги (моноцити, полібласти, гістіоцити) та нерухомі (купферовські клітини печінки, клітини ендотелію капілярів, клітини строми селезінки та лімфовузлів, альвеолярні макрофаги та ін.).

До клітинних факторів необхідно віднести також шкіру та слизові, які виконують не тільки механічну бар'єрну функцію, але й мають виражений мікробіцидний ефект.

Усі ці клітинні фактори є неспецифічними захисними факторами. До них також треба віднести нульові лімфоцити-кілери.

Специфічні клітинні захисні фактори - сенсibiliзовані антигенреактивні Т-лімфоцити.

Гуморальна форма захисту обумовлена неспецифічними (системою комплементу, лізоцимом, бета-лізінами тощо) та специфічними (антитілами) речовинами, що циркулюють у рідинах організму.

Комплемент - складний комплекс білків плазми (близько 20), який має протимікробну та цитотоксичну дію. Для нього є характерним те, що цей комплекс звичайно знаходиться у неактивному стані та не чинить будь-якої помітної дії. Відомі два шляхи активації комплементу -

класичний та альтернативний. **Класичний шлях активації комплементу** здійснюється комплексом антиген-антитіло. У даному випадку необхідна обов'язкова дія антитіл, які відносяться до імуноглобулінів класів G та M. **Альтернативний шлях активації комплементу** відбувається без участі антитіл, полісахариди багатьох бактерій.

У рідинах організму циркулюють й інші активні компоненти, такі як **лізоцим, Х-та В-лізини, туберкулоостатичний фактор, інтерферони, білки гострої фази**

Специфічні фактори гуморального захисту - **антитіла**.

Таблиця 2. НЕСПЕЦИФІЧНІ ФАКТОРИ ЗАХИСТУ ТА ІМУННА РЕАКТИВНІСТЬ

Неспецифічні фактори захисту	Імунна реактивність
Непроникливість покривів Бактерицидність покривів Травні соки Гідролітичні ферменти Лізоцим Пропердин Бета-лізини, Х-лізини Туберкулоостатичний фактор Інтерферон С-реактивний протеїн та ін.	1. Синтез антитіл 2. Гіперчутливість негального типу (ГНТ) 3. Гіперчутливість у повільного типу (ГУТ) 4. Імунологічна пам'ять 5. Імунологічна толерантність 6. Ідіотип-антиідіотипові взаємодії
комплемент фагацитоз (беруть участь як в неспецифічному захисті, так і в імунній реактивності)	

Антиген — речовина або істота з ознаками генетичної чужорідності, здатна спричиняти в організмі імунологічні реакції (синтез АТ, розвиток ГНТ і ГСТ, імунологічної пам'яті, імунологічної толерантності, ідіотип — антиідіотипних взаємодій).

Гаптени — неповноцінні антигени, позбавлені здатності самостійно викликати синтез АТ, але набувають її у сполученні з повним антигеном (ліпоїди — у суміші з білками, або в хімічному зв'язку, вуглеводи — тільки в хімічному зв'язку) або внаслідок полімеризації.

Умови антигенності.

Чужорідність.

Достатня молекулярна маса.

Антигенність

Імуногенність

Специфічність

Антигенна детермінанта (інакше — **епітоп**) — це ділянка молекули антигену, яка обумовлює специфічність антигену, його відмінність від інших антигенів в імунологічних реакціях.

В бактеріальній клітині виділяють **соматичні О-антигени, джгутикові Н-антигени, оболонкові або капсульні К-антигени**.

Протективні антигени — це антигени, спроможні викликати в організмі утворення ефективного протиінфекційного імунітету

АНТИГЕНИ ЛЮДИНИ- Розрізняють три основних групи антигенів тваринних тканин: видові антигени, антигени еритроцитів та антигени ядерних клітин.

Антитіло — білок-імуноглобулін, який виробляється в організмі у відповідь на антиген і здатний специфічно взаємодіяти з відповідним антигеном.

Молекула будь-якого імуноглобуліну структурно організована за одним планом. Молекула імуноглобуліну складається з двох типів ланцюгів — важких, H (англ. heavy) та легких, L (англ. light). Ланцюги зв'язані дисульфідними містками. Активний центр антитіла, який реагує з антигеном, називається «**паратопом**». Паратоп утворений варіабельними ділянками легких та важких ланцюгів.

При розщепленні протеолітичними ферментами з молекули імуноглобуліну утворюються два, або три фрагменти. У разі дії пепсину — Fc – и (Fab)₂ – фрагменти, папаїну – Fc – и 2 Fab – фрагменти.

IgG — основний клас імуноглобулінів. Структура IgG відповідає вищезазначеній. У сироватці міститься до 80% антитіл класу IgG. єдиний клас антитіл, який проходить через плаценту та утворює натуральний пасивний імунітет.

IgM — макроглобуліни, їх вміст у сироватці крові складає 5 — 10 % усіх антитіл, вони — пентамери. IgM раніше усіх з'являються в філогенезі та при імунній відповіді на антиген.

IgA — секреторні антитіла. Їх може бути до 10 % у сироватці, але основна маса їх знаходиться на слизових оболонках, зберігають активність на слизових дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту, сечовивідних шляхів, передаються дитині з молоком матері.

IgE — реакини, шкірно-сенсibiliзуючі антитіла, відіграють роль у алергічних реакціях. Містять цитофільний компонент для зв'язку з опасистими (англ. mast cell, тучними) клітинами, базофілами, клітинами шкіри.

IgD — мало вивчені. Можливо, беруть участь в аутоалергічних процесах.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекцій: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекції:

Проблемне питання на початку: «Два пацієнти з однаковим рівнем пародонтопатогенів та аналогічною гігієною порожнини рота мають різні ступені тяжкості пародонтиту. Яку роль відіграє адаптивний імунітет (Th1/Th2 баланс, продукція цитокінів, формування імунної пам'яті) у визначенні індивідуальної сприйнятливості до захворювань пародонту?»

Інтерактивне питання: «Пацієнт має низький рівень секреторного IgA у слині, що виявилось при аналізі десневої рідини. Як ця імунна дисфункція місцевого захисту впливає на його уразливість до рецидивних інфекцій, та якими клінічними наслідками це загрожує при проведенні складних стоматологічних втручань з ризиком бактеріємії?»

Питання для роздумів: «Система комплементу – це каскад плазмових протеїнів, що активується кількома шляхами. Якщо якийсь компонент комплементу має генетичний дефект, це може привести до частих інфекцій певними бактеріями. Як розуміння цього механізму допомагає пояснити, чому деякі люди мають постійні рецидивні інфекції, попри нормальні показники імуноглобулінів та лімфоцитів?»

Клінічне питання: «У закритому колективі (військова казарма, гуртожиток) раптово спостерігається спалах гнійних інфекцій ротової порожнини, що швидко поширюється між мешканцями. Як розуміння механізмів передачі патогенів, факторів вірулентності та індивідуальних імунних реакцій допомагає організувати контрепідемічні заходи для припинення спалаху?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Визначте поняття «інфекція» та «інфекційний процес». Які фактори визначають розвиток інфекції?
2. Охарактеризуйте форми інфекційного процесу: гостра, хронічна, персистентна, латентна, повільна.
3. Що таке патогенність та вірулентність мікроорганізмів? Наведіть приклади факторів вірулентності.

4. Опишіть стадії інфекційного процесу: адгезія, колонізація, інвазія, розмноження, поширення.
5. Які органи та тканини складають імунну систему? Опишіть центральні та периферичні органи імунітету.
6. Порівняйте вроджений та адаптивний імунітет. У чому їхні основні відмінності?
7. Перерахуйте клітини вродженого імунітету та їхні функції (нейтрофіли, макрофаги, НК-клітини, дендритні клітини).
8. Поясніть механізм фагоцитозу. Які стадії фагоцитозу ви знаєте?
9. Що таке система комплементу? Опишіть шляхи активації комплементу та біологічні ефекти.
10. Що таке антиген? Які властивості речовини визначають її імуногенність (імуногенність, антигенність, специфічність)?
11. Охарактеризуйте антигени мікроорганізмів: поверхневі (капсульні, клітинної стінки, джгутикові), екзотоксини, ендотоксини.
12. Що таке антитіла (імуноглобуліни)? Опишіть будову молекули антитіла.
13. Порівняйте класи імуноглобулінів (IgM, IgG, IgA, IgE, IgD): структура, концентрація в сироватці, функції.
14. Яка роль секреторного IgA в місцевому імунітеті? Як він потрапляє у слину?
15. Опишіть структуру та функції Т-лімфоцитів. Які субпопуляції Т-клітин ви знаєте?
16. Опишіть структуру та функції В-лімфоцитів. Як відбувається диференціювання В-клітин у плазматичні клітини?
17. Що таке антигенпрезентуючі клітини (АПК)? Який механізм презентації антигенів через МНС I та МНС II?
18. Поясніть взаємодію між АПК, Т-хелперами та В-лімфоцитами при формуванні гуморальної імунної відповіді.
19. Порівняйте первинну та вторинну імунну відповідь. Що таке імунологічна пам'ять?
20. Опишіть особливості місцевого імунітету порожнини рота. Які фактори захищають слизову оболонку від інфекцій?

Список джерел до теми:

Основні:

1. Абул К. Аббас. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання / Ендрю Г. Ліхтман, Шив Піллай. – Київ: Медицина, 2020, – 328 с.
2. Чернишова Л.І. Імунопрофілактика інфекційних хвороб: навчально-методичний посібник / Ф.І. Лапій, А.П. Волоха та ін. — 3-є видання.. – Київ: Медицина, 2022, – 336 с.
3. Широбоков В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.

Додаткові:

4. Delves P.J., Martin S.J., Burton D.R., Roitt I.M. Roitt's essential immunology. Wiley-Blackwell, 2017, 13th ed.: 1-576.
5. Chaplin D.D. Overview of the immune response. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2010, 125(2 Suppl 2): S3-S23.

ЛЕКЦІЯ

«ІМУНОПРОФІЛАКТИКА ТА ІМУНОТЕРАПІЯ. ІМУНОПАТОЛОГІЯ»

Актуальність теми: Імунопрофілактика є одним з найефективніших досягнень медицини, що дозволило ліквідувати віспу, суттєво знизити захворюваність на поліомієліт, дифтерію, правець та інші інфекції. У стоматологічній практиці лікар повинен знати календар вакцинації, особливо проти гепатиту В (професійний ризик), дифтерії (можливе ураження порожнини рота) та правця (травматичні ушкодження). Сучасні біотехнологічні підходи до створення вакцин (рекомбінантні, мРНК-вакцини) відкривають нові можливості профілактики інфекцій, включаючи розробку вакцини проти карієсу на основі антигенів *Streptococcus mutans*. Імунотерапія, зокрема застосування моноклональних антитіл, імуномодуляторів та інтерферонів, набуває значення в лікуванні важких інфекцій та онкологічних захворювань голови та ший. Розуміння імунопатології критично важливе для діагностики та лікування алергічних реакцій на стоматологічні матеріали (анестетики, композити, метали), автоімунних уражень слизової оболонки (пемфігус, пемфігоїд) та запальних захворювань (афтозний стоматит). Особливу увагу потребують пацієнти з імунодефіцитами (первинними та вторинними), які мають підвищений ризик інфекційних ускладнень при стоматологічних втручаннях.

Мета:

Навчальна мета:

- Сформувати розуміння принципів імунопрофілактики та типів вакцин
- Ознайомити з методами активної та пасивної імунізації
- Вивчити основні підходи до імунотерапії інфекційних та онкологічних захворювань
- Пояснити механізми розвитку імунопатологічних станів
- Навчити розпізнавати типи реакцій гіперчутливості
- Ознайомити з основними автоімунними захворюваннями та імунодефіцитами

Виховна мета:

- Виховати відповідальне ставлення до вакцинації як медичного працівника
- Сформувати вміння розпізнавати та надавати допомогу при алергічних реакціях
- Розвинути клінічне мислення для роботи з імунокомпрометованими пацієнтами

Основні поняття (перелік питань):

Імунопрофілактика – попередження інфекційних захворювань шляхом створення штучного імунітету за допомогою вакцинації

Вакцини – препарати, що містять антигени мікроорганізмів для індукції специфічного імунітету

Живі атеньовані вакцини – ослаблені штами мікроорганізмів

Інактивовані вакцини – вбиті патогени

Субодиничні вакцини – очищені антигени

Рекомбінантні вакцини – отримані методами генної інженерії

мРНК вакцини – платформа наступного покоління, що забезпечує швидку розробку та потужну імунну відповідь

ДНК вакцини – плазміди, що експресують антигени в клітинах господаря

Ад'юванти – речовини, що посилюють імуногенність вакцин (AS01, CpG 1018, алюмінієві сполуки)

Імунотерапія – лікування захворювань шляхом модуляції імунної системи

Серотерапія – введення готових антитіл (антиоксичні, антибактеріальні сироватки)

Імуномодулятори – препарати, що посилюють або пригнічують імунну відповідь

Моноклональні антитіла – специфічні антитіла для лікування інфекцій, пухлин, автоімунних захворювань

Онколітична віротерапія – використання вірусів для селективного знищення пухлинних клітин

Фаготерапія – застосування бактеріофагів для лікування бактеріальних інфекцій, особливо антибіотикорезистентних

Імунопатологія – патологічні стани, пов'язані з порушенням імунної системи

Реакції гіперчутливості (за класифікацією Джелла і Кумбса):

Тип I (негайного типу, анафілактична) – IgE-опосередкована (алергії, анафілаксія)

Тип II (цитотоксична) – антитіла до клітинних антигенів з активацією комплементу або АДКЦ

Тип III (імунокомплексна) – утворення та відкладення імунних комплексів у тканинах

Тип IV (сповільненого типу, клітинно-опосередкована) – Т-лімфоцит-залежна

Автоімунні захворювання – порушення імунної толерантності з розвитком відповіді проти власних антигенів (ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, цукровий діабет 1 типу)

Імунодефіцити – первинні (вроджені генетичні дефекти) та вторинні (набуті, включаючи ВІЛ-інфекцію)

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

ІМУНОПРОФІЛАКТИКА

Вакцина — антигенний препарат із мікроорганізмів для створення штучного активного імунітету.

ТАБЛИЦЯ 1. КЛАСИФІКАЦІЯ ВАКЦИН

ТРАДИЦІЙНІ	НОВІ
1-го покоління (корпускулярні) живі вбиті	Синтетичні олігопептиди олігосахариди
2-го покоління (хімічні) анатоксини компоненти мікроорганізмів субодиничні (розщеплені)	Живі генноінженерні Продукти рекомбінантних систем субодиничні антиідіотипові
Моновакцини, полівалентні асоційовані адсорбовані	З застосуванням засобів посилення імуногенності та протективної активності

Традиційні вакцини — це в першу чергу **живі вакцини**, які містять в собі штами збудників з ослабленою вірулентністю.

Атенуація, ослаблення вірулентності, базується на емпірично встановленому пастерівському принципі культивування мікроорганізмів в несприятливих умовах.

Живі вакцини мають певні переваги: вони створюють, як правило, напружений та стійкий імунітет, схожий з постінфекційним, а недоліками живих вакцин є загроза розвитку тяжких інфекційних ускладнень у людей з вадами імунної системи — імунодефіцитів.

Убиті (інактивовані) вакцини готують із максимально імуногенних мікроорганізмів шляхом інактивації температурою, формаліном, фенолом, спиртом, ультрафіолетовим промінням в умовах, які виключають денатурацію антигенів.

Вакцини 2-го покоління — **хімічні вакцини**, це очищені вакцини від неактивних баластних речовин і вакцинні препарати тільки з високоімуногенних компонентів мікроорганізмів.

Анатоксин — знешкоджений формаліном екзотоксин, який втратив свої отруйні, але зберіг антигенні властивості, тобто можливість викликати утворення антитіл — антитоксинів.

Отримують анатоксини (синонім — **токсоїди**) із екзотоксину шляхом обробки 0,4 % розчином формаліну при +40 °С протягом чотирьох тижнів (спрощена схема, щоб запам'ятати — правило «четвірки»).

Для підвищення імуногенності хімічних вакцин їх адсорбують на гідрооксиді алюмінію та інших сполуках, що переводить розчинні антигени у зв'язані на хімічній основі, створюється депо в організмі з повільною резорбцією антигенів і підсиленням імунної відповіді. Речовини, що підвищують імуногенні препарати, називають ад'ювантами (лат. *adjuvans* — допомагаючий).

Моновакцинами називають вакцини, до складу яких входять антигени одного виду збудника, полівалентними — до складу яких входять антигени різних сероварів одного виду (поліомієлітна вакцина із збудника трьох сероварів), **асоційованими** — вакцини із антигенів різних видів мікроорганізмів. Найбільш широко застосовують асоційовану вакцину АКДП — адсорбовану кашлюково-дифтерійно-правцеву вакцину. Вона містить в собі вбиту кашлюкову вакцину, дифтерійний та правцевий анатоксини.

Рекомбінантні вакцини

Метод заснований на тому, що геномна ДНК практично з будь-якого джерела, яка містить структурні гени для необхідних антигенів, може бути вбудована у плазмідні або вірусні вектори. Інфекція бактерій, дріжджів або клітин ссавців відповідним вектором супроводжується експресією ДНК у формі продукту її гену (антигену). Таким чином, внаслідок культивування клітин можна отримати велику кількість необхідних антигенів.

Синтетичні вакцини. Другий підхід до створення нових вакцин засновано на пептидному синтезі. В результаті дослідження послідовності ДНК, матричної РНК або безпосередньо первинної структури білка може бути визначена повна структура антигену. Не завжди необхідно знати повну амінокислотну послідовність, тому, що суттєві епітопи антигену можуть бути визначені імунологічними методами, але як тільки ці епітопи ідентифіковані, використовують пептидний синтез для опрацювання цих антигенних детермінант.

Антиідіотипічні вакцини. Ідіотипічна детермінанта імуноглобуліну — та частина варібельної ділянки, яка містить антиген-зв'язуючий центр. Кожен ідіотип відповідає унікальному епітопу антигену. Ідіотоп розпізнається як унікальна антигенна частина імуноглобуліну і служить стимулом для формування антиідіотипічних антитіл відповідно до теорії імунологічної регуляторної сітки Ерне. Таким чином, епітоп дзеркально відтворюється в ідіотопі, який у свою чергу відбивається іншим ідіотопом у антиідіотипічному антитілі. Чи є це основою для того, щоб вважати, що антиідіотипічний імуноглобулін може виконувати функцію епітопу як вакцини?

Антиідіотипічні вакцини повинні бути найбільш корисними, коли первісний антиген важко виділити, містить токсичні компоненти або може реверсувати з атенуйованого стану до вихідного (початкового) вірулентного виду.

Вакцини застосовуються в основному для профілактики інфекційних захворювань — вакцинопрофілактики. Виділяють **планову вакцинопрофілактику** — обов'язкову вакцинацію дитячого населення, незалежно від епідемічної ситуації.

Вакцинація **за епідеміологічними показаннями** проводиться в районах, ендемічних за відповідними інфекціями (наприклад, кліщовий енцефаліт), а також для попередження поширення масових епідемій (грипозна, холерна вакцини).

Вакциноterapia — лікування захворювань за допомогою вакцин. Звичайно вакциноterapia застосовується при хронічних захворюваннях, які мають в'ялий перебіг, з метою стимулювання імунної системи організму — при гонорей, дизентерії, бруцельозі, стафілококових інфекціях та інших.

Лікувальні вакцини готуються у виробничих умовах, спеціально для цих цілей. Звичайно це інактивовані вакцини. Тільки один анатоксин застосовується для вакциноterapi —

стафілококовий. Різновид лікувальної вакцини — **аутовакцина**, яка готується індивідуально із мікроорганізму, виділеного від пацієнта, і застосовується тільки для нього. Аутовакцина часто буває значно ефективнішою ніж вакцини із виробничих штамів.

Сироваткові препарати — це імунні сироватки та імуноглобуліни, які отримали з них.

Імунні сироватки — сироватки, які містять велику кількість антитіл до певного антигену. Отримують їх шляхом гіперімунізації (багаторазова імунізація за оптимальною схемою) тварин відповідними антигенами.

Для отримання **антитоксичних** сироваток тварин імунізують анатоксином, **антимікробних** — вакцинами. **Імуноглобуліни** — гамаглобулінова фракція сироваток, очищена від білків, які не мають антитільної активності.

Усі сироваткові препарати можуть бути **гомологічними** (з крові людини) та **гетерологічними** (з крові тварин). Гомологічні сироватки та імуноглобуліни мають меншу сенсibiliзуючу дію та довше зберігаються в організмі після введення — до місяця.

Серотерапія. Сироваткові препарати створюють штучний пасивний імунітет, що використовується для лікування та профілактики ряду захворювань. **Лікувальне** застосування мають **гетерологічні сироватки**: протидифтерійна, протиправцева, протиботулінічна, протигангренозна, протизмійна, **гомологічна** протистафілококова плазма і деякі інші. **Імуноглобуліни** застосовують переважно гомологічні — протистафілококовий, протигрипозний, антирабійний та інші.

Серопротекція — попередження захворювань шляхом утворення штучного пасивного імунітету.

Із мікроорганізмів, їхніх компонентів або синтетичних аналогів мікробних антигенів готують **діагностикуми**, антигенні препарати для серологічної діагностики. Діагностикуми можуть бути нативними та еритроцитарними. Останні містять антигени, фіксовані на еритроцитах, і застосовують для постановки РНГА. В ІФА часто використовують синтетичні або генно-інженерні антигени-діагностикуми.

Діагностичні сироватки використовують для ідентифікації мікроорганізмів та виявлення мікробних антигенів в організмі. при експрес — діагностиці. Діагностичні сироватки можуть бути **груповими, видоспецифічними та вароспецифічними**.

Моноклональні антитіла продукуються ізольованим клоном генетично ідентичних клітин, які походять з єдиної стимульованої антитіло-створюючої клітини. Вони можуть бути отримані у великій кількості, використовуючи спеціальні клітини, які мають назву **гібридами**.

АЛЕРГІЯ. АЛЕРГЕН.

Алергія - підвищена чутливість організму до повторного контакту з антигеном. **Алерген** — антиген, що викликає розвиток підвищеної чутливості і дає алергічні реакції при контакті з сенсibiliзованим організмом, тобто, який має підвищену чутливість. Алергени властивості - здатність антигену викликати і виявляти стан гіперчутливості.

ТАБЛИЦЯ 2. КЛАСИФІКАЦІЯ АЛЕРГІЧНИХ РЕАКЦІЙ ЗА COOMBS I GELL

Тип р-ції	Найменування типу реакції	Основні механізми імунопатологічних реакцій	Приклади клінічних проявів
I	Анафілактичний	Реакція антигену з цитотроп-ними IgE-антитілами, фіксованими на тучних клітинах і базофілах, з вивільненням медіаторів типу гістаміну і пошкодженням тканин організму	Атопічна бронхіальна астма, інші атопічні хвороби, анафілактичний шок
II	Цитотоксичний	Взаємодія IgG - антитіл з антигенами, фіксованими на клітинних мембранах,	Лікарська алергія, аутоімунні хвороби,

		цитоліз в результаті активації комплементу комплексом антиген-антитіло	гемотрансфузійні ускладнення
III	Імуно-комплексний	Циркуючі комплекси преципітуючих антитіл з надлишком антигену осідають на стінках дрібних судин, пошкоджуючи ендотелій внаслідок активації комплементу і лейкоцитів	Сироваткова хвороба, колагенози ускладнення інфекційних хвороб
IV	Клітинний (Реакції сповільненого типу)	Реакція антигену з рецепторами сенсibilізованих Т-лімфоцитів, виділення лімфокінів, розвиток гіперергічного запалення за участю цитотоксичних реакцій макрофагів	Інфекційна алергія, контактна алергія, транс-плантаційний імунітет, імунітет до пухлин

Існує розподіл алергічних реакцій на реакції гіперчутливості негайного типу (ГНТ) і реакції сповільненого типу (ГСТ). Такий поділ базувався на часі настання алергічних реакцій після контакту антигена-алергену з сенсibilізованим організмом.

Алергія негайного типу проявляється через 15 - 30 хвилин, а алергія сповільненого типу через 24 - 48 - 72 години після контакту з алергеном.

Реакції I типу називаються анафілактичними і atopічними. Як правило, вони викликаються парентеральним введенням чужорідних сироваток, антибіотиків або інших лікарських засобів (анафілактичні), або контактом з екзогенними алергенами - пилом рослин, компонентами домашнього пилу (зокрема - екскрементами будинкового кліща *Dermatophagoides pteronyssinus*) та ін.

Анафілаксія (грец. Ана - навпаки, phylaxis - захист) - підвищена чутливість організму до повторного парентерального контакту з антигеном. Анафілаксія є формою зміненої реактивності, станом підвищеної чутливості організму викликане повторним введенням чужорідних білків (сироватки, антибіотики та ін.).

Анафілактичний шок у людей характеризується низкою симптомів: задишка, (частий пульс, падіння артеріального тиску, зниження температури тіла, судоми, спазм бронхів, набряки, болі в суглобах, висип на тілі та ін. В незначних випадках шок закінчується смертю.

Реакція II типу (цитотоксична) - гемотрансфузійний шок, гемолітичні лейкопенії і тромбоцитопенії, лікарська алергія.

Реакції II типу (цитотоксичні і цитолітичні) обумовлені взаємодією фіксованих на мембранах клітин антигенів з циркулюючими антитілами. Внаслідок активації комплементу відбувається пошкодження і лізис клітин.

Реакції II типу не піддаються ефективній терапії антигістамінами препаратами, певний ефект дають інгібітори протеаз (контрикал, гордокс та ін.).

Реакції III типу – імунокомплексні, розвиваються в результаті пошкодження тканин комплексом антиген-антитіло. Циркуючі антитіла утворюють з антигенами комплекси, які разом з активованим комплементом осідають на стінках дрібних судин, пошкоджуючи ендотелій, що призводить до розвитку тромбозів і порушення кровообігу.

Реакції IV типу (гіперчутливість сповільненого типу - ГСТ).

Інфекційна алергія. Контактна алергія. Трансплантаційний та протипухлинний імунітет.

Реакції ГСТ здійснюються в результаті взаємодії алергену з рецепторами сенсibilізованих до нього Т-лімфоцитів – ефektorів ГСТ. Виділяються медіатори, що викликають бласттрансформацію лімфоцитів, які залучають і активують макрофаги, проліферацію клітин з розвитком гіперергічного запалення. Цей тип реакції, по суті, є проявом клітинного імунітету, так як антитіла не беруть участі в ГСТ.

Алергічна діагностика - діагностика захворювання шляхом виявлення інфекційної алергії до збудника. Найбільше значення цей метод діагностики має при туберкульозі (реакція Манту), бруцельозі, токсоплазмозі та ін.

Для алергодіагностики використовують діагностичні алергени - туберкулін, бруцеллін, токсоплазмін, стафілококовий, стрептококовий алергени і ін. Зазвичай бактеріальні алергени - це термостабільні бактеріопротеїни. Алергодіагностика при інфекційних захворюваннях може проводитися внутрішньошкірним тестуванням.

Діагностика алергічних захворювань ґрунтується, головним чином, на виявленні специфічної сенсibilізації людини до певного алергену. З цією метою застосовують два основні методи - шкірне тестування і серологічну діагностику.

Для шкірного тестування застосовують діагностичні алергени, які готуються на виробництвах. Випускається кілька десятків видів діагностичних алергенів. Серед них є алергени неінфекційні (з вовни тварин, пір'я птахів, пилку рослин, домашнього пилу та ін.) І інфекційні - з бактерій (в основному-непатогенних і умовно-патогенних - стафілокока, стрептокока, кишкової палички та ін.) та грибів (пеніцилл, стрептоміцетів, аспергілл і ін.). Більш надійно і нешкідливо проводити визначення в сироватці хворого антитіл класу IgE, специфічних по відношенню до передбачуваного алергену. Для цього використовують імуноферментний аналіз. В даний час випускаються відповідні тест-набори для ІФА, що дозволяють одночасно визначати сенсibilізацію до багатьох алергенів, але ці набори коштують дорого, а їх використання вимагає застосування дорогої апаратури для ІФА.

Ще більш трудомістким і складним методом є використання клітинних тестів виявлення алергії - реакції бласттрансформації, реакції пригнічення міграції, реакції імунолейколіза. Ці методи застосовуються в певних випадках при комплексному обстеженні хворих.

Для лікування і профілактики хворих на алергію важливе значення мають такі заходи: виявлення алергенів і припинення контакту з ними (харчові продукти, лікарські препарати, побутові, виробничі та ін. алергени); іноді доцільно змінена місця проживання хворого. Досить гарні результати дає застосування гормональних препаратів (АКТГ і ін.), Що пригнічують процес антитілоутворення.

З метою зниження чутливості організму і зменшення сприйнятливості до алергену хворим проводять десенсibilізацію тим алергеном, до якого є підвищена чутливість. При захворюваннях, що супроводжуються виробленням клітинами великої кількості гістаміна і інших речовин, призначають протигістамінні препарати: димедрол, піпольфен, супрастин, тавегіл і ін. Ці лікарські засоби, не завжди запобігають розвитку серйозних алергічного стану), іноді викликаючи їх наростання через порушення захисних бар'єрів. Більш докладно питання лікування алергічних захворювань будуть вивчатися на клінічних кафедрах.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекцій: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекцій:

Проблемне питання на початку: «Вакцинація проти гепатиту В є обов'язковою для медичного персоналу, проте у 5–10 % людей відбувається недостатня вироблення антитіл (так звані «невідповідачі»). Як розуміння механізмів імунної відповіді та ролі адювантів у посиленні цієї відповіді допомагає розробити стратегії для підвищення ефективності вакцинації у цих осіб?»

Інтерактивне питання: «Пацієнт зі скаргами на свербіж, набрякання та болючість у ротовій порожнині після встановлення металевих зубного протеза. Обстеження виявило алергічну реакцію на нікель у протезі. Як розуміння механізмів гіперчутливості II та IV типів допомагає стоматологу діагностувати алергію та обрати безпечні матеріали для пацієнта?»

Етичне питання: «мРНК-вакцини (наприклад, Pfizer, Moderna проти COVID-19) є революційним досягненням медицини, але вони потребують складного ланцюга постачання та

контролю температури. Як лікарі повинні розуміти принципи роботи мРНК-вакцин та основні відмінності від традиційних вакцин, щоб адекватно інформувати пацієнтів про безпеку, ефективність та можливі побічні ефекти?»

Клінічне питання: «Глобальна вакцинація дітей проти ВПЛ розпочалась порівняно недавно (останні 15–20 років). На основі даних первинних дослідників можна вже прогнозувати, що через кілька десятиліть буде суттєво знижена частота раків шийки матки, ануса та ротоглотки. Які показники довгострокової ефективності вакцинації слід постійно моніторити для перевірки цих прогнозів?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Визначте поняття "імунопрофілактика". Які види імунопрофілактики існують?
2. Що таке активна імунізація? Які типи вакцин використовують для активної імунізації?
3. Охарактеризуйте живі атенуйовані вакцини: переваги, недоліки, приклади.
4. Охарактеризуйте інактивовані (вбиті) вакцини: переваги, недоліки, приклади.
5. Що таке анатоксини? Проти яких захворювань їх застосовують?
6. Охарактеризуйте субдиничні та рекомбінантні вакцини. Наведіть приклади.
7. Що таке мРНК-вакцини? Який механізм їхньої дії? Наведіть приклади.
8. Які нові типи вакцин розробляються (ДНК-вакцини, векторні вакцини, наночастинки)?
9. Що таке ад'юванти? Яка їхня роль у вакцинах?
10. Що таке пасивна імунізація? Коли її застосовують?
11. Які препарати використовують для пасивної імунізації (іmunні сироватки, імуноглобуліни, моноклональні антитіла)?
12. Наведіть приклади ситуацій, коли застосовують пасивну імунізацію (постекспозиційна профілактика сказу, правця).
13. Визначте поняття "імунотерапія". Які види імунотерапії існують?
14. Що таке імуномодулятори? Наведіть приклади імуностимуляторів та імуносупресорів.
15. Що таке моноклональні антитіла? Як їх отримують і де застосовують?
16. Охарактеризуйте сучасні підходи до імунотерапії раку (інгібітори контрольних точок, CAR-T клітини, онколітичні віруси).
17. Визначте поняття "імунопатологія". Які групи імунопатологічних станів ви знаєте?
18. Опишіть класифікацію реакцій гіперчутливості за Джеллом та Кумбсом (типи I, II, III, IV).
19. Охарактеризуйте гіперчутливість I типу (анафілактична, IgE-опосередкована): механізм, приклади (анафілактичний шок, кропив'янка, атопічний дерматит, бронхіальна астма).
20. Охарактеризуйте гіперчутливість II типу (цитотоксична): механізм, приклади (гемолітична анемія, пемфігус).
21. Охарактеризуйте гіперчутливість III типу (імунокомплексна): механізм, приклади (сироваткова хвороба, гломерулонефрит).
22. Охарактеризуйте гіперчутливість IV типу (сповільнена, клітинно-опосередкована): механізм, приклади (контактний дерматит, туберкулінова проба).
23. Що таке автоіmunні захворювання? Які механізми порушення толерантності?
24. Наведіть приклади автоіmunних захворювань з ураженням порожнини рота (пемфігус, пемфігоїд, синдром Шегрена, червоний плоский лишай).
25. Що таке імунодефіцити? Класифікація: первинні та вторинні.
26. Охарактеризуйте первинні імунодефіцити: дефекти В-клітин, Т-клітин, комбіновані, фагоцитів, комплементу.
27. Охарактеризуйте вторинні імунодефіцити: ВІЛ/СНІД, медикаментозні, при онкологічних захворюваннях.
28. Які особливості стоматологічного лікування пацієнтів з імунодефіцитами?

29. Які інфекції порожнини рота найчастіше розвиваються при імунодефіцитах?
30. Як забезпечити безпеку медичного персоналу при роботі з інфекційними пацієнтами?

Список джерел до теми:

Основні:

1. Абул К. Аббас. Основи імунології: функції та розлади імунної системи: 6-е видання / Ендрю Г. Ліхтман, Шив Піллай. – Київ: Медицина, 2020, – 328 с.
2. Чернишова Л.І. Імунопрофілактика інфекційних хвороб: навчально-методичний посібник / Ф.І. Лапій, А.П. Волоха та ін. — 3-є видання.. – Київ: Медицина, 2022, – 336 с.
3. Широбоков В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.

Додаткові:

4. Plotkin S.A., Orenstein W.A., Offit P.A., Edwards K.M. Vaccines. Elsevier, 2018, 7th ed.: 1-1690.
5. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. Nature, 2020, 586(7830): 516-527.

ЛЕКЦІЯ

«ВВЕДЕННЯ В СПЕЦІАЛЬНУ МІКРОБІОЛОГІЮ. ГНОЄРІДНІ КОКИ. ЗБУДНИКИ АНАЕРОБНИХ ІНФЕКЦІЙ»

Актуальність теми: Гноєрідні коки (стафілококи та стрептококи) є найпоширенішими збудниками гнійно-запальних процесів щелепно-лицевої ділянки, включаючи періостит, остеомієліт, абсцеси та флегмони. *Staphylococcus aureus*, особливо метицилін-резистентні штами (MRSA), становлять серйозну загрозу в госпітальних умовах стоматологічних стаціонарів. *Streptococcus mutans* є головним етіологічним агентом карієсу, тоді як інші стрептококи групи viridans спричиняють інфекційний ендокардит при бактеріємії після стоматологічних маніпуляцій, що обґрунтовує необхідність антибіотикопрофілактики у пацієнтів із захворюваннями серця. Анаеробні інфекції (кlostридії, бактероїди, фузобактерії, пептострептококи) відіграють ключову роль у розвитку пародонтиту, періодонтиту, абсцесів порожнини рота та некротизуючих процесів. Особливість анаеробних інфекцій — важкий перебіг з некрозом тканин, газоутворенням та гнильним запахом, що вимагає комбінованого хірургічного та антибактеріального лікування. Зростання антибіотикорезистентності як аеробних, так і анаеробних патогенів вимагає від стоматолога розуміння механізмів резистентності та раціонального призначення антибіотиків на основі мікробіологічних даних.

Мета:

Навчальна мета:

- Сформувати знання про основні групи гноєрідних коків та їхню роль у стоматологічних інфекціях
- Вивчити біологічні властивості стафілококів та стрептококів, фактори вірулентності
- Ознайомити з мікробіологією анаеробних інфекцій щелепно-лицевої ділянки
- Пояснити принципи мікробіологічної діагностики аеробних та анаеробних інфекцій
- Розкрити механізми антибіотикорезистентності та принципи раціональної антибіотикотерапії

Виховна мета:

- Виховати відповідальне ставлення до призначення антибіотиків
- Сформувати розуміння важливості мікробіологічної діагностики
- Розвинути клінічне мислення для диференційної діагностики інфекцій

Основні поняття (перелік питань):

Спеціальна мікробіологія — розділ медичної мікробіології, що вивчає конкретні групи патогенних мікроорганізмів

Гноєрідні коки — бактерії кулястої форми, що викликають гнійно-запальні процеси

Staphylococcus aureus — золотистий стафілокок, продукує коагулазу, гемолізину, ентеротоксини; збудник інфекцій шкіри, м'яких тканин, остеомієліту, ендокардиту, токсичного шоку

Streptococcus pyogenes (група А) — β -гемолітичний стрептокок, продукує стрептолізини, стрептокінази, гіалуронідазу, еритрогенний токсин; спричиняє тонзиліт, скарлатину, бешиху, некротизуючий фасціт

Streptococcus pneumoniae — пневмокок, капсульована бактерія, збудник пневмонії, менінгіту, отиту, синуситу

Streptococcus mutans — основний збудник карієсу, продукує кислоти та екзополісахариди для формування біоплівки

Анаеробні інфекції — інфекції, спричинені облигатними анаеробами (бактеріями, що ростуть без доступу кисню)

Clostridium — спороутворюючі анаероби:

C. tetani – збудник правця, продукує тетаноспазмін

C. botulinum – збудник ботулізму, продукує ботулінічний токсин

C. perfringens – збудник газової гангрен

C. difficile – причина псевдомембранозного коліту

Bacteroides fragilis – облигатний анаероб кишечника, часта причина абдомінальних та тазових інфекцій

Peptostreptococcus, *Prevotella*, *Fusobacterium* – анаероби порожнини рота, причетні до пародонтиту, абсцесів

Фактори вірулентності – капсула, ферменти (коагулаза, гіалуронідаза, фібринолізин), токсини (гемолізини, ентеротоксини, цитолітичні токсини)

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

Предметом спеціальної медичної біології — це вивчення не тільки біологічних властивостей збудників окремих інфекційних захворювань, але й вивчення характеру взаємодії мікроорганізмів — збудників з організмом людини.

План відповіді на спеціальній мікробіології:

- назва збудника;
- морфологічні та тинкторіальні властивості збудника;
- культуральні властивості;
- біохімічні властивості;
- біологічні властивості;
- серологічні (антигенні) властивості;
- фаголізабельні властивості;
- екологія й поширення збудника;
- патогенез захворювання;
- джерело й резервуар інфекції;
- механізми і фактори передачі, сприйнятливості населення
- вхідні ворота інфекції, шляхи поширення збудника в організмі.
- клінічні прояви;
- лікування, профілактика;
- мікробіологічна діагностика.

Симптоматичне лікування засноване на застосуванні лікарських препаратів згідно з симптомами хвороби.

Патогенетична терапія спрямована на нормалізацію порушених фізіологічних функцій організму

Етіотропна терапія спрямована на причину хвороби, етіологічний фактор збудника й продукти його життєвої діяльності й розпаду. **Специфічна етіотропна терапія** — лікування сироватковими препаратами, імунними сироватками й імуноглобулінами, діючою основою яких є антитіла. **Неспецифічна етіотропна терапія** — лікування антимікробними препаратами (антибіотики, сульфаніламід, хімічні препарати).

Специфічна профілактика проводиться при застосуванні специфічних препаратів: вакцин, сироваток, фагів. **Серопротекція** в основному застосовується для екстреної профілактики захворювання у осіб, для яких ризик інфікування високий.

Неспецифічна профілактика — це комплекс заходів, однаковий для попередження всіх інфекційних захворювань з однаковим шляхом передачі. Вона спрямована на всі три ланки епідемічного ланцюга.

Діагностика інфекційного захворювання, як і будь-якого іншого, починається з анамнезу. Далі йде об'єктивне (огляд, пальпація, перкусія, аускультация) й інструментальне обстеження (вимір температури, ЕКГ, ендоскопічне, рентгенологічне, ультразвукове тощо.), клініко —

лабораторне (аналізи крові, сечі, калу, біохімічні, цитоскопічні дослідження). Таблицю, де представлені основні методи мікробіологічної діагностики, ви знайдете в альбомах для практичних занять.

Мікроскопічний метод діагностики — діагностика захворювання шляхом мікроскопічного виявлення та ідентифікації збудника за морфологічними та тинкторіальними властивостями.

Бактеріологічний метод діагностики — діагностика захворювання шляхом виділення і ідентифікації збудника в чистій культурі.

Біологічний метод діагностики (біопроба) — діагностика захворювання шляхом виявлення збудника або його токсину при введенні досліджуваного матеріалу лабораторним тваринам з наступною діагностикою інфекції.

Серологічний метод діагностики — діагностика захворювання шляхом виявлення в сироватці хворого антитіл до збудника.

Критерії серологічного діагнозу:

1. Виявлення антитіл до збудника в **діагностичному титрі**.
2. Виявлення **діагностичного приросту** титру антитіл.
3. Виявлення антитіл до збудника, які відносяться до **класу IgM**.

Алергічний метод діагностики — діагностика хвороби шляхом виявлення інфекційної алергії до збудника.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГНОЕРІДНИХ КОКІВ

Гноерідні коки належать сімействам *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Peptococcaceae*, *Neisseriaceae*. В групу піогенних коків входять грам-позитивні (стафілококи і стрептококи) і грам-негативні (менінгококи і гонококи) бактерії.

СТАФІЛОКОКИ

Стафілококи відносяться до сімейства *Micrococcaceae*.

Морфологія. Стафілококи мають кулясту форму, розташовуються у вигляді скупчень, схожих на грона винограду.

Культивування. Стафілококи - факультативні анаероби. Вони добре розвивається на простих живильних середовищах з рН 7,2-7,4. При кімнатній температурі, широкій аерації і розсіяному світлі стафілококи виробляють золотисті, білі, лимонно-жовті і інші пігменти. При зростанні на м'ясо-пептонному бульйоні стафілококи викликають дифузне помутніння з подальшим випаданням осаду.

Ферментативні властивості. Стафілококи виробляють протеолітичні, сахаролітичні ферменти. Вони не утворюють індолу, розріджують желатин, згортають молоко, іноді сироватку, відновлюють нітрати в нітрит, продукують уреазу, каталазу, фосфатазу, утворюють аміак і сірководень, ферментують глюкозу, левульозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, маніт, гліцерин з утворенням кислоти.

Токсинутворення. Стафілококи продукують а-, b-, d-, і g- гемолізینی, які характеризуються гемолітичною, летальною і дермoneкротичною дією. У стафілококів виявляють ентеротоксин, ексfolіатини (епідермолітичні токсини) та токсин синдрому токсичного шоку.

Стафілококи продукують також лейкоцидин, який руйнує лейкоцити, володіють здатністю коагулювати плазму крові, продукують фибринолізин, виробляють фермент гіалуронідазу, руйнуючу гіалуронову кислоту, що входить до складу сполучної тканини.

Коагулазу, фибринолізин, лецитиназу, гіалуронідазу, дезоксірибонуклеазу, протеїнази, ліпазу і фосфатазу відносять до групи ферментів патогенності..

Багато штамів стафілококів виробляють пеніциліназу (b-лактамазу).

Патогенні штами стафілококів містять в своїй оболонці **протеїн А**, здатний реагувати неспецифічно з Fc-фрагментом IGG, що захищає стафілококи від дії антитіл і фагоцитів.

Стафілококовий екзотоксин, знешкоджуваний 0,3-0,5 % формаліном при температурі 37° З протягом 7-28 діб (**стафілококовий анатоксин**), при парентеральному введенні людям і тваринам обумовлює синтез антитіл - антитоксинів, здатних нейтралізувати стафілококовий токсин.

Резистентність. Стафілококи характеризуються порівняно високою стійкістю до висушування, заморожування, дії сонячного світла і хімічних речовин.

Класифікація. В даний час є приблизно 27 різних видів стафілококів. Вони розділяються на дві головні групи по здібності коагулювати плазму в результаті дії ферменту коагулази: на **коагулазо-позитивні** (*Staphylococcus aureus*) і **коагулазо-негативні** (*S. epidermidis* і *S. saprophyticus*).

Патогенність. Головний патогенний представник роду, *Staphylococcus aureus*, є причиною широкого діапазону великих і малих інфекцій людини і тварин (табл. 1).

ТАБЛИЦЯ 1. СТАФІЛОКОКОВІ ІНФЕКЦІЇ

Коагулазо-позитивні стафілококи (<i>S. aureus</i>)		Коагулазо-негативні стафілококи
ГНІЙНІ ІНФЕКЦІЇ	ТОКСИКО-ІНФЕКЦІЇ	
Фурункули, карбункули Раньові інфекції Абсцеси Імпетіго Мастити Септицемія Остеомієліт Пневмонія	Синдром ошареної шкіри Пемфігус (пухирчатка новонароджених) Синдром токсичного шоку Харчове отруєння	Інфіковані протези Інфіковані імпланти Вентрікуліти Перитоніти Септицемія Ендокардит

Лікування. При стафілококових захворюваннях застосовують антибіотики і сульфаніламідні препарати, протистафілококовий імуноглобулін або протистафілококову плазму.

Профілактика. До загальних заходів відносяться: оздоровлення умов праці і побуту, усунення вітамінної недостатності, попередження травматизму, суворе дотримання санітарно-гігієнічних вимог в пологових будинках, хірургічних відділеннях, дитячих установах, на виробництві, особливо на консервних заводах, дотримання чистоти тіла, часте миття рук теплою водою з милом.

СТРЕПТОКОКИ

Стрептококи входять в сімейство *Streptococcaceae*.

Морфологія. Стрептококи мають кулясту форму, розташовуються парами, ланцюжками, нерухомі, не утворюють спор, грампозитивні. Деякі штами утворюють капсулу.

Культивування. Стрептококи - факультативні анаероби, деякі різновиди-анаероби. Добре культивуються на цукровому, кров'яному, сироватковому і асцитичному агарі і бульйоні. На кров'яному агарі залежно від виду стрептококи можуть викликати б-гемоліз (прозора зона) або а-гемоліз (зелена зона) навколо колоній або не викликають гемолізу.

Ферментативні властивості. Патогенні стрептококи звичайно не розріджують желатин, не відновлюють нітрати в нітрит. Згортають молоко, розчиняють фібрин, ферментують глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, манніт (не завжди) з утворенням кислоти.

Антигенна структура. В основу вивчення антигенної будови стрептококів покладені дані серологічних досліджень. Стрептококи підрозділені Лансфільд на серогрупи, що позначаються прописними латинськими буквами.

Streptococcus pyogenes (b-гемолитический) відноситься до групи А за Лансфільд. Ці штами можуть бути далі підрозділені специфічними сироватками на типи за Гріффітсом, залежно від їхніх поверхневих білкових антигенів. М білок - найважливіший антиген.

Щонайбільше значення в інфекційній патології людини має група А. Стрептококи цієї групи виявляються при ангінах, скарлатині, бешисі та інших запальних процесах.

Токсинутворення. 1) **гемолізін** (гемотоксин, О-стрептолізін і S-стрептолізін), обумовлюють руйнування еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, макрофагів, 2) **лейкоцидин**, руйнує лейкоцити; 3) **летальний** володіє некротичною дією по відношенню до тканин, 4) **еритрогенний** термостабільний токсин, володіє здатністю викликати запальну реакцію шкіри у людей, в крові яких відсутні антитоксини;

Streptococcus pneumoniae (*Diplococcus pneumoniae*) належить до сімейства *Streptococcaceae*. Це ланцетоподібні або дещо подовжені коки, розташовуються попарно, мають капсулу, грампозитивні, нерухомі, не утворюють спор, факультативні анаероби. Добре ростуть на сироватковому або кров'яному агарі. *S. pneumoniae* має 84 серовари, продукує а-гемолізін і b-гемолізін.

Деякі вірулентні штами стрептококів групи А продукують **кардіогепатичний** токсин і **нефротоксин**, який обумовлює гострий гломерулонефрит.

Крім того, патогенні стрептококи утворюють **ферменти патогенності**: гіалуронідазу, фібринолізін, дезоксирибонуклеазу, рибонуклеазу, нейрамінідазу, протейназу, стрептокіназу, амілазу, ліпазу.

Патогенез захворювання у людини. Патогенез стрептококової інфекції визначається дією екзотоксину і бактерійних тіл. Такі хвороби, як ендокардит, поліартрити, гайморит, хронічний тонзиліт, бешихові запалення, пов'язані із зміненою реактивністю організму

За військового часу при важких травмах стрептококи проникають в рани і викликають розвиток абсцесів, флегмон, травматичного сепсису.

Імунітет. Постінфекційний імунітет при стрептококових захворюваннях відрізняється малою напруженістю і нетривалістю. Він пов'язаний з антитоксичним і антибактеріальним чинниками.

Лікування. Звичайно застосовують пеніцилін; за наявності протипоказань (алергія до пеніциліну) призначають стрептоміцин, еритроміцин. При хронічних процесах рекомендують вакцинотерапію (аутовакцини і полівакцини), фаготерапію.

Профілактика. Вакцина, містить суміш 23 серотипів полісахаридів, відібраних залежно від поширеності серотипів, відповідальних за розвиток пневмококових інфекцій.

МЕНІНГОКОКИ (*Neisseria meningitidis*)

Клітини менінгококів мають бобоподібну форму або вигляд кавових зерен, розташовуються як диплококи, спор і джгутиків не утворюють, в організмі мають ніжні капсули. За морфологією подібні до гонококів. У менінгококів є фімбрії, за допомогою яких вони здійснюють адгезію до клітин слизової оболонки верхніх дихальних шляхів. Менінгококи - аероби і факультативні анаероби - дуже вибагливі до живильних середовищ, до яких додають кров або сироватку. Оптимум культивування при 37 °С, краще в атмосфері 5-8 % CO².

Біохімічна активність менінгококів виражена слабо, вони ферментують лише глюкозу і мальтозу до кислоти. Справжнього екзотоксину нейсерії менінгіту не виділяють, їх ендотоксин термостійкий і високотоксичний. Від нього значною мірою залежить тяжкість клінічного перебігу менінгококової інфекції.

Фактором патогенності є капсула, фімбрії, гіалуронідаза, нейрамінідаза та білок зовнішньої мембрани.

За полісахаридним капсульним антигеном менінгококи поділені на 13 серологічних груп, які позначаються великими латинськими літерами (А, В, С, D, Х, Y, Z, W-135, E-29).

Основним біотопом менінгококів в організмі є слизова оболонка носоглотки хворих і носіїв. Саме вони є джерелом менінгокової інфекції. Передача відбувається повітряно-краплинним способом при значних скупченнях людей (казарми, навчальні заклади, дитячі садки), де можливі тісні й тривалі контакти. Хворіють частіше діти 1-8 років.

Патогенез. Місцем первинної локалізації збудника є носоглотка. Звідси менінгококи проникають у лімфатичні судини і кров. Розвивається або локальна (назофарингіт), або генералізована форма інфекції (менінгіт, менінгококцемія, менінгоенцефаліт, ендокардит, артрит тощо). При масовому розпаді мікробних клітин звільняється ендотоксин, настає токсинемія. Може виникнути ендотоксичний шок.

Імунітет. Після генералізованої форми менінгокової інфекції розвивається стійкий імунітет.

При **мікробіологічній діагностиці** менінгокової інфекції використовують бактеріоскопічне, бактеріологічне і серологічне дослідження.

Для **серологічної діагностики** використовують РНГА з еритроцитами, сенсibilізованими групоспецифічними полісахаридами.

Профілактика і лікування. Загальні профілактичні заходи зводяться до ранньої діагностики, госпіталізації хворих, санації бактеріоносіїв, карантину в дитячих закладах. З метою **специфічної профілактики** в період епідемічних спалахів менінгокової інфекції застосовують хімічну вакцину з полісахаридних антигенів серогруп А, В і С. Щеплення проводять дітям 1-7 років. Для лікування використовують пеніцилін, рифампіцин, левоміцетин та сульфаніламідні препарати, особливо сульфамометоксин.

ГОНОКОКИ (*Neisseria gonorrhoeae*)

Гонокок - збудник гонореї і бленореї. Бактеріальні клітини бобоподібної форми, розташовані парами, вігнутими сторонами всередину і опуклими - назовні, Гр(-). Не утворюють спор, нерухливі, але мають фімбрії. До живильних середовищ нейсерії гонореї дуже вибагливі. В аеробних умовах ростуть на свіжевиготовлених середовищах із нативним білком (кров, сироватка, асцитична рідина). Їх ферментативні властивості слабо виражені, з вуглеводів розкладають тільки глюкозу, протеолітичні ферменти відсутні.

Екзотоксину гонококи не виділяють, але мають термостабільний ендотоксин, токсичний для людини і лабораторних тварин.

Головними біотопами гонококів є слизова оболонка статевих органів і кон'юнктива. Джерелом гонокової інфекції є тільки хвора людина. Збудник передається статевим шляхом. Видового імунітету до гонококів у людини не існує. Перенесене захворювання також не залишає стійкого і тривалого імунітету.

Бактеріоскопічне дослідження є загальним методом діагностики гострої гонореї і бленореї.

Бактеріологічне дослідження проводять у тих випадках, коли гонококи в мазках не виявляють або знаходять нетипичні, змінені форми.

Серологічну діагностику проводять при хронічній гонореї. Вакцинопрофілактика не проводиться. Лікують гонорею пеніциліном і сульфаніламідними препаратами. При хронічних формах із лікувальною метою застосовують гонокову убиту вакцину.

ПАТОГЕННІ КЛОСТРИДІЇ

Патогенні анаероби належать до сімейства *Bacillaceae* роду *Clostridium*. Сюди входять збудники правця, анаеробної інфекції і ботулізму. Вони мають загальні ознаки. Це крупні поліморфні грампозитивні бацили; деякі види є перитрихами, в зовнішньому середовищі утворюють сферичні або овальні спори, розташовані термінально (паличка правця) або

субтермінально (збудники анаеробної інфекції, ботулізму). Більшість штамів росте в анаеробних умовах і утворює екзотоксини.

КЛОСТРИДІЇ ПРАВЦЯ

Морфологія. Збудник правця (*Clostridium tetani*) - пряма паличка, перитрих, утворює спори кулястої форми, розташовані на кінці, не утворює капсули; грампозитивна.

Культивування. Суворий анаероб. На цукровому або кров'яному агарі росте у вигляді нижніх нальотів з компактним центром і ниткоподібними відростками по периферії, іноді навкруги колоній утворюється зона гемолізу. При посіві уколом в стовпчик агару ростуть у вигляді ялинки або щітки, з'являються ніжні колонії, нагадуючі грудки вати, хмарки. Середовище Кітта - Тароцці унаслідок розщеплювання білків каламутніє з утворенням газу і своєрідного запаху при культивуванні

Токсинування.

C. tetani продукує **гемолізін** (тетанолізін) та **нейротоксин** (тетаноспазмін)

Тетаноспазмін інтерферує з нормальним гальмуванням рухових імпульсів, утворюється пресинаптичний блок передачі гальмуючих імпульсів в спинному мозку із спастичним паралічем уражених м'язів в результаті активації як груп антагоністів, так і агоністів.

Антигенна структура. Клострідії правця неоднорідні, відомі 10 сероварів. Всі вони продукують ідентичні екзотоксини. Рухливі штами містять Н-антигени, нерухомі - тільки О-антиген.

Резистентність. Спори вбиваються тільки автоклавуванням.

Більшість випадків правця у дорослих доводиться на осіб, зайнятих в сільському господарстві, понад 33 % складають діти у віці 1 - 15 років, більше половини захворювань правцем виникає в результаті поранень нижніх кінцівок лопатою, цвяхом, стернею під час роботи в полі, на городі. У новонароджених збудник інфекції може проникнути через пупковий канат, у породіль - через порушену слизову оболонку матки. На місці проникнення спор клострідій відбувається перетворення їх у вегетативні форми, які виділяють екзотоксин.

Захворювання починається з судорожних скорочень м'язів ділянок тіла, куди проник збудник, потім настає тонічне скорочення жувальних м'язів (тризм) і мимічних м'язів особи (*risus sardonius*), потиличної мускулатури; далі до процесу залучається мускулатура спини (*epistotonus*) і кінцівок. Розвивається клінічна картина низхідного правця. Тіло хворого приймає вид дуги, хворий лежить на ліжку, спираючись на неї потилицею і тазом. Смерть настає від асфіксії і поразки життєво важливих центрів.

Летальність складає 35 – 70 %, в середньому 40 %.

Імунітет. Імунітет (постінфекційний) переважно антитоксичний.

Лікування. Антитоксична протиправцева сироватка, антибіотики, протисудомна терапія

Профілактика: АКДП за схемою, правцевий анатоксин при травмі.

Лабораторна діагностика звичайно проводиться в рідких випадках зважаючи на виразну картину хвороби.

КЛОСТРИДІЇ АНАЕРОБНОЇ ІНФЕКЦІЇ

До збудників анаеробної інфекції відносяться: *C. perfringens*, *C. novyi* (*C. oedematiens*), *C. septicum*, *C. histolyticum*, *C. sordelli*.

Clostridium perfringens.

Цей мікроорганізм є нормальним мешканцем кишечника людей і тварин. Зовні зберігається протягом років у вигляді спор. Майже постійно знаходиться в ґрунті. **Морфологія.** *C. perfringens* представляє собою товсту поліморфну нерухому паличку. В організмі тварин і людини утворює капсулу, в зовнішньому середовищі - овальної форми спору, розташовану субтермінально. Грампозитивна.

Токсинування. Мікроб продукує токсин, який має складну хімічну структуру (летальний токсин, гемотоксин, нейротоксин, і некротический токсин). Крім того, *C. perfringens* утворює лецитиназу, протеїназу, фібринолізин, колагеназу, гіалуронідазу, желатиназу і

дезоксірибонуклеазу. *C. perfringens* викликає швидкий і повний розпад (некротизацію) м'язової тканини. Смерть настає в результаті швидкої асфіксії, що розвивається внаслідок інтенсивного руйнування еритроцитів і поразки нервових центрів

Антигенна структура. *C. perfringens* має шість сероварів А, В, З, D, Е і F, які відрізняються серологічно і специфічністю своїх токсинів.

Імунітет. При анаеробній інфекції несприйнятливість пов'язана головним чином з наявністю антитоксинів до збудників раньової інфекції, що найбільш часто зустрічаються.

Лабораторна діагностика. Дослідження проводять по етапах: 1) мікроскопія відокремлюваного рани для виявлення клостридій і капсул у *C. perfringens*; 2) виділення чистої культури і її ідентифікація за морфологією клостридій, капсулоутворенню, рухливості, згортанню молока, розрідженню желатину, ферментації вуглеводів; 3) зараження білих мишей фільтратами бульйонної культури або кров'ю хворих для виявлення токсину; 4) реакція нейтралізації токсину антитоксином в експериментах на білих мишах.

Лікування і профілактика полягають з наступних заходів:

1) хірургічна обробка ран; 2) раннє введення з профілактичною ціллю полівалентної антитоксичної очищеної і концентрованої сироватки «Діаферм 3» проти *C. perfringens*, *C. novyi* і *C. septicum* по 10000 МЕ; з лікувальною ціллю дози сироватки збільшують в 5 раз (по 50 000 МЕ кожного серовара); 3) застосування антибіотиків для боротьби з раньовою інфекцією (стрептоміцин, пеніцилін, граміцидин), сульфаніламідних препаратів, анаеробних фагів і дифага, антистафілококової плазми, антистафілококового гамма-глобуліну.

КЛОСТРИДІЇ БОТУЛІЗМУ (*Clostridium botulinum*)

Морфологія. Збудник ботулізму- поліморфна паличка рухлива, має від 4 до 30 джгутиків; в зовнішньому середовищі продукує овальні спори, розташовані субтермінально, додаючи мікробу вид тенісної ракетки; грампозитивна.

Культивування. Таке ж, як і для інших клостридій.

Токсиноутворення. Продукують екзотоксин (нейротоксин) дуже великої сили дії. Токсиноутворення відбувається при сприятливих умовах в культурах і харчових продуктах (м'ясні, рибні, овочеві), а також в організмі тварин і людини. Вміст хлориду натрія в концентрації 6 – 8 %, а також кисле середовище перешкоджають розмноженню мікроба і накопиченню токсину. Нагрівання до 90 °3 40 мін або кип'ячення протягом 10 мін руйнують токсин.

Ботуліністичний екзотоксин на відміну від правцевого і дифтерійного стійкий до дії шлункового соку і всмоктується незмінним. Екзотоксин типу Е активується трипсином, внаслідок чого біологічна його активність в кишечнику зростає у багато разів.

Антигенна структура і класифікація. Встановлено наявність 7 сероварів збудника ботулізму: А, В, З, D, Е, F і G. Щонайбільшою силою токсичної дії для людини володіють серовари А, В, Е, F. Кожний серовар нейтралізується відповідним антитоксином. О-антиген є загальним для всіх сероварів.

Резистентність. Спори витримують кип'ятіння від 90 хв до 6 год, при температурі 115°С вони гинуть протягом 5 - 40 хв, при 120° С - за 3 - 22 хв. У великих шматках м'яса, в банках великої місткості вони можуть залишатися живими і після автоклавування при 120° С протягом 15 хв. В 5 % розчині фенолу спори зберігаються до 1 доби, в культурах - до 1 року.

Патогенез захворювання у людини. Причиною отруєння є вживання в їжу м'ясних продуктів, овочевих і рибних консервів, ковбаси, шинки, солоні і копченої червоної риби, курнута, качок і інших продуктів, інфікованих збудниками ботулізму.

Патологічний процес обумовлюється екзотоксином, який всмоктується через кишечник, поступає в кров, вражає ядра довгастого мозку, серцево-судинну систему і м'язи.

Симптоми ботулізму включають запаморочення, головний біль, і, іноді, блювоту. Наступає параліч очних м'язів, порушення акомодатції, розширення зіниць і двоїння в очах. Також розвивається утруднення при ковтанні, афонія і глухота. Смертність дуже висока (40-60 %).

Імунітет. Хвороба не залишає стійкого постінфекційного імунітету (антитоксичного і антибактеріального).

Лабораторна діагностика. Досліджуваний матеріал засівають на поживне середовище Кітта - Тароцці. Виділену чисту культуру ідентифікують за культуральними, біохімічними і токсигенними властивостями.

Для виявлення токсину використовують метод біологічної нейтралізації.

Лікування. Внутрішньом'язово дробно вводять полівалентну сироватку трьох сероварів (А, В, Е), після встановлення серовара збудника тільки по 10 000 МЕ сироватки сероварів А, та 5000 МЕ сироватки серовара В; за відсутності поліпшення ін'єкції сироватки роблять через 5 - 10 ч в тих же дозах. З антибіотиків рекомендують пеніцилін, тетрациклін.

Профілактика. В попередженні ботулізму велике значення має правильна технологія обробки продуктів на підприємствах харчової промисловості.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекції: питання, тести, ситуативні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекції:

Проблемне питання: «*Staphylococcus aureus* часто живе на шкірі та слизових оболонках людини як коменсал, але може викликати гнійні інфекції. Які фактори вірулентності (капсула, білок А, токсини, ферменти) визначають перехід від коменсалізму до патогенності, та як порушення шкірного бар'єру або імунний дефіцит сприяють розвитку інфекції?»

Клінічне питання: «Пацієнт має глибоку пародонтальну кишеню у ділянці першого нижнього премолара з неприємним запахом та гнійними виділеннями. Мікробіологічне дослідження виявило переважання анаеробних мікроорганізмів. Чому саме в пародонтальних кишнях панують анаероби, як це впливає на вибір антибіотиків (обов'язково з активністю проти анаеробів), та які механічні та хірургічні методи лікування необхідні?»

Питання для роздумів: «MRSA (метицилін-резистентний *Staphylococcus aureus*) є серйозною глобальною проблемою в лікуванні гнійних інфекцій, особливо в госпітальних умовах. Як стоматолог повинен реагувати на виявлення MRSA-інфекції ротової порожнини, які антибіотики залишаються ефективними (глікопептиди, лінезолід), та як організувати кворуму контролю в клініці?»

Актуальне питання: «Госпітальні інфекції, спричинені гноєрідними кокам (особливо MRSA), часто розповсюджуються через контаміновані руки медичного персоналу та інструменти. Як правильна організація інфекційного контролю (гігієна рук, стерилізація інструментів, обов'язкове використання ЗІЗ) у стоматологічному кабінеті впливає на захисту як пацієнтів, так і персоналу від крос-інфекцій?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Визначте поняття "гноєрідні коки". Які родини належать до цієї групи?
2. Охарактеризуйте морфологію та культуральні властивості стафілококів.
3. Як диференціювати *Staphylococcus aureus* від коагулазонегативних стафілококів?
4. Які фактори вірулентності продукує *Staphylococcus aureus* (коагулаза, гемолізін, ентеротоксини, лейкоцидин, білок А)?
5. Які захворювання спричиняє *S. aureus* у стоматологічній практиці?
6. Що таке MRSA? Який механізм резистентності до метициліну?
7. Які антибіотики ефективні проти MRSA (ванкоміцин, лінезолід, даптоміцин)?
8. Охарактеризуйте морфологію та культуральні властивості стрептококів.
9. Які типи гемолізу на кров'яному агарі характерні для стрептококів (альфа, бета, гамма)?
10. Охарактеризуйте класифікацію стрептококів за Ленсфілд (групи А, В, С, D, G).
11. Які захворювання спричиняє *Streptococcus pyogenes* (група А)?

12. Що таке стрептококи групи *viridans*? Яка їхня роль в етіології інфекційного ендокардиту?
13. Охарактеризуйте *Streptococcus mutans*: роль у карієсі, механізми каріогенності.
14. Які фактори вірулентності *S. mutans* (продукція кислоти, синтез екзополісахаридів, кислототолерантність)?
15. Охарактеризуйте *Streptococcus pneumoniae*: морфологія, капсула, захворювання.
16. Які показання до антибіотикопрофілактики інфекційного ендокардиту в стоматології?
17. Визначте поняття "облігатні анаероби". Чим вони відрізняються від факультативних анаеробів?
18. Які умови необхідні для культивування анаеробів?
19. Які клінічні ознаки вказують на анаеробну інфекцію (гнильний запах, некроз, газоутворення)?
20. Охарактеризуйте клостридії: морфологія, спороутворення, облігатні анаероби.
21. Охарактеризуйте *Clostridium tetani*: збудник правця, тетаноспазмів, клініка, профілактика.
22. Охарактеризуйте *Clostridium botulinum*: збудник ботулізму, ботулінічний токсин, застосування в медицині.
23. Охарактеризуйте *Clostridium perfringens*: збудник газової гангрени, альфа-токсин.
24. Охарактеризуйте *Clostridium difficile*: псевдомембранозний коліт, токсини А і В, зв'язок з антибіотикотерапією?
25. Охарактеризуйте *Bacteroides fragilis*: облігатний анаероб кишечника, абдомінальні інфекції, резистентність до бета-лактамів.
26. Які анаеробні бактерії мешкають у порожнині рота (*Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*)?
27. Яка роль анаеробів у захворюваннях пародонту (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*)?
28. Які методи мікробіологічної діагностики анаеробних інфекцій?
29. Які антибіотики ефективні проти анаеробів (метронідазол, кліндаміцин, карбапенеми)?
30. Які принципи лікування анаеробних інфекцій щелепно-лицевої ділянки (хірургічна санація + антибіотики)?

Список джерел до теми:

Основні:

1. Широбоков В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.
2. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.

Додаткові:

3. Greenwood D., Barer M., Slack R., Irving W. Medical microbiology: a guide to microbial infections. Churchill Livingstone Elsevier, 2012, 18th ed.: 95-160.
4. Kuriyama T., Karasawa T., Nakagawa K., Saiki Y., Yamamoto E., Nakamura S. Bacteriologic features and antimicrobial susceptibility in isolates from orofacial odontogenic infections. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology, 2000, 90(5): 600-608.

ЛЕКЦІЯ «СПРОХЕТИ. ВІБРІОНИ»

Актуальність теми: Спірохети мають особливе значення для стоматологічної практики з кількох причин. *Treponema pallidum*, збудник сифілісу, на вторинній стадії спричиняє характерні ураження порожнини рота (сифілітичні папули, «скошений луг» на язиці), які лікар-стоматолог може виявити першим. Раннє розпізнавання цих проявів критично важливе для своєчасного лікування та запобігання поширенню інфекції. Оральні трепонеми (*T. denticola*) входять до складу "червоного комплексу" та відіграють ключову роль у патогенезі агресивного пародонтиту, виробляючи протеолітичні ферменти, що руйнують тканини пародонту. *Borrelia burgdorferi*, збудник хвороби Лайма, може спричинити неврологічні ускладнення, включаючи параліч лицевого нерва, що потрапляє в поле зору стоматологів. Вібріони, зокрема *Vibrio cholerae*, хоча й рідко зустрічаються в українській стоматологічній практиці, є важливою моделлю для розуміння бактеріальної патогенності, регуляції вірулентності та епідеміології водних інфекцій. Знання про ці мікроорганізми розширює клінічне мислення та готує майбутніх лікарів до роботи в умовах глобалізованої медицини.

Мета:

Навчальна мета:

- Сформувати знання про морфологію, біологічні властивості та класифікацію спірохет
- Вивчити етіологію, патогенез та клінічні прояви сифілісу, особливо в порожнині рота
- Ознайомити з роллю оральних трепонем у пародонтиті
- Пояснити особливості *Borrelia* та *Leptospira*
- Вивчити біологічні властивості, патогенез та епідеміологію холери
- Розкрити молекулярні механізми регуляції вірулентності *Vibrio cholerae*

Виховна мета:

- Виховати настороженість щодо виявлення сифілітичних уражень порожнини рота
- Сформувати розуміння важливості епідеміологічного контролю інфекцій
- Розвинути інтерес до молекулярної мікробіології та патогенезу

Основні поняття (перелік питань):

Спірохети – тонкі спіральні бактерії з аксіальними філаментами (ендоджгутиками), що забезпечують штопороподібну рухливість

Treponema pallidum – збудник сифілісу, має унікальну спіральну морфологію, повільно культивується, діагностується серологічно

Borrelia – збудники рецидивуючих гарячок та хвороби Лайма, передаються іксодовими кліщами

Leptospira interrogans – збудник лептоспірозу, зоонозна інфекція

Вібріони – короткі вигнуті грам-негативні палички з полярним джгутиком

Vibrio cholerae – збудник холери, серогрупи O1 та O139

Холерний токсин (СТ) – АВ-токсин, що активує аденілатциклазу, підвищує рівень цАМФ, блокує абсорбцію Na⁺ та Cl⁻ і стимулює секрецію води в просвіт кишечника, спричиняючи рясну водянисту діарею

Toxin-coregulated pilus (TCP) – фактор колонізації та рецептор для СТХФ бактеріофага, що несе гени холерного токсину

Регуляція вірулентності *V. cholerae* – складна каскадна система (ToxR, TcpP, ToxT), що реагує на сигнали середовища (рН, жовчні кислоти, температура)

Quorum sensing – система міжклітинної комунікації через автоіндуктори, що регулює експресію генів вірулентності залежно від щільності популяції

Система секреції VI типу (T6SS) – молекулярна зброя *V. cholerae* для атаки на

комменсальну мікробіоту кишечника, сприяє колонізації

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СПИРОХЕТ

Спірохети – грамнегативні тонкі рухливі одноклітинні зігнуті або спіральні палички. Цитоплазма оточена цитоплазматичною мембраною, пептидоглікановий шар забезпечує ригідність клітки і її форму, не утворюють спор і капсул, мають ендоджгутики. За Романовським - Гімзою одні види забарвлюються в синій, інші - в синьо-фіолетовий, треті - в рожевий колір. Гарним методом обробки спірохет є сріблення.

До патогенних спірохет відносяться три роди: *Treponema*, *Leptospira*, *Borrelia*.

TREPONEMA

Патогенні для людини трепонеми є збудниками венеричного сифілісу і невенеричних трепонематозів - фрамбезії, беджеля і пінти.

ТАБЛИЦЯ 1. КЛАСИФІКАЦІЯ ПАТОГЕННИХ ДЛЯ ЛЮДИНИ ТРЕПОНЕМ

Вигляд	Захворювання у людини	Основний шлях передачі
<i>Treponema pallidum</i>	Венеричний і вроджений сифіліс у всіх країнах світу	Статевий і вроджений
<i>Treponema pallidum</i> підвид <i>endemicum</i>	Беджель (невенеричний сифіліс) на південному сході середземноморської зони	Контактно-побутовий (через посуд)
<i>Treponema pertenue</i>	Фрамбезія, або явс, в тропічних країнах Африки, південно-східній Азії, на західних тихоокеанських островах, в тропічних країнах Америки	Контактний
<i>Treponema carateum</i>	Пінта, або карате, в Мексиці, Центральній Америці, субтропічних країнах Південної Америки, Західній Індії, на Кубі	Контактний

Морфологія. *Treponema pallidum* - це спіральні бактерії з 8 - 14 рівномірними завитками, 10 - 13 мкм в довжину і 0,13 - 0,15 мкм завширшки. Трепонеми рухливі (володіють обертальним, поступальним, згинальним і хвилеподібним рухом), погано сприймають фарбники. За методом Романовського - Гімзи забарвлюються в блідо-рожевий колір..

Культивування. Бліда трепонема – мікроаерофіл, на штучних поживних середовищах не росте. Для накопичення трепонем заражають кроля в тестикули, отримують тканинну культуру. Але такий метод культивування для діагностичного виділення збудника сифілісу не застосовується .

Антигенна структура. Серологічні варіанти не встановлені.

Патогенез захворювання у людини. Джерело хвороби - хвора людина. Хвороба передається при прямому контакті, переважно статевим шляхом, іноді через посуд і інші предмети, а також через плаценту.

Розрізняють три періоди сифілісу.

Первинний сифіліс розвивається після інкубаційного періоду тривалістю від 2 тиж до 3 міс, звичайно 21 - 24 доби. Він характеризується появою первинної сифіломи у вигляді щільного

інфільтрату з поверхневою ерозією або язвою на місці проникнення трепонеми. Тривалість першої стадії хвороби близько 6 тижнів. Первинний сифіліс підрозділяють на серонегативний, серопозитивний і прихований (*lues latens*).

При **вторинному сифілісі** спостерігаються висипання на шкірі і слизових оболонках, розвиток специфічних процесів у внутрішніх органах, в кістковій, периферичній і центральній нервовій системі. Тривалість цього періоду 2 - 3 роки, іноді декілька років.

В **третинному періоді** в шкірі, підшкірній клітковині, внутрішніх органах і т. д. утворюються папули, горбики, гуми або гумозні інфільтрати, схильні до розпаду. Цей період продовжуються декілька років. Третинний сифіліс також може протікати в активній і прихованій формах.

В деяких випадках через 9 - 10 років настає поразка центральної нервової системи (прогресивний параліч) або спинного мозку (спинна сухотка, *tabes dorsales*), коли трепонеми у великій кількості локалізуються в мозковій тканині, обумовлюючи глибокі органічні і функціональні зміни центральної нервової системи. Цей період називають іноді **четвертним сифілісом**.

Імунітет. При сифілісі імунітет істотно відрізняється по своєму характеру від імунітету при інших захворюваннях. Хвороба не залишає після себе несприйнятливості, ті, хто видужали від хвороби можуть бути повторно інфіковані.

Хвороба супроводжується виробленням двох видів антитіл: неспецифічних (реагінів) і специфічних (протитрепонемних). Реагіни продукуються всіма хворими сифілісом, але не володіють захисною дією, вони вступають в реакцію *in vitro* з кардіоліпіновим антигеном, екстрагованим із м'язів бичачого серця. Специфічні протитрепонемні антитіла (IgG і IgM) виробляються під впливом протейнових антигенів блідої трепонеми.

Лабораторна діагностика.

Складність вирощування *in vitro* більшості патогенних трепонем робить неможливим діагностування трепонематозів звичайними бактеріологічними методами

Пряма мікроскопія. Трепонеми можуть бути виявлені безпосередньо в свіжому ексудаті з первинних або повторних сифілом темнопольною або фазово-контрастною мікроскопією.

Серологічні реакції. Інфекція *T. pallidum* приводить до утворення двох типів антитіл:

1. Специфічні антитіла, направлені перш за все на поліпептидні антигени трепонем.
2. Неспецифічні антитіла, які реагують з нетрепонемним кардіоліпіновим антигеном.

Неспецифічні серологічні тести на сифіліс. VDRL, RPR аглютинаційні тести з кардіоліпіном.

Тести на специфічні протитрепонемні антитіла.

Реакція ФТА-АДС - непряма реакція **імунофлюоресценції**, в якій в якості антигена використовується *T. pallidum* з адсорбією сироватки пацієнта непатогенною *T. phagedenis*.

Реакція непрямої гемаглютинації (РНГА). В цій реакції антиген *T. pallidum* зв'язаний на поверхні еритроцитів, і специфічні антитіла досліджуваної сироватки викликають гемаглютинацію. Як і в тесті ФТА-АДС, сироватка повинна бути заздалегідь адсорбована непатогенними трепонемами для видалення антитіл проти комєнсальних спірохет.

Раніше велике значення мала **реакція імобілізації блідих трепонем (РІБТ)**. Вона заснована на здатності антитіл, присутніх в досліджуваній сироватці, імобілізувати трепонеми, але зараз не використовується.

Інші серологічні реакції. Виробництво моноклональних антитіл до *T. pallidum* дозволило створювати діагностичні системи, засновані на виявленні реакцій антитіл до специфічних трепонемних антигенів. Такі дослідження використовують технологію імуноферментного аналізу та імуноблотингу.

Пряме виявлення ДНК трепонем в клінічному матеріалі молекулярними методами типу **полімеразної ланцюгової реакції** в майбутньому може грати роль в підтвердженні діагнозу сифілісу у важких або атипових випадках.

Лікування.

Всі патогенні трепонеми чутливі до бензилпеніциліну, тому традиційним методом лікування первинного і повторного сифілісу є тривала терапія високими дозами новокаїнової солі бензилпеніциліну. Якщо є алергія до пеніциліну, можуть використовуватися еритроміцин, тетрациклін або левомицетин. Антибіотикотерапія хворих сифілісом, особливо пеніциліном, викликає характерну системну реакцію, звану реакцією Яріш-Герксгеймера. Вона характеризується лихоманкою, що швидко починається (в межах 2 год), ознобом, болями в м'язах, тахікардією, задишкою, розширенням судин і зниженням кров'яного тиску. Вважають, що ця реакція розвивається унаслідок вивільнення із спірохет ендогенного пірогену.

Профілактика сифілісу досягається лікуванням виявлених хворих і всіх відомих контактних осіб. Лікування контактних дуже важливо, оскільки деякі з них можуть бути носіями інфекції, навіть якщо вони не мають ніяких явних ознак захворювання.

ПАТОГЕННІ ЛЕПТОСПІРИ

Патогенні лептоспири - *Leptospira* (греч. leptos - довгий, тонкий) є збудниками зоонозних захворювань.

Спірохети роду *Leptospira* характеризуються численними завитками, гачкоподібними кінцями і активною рухливістю.

Класифікація. Рід *Leptospira* полягає з двох видів, *Leptospira interrogans* і *L. biflexa*. Перший включає паразитичні штами, тоді як другий - вільні сапрофітичні штами, що живуть в прісній і іноді в солоній воді.

Морфологія. Лептоспири представляють собою мікроорганізми з 12 - 18 дрібними первинними завитками, щільно прилеглими один до одного, і нагадують щільну пружину із заломленими і потовщеними кінцями. Вони мають повторні завитки на кінцях, які додають їм S - або C-форму. Довжина лептоспір 7 - 14 (іноді 20 - 30) мкм, товщина 0,06 - 0,15 мкм. Вони рухливі, мають обертальні і поступальні рухи.

Лептоспири сприймають анілінові барвники, за Романовським - Гімзою забарвлюються в блідо-рожевий колір. Вони можуть бути виявлені за Бурі і методом сріблення за Морозовим.

Культивування Лептоспири - облігатні аероби, ростуть в рідких і напіврідких поживних середовищах, які містять 5 - 10 % кролячої сироватки. На щільних поживних середовищах лептоспири утворюють колонії на 4 - 8 добу. Оптимальна температура зростання - 28-30 °С.

Токсинутворення. Екзотоксин лептоспири не продукують. Токсичні речовини містяться тільки в живих лептоспірах, паразитуючих в організмі людини і тварин.

Резистентність. Лептоспири витримують низькі температури і виживають у воді протягом багатьох місяців. Вони дуже чутливі до висихання і кислот. Витримка при 56 °С вбиває лептоспири протягом 30 хвилин. Лептоспири швидко розчиняються в жовчі і жовчних кислотах.

Патогенез захворювання у людини. Джерелом лептоспірозу є криси, які виділяють лептоспири в навколишнє середовище (воду, ґрунт, предмети і харчові продукти) з сечею. Чинниками передачі є заражена вода і харчові продукти. Дрібні гризуни (польова миша, лугова миша, дикі криси і т.д.), рогата худоба, свині і собаки - джерела і резервуари лептоспірозу і виділяють мікроорганізми з сечею. Люди заражаються при купанні і питті зараженої води або молока від інфікованих корів, під час скиртування сіна і догляді за хворою худобою.

Leptospira interrogans проникає в організм людини через шлунково-кишковий тракт, пошкоджені шкірні покриви і слизові оболонки. Хвороба характеризується раптовим початком, високою гіпертермією, головними болями і болем в м'язах. Розвивається жовтяниця, печінка стає збільшеною і болючою. Спостерігається геморагічний висип, кровотечі з носа, шлункові і кишкові крововиливи, селезінка збільшується. Також розвивається нефрит і анурія. У багатьох хворих розвиваються рецидиви.

Бактеріємія, яка розвивається в перші дні хвороби, грає важливу роль в патогенезі лептоспірозу. В кінці першого тижня, мікроорганізми нагромаджуються в печінці, селезінці, лімфатичних вузлах, і кістковому мозку. Вони виділяються з сечею. Захворювання звичайно закінчується одужанням.

Хвороба зустрічається протягом весняно-літнього сезону.

Імунітет. При захворюванні виробляється стійкий імунітет, механізм якого пов'язаний з присутністю антитіл. Аглютиніни і лізини в титрах 1:10 000-1:100 000 виявляються в сироватці хворих на 8 - 10 день від початку захворювання. Антитіла зберігаються протягом багатьох років.

Лабораторна діагностика. Полягає в наступному:

1) пряма мікроскопія в темному полі розчавленої краплі цитратної крові, спинномозкової рідини, сечі, суспензії органів трупів;

2) виділення гемо- і уринокультури. Кров хворого, узятую до 4 - 5-го дня хвороби, засівають по 0,5 - 1 мл в декілька пробірок з рідким поживним середовищем, покритим вазеліновим маслом, і культивують при 28°C. Отримання гемокультури є надійним методом лабораторної діагностики лептоспірозу. Для виділення уринокультури на 2 - 3-му тижні хвороби засівають сечу;

3) реакція мікроаглютинації з сироваткою хворого або видужуючого і живою культурою еталонних штамів лептоспир різних серогруп, ставляться з моменту падіння температури до 2 місяців після одужання. Діагностичну цінність мають позитивні реакції з сироваткою в розведенні не менше чим 1:400.

4) реакція зв'язування комплементу;

5) зараження морських свинок кров'ю хворого (протягом перших днів хвороби, перед появою жовтяниці). Через 2-3 дня досліджують на наявність лептоспир ексудат і кров. Біопроба є самим раннім методом лабораторної діагностики лептоспірозу.

Лікування. Призначають пеніцилін, тетрациклін і протилептоспірозний глобулін.

Профілактика. Лептоспірозна вакцина представляє собою суспензію вбитих нагріванням лептоспир декількох серогруп.

ПАТОГЕННІ БОРРЕЛІЇ

Збудники поворотного тифу.

По характеру переносників поворотний тиф підрозділяють на епідемічний, передаваний вошами, і ендемічний, при якому переносниками є кліщі.

Збудник **епідемічного поворотного тифу** відкритий Обермайером в 1868 р.

Морфологія. Боррелії поворотного тифу (*Borrelia recurrentis*) представляють собою тонкі спіралевидні мікроорганізми завдовжки 8 - 18 мкм і шириною 0,3 - 0,6 мкм, з 4 - 12 завитками; кінці їх загострені; вони рухливі, грамнегативні, добре забарвлюються за методом Романовського - Гімзи в синьо-фіолетовий колір.

Культивування. Збудник вирощують в анаеробних умовах на поживних середовищах з рН 7,2 - 7,4, які містять асцитичну рідину, сироватку, шматочки тканин або органів, в курячих ембріонах. Кров хворого (1 - 2 краплі) засівають в поживні середовища, заливають маслом і поміщають в термостат при температурі 37 °С.

B. recurrentis ферментативними властивостями не володіє, сероварів не має.

Патогенез захворювання у людини. Джерело інфекції - хвора людина, переносник - платяна воша (*Pediculus humanus*). Воша, насмоктавшись крові хворого, сама заражається і через 5 - 12 днів здатна інфікувати людину; проникнення боррелій відбувається в результаті втирання гемолімфи роздавлених вошей.

Збудник поворотного тифу розмножується в тканинах лімфоїдно-макрофагальної системи. До кінця інкубаційного періоду він проникає у великій кількості в кров, під впливом її бактерицидних речовин частково гине. Ендотоксин, що утворюється, обумовлює поразку центральної нервової системи з розвитком токсикозу, лихоманки, функціональних порушень, дистрофії органів і тканин. Ендотоксин вражає кровоносну систему, сприяє розвитку інфарктів в селезінці і некрозів в селезінці і печінці.

Хвороба характеризується високою температурою тіла (39 – 40 °C), нудотою, блювотою, збільшенням селезінки. При першому нападі лихоманка тримається 6 - 7 днів, потім температура падає, настає апірексія або ремісія протягом 5 - 7 днів. Тривалість кожного подальшого нападу зменшується, а період апірексії подовжується.

Імунітет є нестійким і нетривалим, характеризується наявністю антитіл (аглютиніни, лізини, тромбоцитобаріни, що викликають феномен навантаження Рікенберга - Брусина).

Лабораторна діагностика. Полягає в наступному:

1) дослідження товстих крапель і мазків крові, узятих під час нападу. Забарвлення за методом Романовського - Гімзи, фуксином, за Буррі;

2) в період апірексії можна ставити серологічну пробу. На наочному склі краплю сироватки хворого, що переніс напад поворотного тифу, змішують з краплею крові хворого, що містить збудника, покривають покривним склом і поміщають в термостат. Через 30 - 60 мін боррелій під впливом антитіл втрачають рухливість, і гинуть;

3) реакція Рікенберга - Брусина: сироватку хворого змішують з цитратної плазмою нормальної морської свинки в рівних об'ємах. До трьох об'ємів цієї суміші додають один об'єм культури борредий, суміш ретельно перемішують в загострених пробірках, ставлять в термостат на 15 мін при 37° С, потім з дна піпеткою беруть краплю, переносять її на наочне скло, покривають покривним склом і досліджують в темному полі з імерсійним об'єктивом. За наявності специфічних антитіл тромбоцити морської свинки адсорбуються на поверхні тіла боррелій і перешкоджають їхньому руху (відбувається «навантаження» боррелій тромбоцитами);

4) для диференціації епідемічного і ендемічного поворотного тифу використовують біологічний метод: морській свинці вводять 3 - 5 мл кров хворого; за наявності епідемічного (вошивого) поворотного тифу тварина не захворює.

Виявлення боррелій в товстих краплях і мазаннях в період гарячкового стану є вирішальним в діагностиці.

Лікування. Вводять пеніцилін, хлортетрациклин левоміцетин.

Профілактика. Захворюваність поворотним тифом приймає епідемічний характер у зв'язку з народними бідами (війни, голод). В кінці першої світової війни в Росії було зареєстровано більше 4 млн. хворих поворотним тифом з летальною 10 – 26 %. Підвищена захворюваність наголошувалася в період Великої Вітчизняної війни, проте летальна не перевищувала 1%.

Підвищення матеріального і культурного рівня населення, проведення протиепідемічних заходів, своєчасна діагностика хвороби, госпіталізація хворих, медичне спостереження за вогнищ навели до повної ліквідації епідемічного поворотного тифу в багатьох країнах.

ХОЛЕРНИЙ ВІБРІОН

Vibrio cholerae відноситься до сімейства *Vibrionaceae*, роду *Vibrio*.

Морфологія. Холерні вібріони мають форму зігнутої палички завдовжки 1,5 - 3,0 мкм, завтовшки 0,3 мкм; рухливі, звичайно монотрихи, не утворюють спор і капсул, грамнегативні.

Культивування. Холерні вібріони - факультативні анаероби, добре розвиваються на середовищах з рН 7,2 - 8,6, на щільних середовищах утворюють прозорі, з голубуватим відтінком опуклі дископодібні колонії з рівними краями. На желатині мікроорганізми утворюють прозорі зернисті колонії які при дослідженні під мікроскопом схожі на бите скло. На лужному бульйоні і пептонній воді через 6 г зростання з'являється ніжна **плівка**, яка складається з холерних вібріонів.

Ферментативні властивості. Холерні вібріони розріджують згорнуту сироватку, желатин, утворюють індол, аміак, ферментують з утворенням кислоти глюкозу, левульозу, галактозу, мальтозу, сахарозу, манозу, маніт, крохмаль, іноді - гліцерин; не ферментують в перші 48 ч лактозу і арабінозу; молоко згортають постійно; володіють лізинорнітин-декарбоксилазною і оксидазною активністю. По здатності ферментувати **манозу, арабінозу і сахарозу** Б. Хейберг розділив вібріони на хемовари,. Відомо 8 груп вібріонів, холерні вібріони біовар *cholerae* і біовар *eltor* відносяться до 1 хемовару.

Токсинування. Холерні вібріони продукують екзотоксин (холероген), володіє ентеротоксичною дією і грає важливу роль в патогенезі холери; сильну токсичну дію надає і ендотоксин. Холерні вібріони утворюють фібринолізин, гіалуронідазу, колагеназу, муциназу, лецитиназу, протеїназу, нейрамінідазу.

Антигенна структура. Холерні вібріони мають термостабільні О-антигени (соматичні) і термолабільні Н-антигени (джгутикові). О-антиген володіє видовою і типовою специфічністю, Н-антиген є неспецифічним, загальним для всього роду *Vibrio*. Вібріони розділені на О-підгрупи, яких налічується більше 140. Холерні вібріони біовари cholerae і eltor належать до О-1 і О-139 підгрупи. В середині О-1 підгрупи розрізняють три О-антигена - А, В, С, по комбінації яких виявлені три серовари - Огава (АВ), Інаба (АС) і Гікошіма (АВС).

НАГ-ВІБРІОНИ схожі з холерними за морфологічними, культуральними і біохімічними ознаками, але не аглютинуються О-1 або О-139 антисироватками.

Патогенез захворювання у людини. Холерні вібріони передаються від хворих і носіїв через їжу, воду, мух і брудні руки. Мікроби через рот після проходження кислотного бар'єра шлунка проникають в тонкий кишечник. Завдяки наявності лужного середовища і великої кількості продуктів білкового розпаду в кишечнику створюються сприятливі умови для розмноження холерних вібріонів і продукції ними сильного **ентеротоксину**, званого **холерним токсином (холероген)**.

Холерний токсин полягає з п'яти субодиниць В і однієї субодиниці А. Субодиниця А полягає з двох пептидів, зв'язаних одним дисульфідним містком. Субодиниця В з'єднується з вуглеводними залишками специфічного гангліозидного рецептора на клітинах, вистилаючих ворсинки і крипти тонкої кишки, утворює гідрофільний трансмембранний канал, через який токсична субодиниця А може проходити в цитоплазму. Холерний ентеротоксин викликає перенесення аденозиндифосфорибози (АДФ-РИБОЗИ) з нікотинамідаденіндинуклеотида (НАД) на регуляторний білок, який зв'язується з ферментом аденілатциклазою, відповідальним за продукцію внутрішноклітинного циклічного аденозинмонофосфата (цАМФ). В результаті відбувається необоротна активація аденілатциклази і гіперпродукція цАМФ. Це у свою чергу викликає придушення поглинання іонів Na^+ і Cl^- клітками, покриваючими ворсинки, і гіперсекрецію іонів Cl^- і HCO_3^- . Тому всмоктування води, звичайно супроводжується абсорбцією Na^+ і Cl^- , блокується і йде пасивний відтік води через клітки слизової, ведучий до значної втрати води і електролітів.

Хоча токсин холери - найважливіший чинник вірулентності *V. cholerae* О1, рухливість мікроорганізму, а також продукція муцинази та інших протеолітичних ферментів дозволяють йому подолати захисний бар'єр слизової оболонки і досягати ентероцитів. Як тільки вібріон проникає через шар слизу, він спроможний прилипати до поверхні ентероцита за допомогою адгезивних гемаглютининів.

Тривалість інкубаційного періоду при холері складає від декількох годин до 6 днів (при захворюваннях, викликаних вібріоном Ель-тор він продовжуються 3 - 5 діб). Симптоми захворювання характеризуються загальною слабкістю, блювотою і частим рідким стільцем. Стілець схожий на рисовий відвар і містить величезну кількість злущених епітеліальних клітин і холерних вібріонів.

В розвитку хвороби розрізняють три періоди: 1) **холерний ентерит** (холерний понос або діарея) тривалістю 1 - 2 діб; у частини хворих на цьому етапі закінчується інфекційний процес і настає одужання; 2) **холерний гастроентерит**, при якому рясний понос і багатократна блювота приводять до обезводнення організму хворих, що спричиняє за собою зниження температури, зменшення діурезу, різке зменшення мінеральних і білкових речовин в крові, появу судом; випорожнення нагадують рисовий відвар; 3) **холерний алгід**, виявляється важкими симптомами: тургор шкіри понижений, вона збирається в складки; з'являється ціаноз, голос стає охриплим, іноді спостерігається повна афонія; температура тіла знижується до $35,5 - 34^\circ\text{C}$, розвивається різке ослаблення серцевої діяльності унаслідок підвищення в'язкості крові, затримка

сечовипускання. У ряді випадків розвивається холерна кома, що призводить до прострації і смерті.

У важких випадках алгід супроводиться фазою асфіксії, що характеризується ціанозом, диспнозом, уремією, азотемією і несвідомим станом (холерна кома), які ведуть до прострації (незмозі) і смерті. Ефективне лікування і належний догляд можуть викликати зміну алгідного періоду на реактивну стадію, протягом якої сечовипускання стає нормальним, зменшується інтоксикація, і хворий видужує. Фульмінантні (швидко протікаючі) форми холери (суха холера, або **cholera sicca**) можуть зустрічатися часто. Ці форми характеризуються відсутністю діареї і блювоти і смерть настає в результаті важкої інтоксикації. Атипічні і приховані форми холери спостерігаються часто, особливо у дітей..

Імунітет. У осіб, що перенесли холеру, розвивається міцний антиінфекційний (антитоксичний і антибактеріальний) імунітет, який пов'язаний з наявністю в крові антитіл (антитоксинів, лізинів, аглютининів, опсонинів) і нормальних фізіологічних інгібіторів. Холерні вібріони швидко лізуються під впливом імунних сироваток, що містять бактеріолізину і комплімент.

Лабораторна діагностика. Дослідження проводять з дотриманням загальних правил при роботі з особливо небезпечними інфекціями. Для дослідження беруть випорожнення, блювотні маси, органи трупа, воду, предмети, в деяких випадках - харчові продукти.

1. Мікроскопічне дослідження мазків з випорожнень, забарвлених за Грамом і водним розчином фуксина, в яких у хворих виявляють холерних вібріонів.

2. Посів випорожнень хворого в 1% пептонну воду, на лужний м'ясо-пептонний агар або бактоагар TCBS. Через 6 г після культивування при температурі 37 °С в пептонній воді спостерігається ріст вібріонів у вигляді ніжної плівки, мазок з плівки фарбують за Грамом, культуру, що виросла, вивчають на рухливість, ставлять реакцію аглютинації на предметному склі із специфічною аглютинуючою О-сироваткою, розведеною 1:100, потім роблять пересівання з пептонної води на щільні середовища для виділення чистої культури. Культуру вібріонів, що виросла на щільних середовищах (лужний агар, бактоагар TCBS, середовище Монсура та ін.) досліджують на рухливість, аглютинабельні властивості і відсівають на скошений агар для накопичення чистої культури.

3. Для остаточної ідентифікації ставлять розгорнену реакцію аглютинації із специфічною О-сироваткою і типоспецифічними сироватками Огава і Інаба, визначають ферментативні властивості (розщеплення манози, сахарози, арабінози та інших вуглеводів), фаголізабельність.

Для прискореної діагностики проводять наступні проби: 1. темнопольна мікроскопія випорожнення; 2. культивування випорожнення, шляхом інкубації протягом 16-18 годин в поживному середовищі; 3. реакція аглютинації методом флюоресцентних антитіл; 4. бактеріологічний діагноз шляхом виділення холерних вібріонів (випорожнення засівають у вигляді тонкого шару в чашу з неінгібуючим поживним агаром і вирощують протягом 4-5 годин, колонії вібріонів виявляють в стереоскопічному мікроскопі, і культура вивчається в реакції аглютинації на склі з О-1 сироваткою; 5. з того часу, як вібріонами холери виділяється нейрамінідаза і поступає в кишківник, дослідження на зміст цього ферменту вважається доцільним, як методу раннього діагнозу (цей тест позитивний у 66-76 відсотків хворих, у 50-68 % носіїв вібріона, та іноді у здорових осіб).

В деяких випадках для діагностики холери використовують серологічні методи - реакцію аглютинації і визначення вібріоцидних антитіл.

Лікування. Велике значення має патогенетична терапія: боротьба з зневодненням, гіпопротейнемією, порушенням обміну речовин, наслідками токсикозу, зокрема з ацидозом, шляхом введення сольових розчинів натрію і калію, вливання плазми або сухої сироватки, глюкози, застосування зігріваючих ванн, препаратів, тонізуючих серцево-судинну систему. Хворим холерою призначають спочатку внутрішньовенне, а потім пероральне введення

антибіотиків групи тетрацикліну (тетрациклін, окситетрациклін, сигміцин), левоміцетин, стрептоміцин.

Профілактика. У вогнищі холери проводять наступні заходи: виявлення перших випадків холери, ретельний облік хворих, ізоляція і госпіталізація за особливими правилами хворих і носіїв, обсервація і лабораторне обстеження контактних осіб, поточна і заключна дезінфекція у відділенні для хворих холерою і у вогнищі, систематичний бактеріологічний контроль за водоймищами, особливо в літній період в місцях масового відпочинку населення, суворе дотримання правил особистої гігієни, кип'ятіння або ретельне хлорування води, обеззараження посуду.

б) специфічна профілактика - імунізація розробленими холерними моновакцинами або холерним анатоксином. З профілактичною ціллю особам, контактуючим з хворими або підозрілими на холеру, проводять хіміопротекцію шляхом прийому всередину тетрацикліну.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекції: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекції:

1. **Проблемне питання:** "*Treponema pallidum*, збудник сифілісу, не культивується на звичайних живих середовищах через облигатний мікроаерофільний паразитизм та відсутність ряду ферментативних систем. Як ця біологічна особливість ускладнює діагностику та дослідження та чому серологічні методи (нетрепонемні та трепонемні тести) стали основою верифікації діагнозу?"

2. **Клінічне питання:** " Під час стоматологічного огляду лікар виявляє у пацієнта гладеньку безболісну виразку на язичі, пацієнт розповідає про висип на тулубі та збільшення лімфатичних вузлів. Яким чином стоматолог повинен реагувати на це виявлення, щоб запідозрити вторинний сифіліс, своєчасно направляючи пацієнта на спеціалізоване лікування та запобігаючи подальшому поширенню інфекції?"

3. **Питання для роздумів:** " Орвальні спірохети (*T. denticola*) є частиною нормального мікробіому ротової порожнини у здорових людей, но водночас є одним з членів «червоного комплексу» пародонтопатогенів. Як розуміти механізми, за яких комменсальні організми стають патогенами при розвитку пародонтиту, та які чинники (мікробна взаємодія, хронічне запалення) сприяють їхній активації?"

4. **Епідеміологічне питання:** " Хвороба Лайма, спричинена *Borrelia burgdorferi*, поширена у деяких регіонах (північна Америка, центральна та північна Європа) та передається кліщами. Як медичні працівники у цих регіонах повинні інформувати пацієнтів про ранні симптоми захворювання та правила профілактики, включаючи необхідність своєчасного видалення кліщів та можливість постекспозиційної профілактики?"

Питання для самоконтролю до теми:

1. Охарактеризуйте морфологію спірохет. Чим вони відрізняються від інших бактерій?
2. Що таке аксіальні філаменти (ендоджгутики)? Яка їхня функція?
3. Які родини спірохет мають медичне значення (*Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*)?
4. Охарактеризуйте *Treponema pallidum*: морфологія, культивування, захворювання.
5. Опишіть етіологію та патогенез сифілісу. Які стадії захворювання?
6. Які клінічні прояви первинного сифілісу? Що таке твердий шанкр?
7. Які прояви вторинного сифілісу в порожнині рота (сифілітичні папули, "скошений луг")?
8. Які прояви третинного сифілісу (гуми, сифілітичний глосит, перфорація твердого піднебіння)?
9. Що таке вроджений сифіліс? Які стигми (зуби Гетчинсона, готичне піднебіння)?
10. Які методи лабораторної діагностики сифілісу (мікроскопія в темному полі, RPR,

VDRL, TPHA, FTA-ABS)?

11. Як інтерпретувати результати серологічних тестів на сифіліс?
12. Яке лікування сифілісу (бензатин пеніцилін G)?
13. Які профілактичні заходи для запобігання зараженню медперсоналу?
14. Охарактеризуйте оральні трепонеми (*T. denticola*). Яка їхня роль у пародонтиті?
15. Що таке "червоний комплекс" пародонтопатогенів?
16. Які фактори вірулентності *T. denticola* (протеази, гемолізینی, цитолізینی)?
17. Охарактеризуйте *Borrelia burgdorferi*: морфологія, переносник, захворювання.
18. Опишіть етіологію, патогенез та клініку хвороби Лайма (бореліозу).
19. Які стадії хвороби Лайма (мігруюча еритема, неврологічні та кардіальні ускладнення, артрит)?
20. Які методи діагностики хвороби Лайма?
21. Яке лікування хвороби Лайма (доксидиклін, амоксицилін, цефтріаксон)?
22. Охарактеризуйте *Leptospira interrogans*: морфологія, захворювання (лептоспіроз).
23. Опишіть морфологію та культуральні властивості *Vibrio cholerae*.
24. Які серогрупи *V. cholerae* спричиняють холеру (O1, O139)?
25. Які фактори вірулентності *V. cholerae* (холерний токсин СТ, toxin-coregulated pilus TSP)?
26. Поясніть механізм дії холерного токсину (активація аденілатциклази, підвищення цАМФ, секреція води та електролітів).
27. Опишіть патогенез холери. Які стадії інфекційного процесу?
28. Яка клініка холери (профузна водяниста діарея "рисовий відвар", дегідратація, гіповолемічний шок)?
29. Які методи діагностики холери (посів калу, серологія)?
30. Яке лікування холери (регідраційна терапія, антибіотики)?
31. Які епідеміологічні особливості холери? Як запобігти спалахам?
32. Яка роль системи quorum sensing у регуляції вірулентності *V. cholerae*?

Список джерел до теми:

Основні:

1. Ширококов В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.
2. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.

Додаткові:

3. Radolf J.D., Lukehart S.A. Pathogenic Treponema: molecular and cellular biology. Caister Academic Press, 2006: 1-300.
4. Radolf J.D., Deka R.K., Anand A., Somashekar B.S., Norgard M.V., Yang X.F. Treponema pallidum, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14(12): 744-759.

ЛЕКЦІЯ «ЗБУДНИКИ ДИФТЕРІЇ І ТУБЕРКУЛЬОЗУ»

Актуальність теми: Дифтерія та туберкульоз, незважаючи на наявність вакцин та антибіотиків, залишаються актуальними інфекціями в Україні та світі. *Corynebacterium diphtheriae* може спричиняти фарингеальну дифтерію з характерною псевдомембраною, що поширюється на порожнину рота, призводячи до обструкції дихальних шляхів. Токсичні форми дифтерії уражають серце та нервову систему, що може бути фатальним. Стоматолог повинен розпізнавати ранні ознаки дифтерії для своєчасного направлення на лікування та ізоляції хворого. Туберкульоз залишається однією з провідних причин смертності в світі, а поява мультирезистентних штамів (MDR-TB, XDR-TB) ускладнює лікування. Туберкульозні ураження порожнини рота (виразки язика, ясен, піднебіння) зустрічаються при легеневому туберкульозі та можуть бути першими проявами захворювання. Медичний персонал стоматологічних закладів має підвищений ризик зараження *Mycobacterium tuberculosis* через аерозольну експозицію під час стоматологічних процедур, що вимагає дотримання інфекційного контролю. Знання про ці інфекції критично важливі для епідеміологічного нагляду, вакцинопрофілактики та ранньої діагностики.

Мета:

Навчальна мета:

- Вивчити біологічні властивості *Corynebacterium diphtheriae* та *Mycobacterium tuberculosis*
- Пояснити патогенез дифтерії та туберкульозу
- Ознайомити з клінічними проявами цих захворювань у порожнині рота
- Розкрити механізми дії дифтерійного токсину та механізми виживання мікобактерій у макрофагах
- Вивчити методи мікробіологічної діагностики та принципи лікування
- Пояснити стратегії вакцинопрофілактики та епідеміологічного контролю

Виховна мета:

- Виховати відповідальне ставлення до вакцинації проти дифтерії та туберкульозу
- Сформувати розуміння важливості інфекційного контролю при роботі з пацієнтами з туберкульозом
- Розвинути епідеміологічне мислення

Основні поняття (перелік питань):

***Corynebacterium diphtheriae* – збудник дифтерії**

Морфологія: грам-позитивні поліморфні палички з метакрохроматичними гранулами (зернами Бабеша-Ернста)

Біотики: *gravis*, *mitis*, *intermedius*

Дифтерійний токсин – АВ-токсин, кодований профагом, інгібує елонгаційний фактор EF-2, блокує синтез білка в еукаріотичних клітинах

Патогенез дифтерії: колонізація носоглотки, локальна продукція токсину, формування псевдомембрани (фібринозний ексудат з некротизованим епітелієм та бактеріями), системна токсемія з ураженням серця, нервів, нирок

Діагностика: забарвлення за Альбертом або Нейсером для виявлення гранул, посів на середовище Лефлера та теллуритний агар, тест Елека для визначення токсигенності

***Mycobacterium tuberculosis* – збудник туберкульозу**

Морфологія: кислотостійкі палички завдяки високому вмісту міколових кислот у клітинній стінці

Фактори вірулентності: корд-фактор (тригало-диминолат) – індукує утворення

гранульом, ліпоарабіноманан (LAM) – модулює імунну відповідь, здатність запобігати злиттю фагосоми з лізосомою та виживати всередині макрофагів

Патогенез туберкульозу: аерогенне зараження, осідання в альвеолах, фагоцитоз альвеолярними макрофагами, внутрішньоклітинне виживання та розмноження, формування первинного комплексу (вогнище Гона + лімфаденіт), розвиток клітинного імунітету (гіперчутливість сповільненого типу), формування гранульом з казеозним некрозом

Культивування: середовище Левенштейна-Йєнсена, повільний ріст (3-8 тижнів)

Діагностика: мікроскопія з забарвленням за Цілем-Нільсеном, культуральний метод, туберкуліновий тест (проба Манту), молекулярні методи (ПЛР), імуноферментний аналіз

Філогенетичний зв'язок: *C. diphtheriae* та *M. tuberculosis* належать до філуму *Actinobacteria*, порядку *Corynebacteriales*, що зумовлює подібність структури клітинної стінки

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

ЗБУДНИК ДИФТЕРІЇ

Морфологія. Дифтерійні коринебактерії – *Corynebacterium diphtheriae* (лат. согуна булава, *diphthera* – плівка, шкіра) прямі або злегка зігнуті палички завдовжки 18 мкм і шириною 0,3- 0,8 мкм, поліморфні, краще забарвлюються на полюсах, на яких розташовані метакроматичні гранули волютину (зерна Бабеша-Ернста, поліметафосфати). В мазках вони розташовуються V-образно (під кутом), приймаючи вид розчепічених пальців. Вони не утворюють спор, капсул і джгутів, грампозитивні.

Культивування. Збудник дифтерії аероб або факультативний анаероб, добре культивується на середовищах, що містять білок (згорнутій сироватці, кров'яному агарі, сироватковому агарі), а також на цукровому бульйоні. На середовищі Ру (згорнута кінська сироватка) і середовищі Лефлера (3 частини бичачої сироватки + 1 частина цукрового бульйону) дифтерійні коринебактерії розвиваються протягом 16-18 ч, зростання їх нагадує шагрєневу шкіру, колонії між собою не зливаються.

За культуральними і біологічними властивостями коринебактерії дифтерії підрозділяються на три біовари : *gravis*, *mitis* і *intermedius*, які відрізняються за низкою ознак.

Коринебактерії біовару *gravis* на телуритовому агарі, що містить дефібризовану кров і телурит калію, утворюють крупні шорсткі (R-форми) розеткоподібні колонії чорного або сірого кольору. Вони ферментують декстрин, крохмаль і глікоген, в бульйоні утворюють поверхневу плівку і зернистий осадок, звичайно високотоксичні і володіють більш виразними інвазивними властивостями.

Коринебактерії біовару *mitis* на телуритовому агарі ростуть з утворенням темних гладких (S-форми) блискучих колоній. Вони не ферментують крохмаль і глікоген, декстрин ферментують не постійно, викликають гемоліз еритроцитів всіх видів тварин, в бульйоні спостерігається дифузне помутніння. Культури цього типу, як правило, менш токсигенні і інвазивні, ніж коринебактерії біовару *gravis*.

Коринебактерії біовару *intermedius* займають проміжне положення. Колонії у них на телуритовому агарі є дрібними (RS-форми), чорного кольору, не ферментують крохмаль і глікоген, в бульйоні ростуть з появою муті і зернистого осадка.

Ферментативні властивості. Дифтерійні коринебактерії (всі три біовари) не згортають молоко, не розкладають сечовину, не виділяють індол, слабо утворюють сірководень, відновлюють нітрати в нітрит, а також телурит калію в сульфід телуриту, унаслідок чого колонії дифтерійних коринебактерії на телуритовому агарі стають чорними або сірими.

Дифтерійні коринебактерії ферментують глюкозу і мальтозу, не постійно - галактозу, крохмаль, декстрин, гліцерин, цистеїн з утворенням сірководню і не розкладають сечовину, тоді як дифтероїди розщеплюють сечовину, але не ферментують цистеїн, продукують бактеріоцини (коринецини), наділяючи їх деякими селективними перевагами.

Токсиноутворення. Дифтерійні коринебактерії продукують в бульйонних культурах сильні екзотоксини (гістотоксин, дермoneкротоксин, гемолізін). Токсигенність коринебактерій дифтерії пов'язана з лізогенністю (наявність в токсигенних штаммах помірних фагів - профагів). Генетичні детермінанти токсигенності (tox+-гени) локалізовані в геномі профагу, інтегрованого з нуклеоїдом коринебактерій дифтерії.

В результаті лізогенізації нетоксигенні штами *C. diphtheriae* (біовару *mitis*) перетворюються в токсигенні (**токсигенна конверсія**).

Дифтерійний токсин – є термостабільним поліпептидом, який складається з двох фрагментів, названих А і В. Фрагмент В потрібний для транспортування фрагмента А в клітку, де він пригнічує елонгацію поліпептидного ланцюга на рибосомі. Пригнічення синтезу білка, ймовірно, забезпечує обидва токсичні ефекти дифтерійного токсину некротичний і нейротоксичний.

Після добавки до токсину 0,3-0,4 % формаліну і подальшої витримки при 38 – 40°C протягом 3-4 тижнів відбувається перетворення його в **дифтерійний анатоксин**.

Антигенна структура. Шляхом реакції аглютинації у збудника дифтерії встановлене 11 сироварів. Токсини, утворювані різними штамми біоварів *gravis* і *mitis*, не розрізняються між собою і повністю нейтралізуються стандартним дифтерійним антитоксином. Серед коринебактерій дифтерії є 19 фаготипів, за допомогою яких виявляють джерела інфекції.

Резистентність. Дифтерійні коринебактерії порівняно стійкі до шкідливого впливу чинників зовнішнього середовища. На згорнутій сироватці залишаються живими до 1 року, при кімнатній температурі до 2 місяців, на дитячих іграшках до декількох діб. Коринебактерії досить довго зберігаються в плівках хворих дифтерією, особливо якщо плівки не піддаються дії світла. Від дії температури 60°C і 1 % розчину фенолу коринебактерії гинуть протягом 10 мін.

Патогенез захворювання у людини. Джерелом інфекції є хворі на дифтерію і носії. Хвороба передається повітряно-крапельним шляхом, іноді з частинками пилу; передача можлива також через різні предмети (іграшки, посуд, книги, рушники, хустки і т. д.), харчові продукти (молоко, різні холодні блюда і ін.), інфіковані дифтерійними коринебактеріями.

В патогенезі дифтерії ведучу роль грає гістотоксин, який блокує синтез білка в клітинах ссавців, інактивує фермент трансферазу, відповідальну за утворення поліпептидного ланцюга.

У людини на місці проникнення збудника дифтерії утворюються плівки з великою кількістю дифтерійних коринебактерій і інших мікробів. Екзотоксин викликає некроз і дифтерійне запалення слизових оболонок або шкіри, всмоктуючись, він вражає нервові клітки, серцевий м'яз і паренхіматозні органи, обумовлює явища загальної важкої інтоксикації, виділяють **три органи мішені** дифтерійного токсину в організмі: **міокард** (розвиток токсичного дифтерійного міокардиту), **надниркові залози** (падіння тону судин і артеріального тиску через зниження вироблення адреналіну), **нервова система** (розвиток паралічів і парезів).

За локалізацією процесу найбільш часто спостерігаються дифтерія зів і дифтерійний круп (дифтерія гортані), потім дифтерія носа. Смерть від дифтерії гортані може бути через асфіксію, задушення, тому що навіть невелика дифтерійна плівка може повністю перекрити голосову щілину. При дифтерії зів більшість смертних випадків пов'язана з поразкою серця унаслідок інтоксикації.

Імунітет. При дифтерії несприйнятливність залежить головним чином від вмісту антитоксинів в крові. Не можна, проте, виключити певної ролі і антибактеріального комплексу, пов'язаного з фагоцитозом і наявністю опсонінів, аглютинінів, преципитинів і комплементзв'язуючих антитіл. Імунітет при дифтерії носить антиінфекційний (антитоксичний і антибактеріальний) характер.

Для визначення кількості антитоксинів в крові рекомендована реакція непрямой гемаглютинації з еритроцитами, сенсibilізованими дифтерійним анатоксином.

Перенесення дифтерії залишає менш міцний імунітет, ніж при інших захворюваннях дитячого віку (кір, кашлюк). Повторні захворювання дифтерією спостерігаються в 6 - 7% випадків.

Лікування. Терапія дифтерії включає ізоляцію хворого, суворий постільний режим, раннє призначення антитоксину і відповідну антибіотикотерапію. Може бути потрібна підтримуюча терапія типу зондування і вентиляції при обструкції дихальних шляхів.

Хворим дифтерією вводять антитоксичну сироватку в дозах 5000 - 15000 МЕ при середній важкості захворювання і 30 000- 50 000 МЕ при важких формах.

C. diphtheriae чутлива до пеніциліну, тетрацикліну, рифампіцину і кліндаміцину. Для лікування носіїв призначають антибіотики. Добрий результат дає застосування тетрацикліну, еритроміцину в поєднанні з вітаміном С.

Профілактика. Полягає в ранній діагностиці, негайній госпіталізації, повноцінній дезінфекції приміщення і предметів, виявленні носіїв.

Специфічну профілактику проводять шляхом активної імунізації. Існують декілька вакцин, які використовують для специфічної профілактики дифтерії: 1) адсорбований дифтерійний анатоксин (АД); 2) адсорбований дифтерійно-правцевий анатоксин (АДП - анатоксин); 3) адсорбована коклюшно-дифтерійно-правцева вакцина (АКДП - вакцина). Всі ці препарати застосовують згідно інструкцій.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МІКОБАКТЕРІЙ

До роду *Mycobacterium* родини *Mycobacteriaceae*, порядку *Actinomycetales* належать бактерії, що характеризуються здібністю до розгалуження, кислото-, спирто- і лугостійкістю. Захворювання у людини викликають *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*.

Морфологія. Мікобактерії туберкульозу - тонкі прямі або злегка зігнуті палички завдовжки 1 - 4 мкм і шириною 0,3 - 0,6 мкм. Вони іноді мають невеликі здуття на кінцях, нерухомі, грампозитивні, не утворюють спор і капсул, поліморфні. Виявлені паличкоподібні, ниткоподібні, коковидні, L-форми. Мікобактерії у зв'язку з високим змістом міколової кислоти погано забарвлюються звичайними методами, але добре фарбуються за Цилем - Нільсеном. Кислотостійкість пояснюється наявністю у мікобактерій у великих кількостях міколових кислот і ліпідів.

Ліпіди *M. tuberculosis* полягають з трьох фракцій: (1) фосфатиди, розчинні в ефірі; (2) жири, які розчиняються в ефірі і ацетоні; (3) воску, які розчинні в хлороформі і ефірі.

Культивування. Мікобактерії туберкульозу - аероби, оптимум зростання 37⁰ С, крайні температурні межі 24 - 42⁰С, реакція середовища є майже нейтральною (рН 6,4 - 7,0), але зростання може спостерігатися і в межах рН 6,0 - 8,0.

Туберкульозні мікобактерії ростуть на елективних середовищах: згорнутій сироватці, гліцериновому агарі, гліцериновій картоплі, в гліцериновому бульйоні і яєчних середовищах (Петрова, Петраньяні, Дорсе, Левенштейна - Йенсена і ін.). Їх можна культивувати в синтетичному середовищі Сотона, що містить аспарагін, гліцерин, цитрат залоза, фосфат калію і інші речовини.

Туберкульозні мікобактерії потребують певних концентрацій вітамінів (нікотинава кислота, рибофлавін і ін.). На гліцериновому (2 - 3%) агарі ледве помітне зростання їх з'являється через 8 - 10 днів після посіву, а через 2 - 3 тижні утворюється сухий наліт слабо-жовтого кольору. Краще і швидше (на 6 - 8-й день) розвиваються туберкульозні мікобактерії на яєчному середовищі Петрова, яке складається з яєчного жовтка, м'ясного екстракту, агару, гліцерину і генціанового фіолетового. Синтетичні і напівсинтетичні середовища використовуються для культивування *M. tuberculosis* в спеціальних лабораторіях.

На щільних живильних середовищах утворюються шорсткі колонії, з потовщеною або зморшкуватою поверхнею і з тонкими нерівними краями. В гліцериновому (4 - 5%) мясо-пептонному бульйоні туберкульозні мікобактерії через 10 - 15 діб утворюють тонку ніжну плівку,

яка поступово товщає, стає ломкою, набуває зморшкуватий вигляд і жовтий колір; бульйон залишається прозорим. Колонії туберкульозних мікобактерій дисоціюють з типових R-форм в атипові S-форми. Окремі штами в старих культурах виробляють жовтий пігмент.

M. tuberculosis може з успіхом вирощуватися у вигляді мікрокультур за Прайсом або глибинних культур за Школьніковою в цитратній крові кролика або барана. Зростання стає видимим через 3-6 днів.

Ферментативні властивості. У мікобактерій туберкульозу виявлені протеолітичні ферменти, які розщеплюють білок в лужному і кислому середовищах; вони ферментують алкоголь, гліцерин і численні вуглеводи, лецитин, фосфатиди, сечовину, володіють редуруючою здатністю, розщеплюють оливкове, касторове масло і ін.

Токсинутворення. Туберкульозні мікобактерії екзотоксин не продукують. Вони містять токсичні речовини, що звільняються при розпаді клітин.

Дуже високою токсичністю характеризується корд-фактор, який обумовлює вірулентність, склеювання мікобактерій і зростання їх у вигляді кіс і джгутів. Корд-фактор мікобактерій туберкульозу руйнує мітохондрії клітин інфікованого організму, порушує функцію дихання і фосфорилування. В патогенезі туберкульозу велике значення надається жирним кислотам (масляна, пальмітинова, туберкулостеаринова, олеїнова); вони сприяють сирному переродженню, розпаду клітинних елементів, викликають блокаду ферментів (ліпази, протеази).

Антигенна структура. Людський тип не відрізняється серологічно від бичачого і мишачого видів. Вважають, що туберкулін - своєрідний антиген (гаптен). Високомолекулярний туберкулін є повноцінним антигеном. Туберкульозні мікобактерії і туберкулін при дії на інфікований туберкульозом організм викликають місцеву, осередкову і загальну алергічну реакції. Антиген мікобактерій туберкульозу містить протеїни, ліпіди, особливо багато є в ньому фосфатидів і полісахаридів. Туберкулін широко використовують для алергічної проби, за допомогою якої визначають зараженість туберкульозними мікобактеріями.

Виявлені атипові кислотостійкі мікобактерії, які утворюються під впливом антибактеріальної терапії і захисних механізмів інфікованого макроорганізму

Резистентність: Туберкульозні мікроорганізми в порівнянні з іншими неспороутворюючими бактеріями більш стійкі до дії зовнішніх чинників.

Захворювання у людини. Встановлено, що туберкульоз у людини викликається декількома видами мікобактерій, в основному *M. tuberculosis* і бичачим типом *M. bovis*, але і деякими іншими. Захворювання людини туберкульозом можливе і в результаті зараження пташиним типом (при вживанні в їжу недостатньо провареного м'яса курей або їхніх яєць, інфікованих *M. avium*). Частка атипових мікобактерій, які викликають різноманітність клінічних форм туберкульозу серед людей за останні роки виросла до 50 відсотків.

Зараження туберкульозом відбувається повітряно-крапельним і повітряно-пиловим шляхом, іноді через рот при вживанні харчових продуктів, інфікованих туберкульозними мікобактеріями, через шкіру і слизові оболонки; можливе також внутрішньочеревне інфікування плоду через плаценту.

При аерогенному зараженні первинне інфекційне вогнище розвивається в легенях, а при аліментарному - в мезентеріальних лімфатичних вузлах, з місця первинної локалізації збудник може розповсюджуватись по всьому організму і викликати генералізовану інфекцію. Інкубаційний період при туберкульозі порівняно тривалий - від декількох тижнів до декількох років.

При сприятливих умовах життя і відсутності обтяжуючих чинників первинний туберкульозний процес розвивається доброякісно. Первинне вогнище в такому разі закінчується звичайно розсмоктуванням і рубцюванням казеозних вогнищ, які просочуються солями кальцію з утворенням щільної капсули із сполучної тканини.

В лімфатичних вузлах і інших тканинах і органах первинного інфекційного вогнища туберкульозні мікобактерії зберігаються багато років, іноді протягом всього життя. Під впливом

лікарських препаратів і імунобіологічних чинників організму досить часто утворюються **L-форми, які володіють здібністю до реверсії в типові мікобактерії**.

Туберкульоз характеризується різноманіттям клінічних форм, анатомічних змін, компенсаторних процесів і виходів. Туберкульозний процес може генералізуватися, вражаючи органи сечостатевої системи, кісток, суглобів, мозкових оболонок, шкіри, очей.

Патогенез туберкульозу. Вірулентність паличок туберкульозу в більшій мірі обумовлена їхньою здатністю виживати всередині макрофагів, ніж продукцією токсичних речовин. Імунна відповідь на бацилу туберкульозу є клітинно-опосередкованою, і клінічні особливості туберкульозу визначаються парадоксом: ця звичайно захисна реакція сама викликає руйнування тканин і інші патологічні особливості цього захворювання. Унаслідок такої реактивності туберкульоз людини розділяють на **первинні і повторні форми** з різним патогенезом і особливостями патології..

Первинний туберкульоз. Місце первинної інфекції - звичайно легені, бактерії захоплюються альвеолярними макрофагами, в яких вони розмножуються і формують початкове пошкодження або вогнище Гону. Деякі бактерії переносяться макрофагами в кореневі лімфатичні вузли, де розвиваються додаткові вогнища інфекції. Вогнище Гону разом із збільшеними кореневими лімфатичними вузлами формує **первинний комплекс**. Аналогічно первинний комплекс може бути в шкірі із залученням регіональних лімфатичних вузлів. Ця форма туберкульозу була професійною хворобою анатомів і патологів і була названа «бородавкою прозектора».

Приблизно через 10 днів інфекції утворюються клони антиген-специфічних Т-лімфоцитів. Вони виділяють лімфокіни, які активують макрофаги і стимулюють формування ними компактних скупчень, або гранул навкруги вогнища інфекції. Ці активовані макрофаги названі епітеліоїдними клітинами через їхню мікроскопічну подібність епітеліальним кліткам. Деякі з них з'єднуються, формуючи гігантські багатоядерні клітини Пирогова-Лангханса.

Центр гранулеми містить суміш некротичної тканини і загинлих макрофагів, яку через її сироподібний зовнішній вигляд і консистенцію визначають як «сироподібний некроз» - казеоз.

В меншості випадків одне з вогнищ інфекції прогресує і викликає серйозні прояви первинного туберкульозу, включаючи прогресивні первинні поразки, менінгіт, плеврит і хвороби нирок, хребта (туберкульозний спондиліт) і інших кісток і суглобів. Якщо вогнище проривається в кровоносну судину, бацили дисемінують по всьому організму з формуванням численних гранул.

Повторний туберкульоз. У багатьох осіб первинний комплекс кальцифікується, і єдиним виявом інфекції є туберкулінова конверсія (віраж туберкулінової проби – раніше негативна проба Манту стає позитивною). Через декілька місяців, років або десятиріч реактивація сплячого вогнища або повторної екзогенної інфекції може приводити до повторного туберкульозу. Із невідомих причин при реактивації або реінфекції туберкульозу процес майже завжди локалізується у верхніх частках легенів. Відбувається той же самий процес формування гранульоми, але некротичні реакції викликають руйнування тканини і формування великих зон казеозу, які називаються туберкуломою.

Туберкульоз у імунокомпроментованих осіб. Реактивація туберкульозу, ймовірно, особливе буде зустрічатися у імунокомпрометованих осіб, у тому числі у старих, реципієнтів трансплантатів і ВІЛ - позитивних. осіб. У останніх туберкульоз звичайно діагностується перш, ніж виявляються інші ознаки синдрому набутого імунодефіциту (СНІДУ). Іноді по всьому організму мають місце численні ураження, багаті на туберкульозні бактерії – стрімкий фатальний стан, званий «криптогенним дисемінованим туберкульозом».

Імунітет. Людина володіє природною резистентністю до туберкульозної інфекції. На підставі реакції алергії, рентгеноскопії, патологоанатомічних змін встановлено, що значна кількість заражень не приводить до захворювання туберкульозом. Зі всіх інфікованих (близько 80

% всього дорослого населення старшого за 20 років) захворіє не більше 10 %, причому тільки 5 % - безпосередньо після інфікування.

Особливе значення при туберкульозі надається **нестерильному (інфекційному) імунітету**, який в широких масштабах відтворюється штучно введенням вакцини БЦЖ. Вважають, що імунітет при туберкульозі звичайно є нестерильним. Проте, як і при бруцельозі, фаза нестерильного імунітету при туберкульозі змінюється фазою стерильного імунітету.

Реактивність організму і специфічне продуктивне запалення грають головну роль у формуванні імунітету. Це запалення робить *M. tuberculosis* безпечною в результаті формування гранулем, які полягають з гігантських клітин Лангханса і епітеліоїдних клітин, оточених зоною лімфоїдних клітин. Таке продуктивне запалення морфологічно представляє собою «**горбик**», «**tuberculum**», що і відображено в назві захворювання – туберкульоз.

Новий компонент, який впливає на *M. tuberculosis*, був виявлений в людській крові – **туберкулоstaticний чинник**, який характеризується здатністю вбивати туберкульозну паличку.

Лабораторна діагностика.

1. **Мікроскопія** мазків, приготованих з мокроти або гною, спинномозкової або плевральної рідини, сечі, випорожнюються, лімфатичних вузлів і ін., забарвлених за методом Циля - Нільсена. Для накопичення мікобактерій обробку мокроти проводять методами збагачення (гомогенізації і флотації). Добрий результат дають методи люмінесцентної мікроскопії з аураміном.

2. **Виділення чистої культури.** Оброблену мокроту, гній, суспензію паренхіматозних органів від трупів і інші матеріали засівають на одне з вищезгаданих живильних середовищ. Інструкцією ВООЗ для первинного вирощування мікобактерій рекомендовано яєчне середовище Левенштейна - Йенсена.

Дуже ефективний метод мікрокультур Прайса, який дозволяє культивувати мікобактерії в більш короткі терміни. Вірулентні мікобактерії через 2 - 3, максимум через 7 - 10 діб, в мікрокультурах утворюють звиті тяжі, тоді як невірулентні штами утворюють аморфні скупчення.

3. **Біологічний метод.** При зараженні морських свинок на місці введення матеріалу утворюється інфільтрат, збільшуються лімфатичні вузли, розвивається генералізований туберкульоз; смерть тварин настає через 1 - 1/2 мес. На розтині у внутрішніх органах виявляють численні туберкульозні горбики. З 5 - 10-го дня після зараження досліджують пунктат з лімфатичних вузлів на наявність туберкульозних мікобактерій, з 3 - 4-й тижня зараженим тваринам ставлять туберкулінову пробу.

4. Серологічний метод.

Реакція зв'язування комплементу. При легеневих хронічних формах буває позитивний в 80%, при туберкульозі шкіри - в 20 - 25% і у здорових людей - в 5 - 10% випадків.

Реакція непрямої гемаглютинації (реакція МІДЛБРУКА-ДЮБО) з еритроцитами барана, навантаженими полісахаридом з туберкульозних мікобактерій або туберкуліном. Дозволяє виявити специфічні антитіла в сироватці хворих туберкульозом.

В даний час можна рекомендувати **імуноферментний аналіз** з використанням відповідних тест-систем.

5. **Туберкулінова (алергічна) проба Манту.** Застосовується для визначення інфікованості населення мікобактеріями туберкульозу і діагностики туберкульозу, виявлення віражу туберкулінових проб, відбору осіб, підлягаючих щепленням, визначення ефективності вакцинації БЦЖ, оцінки перебігу туберкульозного процесу.

6. **Фаготипування мікобактерій** дозволяє диференціювати екзогенний і ендогенний характер зараження (на екзогенну колію доводяться 15% випадків захворювання і на ендогенний - 85%).

7. **ПЛР** (наприклад, **Xpert MTB/RIF** і **Xpert MTB/RIF Ultra**) має чутливість і специфічність, які наближаються до культуральних, **і може бути виконана за 1 день**;

Лікування. Здійснюється антибактеріальними препаратами. До них відносяться препарати першого ряду - похідні гідрозина ізонікотинової кислоти (тубазид, фтивазид, изоніазид, дигідрострептоміцин, ПАСК і ін.) і препарати другого ряду (етіонамід, циклосерин, канаміцин, ріфампіцин, біоміцин). Виділені мікобактерії туберкульозу випробовують на чутливість до лікарських препаратів, які додають в рідкі або щільні живильні середовища в різних концентраціях.

В комплекс лікувальних заходів включають десенсибілізацію організму туберкуліном і іншими препаратами, а також раціональне живлення, вітаміни, аеротерапію, лікувальну фізкультуру, курортне лікування. В окремих випадках доцільним є хірургічне втручання.

Профілактика. Забезпечується шляхом ранньої діагностики, своєчасного виявлення хворих з атиповими формами, диспансеризації, знешкодження молока і м'яса хворих тварин і проведення соціальних заходів (поліпшення умов праці і побуту населення, підвищення його матеріального і культурного рівня).

В Україні застосовують внутрішньошкірну імунізацію і ревакцинації - вакциною БЦЖ, яку вводять новонародженим однократно в зовнішню поверхню лівого плеча. Ревакцинацію проводять у віці 7, 14 років, якщо проба Манту негативна, але ВООЗ рекомендує це лише в регіонах з високим ризиком і не радить ревакцинацію у країнах із низьким ризиком.

Для запобігання захворювання туберкульозом серед носіїв проводять профілактичну хіміотерапію з використанням изоніазиду.

ЗБУДНИК ЛЕПРИ

В 1874 р. норвезький дослідник р. Гансен описав збудника хвороби - *Mycobacterium leprae*

Морфологія. Мікобактерії лепра - внутріклітинні паразити, мають дуже багато загальних властивостей з туберкульозними.

Культивування. Збудник лепри на живильних середовищах, вживаних для вирощування мікобактерії туберкульозу, не росте. Деякі успіхи в культивуванні мікобактерії лепра отримана в результаті введення матеріалу в лапку мишей, де вони розмножуються протягом 23 – 30 днів.

В 1971 г англійським вченим вдалося розробити цілком задовільний метод культивування мікобактерій лепра в організмі армадил (броненосців),

Ферментативні властивості вивчені слабо. Їхньому дослідженню заважає невирішеність проблеми культивування *M. leprae* на живильних середовищах.

Токсинутворення. У мікобактерій лепри продукції токсину не встановлено. Ймовірно, вони утворюють ендотоксини і алергенні речовини.

Антигенна структура і класифікація не розроблена.

Резистентність. Дуже висока. В трупах людей мікобактерії лепра зберігаються тривалий час. Зовні людського організму життєздатність їх швидко втрачається.

Патогенез захворювання у людини. Джерело інфекції - хвора людина. Збудник лепри передається повітряно-крапельним шляхом, через носоглотку, пошкоджену шкіру, предмети. Проте зараження відбувається головним чином при тісному і тривалому спілкуванні здорових осіб з хворими лепрою.

Мікобактерії лепра, проникнувши в організм через шкіру і слизові оболонки, упродовжуються в клітки різних тканин і органів, потім проникають в лімфатичні і кровоносні судини і поступово дисемінують. При високій резистентності організму мікобактерії лепра в більшості своїй гинуть.

Інкубаційний період триває від 3 - 5 до 20 - 35 років. Хвороба протікає хронічно.

По клінічному вияву лепру підрозділяють на три типи лепроматозний, туберкулоїдний, недиференційований

1. **Лепроматозний тип** характеризується мінімальною резистентністю організму до наявності, розмноження і розповсюдження збудника, а також постійною присутністю мікобактерій лепри в місцях поразки. Лепромінова проба є негативною.

2. **Туберкулоїдний тип** відрізняється високою резистентністю організму до розмноження і розповсюдження мікобактерій лепри. В місцях поразки мікобактерії не виявляють або їх знаходять у малій кількості тільки в період реактивного стану. Алергічна проба зазвичай позитивна.

3. **Недиференційований тип (невизначена група)** характеризується тенденцією до резистентності. При мікроскопічному дослідженні мікобактерії лепри виявляються не завжди. Алергічні проби при цьому негативні або слабопозитивні.

Імунітет. Вивчений недостатньо глибоко. В крові хворих містяться комплементзв'язуючі антитіла. В процесі хвороби розвивається алергічний стан. Механізм імунітету при лепрі подібний механізму імунітету при туберкульозі.

Лабораторна діагностика. Для дослідження беруть зіскріб із слизової оболонки носа (з обох боків перегородки), вміст лепрозних вузлів шкіри, мокроту, відокремлюване язв, в період лихоманки досліджують кров. Основним методом діагностики лепри є мікроскопічне дослідження. Забарвлення мазків проводиться за Цилем – Нільсеном.

Алергічна проба Мітсуди вважається позитивною, якщо через 48 - 72 год. на місці введення 0,1 мл лепроміуа (суспензія лепрозного вузла, розтертого в ступці і тривало кип'яченого) з'являються еритема і невелика папула (рання реакція). До кінця першого тижня вони повністю зникають або виявляється пізня реакція, при якій через 10 - 14 днів на місці ін'єкції утворюється вузлик, досягаючий до 30-ї доби 1 - 2 см з некрозом в центрі.

Для діагностики лепри використовують реакцію зв'язування комплементу і непряму реакцію гемаглютинації. За допомогою **ПЛР** можна виявити дуже малі кількості ДНК *M. leprae* безпосередньо в клінічних зразках.

Лікування. Через ризик розвитку резистентності ВООЗ рекомендує для лікування лепри застосовувати **багатокомпонентну терапію**:

- о рекомендовані препарати: **дапсон, рифампіцин та клофазимін**;
- о альтернативні препарати: **етіонамід, хінолони (офлоксацин), міноциклін і кларитроміцин**;
- о схеми лікування ВООЗ застосовуються залежно від клінічного типу лепри;

Профілактика. Хворих лепрою, виділяючи бацили, ізолюють в лепрозорії до клінічного лікування при постійному за них спостереженні. Хворих, не виділяючи мікроорганізмів, лікують амбулаторно. Жива аттенуйованна вакцина супроти *M. leprae* не отримана, але вакцина БЦЖ, здається, захищає проти лепри в тих регіонах, де вона захищає проти туберкульозу, підтверджуючи, що такий захист індукується загальними мікобактеріальними антигенами.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекцій: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекцій:

Проблемне питання: " Дифтерійний токсин не виробляється самим *Corynebacterium diphtheriae*, а виробляється лізогенним бактеріофагом, що несе ген tox. Як розуміння цього унікального механізму патогенності впливає на розуміння фенотипу вірулентності та дозволяє отримувати токсин для виробництва вакцин та антитоксину?"

Клінічне питання: "Пацієнту діагностований туберкульоз легень. При стоматологічному огляді виявлено болючу виразку на язичі з нерівними краями та гранульозним дном. Як це вторинне туберкульозне ураження порожнини рота впливає на план стоматологічного лікування, які заходи інфекційного контролю повинні дотримуватися, та яка спеціальна підготовка робочого

простору необхідна?"

Питання для роздумів: "Туберкульоз залишається однією з провідних причин смертності у світі попри наявність ефективних препаратів. Проблема мультирезистентних штамів (MDR-TB) та екстенсивно резистентних штамів (XDR-TB) робить лікування надзвичайно складним та дорогим. Як лікарі повинні розуміти важливість комплаєнсу пацієнта до довготривалої комбінованої хіміотерапії та його критичну роль у запобіганні розвитку резистентності?"

Епідеміологічне питання: "У країнах з високою поширеністю туберкульозу медичні працівники, включаючи стоматологів, мають суттєво підвищений професійний ризик інфікування *Mycobacterium tuberculosis* при роботі з пацієнтами. Як правильна організація робочого простору (вентиляція, маски N95, ізоляція пацієнтів), дотримання календаря туберкулізації та проведення скринінгу персоналу мінімізують цей ризик?"

Питання для самоконтролю до теми:

1. Охарактеризуйте морфологію *Corynebacterium diphtheriae* (поліморфні палички, метакрохроматичні гранули).
2. Які забарвлення використовують для виявлення метакрохроматичних гранул (Нейсера, Альберта)?
3. На яких середовищах культивують *C. diphtheriae* (Лефлера, теллуритний агар)?
4. Які біотики *C. diphtheriae* існують (gravis, mitis, intermedius)?
5. Який фактор вірулентності є найважливішим у *C. diphtheriae* (дифтерійний токсин)?
6. Поясніть механізм дії дифтерійного токсину (інгібування EF-2, блокування синтезу білка).
7. Як дифтерійний токсин потрапляє в бактерію (лізогенна конверсія профагом)?
8. Опишіть патогенез дифтерії (адгезія, продукція токсину, локальні та системні ефекти).
9. Які форми дифтерії існують (фарингеальна, ларингеальна, назальна, шкірна)?
10. Які клінічні прояви дифтерії в порожнині рота (псевдомембрана, набряк, "бичачий" шия)?
11. Які ускладнення дифтерії (міокардит, поліневрит, нефроз)?
12. Які методи діагностики дифтерії (посів, тест Елека на токсигенність, ПЛР)?
13. Яке лікування дифтерії (антитоксична сироватка, антибіотики)?
14. Які вакцини використовують для профілактики дифтерії (АКДП, АДП, АД-М)?
15. Який календар вакцинації проти дифтерії в Україні?
16. Охарактеризуйте морфологію *Mycobacterium tuberculosis* (тонкі палички, кислотостійкі).
17. Чому мікобактерії кислотостійкі (високий вміст міколових кислот у клітинній стінці)?
18. Яке забарвлення використовують для виявлення мікобактерій (Ціля-Нільсена)?
19. На яких середовищах культивують *M. tuberculosis* (Левенштейна-Йенсена, Міддлбука)?
20. Чому культивування *M. tuberculosis* тривале (повільний ріст, 3-8 тижнів)?
21. Які фактори вірулентності *M. tuberculosis* (корд-фактор, LAM, каталаза, здатність виживати в макрофагах)?
22. Опишіть патогенез туберкульозу (аерогенне зараження, фагоцитоз, виживання в макрофагах, гранулома, казеозний некроз).
23. Що таке первинний туберкульозний комплекс (вогнище Гона + лімфаденіт)?
24. Що таке туберкульозна гранульома? Які клітини входять до її складу?
25. Які форми туберкульозу (первинний, вторинний, міліарний)?
26. Які клінічні прояви легеневого туберкульозу (кашель, кровохаркання, нічна пітливість, схуднення)?
27. Які прояви туберкульозу в порожнині рота (виразки язика, ясен, піднебіння)?
28. Які методи діагностики туберкульозу:

- Бактеріоскопія харкотиння (забарвлення за Цілем-Нільсеном)
 - Посів на середовище Левенштейна-Йєнсена
 - Молекулярні методи (GeneXpert MTB/RIF, ПЛР)
 - Імунологічні тести (проба Манту, квантіфероновий тест, T-SPOT.TB)
 - Рентгенографія, КТ
29. Що таке проба Манту? Як інтерпретувати результати?
30. Яке лікування туберкульозу (ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол, стрептоміцин)?
31. Що таке DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course)?
32. Що таке MDR-TB, XDR-TB? Які механізми резистентності?
33. Яка вакцина використовується для профілактики туберкульозу (БЦЖ)?
34. Яка ефективність вакцини БЦЖ?
35. Які заходи інфекційного контролю в стоматології при роботі з пацієнтами з туберкульозом?

Список джерел до теми:

Основні:

1. Широбоков В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.
2. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.

Додаткові:

3. WHO. Global tuberculosis report 2023. World Health Organization, 2023: 1-250.
4. Mignogna M.D., Muzio L.L., Favia G., Ruoppo E., Sammartino G., Zarrelli C. Oral tuberculosis: a clinical evaluation of 42 cases. Oral Diseases, 2000, 6(1): 25-30.

ЛЕКЦІЯ «ПАТОГЕННІ ЕНТЕРОБАКТЕРІЇ. ЕШЕРІХІЇ ТА ШИГЕЛИ. САЛЬМОНЕЛИ»

Актуальність теми: Патогенні ентеробактерії (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*) є провідними збудниками кишкових інфекцій, харчових токсикоінфекцій та нозокоміальних уражень, що визначає їхнє значення для загальномедичної підготовки стоматолога. Порушення кишкового мікробіома, зумовлені цими інфекціями та антибіотикотерапією, впливають на загальний стан пацієнта, його імунний статус та ризики ускладнень при стоматологічних втручаннях. Розуміння механізмів діареї (секреторної та інвазивної), системної інтоксикації та специфіки лабораторної діагностики дозволяє стоматологу адекватно оцінювати стан пацієнта та прогнозувати ризики. Проблема зростаючої антибіотикорезистентності ентеробактерій, особливо до фторхінолонів і цефалоспоринів, вимагає від лікаря розуміння механізмів резистентності та раціонального призначення препаратів. Знання про ці інфекції також важливе для профілактики крос-інфекцій у медичних закладах та дотримання санітарно-гігієнічних норм у стоматологічному кабінеті.

Мета:

Навчальна мета:

- Сформувати знання про класифікацію, морфологію, культуральні та біохімічні властивості патогенних ентеробактерій.
- Пояснити патогенез інфекцій, спричинених різними патотипами *E. coli*, шигелами та сальмонелами.
- Ознайомити з механізмами секреторної та інвазивної діареї, системної інтоксикації.
- Розглянути принципи лабораторної діагностики та раціональної антибіотикотерапії ентеробактеріальних інфекцій.

Виховна мета:

- Виховати відповідальне ставлення до призначення антибіотиків з урахуванням ризику розвитку дисбіозу та резистентності.
- Сформувати розуміння важливості дотримання санітарно-гігієнічних норм для профілактики фекально-орально передаваних інфекцій.

Основні поняття (перелік питань):

Enterobacteriaceae – родина грам-негативних факультативно-анаеробних паличок, що мешкають у кишечнику

Escherichia coli – комменсал кишечника, але існують патогенні варіанти

Ентеропатогенна *E. coli* (EPEC) – спричиняє діарею у немовлят, формує мікроколонії через bundle-forming pili (BFP), має систему секреції III типу (T3SS) з локусом LEE

Ентерогеморагічна *E. coli* (EHEC, O157:H7) – продукує Шига-токсин, викликає геморагічний коліт та гемолітико-уремічний синдром

Ентеротоксигенна *E. coli* (ETEC) – продукує термолабільний (LT) та термостабільний (ST) ентеротоксини, спричиняє діарею мандрівників

Механізми патогенності: attaching and effacing (A/E) лезія – формування п'єдесталів акту завдяки інжектованим ефекторам (Tir, EspA/B/D), що активують Rho-ГТФази та індукують реорганізацію цитоскелету

***Shigella* (*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei*)** – збудники шигельозу (бактеріальної дизентерії)

Патогенез: інвазія епітелію через М-клітини, внутрішньоклітинне розмноження, міжклітинне поширення через актинові "комети" (білок VirG/IcsA полімеризує актин), руйнування епітелію, запалення, виразки, геморагії

Шига-токсин – цитотоксин, що інгібує синтез білка через інактивацію 28S рРНК рибосом

Система секреції III типу – ефектори IpaB/C/D формують пору в мембрані, запускають ендоцитоз, індують апоптоз макрофагів

Salmonella enterica – збудник сальмонельозу (гастроентериту) та черевного тифу

Патогенез: проникнення через М-клітини Пейєрових пляшок, T3SS-1 (SPI-1) – інжектує ефектори (SopE, SopB, SipA), що активують Rho-ГТФази, індують мембранні оборки та макропіноцитоз, утворення *Salmonella*-containing vacuole (SCV) – специфічна ніша для внутрішньоклітинного виживання, T3SS-2 (SPI-2) – активується в SCV, забезпечує внутрішньоклітинне виживання, модифікує SCV, утворює *Salmonella*-induced filaments (Sif)

Системна інвазія: при черевному тифі (*S. typhi*, *S. paratyphi*) бактерії виживають у макрофагах, поширюються лімфатичною та кровоносною системами

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

РОДИНА ENTEROBACTERIACEAE

Родина Enterobacteriaceae включає 12 родів: *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia*, *Erwinia*.

Відповідно характеру взаємин з макроорганізмом в лекції ми надамо увагу трьом основним родам - *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*.

Кишково-тифозно-паратифозні і дизентерійні бактерії мають загальні властивості: це - палички з закругленими кінцями, що мають розміри 0,3-0,8 мкм в товщину і 1,5-5,0 мкм в довжину. Вони не утворюють спор, грамнегативні, факультативні анаероби, можуть бути рухливими або ні, капсульованими або некапсульованими. Добре ростуть на простих поживних середовищах, але для диференціальної діагностики використовують лактозо-вмісні середовища Ендо, Левіна, Плоскірева, Мак-Конкі.

Вони розрізняються за ферментативними властивостями. *E. coli* відрізняється від патогенних видів (*Salmonella typhi*, *S. paratyphi* A і B, і ін.) більш виразною біохімічною активністю. Дуже важливо, що постійний мешканець кишківника, *E. coli*, диференціюється від патогенних представників родини (сальмонел і шигел) за здатністю ферментувати лактозу і утворює червоні колонії, тоді як сальмонели і шигели - безбарвні.

Кишково-тифозно-паратифозні і дизентерійні бактерії диференціюються також за багатьма властивостями: рухливістю, ферментацією вуглеводів, утворенню індолу та сірководню, а також антигенними властивостями, визначуваними в серологічних реакціях з відомими видо- і типоспецифічними сироватками.

ESCHERICHIA

Антигенна структура

Діагностична схема для серотипування заснована на розподілі за О, Н і К антигенами, що виявляються в реакції аглютинації.

Описано більше 170 різних соматичних О антигенів. Реакцію аглютинації необхідно ставити з прокип'яченими культурами. Відомо більше 50 Н -антигенів (джгутикових) і 75 К-антигенів (капсульних).

Антисироватки для цілей серотипування малодоступні, за винятком сироваток для ентеропатогенних О-груп (ЕПКП)

Багато представників родини Enterobacteriaceae володіють фimbріями, детермінованими хромосою і статевими пілями, які кодовані кон'югативною плазмідною і представляють собою орган кон'югації.

Патогенез захворювань у людини.

Кишкова паличка - широко поширений коменсал кишечника ссавців і птахів і, хоча присутній скрізь, де є фекальне забруднення, мабуть, не веде незалежного існування зовні організму тварин. Деякі штами –патогенні для людини і тварин, викликають септичні інфекції і діарею.

Сечовий тракт і септичні інфекції.

E. coli звичайно бере участь в інфекціях сечового тракту і часто є причиною гострих неускладнених лікарняних інфекцій сечового тракту. *E. coli* також викликає менінгіт новонароджених і септицемію, а також септичні ускладнення операційних ран і абсцеси в різних органах.

Штами *E. coli* володіють комплексом чинників вірулентності. Полісахариди О- і К-антигенів захищають організм від бактерицидного ефекту комплементу і фагоцитів у відсутності специфічних антитіл. Проте, у присутності антитіл тільки до К-антигенів, або до О- і К-антигенам одночасно, фагоцитоз є ефективним. Багато штамів *E. coli* утворюють гемолізін, гемолітичні штами виявилися більш вірулентними, ніж негемолітичні.

Деякі штами володіють плазмідом Col V, яка несе генетичні детермінанти для аэробактину - опосередкованої системи поглинання заліза.

Інфекції сечового тракту значне частіше бувають у жінок, ніж у чоловіків, висока частота захворювань у вагітних жінок.

Ешеріхіози.

Захворювання, викликані кишковою паличкою і які характеризуються діареєю, називають ешеріхіозами.

E. coli може викликати: гострий ентерит дітей раннього віку, молодих тварин, поросят, телят і ягнят; гострий ентерит у осіб різного віку, що зустрічається головним чином в тропіках, включаючи дорожню діарею; дизентерієподібне захворювання у людей всіх віків і геморагічний коліт або «кривавий пронос».

Штами, які викликають діарею, діляться на 5 груп з різними механізмами патогенності (Таблиця 1).

Табл. 1. Основні групи кишкових паличок, які викликають діарею

Патогенні групи	О-серогрупи
1. Ентеропатогенні кишкові палички (ЕПКП)	O26, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128, O142
2. Ентеротоксигенні кишкові палички (ЕТКП)	O6, O8, O15, O25, O27, O63, O78, O115, O148, O153, O159, O167
3. Ентероінвазивні кишкові палички (ЕІКП)	O28, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O164
4. Ентерогеморагічні кишкові палички (ЕГКП)	O157
5. Ентерoadгезивні кишкові палички (ЕАКП)	

Ентеропатогенні кишкові палички (ЕПКП).

ЕПКП викликають ентерит у дітей перших років життя, особливо в тропічних країнах; спалахи часто зустрічаються в лікарнях і можуть давати високу летальність, але спалахи стали рідкими в промислових країнах.

Більшість штамів не продукують термостабільного (СТ) або термолабільного (ЛТ) ентеротоксину, а також Веро-токсину (ВТ) і неінвазивні.

Ентеротоксигенні кишкові палички (ЕТКП).

Ці штами продукують термостабільний ентеротоксин (СТ), термолабільний ентеротоксин (ЛТ) або обидва токсини. Крім того, вони володіють чинниками колонізації, які є специфічними для виду господаря і які дозволяють мікроорганізмам міцно прикріплюватися до епітелію тонкої кишки.

Термолабільний ентеротоксин (ЛТ). ЛТ близько родинний токсину, утворюваному штамми *Vibrio cholerae*. Обидва є білковими комплексами, які складаються з однієї субодиниці поліпептида А і п'яти субодиниць поліпептида В з молекулярною вагою приблизно 25 000 і 11 500 відповідно. Субодиниці В відповідальні за прикріплення токсину до епітеліальних клітин. Після переміщення через мембрани епітеліальних кліток кишківника, субодиниця А каталізує НАД-залежну активацію аденілатциклази, яка викликає збільшення концентрації циклічного аденозинмонофосфата (цАМФ). В клітинах ворсинок кишечника цАМФ пригнічує адсорбцію натрія і внаслідок цього хлоридів і води, одночасно цАМФ збільшує в клітинах крипт секрецію і викликає втрату хлоридів і води, що веде до профузному водянистому поносу. ЛТ кодується плазмідом у багатьох штамів людського і тваринного походження, детально відома організація кодуєчого оперона для субодиниць А і В.

Рідкі штами *E. coli* продукують термолабільний токсин (ЛТ-II), який має схожу біологічну активність з ЛТ, але не реагує з імунною сироваткою в реакції імунодифузії або нейтралізації. Структурні гени для ЛТ-II, ймовірно, є хромосомними, хоча вивчено небагато таких штамів.

Термостабільний ентеротоксин (СТ). На відміну від ЛТ, СТ *E. coli* мають низьку молекулярну вагу і слабо імуногенні. Було виділено два головного класа термостабільних токсинів *Esch. coli*, вони позначені СТА і СТВ (або СТ-I і СТ-II). СТА активує гуанілатциклазу, що веде до збільшення рівня циклічного цГМФ. Активність СТА швидка, тоді як ЛТ діє після періоду затримки. Механізм секреції, викликані СТА через цГМФ невідомий, але кальцій може грати в цьому роль.

СТА також кодується плазмідом, і ці плазмиди можуть також нести гени для ЛТ, чинників адгезії або резистентності до антибіотиків.

СТВ відрізняється від СТА своєю біологічною активністю і нерозчинністю в метанолі. Механізм дії СТВ невідомий, але, ймовірно, він не діє через цАМФ або цГМФ.

Чинники адгезії. Адгезія звичайно опосередкована фімбріями, які зв'язуються із специфічними рецепторами в мембрані клітки. Адгезивні або колонізаційні чинники є антигенними і можуть бути виявлені в реакції імунодифузії або аглютинації і кодується плазмідами, які одночасно несуть гени для чинника колонізації і продукції ентеротоксину.

В країнах, що розвиваються, діарея є головною причиною смерті у дітей до 5 років життя, і ЕТКП обумовлюють значну її частину. У важких випадках інфекції ЕТКП схожі на холеру, тому їх називають **холероподібними ешеріхіозами**.

3. Ентероінвазивні кишкові палички (ЕІКП). ЕІКП викликають захворювання, ідентичне дизентерії, викликані шигелами, у осіб будь-якого віку – **дизентерієподібні ешеріхіози**.

Шигели і ЕІКП викликають бактерійне захворювання з механізмом інвазії, при якому мікроорганізми проникають через епітеліальні клітки товстої кишки і розмножуються внутрішньоклітинно. Механізм інвазивності залежать від присутності зовнішніх білків мембран.

4. Ентерогеморагічні кишкові палички (ЕГКП)

E. coli O157 – основна серогрупа, виявляється при інфекції ЕГКП у людини. ЕГКП продукують один або обидва Веро (ВТ)-цитотоксина (ВТ1 і ВТ2). ВТ1 близько родинний так званому Шига-токсину, утворюваному штамми *Shigella dysenteriae* типу 1 і іноді називається тому Шига-подібним токсином (SLT). ЕГКП викликають різні симптоми від помірної водянистої діареї до важкої діареї з великими кількостями свіжої крові в стугі (геморагічний коліт). Серйозним ускладненням, особливо у дітей, є гемолітичний уремичний синдром.

Гемолітико-уремічний синдром характеризується гострою нирковою недостатністю, мікро-ангіопатичною гемолітичною анемією і тромбоцитопенією.

BT1 і BT2 складаються з субодиниць А і В. Субодиниця А володіє біологічними діями токсину (за рахунок інгібування 60S субодиниці людських рибосом припиняє продукцію білків), тоді як субодиниця В забезпечує прикріплення.

Профілактика і лікування колієнтеритів (ешеріхіозів).

Загальні заходи. Рання корекція дисбалансу рідини і електролітів - найважливіший визначальний чинник в запобіганні смертельного виходу при важких інфекціях, недопущення контакту з інфікуючим агентом, санітарні-гігієнічні заходи.

Вакцинація. Дослідження по використанню вакцин були поки лише в області ветеринарії.

SHIGELLA

Шигели - типові представники Enterobacteriaceae і генетично пов'язані з родом *Escherichia*. Мікроскопічно в забарвлених препаратах шигели - грамнегативні палички, нерухомі і не утворюють капсул. Культурально вони подібні більшості інших ентеробактерій, за винятком того, що на середовищі Ендо або Мак Конки вони є лактозонегативними на диференціальних поживних середовищах колонії шигел безбарвні і схожі на колонії сальмонел.

Рід *Shigella* підрозділений на підставі біохімічних і серологічних властивостей на чотири види: *Shigella dysenteriae*, *Sh. flexneri*, *Sh. boydii* і *Sh. sonnei*. Один з них, *Sh. dysenteriae*, відрізняється нездатністю ферментувати маніт. Інший, *Sh. sonnei*, пізно ферментує лактозу.

Антигенна структура шигел складна. *Sh. dysenteriae* може бути підрозділена на 10, а *Sh. boydii* - на 15 серотипів (сероварів). Комбінація групо- і варо - специфічних антигенів дозволяє підрозділити *Sh. flexneri* на шість сероварів, кожен з яких може бути підрозділений далі. Штами *Sh. sonnei* серологічно гомогенні, і для виявлення відмінностей між штамами в епідеміологічних цілях використовують інші маркери, такі як продукція специфічних коліцинів або вміст плазмиди лікарської стійкості або інших плазмід.

Патогенез захворювання у людини. Джерелами інфекції є люди, хворі гострою і хронічною дизентерією, а також носії. Зараження відбувається через рот при вживанні інфікованих харчових продуктів, особливо молока, води, через руки, домашніх мух і різні предмети.

Шигели розмножуються всередині епітеліальних клітин і розповсюджуються в суміжні клітини і глибоко в lamina propria. Інфіковані епітеліальні клітини гинуть, а в lamina propria і підслизовому шарі розвивається запальна реакція з капілярним тромбозом. Бляшки некротизованого епітелію злущуються і утворюються виразки. Транзиторна бактеріємія може зустрічатися, але септицемія з метастазами інфекції рідка.

Багато штамів продукують екзотоксин, здатний викликати секрецію води і електролітів клітинами тонкої кишки за механізмом, подібним дії токсину *Escherichia coli* і холерному токсину. Цей токсин може бути відповідальний за короткочасний період водянистого поносу, який часто передуює початку кривавого поносу при класичній дизентерії.

Інкубаційний період - звичайно 2 - 3 дні. Початок захворювання раптове і першим симптомом часто буває кишкова колька. Це супроводжується початком водянистого поносу, і завжди, навіть в найлегших випадках, розвивається лихоманка і нездужання. Захворювання може прогресувати, розвивається кишкова колька, тенезми (спазми кишечника), частий стул з виходом невеликого об'єму переважно кров'яного слизу. В типовому випадку захворювання дизентерією симптоми проходять приблизно за 4 дні, але іноді можуть продовжуватися 10 днів і більше.

Імунітет. Після перенесеної дизентерії виробляється групоспецифічний імунітет, який є вельми слабким і короткочасним. Тому можливі повторні і багатократні захворювання, іноді перехідні в хронічну форму. Це, ймовірно, пояснюється тим, що шигелли мають загальні антигени з тканинами людини.

Лікування. Більшість випадків шигельозної дизентерії, особливо викликаного *Sh. sonnei*, є неважкими і не вимагають терапії антибіотиками. Симптоматичне лікування - регідrataція

Лікування ампіциліном, котримоксазолом, тетрацикліном або ципрофлоксацином, якщо вони виявляються активними *in vitro*, необхідно для дітей, немолодих і ослаблених осіб.

Профілактика. Профілактика дизентерії забезпечується проведенням комплексу загальних заходів: 1) захист води, харчових продуктів, особливо молочних, від інфікування збудниками дизентерії; 2) рання лабораторна діагностика; 3) госпіталізація або ізоляція хворих на будинку з дотриманням належного режиму; 4) ретельна дезінфекційна обробка вогнищ; 5) повноцінне лікування хворих високоефективними антибіотиками, хіміопрепаратами і імунопрепаратами; 6) спостереження за вогнищами і проведення в них профілактичних заходів; 7) фаготипування контактуючих з хворими; 8) дотримання санітарно-гігієнічних режимів в дитячих установах, в житлових і робітниках приміщеннях, на харчових підприємствах, в їдальнях і магазинах.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ЕШЕРИХІОЗІВ І ДИЗЕНТЕРІЇ

Лабораторна діагностика ешерихіозів. Матеріалом для лабораторної діагностики ешерихіозів і інших колі-інфекцій. служать випорожнення хворих, відокремлюване із зіву і носа, трупний матеріал (кров, жовч, печінка, селезінка, легені, вміст тонкого і товстого кишечника, гній).

Посів досліджуваного матеріалу проводять на щільні поживні середовища (Ендо, Левіна, Мак Конкі і ін.), паралельно роблять посіви для виділення тифозно-паратифозної і дизентерійної груп бактерій на середовища Плоскірева і Вісмут-сульфітагар. При підозрі на септичний процес сіють кров для збагачення в бульйон, а потім висівають на щільне середовище. Виділені чисті культури ідентифікують за морфологічними, культуральними, біохімічними, серологічними і біологічними властивостями. Належність виділених ешерихій до патогенних сероварів відповідних О-груп встановлюють в реакції аглютинації після руйнування кип'ятінням К-антигену досліджуваної культури. Реакція аглютинації ставиться спочатку з ОК, а потім з О-сироватками.

При лабораторній діагностиці **інфекцій ЕТКП** проводять виявлення **ентеротоксинів**.

Лабораторна діагностика дизентерії. Успіх лабораторного дослідження багато в чому залежить від правильності взяття випорожнень і **посіву** їх на елективно-диференціальне середовище **у ліжка хворого** з подальшою відправкою в лабораторію. Основним в діагностиці є бактеріологічний метод дослідження.

САЛЬМОНЕЛИ

Рід сальмонел великий (67 груп і більш 2200 сероварів), його представники є збудниками захворювань тварин, птиць, людини. Їх можна розділити на монопатогенні (викликають захворювання в одного виду тварин, птиць) і біпатогенні (викликають захворювання у тварин, птиць і в людини). Використовують класифікацію сальмонел за Ф.Кауфманом і П. Уайтом.

У людини сальмонели можуть викликати сальмонельозні харчові токсикоінфекції при вживанні зараженого м'яса, а також заражених яєць, особливо гусаків (при відсутності належного санітарного і ветеринарного контролю).

Морфологічні властивості сальмонел – грамнегативні, рухливі (перитрихи), деякі мають поверхневий капсульний шар, ростуть на простих поживних середовищах.

Антигенна структура сальмонел: 0-, H-, Vi- (як складова частина К антигену) антигени.

Відзначена спільність черевнотифозних і паратифозних сальмонел за «Н» антигеном (специфічна і групова фракції), що затрудняє ідентифікацію виділених гемо-, копро-, урінокультур при застосуванні видоспецифічних діагностичних сироваток і вимагає застосування вароспецифічних «О» сироваток для постановки РА на склі й остаточній ідентифікації культур. У процесі захворювання в сироватці крові хворих будуть накопичуватися 0-, H-, Vi- антитіла, а для забезпечення постінфекційного і поствакцинального імунітету організм зберігає тільки «Н» антитіла, здатні аглютинувати і черевнотифозні і паратифозні А и В мікроби. Тому для серологічної діагностики захворювання потрібна постановка реакції Відаля з 8-го дня захворювання з визначенням наявності і титру «О» і «Н» антитіл і застосуванням О- і Н-

діагностикумів. Наявність «О» і «Н» антитіл буде свідчити про наявність захворювання, реакція О-антитіл вказує на поточне захворювання, наявність тільки «Н» антитіл - свідчить про анамнестичну або прищеплювальну реакцію.

Резистентність сальмонел черевного тифу і паратифів. Виживаність мікробів на харчових продуктах, предметах побуту, у воді в середньому 2-3 тижні. При наявності кислих продуктів - 1 тиждень (чорний хліб, фрукти, деякі овочі до моменту псування). Сальмонели чутливі до високої температури (загибель при температурі більше 60°C, при 100°C гинуть моментально), дез. засобам.

Епідеміологія, патогенез, імунітет при тифо-паратифозних захворюваннях.

Джерелом інфекції є людина: носії, хворі. Збудник передається фекально-оральним шляхом. У передачі збудника мають значення мухи. Епід. сезон - літнє - осінній, хоча захворювання реєструються цілий рік. Типи епідемій: водяні, харчові, контактнo-побутові. Інкубаційний період може бути коротким - 1 тиждень, середнім - 2 тижні, довгим - 3 тижні. Чим коротше інкубаційний період - тим важче перетікає захворювання.

5.3. Патогенез захворювання. Умовно розрізняють 6 фаз (стадій) патогенезу:

1. Дигестивна - відповідає інфікуванню і триває протягом періоду травлення, 4-6 годин;
2. Інвазії - відповідає інкубаційному періоду, 1-3 тижні;
3. Бактеріємія - відповідає 1 тижню захворювання;
4. Паренхіматозна дифузія - відповідає 2 тижням захворювання;
5. Алергічна - відповідає 3 тижню захворювання;
6. Вихідна, реконвалесценція - відповідає 4 тижню захворювання.

Подолавши бар'єр - кислотність шлункового соку, сальмонели в тонкому кишечнику впроваджується в солітарні фоллікули, Пейерови бляшки кишкової стінки, мезентеріальні лімфатичні вузли - початок 2-й фази, **фази інвазії**. **Фаза бактеріємії** відповідає початку захворювання, і триває 1 тиждень, хоча бактеріємія продовжується упродовж 2 і 3-го тижнів - поки є підвищена температура. Проникаючи в кров сальмонели руйнуються, накопичується ендотоксин, що впливає на нервову і серцево-судинну систему, чим і обумовлені перші симптоми захворювання: 1) хвилеподібний підйом температури упродовж 1-го тижня захворювання (у міру проникнення в кров мікробів, їхньої руйнації і накопичення ендотоксину) від 36,5°C до 39°C; 2) затемнен, ступорозна свідомість; 3) брадікардія - відставання частоти пульсу від температури. Ця тріада симптомів служить підставою для постановки попереднього діагнозу "тифозний стан (статус тифозус)" і вимагає подальшого підтвердження лабораторними методами. **Фаза паренхіматозної дифузії**: Для запобігання подальшого накопичення ендотоксину в крові і впливу на нервову і серцево-судинну системи, у боротьбу включаються СМФ, органи багаті мононуклеарними фагоцитами (селезінка, печінка), вони із крові, що проходить через них, захоплюють, депонують і руйнують мікроорганізми. Накопичений при цьому ендотоксин пошкоджує паренхіму цих органів, тому на 2 тижні захворювання виникає гепатолієнальний синдром (збільшення і хворобливість печінки і селезінки), з'являється розеольозне висипання на грудях, животі, температура стає постійною. **Алергічна фаза** (3 тиждень захворювання). Подальше накопичення ендотоксину в крові і паренхіматозних органах стає небезпечним для життєздатності організму. Включаються в боротьбу видільні системи. Живі мікроорганізми виділяються через нирки разом із сечею, печінка разом із жовчю виділяє їх в кишечник і з випорожненнями назовні. При цьому значно поліпшується стан здоров'я хворого: поступово знижується температура, прояснюється свідомість, поліпшується апетит, хворий стає активним. Але в цей період можливі ускладнення: профузна кишкова кровотеча і перфорація кишкової стінки з наступним перитонітом і летальним виходом у результаті проникнення в кишечник сальмонел, що виділилися з жовчю у лімфоїдний апарат кишкової стінки. На повторне проникнення мікробів лімфоїдний апарат реагує бурхливою запальною реакцією - гіперергічним

запаленням з некрозом і кровотечею, якщо некроз великий і глибокий - перфорацією кишкової стінки. **Фаза реконвалісценції** (вихідна) - 4 тижень захворювання.

Постінфекційний імунітет після перенесених тифо-паратифозних захворювань триває до 10 років, пізніше можливі реінфекції

Мікробіологічна діагностика тифо-паратифозних захворювань.

Методи діагностики:

Бактеріологічний: Матеріал для дослідження: кров, сироватка крові, фекалії, сеча, жовч, у залежності від тижня захворювання. Виділення культури з крові - гемокультури, найбільш ранній і достовірний метод діагностики, можливі також копрокультура, уринокультура, і навіть, мієлокультура

Серологічний: а) із метою серологічної ідентифікації виділених культур сальмонел; б) серологічна діагностика захворювання: РА Відаля, РНГА.

Етіотропна терапія: Детальне вивчення патогенезу захворювання, ранніх методів діагностики, ефективної етіотропної терапії (**фторхінолони** (ципрофлоксацин) та **цефалоспорины III покоління** (цефтріаксон), іноді додають **азитроміцин**) в сполученні з дієтотерапією забезпечили 100% видужання хворих (раніше летальність досягала 25%).

Профілактика тифо-паратифозних захворювань: а) специфічна, шляхом вакцинації моновакциною, дівакциною, тривакциною-асоційованою вакциною (О-, Vi-антигени, черевнотифозні і паратифозні ТАВТе).

б) Загальносанітарна: госпіталізація хворих, санітарний нагляд за харчуванням, водопостачанням, санітарним станом території, санітарно-просвітна і виховна робота.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекції: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекції:

Проблемне питання: «*Escherichia coli* є комменсальною бактерією кишечника людини, проте деякі штами (ЕНЕС O157:H7, ЕТЕС) спричиняють тяжкі захворювання. Як розуміння факторів вірулентності (токсини, адгезини, системи секреції типу III) дозволяє розрізнити патогенні та непатогенні штами та прогнозувати тяжкість захворювання?»

Клінічне питання: «ацієнт після зубного лікування розвинув гострий діарейний синдром зі виділенням крові, лихоманкою та болем у животі. Культивування виявило *Shigella flexneri*. Як розуміння патогенезу шигельозу (інвазія в епітелій товстої кишки, токсичне пошкодження, формування виразок) впливає на стратегію лікування та розуміння ризиків для інших членів сім'ї та персоналу медичного закладу?»

Питання для роздумів: «Безконтрольне призначення антибіотиків не лише при кишкових інфекціях, але й при інших захворюваннях, призводить до розвитку мультирезистентних штамів ентеробактерій. Як лікар-стоматолог повинен розуміти проблему вибіркового тиску при призначенні антибіотиків та як його раціональне використання сприяє запобіганню глобальної антибіотикорезистентності?»

Епідеміологічне питання: «Спалахи харчових отруєнь, спричинені сальмонелами, часто мають спільне джерело контамінації (наприклад, партія яєць або курячого м'яса). Як дотримання санітарно-гігієнічних норм у медичних закладах (включаючи стоматологічні), здійснення епідеміологічного нагляду та проведення епідеміологічних розслідувань спалахів допомагають виявити та припинити такі спалахи?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Дайте визначення родини *Enterobacteriaceae* та основних ознак їхньої класифікації.
2. Охарактеризуйте основні роди ентеробактерій та їхнього медичного значення.
3. Опишіть морфологію та культуральні властивості *Escherichia coli*.
4. Охарактеризуйте структуру антигенів *E. coli*: О-антигени (LPS), К-антигени (капсула),

Н-антигени (джгутики).

5. Назвіть основні патотипи *E. coli* та їхніх факторів вірулентності (ЕРЕС, ЕТЕС, ЕНЕС, ЕІЕС, ЕАЕС).

6. Опишіть ентеротоксичні *E. coli* (ЕТЕС): механізм дії ентеротоксинів на аденілатциклазу, патогенез діареї.

7. Охарактеризуйте шига-токсичні *E. coli* (STEC) та розвиток гемолітично-уремічного синдрому.

8. Дайте визначення ентероінвазивних *E. coli* (ЕІЕС) та механізмів їхнього проникнення в епітелій товстої кишки.

9. Назвіть основні клінічні форми інфекцій, спричинених *E. coli* (кишкові інфекції, урогенітальні, госпітальні, менінгіти).

10. Опишіть морфологію та культуральні властивості *Shigella*.

11. Охарактеризуйте основні види шигел (*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei*) та їхніх факторів вірулентності.

12. Дайте визначення Шига-токсину та його механізму дії.

13. Опишіть патогенез шигельозу: інвазія в епітелій товстої кишки, утворення виразок, некроз.

14. Охарактеризуйте клінічну картину шигельозу: водяниста діарея, яка переходить у кривави дизентерійні випорожнення.

15. Назвіть можливі ускладнення шигельозу (токсичний коліт, перфорація, дегідратація, судоми).

16. Опишіть морфологію та культуральні властивості *Salmonella*.

17. Охарактеризуйте серовари сальмонел та їхнього подільння на тифозні та нетифозні.

18. Дайте визначення *Salmonella typhi* та патогенезу черевного тифу.

19. Назвіть основні клінічні форми черевного тифу: повільний початок, лихоманка «сходінками», висип на тулубі.

20. Опишіть нетифозні сальмонели та розвиток гастроентеритів (гострий початок, блювання, діарея, системні прояви).

21. Охарактеризуйте шляхи передачі сальмонел (контаміновані продукти харчування, домашні тварини).

22. Дайте визначення хронічного носійства сальмонел та механізму його розвитку.

23. Опишіть принципи лабораторної діагностики ентеробактеріальних інфекцій (посіви на селективні середовища, біохімічна ідентифікація).

24. Охарактеризуйте молекулярно-генетичні методи діагностики (ПЛР, секвенування).

25. Назвіть основні групи антибіотиків, що використовуються для лікування ентеробактеріальних інфекцій.

26. Опишіть механізми антибіотикорезистентності ентеробактерій: продукція β -лактамаз, зміна проникливості клітинної стінки.

27. Охарактеризуйте розширений спектр β -лактамаз (ESBL) та його значення для тактики лікування.

28. Дайте визначення дисбіозу кишечника та його наслідків при та після ентеробактеріальних інфекцій.

29. Назвіть принципи профілактики фекально-орально передаваних інфекцій (санітарія, гігієна, дезінфекція).

30. Опишіть епідеміологічне спостереження та контроль ентеробактеріальних інфекцій у стоматологічних закладах.

Список джерел до теми:

Основні:

1. Ширококов В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання,

оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.

2. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.

Додаткові:

3. Nataro J.P., Kaper J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 1998, 11(1): 142-201.

4. Guerrant R.L., Van Gilder T., Steiner T.S., et al. Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. *Clinical Infectious Diseases*, 2001, 32(3): 331-351.

ЛЕКЦІЯ «РИКЕТСІЇ, ХЛАМІДІЇ, МІКОПЛАЗМИ»

Актуальність теми: Рикетсії, хламідії та мікоплазми – це атипові бактерії, які займають проміжне положення між класичними бактеріями і вірусами. Вони мають унікальні біологічні властивості: облігатний внутрішньоклітинний паразитизм (рикетсії, хламідії), відсутність клітинної стінки (мікоплазми), особливості метаболізму та розмноження. Це визначає їхню специфічну чутливість до антибактеріальних препаратів і складність лабораторної діагностики. У клінічній практиці лікаря-стоматолога ці мікроорганізми важливі як причини системних інфекцій – атипових пневмоній, урогенітальних інфекцій, генералізованих рикетсіозів, що впливають на загальний стан та імунний статус пацієнта, перебіг стоматологічних захворювань, ризик ускладнень після втручань. Хронічні внутрішньоклітинні інфекції часто мають стерту клінічну картину, тривалий перебіг, сприяють розвитку імунних дисфункцій. Сучасна проблема антибіотикорезистентності особливо актуальна для внутрішньоклітинних патогенів, оскільки їхня локалізація у клітинах господаря обмежує ефективність багатьох препаратів. Тому знання морфології, біології, патогенезу, діагностики та лікування рикетсіозів, хламідіозів і мікоплазмових інфекцій є важливою складовою базової підготовки майбутнього лікаря-стоматолога.

Мета:

Навчальна мета:

- Ознайомити здобувачів з морфологією, ультраструктурою, фізіологічними та генетичними особливостями рикетсій, хламідій і мікоплазм як облігатних внутрішньоклітинних паразитів та найменших безклітинностінкових бактерій.
- Розкрити цикли розвитку рикетсій та хламідій у клітинах-мішенях, механізми їхнього паразитизму, роль у формуванні хронічних форм інфекцій та тісної асоціації з господарем.
- Пояснити патогенез основних захворювань, спричинених цими мікроорганізмами (рикетсіози, атипові пневмонії, урогенітальні хламідійні інфекції, мікоплазмові інфекції дихальних шляхів), роль системної запальної відповіді в розвитку клінічних проявів.
- Сформувати знання про принципи лабораторної діагностики (серологічні методи, ПЛР, культивування в культурах клітин), особливості антибіотикочутливості (резистентність мікоплазм до β -лактамів), раціональну етіотропну терапію та сучасні противірусні стратегії.

Виховна мета:

- Виховувати критичне ставлення до емпіричної антибіотикотерапії без урахування можливих внутрішньоклітинних патогенів, розуміння необхідності мікробіологічного підтвердження діагнозу.
- Розвинути навички профілактики урогенітальних хламідійних інфекцій та консультування пацієнтів щодо основ безпеки статевих контактів.

Основні поняття (перелік питань):

Облігатні внутрішньоклітинні паразити – бактерії, що можуть розмножуватися лише всередині еукаріотичних клітин

Rickettsiae – дрібні (0.25 мкм) грам-негативні внутрішньоклітинні бактерії

Морфологія: поліморфні коки або палички, розмножуються бінарним поділом у цитоплазмі клітини-господаря

Особливості метаболізму: проникна цитоплазматична мембрана, не здатні синтезувати АТФ, "викрадають" АТФ з клітини-господаря, можуть синтезувати ДНК, РНК та білки

Передача: через членистоногих переносників (кліщі, воші, блохи)

Захворювання: висипний тиф (*R. prowazekii*), плямиста лихоманка Склеястих гір (*R.*

rickettsii), Q-лихоманка (*Coxiella burnetii*)

Мішень: ендотелій судин, викликає васкуліт, висип, коагулопатію

Chlamydiae – облигатні внутрішньоклітинні бактерії з унікальним циклом розвитку

Цикл розвитку: чергування двох форм

Елементарне тільце (ЕВ) – мала (0.2-0.4 мкм), метаболічно неактивна, інфекційна форма з щільною клітинною стінкою, адаптована для позаклітинного виживання

Ретикулярне тільце (РВ) – велика (0.6-1.0 мкм), метаболічно активна, неінфекційна форма, що реплікується всередині вакуолі

Патогенез: ЕВ фагоцитується, трансформується в РВ, множиться у вакуолі, знову перетворюється на ЕВ, які вивільняються при лізисі клітини

Види:

Chlamydia trachomatis – збудник трахоми, уrogenітальних інфекцій, венеричної лімфогранульоми

Chlamydophila pneumoniae – респіраторні інфекції

Chlamydophila psittaci – орнітоз (пситтакоз)

Мішень: слизові оболонки

Особливості: відсутність флавопротеїнів та цитохромів, не синтезують АТФ

Mycoplasma – найдрібніші самореплікуючі бактерії (0.15-0.3 мкм), не мають клітинної стінки

Морфологія: поліморфні (сферичні, філаментозні форми) через відсутність ригідної клітинної стінки

Метаболізм: ферментують глюкозу або гідролізують аргінін, вимагають стероли для мембрани

Культивування: складне, на збагачених середовищах утворюють колонії з "яєчницею" (fried egg colonies)

Mycoplasma pneumoniae – атипова пневмонія, адгезія до епітелію дихальних шляхів через P1-адгезин

Mycoplasma genitalium – уrogenітальні інфекції

Резистентність: стійкі до β-лактамних антибіотиків через відсутність клітинної стінки

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

«РИКЕТСІЇ, ХЛАМІДІЇ, МІКОПЛАЗМИ»

Згідно сучасної класифікації, сімейство Rickettsiaceae включає різноманітну групу грамнегативних мікроорганізмів, яких об'єднують такі загальні особливості, як внутрішньоклітинний паразитизм і використання членистоногих як переносників.

Це визначення виключає деякі організми, які традиційно розглядаються як члени сімейства Rickettsiaceae. Наприклад, *Rochalimae quintana*, збудник траншейної лихоманки, переноситься вошами, і є клітинно-асоційованою бактерією, яка може рости в безклітинному середовищі. Інше виключення - *Coxiella burnetii*, облигатний внутрішньоклітинний мікроорганізм, який можна виділити від членистоногих, але не вимагає членистоногого для самовідтворення в природних умовах.

Морфологія і фізіологія рикетсій. Вони живуть і розмножуються тільки в клітинах (цитоплазмі і ядрі) тканин тварин, людини і переносників. Рикетсії поліморфні, не утворюють спор і капсул, нерухомі, добре забарвлюються за Романовським – Гімзою. . Облигатний паразитизм рикетсій пов'язаний з їхньою нездатністю самостійно синтезувати НАД.

Культивування рикетсій. Їх культивують в порожнині жовткового мішка **курячих ембріонів** за Коксом (1938 р.). Для отримання великої кількості рикетсій інтраназально заражають білих мишей, в легенях яких накопичується необхідна кількість рикетсій.

Рикетсії вирощують також за методом Вейгля і Мосинга. Платтяних вошей заражають суспензією рикетсій шляхом введення у пряму кишку через анальний отвір за допомогою спеціальних капілярів. А. В. Пшенічнов і Б. І. Райхер розробили метод культивування рикетсій на личинках вошей, яких годують через мембрану шкіри трупa дефібрірованою кров'ю.

Збудник висипного тифу

Морфологія. Рикетсії Провачека (*Rickettsia prowazekii*) – мікроорганізми, опис яких дано вище.

Культивування. Рикетсії розмножуються в клітинах ендотелію судин і слизових оболонок.

Токсинутворення. Рикетсії містять в своєму складі токсичну речовину, яка не може бути відокремлена від мікроорганізмів. Рикетсіозний токсин є термолабільним білком, який руйнується при 66°C.

Антигенна структура. Рикетсії містять два антигени - термолабільний, специфічний для рикетсій Провачека, і термостабільний, загальний для рикетсій Провачека і щурячого висипного тифу. Розчинні антигени рикетсій схожі з антигенами деяких бактерій. В 1916 р. Е. Вейль і А. Фелікс виділили з сечі хворих висипним тифом *Proteus* OX19, який володіє здатністю аглютинуватися у присутності сироватки хворих висипним тифом і реконвалесцентів. Як було виявлено, протей має загальний з рикетсіями полісахаридний гаптен (О-антиген). Для диференціальної діагностики рикетсіозів використовують і інші штами протей (OX2, OXK, OXL)

Резистентність. У висушених і непошкоджених вошах рикетсії зберігаються до 30 діб, а в сухих фекаліях вошей - до 6 діб. Від дії температури рикетсії гинуть від 1 до 15 хв. Всі дезінфікуючі речовини (0,5 % розчин фенолу, 0,25 % розчин формаліну і ін.) вбивають рикетсії протягом 1-2 годин.

Патогенез захворювання у людини.

Джерело інфекції - хвора людина, переносник - платтяна воша. Насавшись крові висипнотифозного хворого, платтяна воша на 3 - 10, частіше на 4 - 5 добу стає заразною. Рикетсії розвиваються при температурі 30°C в клітинах епітелію слизової оболонки кишечника вошей; в результаті накопичення рикетсій клітини руйнуються і збудники разом з випорожненнями попадають на шкіру, плаття і т.п. Зараження висипним тифом відбувається не через укуси вошей, а при втиранні рикетсій, які виділяються при дефекації або роздавлюванні вошей і проникають через подряпини шкіри і слизових оболонок. Зараження висипним тифом також відбуватися через дихальний тракт. В цьому випадку *Rickettsia prowazekii* поступає в організм людини з пилом, що містить висохлі фекалії вошей.

Висипний тиф відноситься до **кров'яних інфекцій**. Збудник хвороби в період лихоманки знаходиться в крові, в лейкоцитах, ендотелії судин, шкірі, мозку і інших органах.

Інфільтрація і інтенсивна проліферація клітин ендотелію приводять до тромбозу. Множинний тромбоз кінцевих розгалужень артеріальної системи приводить до порушення живлення тканини, загибелі клітин, особливо центральної нервової системи. На 1 см² поверхні мозку налічуються декілька тисяч гранулем.

Імунітет. Після перенесеної хвороби формується **міцний імунітет**.

Останніми роками кількість повторних інфекцій зросла і досягла приблизно 50 відсотків від загальної кількості випадків захворювання. Повторні випадки висипного тифу представляють собою рецидиви першого захворювання. (В США такі форми відомі як хвороба Брілля-Цинсера). Рецидиви висипного тифу настають після різних несприятливих подій (інфекційні або інші захворювання, хірургічне втручання, переохолодження, психічні і фізичні травми, перевтома, голод і ін.) на організм, який протягом довгого часу був носієм рикетсій у стані персистенції.

Лабораторна діагностика. В основу лабораторної діагностики покладений серологічний метод досліджень: 1) реакція аглютинації з рикетсіями Провачека (реакція Вейля-Фелікса з протеем ОХ-19 останнім часом втратила практичне значення унаслідок її малої специфічності); 2) реакція зв'язування комплементу; 3) реакція непрямой гемаглютинації, 4) ІФА; 5) ПЛР.

Використовуються також реакція Нобеля (прискорена реакція аглютинації), кров'яно-краплинна проба по Мінкевічу, біопроба (зараження морських свинок). Алергічна шкірна проба з антигеном з *Rickettsia prowazekii* використовується для виявлення імунітету до висипного тифу серед населення.

Необхідно мати на увазі, що у хворих, лікованих антибіотиками, реакція аглютинації може бути в низькому титрі і без подальшого його наростання.

Лікування. Лікування епідемічного тифу (висипного тифу) базується на антибіотикотерапії, головними препаратами є доксициклін, тетрациклін, хлорамфенікол (левоміцетин), а також пеніцилін чи цефтріаксон при ускладненнях, з обов'язковим дотриманням постільного режиму, дієти та догляду.

Профілактика. Включає: 1) ранню діагностику, ізоляцію і госпіталізацію хворих; 2) санітарну обробку у вогнищі (дезинсекція); 3) облік і спостереження за контактуючими з хворим; систематичне проведення заходів по ліквідації вошивості серед населення і підвищення його санітарної культури; 4) введення хімічної проти висипнотифозної вакцини, що містить очищений антиген із рикетсій Провачека, у дозі 0,5 мл одноразово. Екстрена хіміопротифілактика доцільна у вогнищах інфекції у перші 10 діб. Застосовують доксициклін по 0,1 г 1 раз на добу.

Збудник шурячого риккетсиоза.

Рикетсії шурячого тифу менш поліморфні, ніж рикетсії Провачека. Розміри їх 0,35 - 1,3 мкм. Їх легко культивувати в курячому ембріоні, вони тривало зберігаються в зовнішньому середовищі, особливо у висушеному стані.

Основним джерелом збудника в природі є криси і миші, люди заражаються ендемічним шурячим тифом від гризунів. Збудник проникає через слизові оболонки очей, носа, рота, пошкоджені шкірні покриви, а також разом з харчовими продуктами, інфікованими сечею хворих гризунів, через дихальні шляхи і контактною шляхом (втирання фекальних мас заражених блох і вошей при розчісуванні шкіри). Захворюваність шурячим висипним тифом серед людей звичайно носить ендемічний і спорадичний характер. В деяких випадках залежно від епізоотичного стану можуть виникати місцеві спалахи. Хвороба характеризується сезонністю, щонайбільша кількість захворювань доводиться на серпень - листопад (період збільшення кількості і активності гризунів).

Захворювання у людини багато в чому схоже з епідемічним висипним тифом. Хвороба характеризується лихоманкою, появою висипу на лиці, грудях, животі, спині, долонях, підшвах, висип спочатку має розеолезний, а пізніше папулезний характер; рідко буває петехіальним.

Після хвороби розвивається порівняно стійкий імунітет, перехресний з імунітетом при епідемічному висипному тифі.

Для диференціації з епідемічним висипним тифом паралельно ставлять реакцію аглютинації з відповідними антигенами. Лікування хворих ендемічним щурячим тифом проводять тетрацикліном, левоміцетином.

Боротьба з цим рикетсіозом полягає в систематичному знищенні крис і мишей, попередженні проникнення гризунів в порти з суден, що прибувають, захисті харчових продуктів від крис, знищенні щурячих блох, вошей і кліщів. В деяких випадках роблять щеплення людям, що живуть в ендемічних районах.

ГРУПА КЛІЩОВИХ ПЛЯМИСТИХ ЛИХОМАНОК

Збудник марсельної лихоманки.

Рикетсії мають паличкоподібну форму. Вони поліморфні. Довжина їх 1 – 1,75 мкм і ширина 0,3-0,4 мкм. Рикетсії добре культивуються на курячих ембріонах.

Характеризується ендемічністю і сезонністю (літній період). Передається при укусі кліщів *Rhipicephalus sanguineus*, в організмі яких збудник зберігається в різних фазах їхнього розвитку. Зараження можливе через кон'юнктиву очей шляхом втирання рикетсій в слизові оболонки.

Хвороба супроводжується висипом, який спочатку має розеолезний характер, далі стає макуло-папулезним, іноді з повторними петехіями. В більшості випадків марсельська лихоманка протікає доброякісно, без рецидивів.

Лабораторну діагностику і лікування проводять як і при висипному тифі.

Збудник везикульозного або осповидного рикетсіозу.

Збудник - *Rickettsia akari*, переносник - *Allodermatissus sanguineus*. Інкубаційний період 10 - 12 днів. Характеризується лихоманкою; на 3 - 4-й день з'являється рясний везикульозно-папулезний висип, який нагадує висипання при вітряній віспі.

Рикетсії виявляють в крові хворих в період лихоманки.

Попередження везикульозного рикетсіозу проводиться так само, як і щурячого висипного тифу (винищування гризунів, застосування інсектицидних засобів для знищення кліщів).

Лабораторну діагностику і лікування проводять як і при висипному тифі.

ГРУПА ЛИХОМАНКИ ЦУЦУГАМУШІ

Збудник - *Rickettsia tsutsugamushi* - представляє собою дрібні поліморфні нерухомі бактерії, схожі з іншими рикетсіями кліщової групи; паразитує внутрішньоклітинно; 0,3 - 0,5 мкм завширшки і 0,8 - 2 мкм в довжину. В мазках-відбитках, забарвлених за Романовським - Гімзою, мають пурпурне забарвлення і розташовуються в цитоплазмі мононуклеарних клітин; грамнегативні. В електронному мікроскопі виразно видно поверхнева оболонка і розсіяні щільні гранули в цитоплазмі.

Рикетсії цуцугамуші розмножуються в культурах тканин клітин ссавців, в курячих ембріонах, утворюють токсин, введення якого білим мишам викликає загибель їх через декілька годин.

Переносниками є кліщі - *Trombicula akamushi*, *Trombicula schueffneri* в личинковій стадії, у яких спостерігається трансваріальна передача рикетсій. Людина заражається в результаті нападу заражених личинок кліщів. Захворювання протікає з лихоманкою тривалістю 2 - 3 тижні; з'являється макульозний або макуло-папульозний висип: на місці проникнення збудника утворюється невелика язва, покрита темною кіркою (струп); розвивається регіональний аденіт. У важких випадках вражається серцево-судинна і центральна нервова системи, часто можуть бути ускладнення (пневмонія).

Лабораторна діагностика: реакція аглютинації з протеем ОХ-К, яка досить часто стає позитивною до кінця 2-го тижня хвороби унаслідок накопичення аглютининів в крові хворих людей. В період гарячкового стану кров'ю хворих заражають білих мишей; за наявності рикетсій в крові хворих людей більшість заражених тварин гине протягом 2 тижнів.

Лікування проводять антибіотиками тетрациклінового ряду, завдяки яким летальність знизилася до нуля.

Профілактика побудована на заходах щодо винищування кліщів, а також захисту людини від їхнього нападу.

ГРУПА КУ-ЛИХОМАНКИ

Морфологія. Збудник хвороби (*Coxiella burnetii*) представляє собою дрібні (0,25 - 0,5 мкм) ланцетоподібні поліморфні; встановлені і форми, що фільтруються. Рикетсії Бернета нерухомі, грамнегативні, добре забарвлюються за Романовським – Гімзою, а також за Здродовським.

Культитивування. Вирощують рикетсії Бернета за методом Коксу при 35°C в жовточному мішку курячого ембріона, в якому відбувається накопичення великої кількості збудника, який використовують для приготування як діагностикума, так і вакцинних препаратів. При першому пасажі ембріони гинуть на 9 - 12-у добу, при подальших пасажах - через 5 - 7 діб.

Ферментативними здібностями рикетсії Бернета не володіють. Наявність токсину у них не доведена, проте вони містять алергени і сенсibiliзують організм з утворенням васкулітів і гранульом.

Резистентність *Coxiella burnetii* тривало зберігаються в зовнішньому середовищі, пастеризація молока їх не вбиває, зберігаються в сирі, кефірі і інших молочних продуктах. Висушені рикетсії в ампулах під вакуумом в рефрижераторі зберігаються протягом декількох років; вони не гинуть в 1% розчині фенолу протягом 1 доби, в 0,5% розчині формаліну - 4 доби, стійкі до дії шлункового соку, ефіру, толуолу, хлороформу.

Патогенність для тварин. У вогнищах Ку-лихоманки збудник виявляють у корів, кіз, овець, собак, коней, ослів, мулів, піщанок, птахів, кліщів. Хвороба характеризується природною осередковістю і є зоонозною. Тварини виділяють збудник з молоком, сечею, плацентою, навколоплідною рідиною і випорожненнями.

Патогенез захворювання у людини. Зараження відбувається при укусах іксодових кліщів; вони виділяють з фекаліями величезну кількість збудників, які можуть поступати в організм разом з їжею, водою і повітряно-пиловим шляхом. Вони легко проникають через слизові оболонки, дихальні шляхи і пошкоджену шкіру. Встановлений зв'язок захворювань з роботою на бойнях, в м'ясній промисловості, на молочних фермах. Люди заражаються при обробці шерсті, під час перебування поблизу скотних дворів і молочних ферм, при вживанні сирого молока і молочних продуктів від хворих тварин. Захворювання частіше реєструється в квітні - травні. Хвора людина може виділяти збудник з мокротою, яка повинна знешкоджуватися.

Ку-лихоманка характеризується поліморфізмом клінічних проявів. Розрізняють три форми хвороби: пневмонічну, гарячкову, або гриппозну, і менінгоенцефалітичну; кожна з них відрізняється рядом особливостей. Хвороба розвивається раптово, після інкубаційного періоду в 7 - 28 діб. Починається вона гостро, з бурхливого підйому температури тіла до 39 – 40°C і супроводжується ознобом, сильним головним болем, міалгіями, слабкістю і безсонням. Летальних результатів, як правило, не буває або вони спостерігаються досить рідко.

Імунітет. У людей утворюється міцний і тривалий постінфекційний імунітет. У тварин хвороба протікає хронічно (декілька місяців), що свідчить про слабе вироблення імунітету в період захворювання.

Лабораторна діагностика. Полягає в наступному:

- 1) реакція аглютинації із специфічним антигеном, приготованим з культур рикетсій, стає позитивною з 2-го тижня хвороби; максимальні титри з'являються на 3 – 5-му тижні;
- 2) реакція зв'язування комплементу із специфічним антигеном рикетсій Бернета (більш чутлива і специфічна);
- 3) постановка алергічної проби, яка є строго специфічною;
- 4) щеплення досліджуваного матеріалу морським свинкам підшкірно або в яєчко;
- 5) внутрішньочеревне зараження морських свинок введенням 3 - 5 мл крові хворого, взятої в період лихоманки, з подальшим зараженням курячих ембріонів емульсією з селезінки від пасажної морської свинки. Таким же чином проводиться виділення рикетсій від кліщів і тварин

Лікування. Застосовуються антибіотики - тетрациклін, левоміцетин.

Профілактика. Зводиться до проведення систематичної дезінфекції приміщень для крупної і дрібної рогатої худоби, особливо в період отелення. Молоко від заражених тварин кип'ятять, оскільки при пастеризації молока рикетсії Бернета не знешкоджуються. Хворих людей госпіталізують, виділення обеззаражують.

В місцях з високою захворюваністю проводять імунізацію живою вакциною з рикетсій Бернета.

ГРУПА ПАРОКСИЗМАЛЬНИХ РІКЕТСІОЗІВ

1. **Волинська, або траншейна, лихоманка.** Збудник - *Rochalimae quintana* - **позаклітинний** паразит кишечника вошей. Резервуар інфекції - хвора людина. Переносник - платтяна воша. Волинська лихоманка - епідемічне захворювання, зв'язане із вошивістю населення. Захворювання протікає доброякісно, без висипу, з болями в кишечнику і кістках і рецидивуючою лихоманкою. Лабораторна діагностика не розроблена.

Волинська лихоманка наголошувалася у вигляді значних спалахів в першу світову війну, а також в період другої світової війни на різних фронтах Європи.

2. **Кліщовий пароксизмальний рикетсіоз.** Збудник - *Rochalimae quintana*. Захворювання описано в 1945 - 1947 рр. Н. Н. Сиротініним і співавт. Переносниками є іксодові кліщі - *Ixodes ricinus*, джерелом збудника є кліщі і гризуни (полівки). Хвороба представляє собою спорадичне доброякісне захворювання з пароксизмальною лихоманкою без первинного афекту і висипу; спостерігалася в деяких місцевостях України.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХЛАМІДІЙ

Хламідії – дрібні грамнегативні бактерії, які є облигатними внутрішньоклітинними паразитами, подібно вірусам, але відрізняються від них тим, що мають в своєму складі і РНК і ДНК, рибосоми, клітинну стінку і розмножуються бінарним поділом. Проте, вони відрізняються від більшості типових бактерій тим, що вони не мають пептидоглікану в клітинній стінці і не можуть утворювати власну АТФ. Вони вимагають використання АТФ господаря – отже, є енергетичними паразитами. Рід *Chlamydia* - єдиний в сімействі Chlamydiaceae і порядку Chlamydiales.

Морфологія. Хламідії – дрібні нерухомі бактерії, розмірами 300-350 нм, які погано забарвлюються за Грамом. Проте, вони добре виявляються в препаратах, забарвлених за Романовським-Гімзою або іншими методами у двох морфологічних формах: позаклітинній, інфекційній, метаболічно інертній, відомій як елементарне тільце, а, як тільки мікроорганізм інфікує клітку господаря, він збільшується у розмірі до 800-1000 нм, і ця неінфекційна але метаболічно активна частинка відома як ретикулярне тільце.

Існують три види, затверджених міжнародним комітетом: *Chlamydia trachomatis*, *C. psittaci* і *C. pneumoniae*. *C. trachomatis* може бути розділена на 13 сероварів: класична трахома викликається сероварами А, - С, тоді як кон'юнктивіт з включеннями і генітальні інфекції - сероварами D-K. Венеричну гранулему викликають, принаймні, три серовара (L1, L2, L3). *C. psittaci* і *C. pneumoniae* серологічно однорідні.

У хламідій є чотири білки зовнішньої мембрани, головний з яких має видоспецифічні епітопи. У хламідій є також білок (heat shock protein), антитіла до якого перехресно реагують з подібними білками інших мікроорганізмів, що робить важкою інтерпретацію серологічної відповіді при хламідійних інфекціях.

Культитивування. В 1957 *C. trachomatis* була виділена шляхом культивування в жовтковому мішку курячого ембріона. Хоча цей метод тепер не використовується широко для виділення хламідій, він застосовується для виробництва антигену, особливо для реакції імунофлюоресценції. Виділення в культурі клітин було успішне проведено в 1965 р. Реакція імунофлюоресценції з відповідними антисироватками дозволяє виявити родо- або видоспецифічні антигени.

Імунітет і патогенез.

При інфекціях у людини хламідії володіють здатністю до десквамації клітин епітелію, а також макрофагів легенів і шлунково-кишкового тракту.

Продукція антитіл йде в звичайній послідовності, спочатку IgM, потім – IgG. Утворюється сироватковий IgA, в слизі виявляється секреторний IgA (s-IgA). Чим вище рівень s-IgA, тим менш успішне виділення хламідій із статевого тракту.

Значення секреторних антитіл (або швидше їхня недостатність) добре видно у новонароджених, які мають материнські IgG. У частини дітей, інфікованих в родових шляхах *C. trachomatis*, розвивається кон'юнктивіт, не дивлячись на материнські IgG. Якщо інфекція не лікується відповідним чином, у них розвивається пневмонія у віці 4-12 тижнів, коли рівень материнських антитіл знижується, і новонароджені починають утворювати власні IgM і IgG. Присутність IgM антитіл або підвищення титрів IgG є ознакою хламідійної інфекції дихального тракту новонароджених.

Клітинна відповідь. Антитіла - не єдиний чинник, який потрібно розглядати при повторній інфекції. Клітинно-опосередкований імунітет також грає роль, який може бути але може і не бути корисним для організму господаря.

2. ХЛАМІДІЙНІ ІНФЕКЦІЇ У ЛЮДИНИ

Вид	Характеристика	Серо тип	Захворювання	Наслідки
<i>Chlamydia trachomatis</i>	утворює компактні включення, змішані з глікогеновим матриксом, чутливий до сульфаніламідів, природний патоген людини, залишає клітину-хазяїна із рубцем	A, B, Ba, C	Трахома	Рубцювання кон'юктиви, трихіаз, сліпота
		D-K	Кон'юктивіт з включеннями, офтальмія новонароджених, неонатальна пневмонія Ч: неспецифічний уретрит, проктит, епідидиміт Ж: цервіцит, уретрит, ендометрит, сальпінгіт, загальне запалення органів малого таза, перигепатит. викидень, передчасні пологи	Стриктура сечівника Безпліддя внаслідок непрохідності маткових труб, позаматкова вагітність
		L1, L2, L3	Венеричний лімфогранульоматоз	Рубці, лімфадема, стриктура прямої кишки
<i>Chlamydia psittaci</i>	утворює дифузні вакуолізовані включення без глікогену, стійкий до сульфаніламідів, природний патоген птахів, залишає клітину хазяїна шляхом лізису	багато	Пситаккоз, орнітоз	
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	виключно людський патоген, утворює включення без глікогенового матриксу,	тільки один	Фарингіт, бронхіт, пневмонія	

	стійкий до сульфаніламідів			
--	-------------------------------	--	--	--

Трахома - важка форма хронічного кон'юнктивіту, що приводить до рубцювання і деформації вік, васкуляризації і помутніння рогівки, які можуть приводити до сліпоти. Хвороба поширена повсюдно, і більше 500 мільйонів людей інфіковано.

Реєструється п'ять відібраних ключових ознак, ілюструючих прогресування захворювання:

1. Середнє трахоматозне запалення з фолікулярним кон'юнктивітом.
2. Інтенсивне запалення з дифузним потовщенням кон'юнктиви
3. Рубцювання кон'юнктиви
4. Трихіаз (неправильне зростання вій)
5. Помутніння рогівки.

Захворювання розповсюджується мухами, що попадають, в око, а також руками від одного хворого до іншого. Діти також виділяють мікроорганізми через дихальний і шлунково-кишковий тракт, забезпечуючи таким чином ще один спосіб розповсюдження.

Кон'юнктивіт з включеннями дорослих (паратрахома) викликається сероварами D-K. Він найбільш поширений серед сексуально активних молодих людей і розповсюджується з геніталій в очі..

Хламідійна офтальмія новонароджених (бленорея з включеннями) розвивається у новонароджених на 5-21 день життя. Захворювання виявляється припухлістю вік, гіперемією і гнійною інфільтрацією кон'юнктиви. У частини нелікованих дітей розвивається пневмонія. Джерело інфекції - інфікований статевий тракт матері, і дитина заражається під час проходження через родові шляхи.

Генітальна інфекція.

Чоловіки.

C. trachomatis сероварів D-K - найчастіша причина негонококового уретриту у чоловіків, складаючи принаймні 30 % випадків.

У хворих звичайно є гнійно-слизові виділення різної інтенсивності, і, хоча стан звичайно локалізується, у деяких захворювання може прогресувати до епідидиміту, особливо у хворих після 35 років. Представники цієї групи хламідій були також виділені з прямої кишки чоловіків-гомосексуалістів і асоціюються з деякими випадками проктиту. Для хламідійного проктиту характерний ректальний біль, кровотеча з прямої кишки, слизово-гнійні виділення і діарея.

Венерична лімфогранулема (паховий лімфогранулематоз).

C. trachomatis сероваров L1-L3 може викликати венеричну лімфогранулему у чоловіків і жінок. Захворювання виявляється в тропіках і субтропіках, хоча окремі випадки завозяться і в інші райони. Хвороба починається з появи в області статевих органів язви, супроводжуваної лімфаденопатією регіональних лімфатичних вузлів. У хворих спостерігаються бубони (збільшені і хворобливі лімфатичні вузли), якщо інфекція персистує, вона може розповсюджуватися на шлунково-кишковий і сечостатевий тракти, викликаючи звуження, і, в деяких випадках, слоновість статевого члена і мошонки.

У жінок *C. trachomatis* D-K може викликати слизово-гнійний цервіцит і уретрит. Ці ж серовари асоціюються з частиною випадків вагініту. За відсутності лікування такі жінки складають групу ризику не тільки для своїх статевих партнерів і для потомства. Поразка труб при таких інфекціях може приводити до позаматкової вагітності і безплідності. За сальпінгітом можуть розвиватися периапендицит і перигепатит.

Респіраторні інфекції.

Chlamydia pneumoniae

Серологічні дослідження показали, що у госпіталізованих пацієнтів *C. pneumoniae* була третьою причиною пневмонії, після *Streptococcus pneumoniae* і *Haemophilus influenzae*. Інфекція починається з запалення зіва, прогресуючого через 2-3 тижнів в пневмонію. Одуjuanня проходить поволі, з кашлем, що зберігається, протягом 1-2 місяців, але прискорене при адекватній антибіотикотерапії, тому що у лікованих пеніциліном або ампіциліном розвивалася повторна пневмонія через 3 тижні – 3 місяця. *C. pneumoniae* має виключно людину в якості господаря, на відміну від *C. psittaci*. Вона розповсюджується між людьми повітряно-краплинним шляхом.

Chlamydia psittaci.

Орнітоз у людини викликається пташиними штамами *C. psittaci*. Інкубаційний період приблизно 10 діб. Хвороба може проявлятися від «грипоподібного» синдрому із загальним нездужанням, лихоманкою, втратою апетиту, ознобами, запаленням горла, головним болем і фотофобією до важкого захворювання з тифозним статусом, маренням і пневмонією, при якій спостерігаються численні чітко відмежовані області ущільнення. Хоча легенева форма хвороби клінічно виразна, мікроорганізм попадає в легені гематогенним шляхом, і можуть бути менінгоенцефаліт, артрит, перикардит або міокардит, а також status typhosus із збільшенням печінки і селезінки і навіть висипаннями, які схожі на висип при черевному тифі. Овечий штам *C. psittaci* викликає респіраторну інфекцію у пастухів.

Лабораторна діагностика.

Культивування. Хламідії можна виділити в курячих ембріонах або культурах клітин. Присутність мікроорганізму виявляють шляхом фарбування включень або елементарних тельць. Фарбування мазків за Романовським-Гімзою або флюоресцентними антитілами дозволяє виявляти елементарні тельця, а ІФА – хламідійні антигени. Використовують також ПЛР. Серодіагностика використовується при респіраторних інфекціях.

Лікування. При лікуванні хламідійних інфекцій антибіотиками вибору є тетрациклін еритроміцин, азитроміцин та інші.

Профілактика. До справжнього часу вакцинація не була успішною.

МІКОПЛАЗМИ

Мікоплазми - найдрібніші прокаріотичні мікроорганізми, виявлені у людини, тварин, рослин, комах, ґрунті і стічних водах, які здатні розмножуватися в безклітинних поживних середовищах. Здатні проходити через грубі антибактеріальні фільтри.

Сімейство *Mycoplasmataceae* підрозділено на два роди: рід *Mycoplasma*, який містить приблизно 90 видів, і рід *Ureaplasma*, які розщеплюють сечовину і називаються уреоплазмами.

Уреоплазми, виділені від людини, належать до виду *Ureaplasma urealyticum*, який включає принаймні 14 сероварів.

Вони вимогливі до поживних середовищ, але мають повністю незалежну метаболічну активність. Вони містять і ДНК і РНК. Мікроорганізми мають цитоплазматичну мембрану, але не мають щільної клітинної стінки. Вони сприйнятливі до деяких антибіотиків типу тетрацикліну, але стійкі до інших, типу пеніциліну, які впливають на синтез клітинної стінки.

Культуральні властивості. Мікоплазми ростуть на рідких і щільних поживних середовищах, збагачених екстрактами дріжджів і високим змістом сироватки (20 % або більше). Сироватка забезпечує джерело холестерину і інших ліпідів, які є необхідними живильними речовинами для більшості мікоплазм. Пеніцилін і інші інгібітори звичайно добавляються до поживних середовищ для придушення супутньої бактерійної флори.

Утворюють колонії центр яких виростає в агар, а периферія розповсюджується по поверхні, утворюючи так звану «яєчню».

Мікоплазми поширені повсюдно і часто забруднюють культури тканин.

Морфологія. Найдрібніші життєздатні клітини мають розміри приблизно 200 нм. Вони перетворюються в неправильної форми тільця, які розмножуються брунькуванням з утворенням дочірніх клітин. Відсутність щільної клітинної стінки пояснює їхній надзвичайний плеоморфізм.

Мікоплазми грамнегативні, але забарвлюються погано. Вони фарбуються добре за Романовським – Гімзою, найдрібніші форми не видно в звичайний мікроскоп. При електронній мікроскопії видно, що індивідуальні клітини обмежені тришаровою мембраною, яка оточує рибосоми і розсіяний зернистий ядерний матеріал.

Резистентність. Більшість штамів гине при температурі 45 - 55°C протягом 15 хв. Мікоплазми дуже чутливі до всіх дезинфікуючих речовин, до висушування, ультразвуку і інших фізичних дій, стійкі до пеніциліну, ампіциліну, метициліну, чутливі до еритроміцину і інших макролідів.

Класифікація. Різні види частково диференціюються за загальними біологічними властивостями, але точна ідентифікація проводиться серологічними методами. Зростання мікоплазм інгібується специфічними антитілами, і тести гальмування росту довели велику цінність при ідентифікації видів. Тест проводиться шляхом посіву мікоплазм на пластинчатий агар, відзначаючи, чи з'являються зони гальмування росту навкруги паперових дисків, змочених специфічною антисироваткою. Реакція імунофлюоресценції, при якій інтактні колонії обробляються специфічними антисироватками, має значення для швидкої діагностики.

Одинадцять видів з роду *Mycoplasma*, один з роду *Acholeplasma* (*A. laidlawii*) і один вид з роду *Ureaplasma* було виділено від людей, головним чином, з ротоглотки. Тільки три з них безумовно викликають захворювання, а саме *M. pneumoniae*, *M. hominis* і *U. urealyticum*.

***Mycoplasma pneumoniae*.**

M. pneumoniae відрізняється від інших видів серологічними методами, а також такими характеристиками як β -гемоліз баранячих еритроцитів і здатність рости у присутності метиленової сині.

Мікоплазмова пневмонія.

M. pneumoniae - найчастіша причина небактерійної пневмонії. Інфекція цією мікоплазмою може також викликати бронхіт або помірну респіраторну лихоманку.

Широко поширені безсимптомні інфекції. Часто спостерігаються сімейні спалахи, великі спалахи захворювання відбувалися у військових учбових центрах. Інкубаційний період - приблизно два тижні.

M. pneumoniae може бути виділена при посіві мокроти і мазків із зіва, але більш просто діагноз ставиться серологічними методами

Інші мікоплазми, патогенні для людини.

Мікоплазми в нормі є мешканцями статевого тракту чоловіків і жінок. Найбільш часто доводиться стикатися з видом *M. hominis*, яка є відповідальною за деякі випадки вагінальних виділень, уретриту, сальпінгиту і тазового сепсису. Вона – найчастіша причина післяпологового сепсису.

Мікроорганізм може поступати в кров матері під час пологів і локалізуватися в суглобах. Уреаплазми розглядаються як можлива причина негонококового уретриту у осіб обох статей. Інші види в нормі є нормальними комменсалами порожнини рота і носоглотки.

Профілактика. Зводиться до збереження на високому рівні загальної резистентності організму людей. В США отримана вакцина з вбитих мікоплазм для специфічної профілактики атипових пневмоній.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекції: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекції:

Проблемне питання: «Хламідії та рикетсії є облигатними внутрішньоклітинними паразитами, що суттєво ускладнює їхнє культивування та діагностику звичайними методами. Як ця біологічна особливість впливає на вибір методів лабораторної діагностики та чому серологічні та молекулярно-генетичні методи (ПЛР) стали переважними у клінічній практиці?»

Клінічне питання: «Молодий пацієнт скаржиться на слизисто-гнійні виділення з уретри та дискомфорт при сечовипусканні, проте при культивуванні на звичайних бактеріальних середовищах та мікроскопії мазка специфічних бактерій не виявляється. Як розуміння можливої хламідійної або мікоплазмової етіології спонукає лікаря направляти пацієнта на ПЛР-діагностику, та чому необхідне одночасне лікування обох статевих партнерів?»

Питання для роздумів: «Атипові пневмонії, спричинені *Mycoplasma pneumoniae*, характеризуються мінімальними аускультативними змінами при виразних радіологічних змінах, що призводить до затримки діагностики та емпіричного лікування β -лактамами антибіотиками. Як лікар повинен розуміти це явище «клініко-рентгенологічної диссоціації» та правильно інтерпретувати клінічні та лабораторні дані?»

Епідеміологічне питання: «Урогенітальні хламідійні інфекції часто мають бессимптомний або мало симптомний перебіг, особливо у жінок, що призводить до подальшого поширення інфекції в популяції. Які стратегії скринінгу (особливо у вагітних) та раннього лікування в молодіжних групах могли б зменшити поширеність та запобігти серйозним ускладненням (безплідність, позаматкова вагітність)?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Дайте визначення рикетсій та їхніх морфологічних особливостей.

2. Охарактеризуйте облігатний внутрішньоклітинний паразитизм рикетсій та особливості їхньої реплікації.
3. Назвіть основні роди рикетсій, що мають медичне значення (*Rickettsia*, *Orientia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma*).
4. Опишіть *Rickettsia rickettsii* та плямисту лихоманку скелястих гір: шляхи передачі, клінічні прояви, летальність.
5. Охарактеризуйте *Rickettsia prowazekii* та висипний тиф: епідеміологія, клінічні особливості, ускладнення.
6. Дайте визначення окопної лихоманки (*Bartonella quintana*) та *Orientia tsutsugamushi* (японська річна лихоманка).
7. Опишіть морфологію та культуральні властивості хламідій.
8. Охарактеризуйте цикл розвитку хламідій: елементарне тільце (інфекційна форма) та ретикулярне тільце (реплікуюча форма).
9. Назвіть основні роди *Chlamydia* та *Chlamydophila* та асоційовані з ними захворювання.
10. Опишіть *Chlamydia trachomatis*: серовари, клінічне значення, шляхи передачі.
11. Охарактеризуйте трахому як найпоширеніше інфекційне захворювання очей у світі.
12. Дайте визначення уrogenітальних хламідійних інфекцій: уретрит, цервіцит, запальні захворювання органів малого тазу.
13. Назвіть ускладнення нелікованої уrogenітальної хламідійної інфекції у жінок (безплідність, позаматкова вагітність).
14. Опишіть *Chlamydophila pneumoniae* та розвиток атипової пневмонії.
15. Охарактеризуйте *Chlamydophila psittaci* та орнітоз (попугай-лихоманка).
16. Дайте визначення мікоплазм та їхніх унікальних морфологічних особливостей.
17. Опишіть відсутність клітинної стінки у мікоплазм та наявність плазматичної мембрани зі стеролами.
18. Охарактеризуйте *Mycoplasma pneumoniae*: морфологія, культуральні властивості, факторинезацію патогенності.
19. Назвіть клінічні прояви атипової пневмонії, спричинені *M. pneumoniae* (субфебрилітет, сухий кашель, мінімальні аускультативні зміни).
20. Опишіть позаелементарні прояви мікоплазмової інфекції (міокардит, артрит, енцефаліт, синдром Гієна-Барре).
21. Охарактеризуйте *Mycoplasma genitalium* та роль у уrogenітальних інфекціях.
22. Дайте визначення *Ureaplasma* та їхнього клінічного значення.
23. Опишіть механізм резистентності мікоплазм до β -лактамних антибіотиків (відсутність клітинної стінки).
24. Охарактеризуйте принципи лабораторної діагностики рикетсіозів (серологічні методи, ПЛР, культивування).
25. Назвіть основні серологічні тести для діагностики рикетсіозів (реакція Велла-Філікса, НРАТ).
26. Опишіть ПЛР-діагностику рикетсіозів, хламідіозів і мікоплазмових інфекцій.
27. Охарактеризуйте культивування внутрішньоклітинних бактерій у культурах клітин та вибір субстратів.
28. Дайте визначення чутливості рикетсій, хламідій та мікоплазм до антибіотиків.
29. Назвіть основні групи антибіотиків для лікування внутрішньоклітинних інфекцій (макроліди, тетрациклінові, фторхінолони).
30. Опишіть принципи профілактики рикетсіозів (захист від комарів та кліщів) та уrogenітальних хламідійних інфекцій (безпека статевих контактів).

Список джерел до теми:

Основні:

1. Ширококов В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.
2. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.

Додаткові:

3. Waites K.B., Talkington D.F. Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen. Clinical Microbiology Reviews, 2004, 17(4): 697-728.
4. Kuo C.C., Jackson L.A., Campbell L.A., Grayston J.T. Chlamydia pneumoniae (TWAR). Clinical Microbiology Reviews, 1995, 8(4): 451-461.

**ЛЕКЦІЯ
«МОРФОЛОГІЯ І УЛЬТРАСТРУКТУРА ВІРУСІВ. КУЛЬТИВУВАННЯ ВІРУСІВ.
ВЗАЄМОДІЯ ВІРУСУ І КЛІТИНИ»**

Актуальність теми: Віруси є причиною широкого спектра інфекцій, від гострих респіраторних до хронічних гепатитів та онкопатології, що мають безпосереднє значення для стоматологічної практики. Для лікаря-стоматолога особливо актуальні віруси, що уражають слизову порожнину рота та передаються через біологічні рідини (кров, слина): герпесвіруси, папіломавіруси, вірус Епштейна-Барр, віруси гепатитів, ВІЛ. Розуміння морфології вірусів, структури геному, типів капсидної симетрії та механізмів реплікації є основою для пояснення механізмів патогенності, дії противірусних препаратів, персистенції вірусів у організмі та формування хронічних форм інфекції. Знання про цикли розвитку вірусів дозволяє передбачити можливі мішені для специфічної терапії, розуміти роль латентної і персистентної інфекції в розвитку онкопатології. Знання про методи культивування вірусів необхідне для розуміння принципів діагностики та розробки вакцин. Для стоматолога критично важливе розуміння інфекційного контролю при роботі з потенційно заразними пацієнтами.

Мета:

Навчальна мета:

- Ознайомити здобувачів з морфологією вірусів, видами капсидної симетрії (спіральна, ікосаедральна, складна), будовою віріона (нуклеїнова кислота, капсид, суперкапсид), роллю компонентів у формуванні вірусної частки та її функціональності.
- Пояснити різноманіття вірусних геномів (ДНК/РНК, одно-/двониткові, сегментовані/несегментовані, кільцеві/лінійні), залежність стратегії реплікації від типу геному, механізми синтезу вірусних компонентів у клітині-господарі.
- Розкрити методи культивування вірусів (культури клітин, курячі ембріони, лабораторні тварини), критерії вибору субстрату, оцінку цитопатичного ефекту та адаптацію вірусів до нових господарів та умов культивування.
- Сформувати знання про етапи взаємодії вірусу і клітини (адсорбція, проникнення, «роздягання», синтез, складання, вихід), форми інфекції (продуктивна, латентна, персистентна, трансформуюча), механізми вірусно-індукованої цитопатології.

Виховна мета:

- Виховувати розуміння необхідності суворого інфекційного контролю при роботі з вірусмісними матеріалами та потенційно заразними пацієнтами.
- Розвинути інтерес до молекулярних механізмів вірусної інфекції як основи для розробки нових противірусних препаратів та вакцинних платформ.

Основні поняття (перелік питань):

Віруси – облігатні внутрішньоклітинні інфекційні агенти, що містять або ДНК, або РНК геном, оточений білковою оболонкою (капсидом)

Віріон – повна інфекційна вірусна частинка поза клітиною

Морфологія вірусів:

Капсид – білкова оболонка, що захищає геном, утворена з капсомерів (протомерів)

Симетрія капсиду: **спіральна** – протомери та нуклеїнова кислота утворюють спіральну структуру (віруси грипу, кору), **ікосаедральна** – 20-гранна симетрична структура (аденовіруси, поліовірус), **складна** – комбінація структур (віруси віспи)

Суперкапсид (оболонка) – ліпідна мембрана, що оточує капсид, походить з клітинної мембрани, містить вірусні глікопротеїни (віруси грипу, герпесу, ВІЛ)

Нуклеокапсид – комплекс геному з нуклеопротеїнами

Структура вірусного геному:

ДНК-віруси: одно- або двониткові, лінійні або кільцеві (аденовіруси, герпесвіруси, паповавіруси, парвовіруси)

РНК-віруси: одно- або двониткові, сегментовані або несегментовані (ортоміксовіруси, реовіруси, пікорнавіруси)

Культивування вірусів:

Культури клітин – первинні, диплоїдні, перещеплювані лінії

Курячий ембріон – інокуляція в алантоїсну порожнину, жовтковий мішок, хоріоалантоїсну мембрану

Експериментальні тварини – миші, щури, мавпи

Цитопатичний ефект (ЦПЕ) – морфологічні зміни інфікованих клітин (заокруглення, злиття, утворення синцитію, вакуолізація, тількия включень)

Цикл реплікації вірусів: прикріплення (адсорбція) – взаємодія вірусних білків прикріплення з клітинними рецепторами, визначає тропізм, **проникнення та роздягання** – злиття мембран або рецептор-опосередкований ендоцитоз, вивільнення геному в цитоплазму або ядро, **синтез вірусних білків та реплікація геному:** ДНК-віруси – реплікація в ядрі (окрім поксвірусів), використовують клітинну ДНК-полімеразу або власну, РНК-віруси – реплікація в цитоплазмі, використовують РНК-залежну РНК-полімеразу (RdRp), **складання (асамблювання)** – формування нуклеокапсидів у ядрі або цитоплазмі, **вихід (вивільнення)** – брунькування через плазматичну мембрану (оболонкові віруси) або лізис клітини (безоболонкові віруси)

Типи взаємодії вірусів з клітиною:

Продуктивна інфекція – утворення інфекційного потомства, часто з лізисом клітини

Персистентна інфекція – тривале виділення вірусу без швидкого лізису

Латентна інфекція – вірусний геном зберігається у клітині без продукції віріонів (герпесвіруси)

Трансформуюча інфекція – інтеграція вірусного геному, зміна фенотипу клітини, можлива онкотрансформація

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

«МОРФОЛОГІЯ І УЛЬТРАСТРУКТУРА ВІРУСІВ. КУЛЬТИВУВАННЯ ВІРУСІВ. ВЗАЄМОДІЯ ВІРУСУ І КЛІТИНИ»

СКЛАД І УЛЬТРАСТРУКТУРА ВІРУСІВ

Термін «вірус» застосовується для позначення будь-якої стадії розвитку вірусу, а для позначення вірусної частинки використовують термін «**віріон**».

За **хімічним складом** віруси схожі на інші мікроорганізми, вони мають нуклеїнові кислоти, білки, деякі - також ліпіди і вуглеводи.

Віруси містять тільки один тип нуклеїнової кислоти - або ДНК, або РНК. Відповідно виділяють ДНК-геномні і РНК-геномні віруси. Звичайно у складі віріона є лише одна молекула нуклеїнової кислоти, нерідко замкнута в кільце. Вірусні нуклеїнові кислоти мало чим відрізняються від нуклеїнових кислот еукаріотів, вони складаються з тих же нуклеотидів і мають таку ж структуру. Віруси можуть містити не тільки дволанцюгову, але і одноланцюгову ДНК. Деякі РНК-ові віруси можуть містити дволанцюгову РНК, хоча більшість містять одноланцюгову РНК. Слід зазначити, що віруси можуть містити плюс-нитку РНК, здатну виконувати функцію матричної РНК, але можуть містити і мінус-РНК. Така РНК може виконувати свою генетичну функцію тільки після синтезу в клітці комплементарної плюс-нитки. Ще одна особливість нуклеїнових кислот вірусів - у деяких вірусів нуклеїнова кислота володіє інфекційністю. Це означає, що якщо її виділити з вірусу, наприклад - вірусу поліомієліту, РНК без домішки білка і ввести її в клітину, то буде розвиватися вірусна інфекція з утворенням нових вірусних часток.

Білки містяться у складі вірусів в кількості 50-90 %, вони володіють антигенними властивостями. Білки входять до складу оболонкових структур віріону. Крім того, є внутрішні білки, пов'язані з нуклеїновою кислотою. Деякі вірусні білки є ферментами. Але це не ферменти, які забезпечують обмін речовин вірусів. Вірусні ферменти беруть участь в проникненні вірусу в клітину, виході вірусу з клітини, деякі з них необхідні для реплікації вірусних нуклеїнових кислот.

Ліпідів може бути від 0 до 50 %, вуглеводів - 0 - 22 %. Ліпіди і вуглеводи входять до складу оболонки складних вірусів і не є вірусоспецифічними. Вони запозичені вірусом у клітини і є тому клітинними.

Ультраструктура вірусів - ця будова віріонів. Розміри віріонів різні і вимірюються в нанометрах. 1 нм складає тисячну частку мікрметра. Найдрібніші типові віруси (вірус поліомієліту) мають в діаметрі близько 20 нм, найкрупніші (вірус натуральної віспи) - 200-250 нм. Середні віруси маю розміри 60 - 120 нм. Дрібні віруси можна побачити тільки в електронному мікроскопі, крупні знаходяться на межі роздільної здатності світлового мікроскопа і видні в темному полі зору або при спеціальному забарвленні, яке збільшує розмір часток. Окремі вірусні частки, помітні в світловий мікроскоп, звичайно називаються елементарними тельцями Пашена-Морозова. Е.Ріллі виявив вірус натуральної віспи при спеціальному забарвленні, а Морозов запропонував метод сріблення, дозволяючий побачити в світловому мікроскопі навіть віруси середніх розмірів.

Форма віріонів може бути різною - сферичною, кубічною, паличкоподібною, сперматозоїдоподібною.

Кожний віріон складається з нуклеїнової кислоти, обов'язково пов'язаною з первинною білковою оболонкою - капсидом, який складається з білкових капсомерів. В результаті утворюється нуклеокапсид. Прості віруси складаються тільки з нуклеокапсида (віруси поліомієліту, вірус мозаїчної хвороби тютюну). Складні віруси мають ще додаткову оболонку - суперкапсид, містить крім білків також і ліпіди і вуглеводи.

Об'єднання структурних елементів у віріоні може бути різним. Виділяють три типи симетрії вірусів - спіральний, кубічний і змішаний. Кажучи про симетрію підкреслюється симетричність вірусних часток відносно осі.

При **спіральному типі симетрії** окремі капсомери, помітні в електронному мікроскопі, укладаються по ходу спіралі нуклеїнової кислоти так, що нитка проходить між двома капсомерами, охоплюючими її з усіх боків. В результаті утворюється паличкоподібна структура,

як наприклад у вірусу тютюнової мозаїки, що має форму палички. Але не обов'язково віруси із спіральним типом симетрії повинні бути паличкоподібними. Наприклад, вірус грипу хоча й має спіральний тип симетрії, але його нуклеокапсид згортається певним чином і одягається суперкапсидом. В результаті віріони грипу мають звичайно сферичну форму.

При **кубічному типі** симетрії нуклеїнова кислота згортається певним чином в центрі віріону, а капсомери покривають нуклеїнову кислоту зовні, утворюючи об'ємну геометричну фігуру. Частіше всього утворюється фігура ікосаедра, многогранника з певним співвідношенням числа вершин і граней. Таку форму мають, наприклад, віруси поліомієліту. В профіль віріон має форму шестикутника. Більш складної форми аденовірус, також кубічного типу симетрії. З вершин многогранника відходять довгі нитки, фібри, закінчуються потовщенням.

При змішаному типі симетрії, наприклад - у бактеріофагів, головка з кубічним типом симетрії має форму ікосаедра, а відросток містить спіральну закручений скоротливий чохол.

Деякі віруси мають більш складну будову. Наприклад, вірус натуральної віспи містить значних розмірів нуклеокапсид із спіральним типом симетрії, а суперкапсид організований складно, в ньому виявляється система трубчастих структур.

Таким чином, віруси організовані достатньо складно. Але ми повинні відзначити, що віруси не мають клітинної організації. Віруси - неклітинні істоти, і це є однією з їхніх кардинальних відмінностей від інших організмів.

Декілька слів про стійкість вірусів. Більшість вірусів інактивуються при 56 - 60 °C протягом 5 - 30 хв. Віруси добре переносять охолодження, при кімнатній температурі більшість вірусів швидко інактивується. Вірус більше, ніж бактерії, стійкі до ультрафіолетового опромінювання і іонізуючої радіації. Віруси стійкі до гліцерину. Антибіотики взагалі не діють на віруси. З дезінфікуючих речовин найефективнішим є 5 % лізол, більшість вірусів гине протягом 1 - 5 мін.

ЕТАПИ РЕПРОДУКЦІЇ ВІРУСІВ

Початковий (підготовчий) період	Середній (латентний) період	Кінцевий (заклучний) період
1. Адсорбція вірусу на клітині 2. Проникнення вірусу в клітину 3. Депротейнізація вірусної нуклеїнової кислоти	1. Транскрипція вірусного геному (синтез інформаційної РНК) 2. Трансляція (синтез вірус специфічних ферментів і вірусних структурних білків) 3. Реплікація вірусного геному (синтез вірусних нуклеїнових кислот)	1. Збірка віріонів 2. Вихід вірусу з клітини

Процес адсорбції здійснюється за рахунок комплементарної взаємодії прикріплювальних білків вірусу з клітинними рецепторами. Клітинні рецептори можуть мати глікопротеїнову природу, гліколіпідну, протеїнову і ліпідну природу. Для кожного вірусу необхідні певні клітинні рецептори.

Вірусні прикріплювальні білки, розташовані на поверхні капсиду або суперкапсиду, виконують функцію вірусних рецепторів.

Взаємодія вірусу і клітини починається з неспецифічної адсорбції віріону на клітинній мембрані, а потім відбувається специфічна взаємодія вірусних і клітинних рецепторів за принципом комплементарності.

2-й етап - проникнення вірусу в клітину - може відбуватися двома основними шляхами. Перший, який був описаний раніше, називається **віропексисом**. Це шлях дуже нагадує фагоцитоз і є варіантом рецепторного ендоцитозу. Вірусна частка адсорбується на клітинній мембрані, в результаті взаємодії рецепторів міняється стан мембрани, і вона інвагінується, як би обтікаючи вірусну частку. Утворюється вакуоль, відмежована клітинною мембраною, в центрі якої розташовується вірусна частинка.

При проникненні вірусу шляхом **злиття мембран** відбувається взаємне проникнення елементів оболонки вірусу і клітинної мембрани. В результаті «серцевина» віріону виявляється в цитоплазмі зараженої клітини. Цей процес відбувається досить швидко, тому його важко було zareєструвати на електронограмах.

Депротейнізація - звільнення вірусного геному від суперкапсида і капсида. Цей процес називають іноді «роздяганням» віріонів.

Звільнення від оболонок починається нерідко відразу ж після прикріплення віріону до клітинних рецепторів і продовжується вже всередині цитоплазми клітини. В цьому приймають участь лізосомальні ферменти. У жодному разі для здійснення подальшої репродукції необхідна депротейнізація вірусної нуклеїнової кислоти, оскільки без цього вірусний геном не в змозі індукувати відтворення нових віріонів в зараженій клітині.

Середній період репродукції називають **латентним**, прихованим, оскільки після депротейнізації вірус як би «зникає» з клітини, його неможливо виявити на електронограмах. В цьому періоді присутність вірусу виявляється тільки за зміною метаболізму клітини-господаря. Клітина перебудовується під впливом вірусного геному на біосинтез компонентів віріону - його нуклеїнової кислоти і білків.

Перший етап середнього періоду, транскрипція вірусних нуклеїнових кислот, переписування генетичної інформації шляхом синтезу інформаційної РНК - необхідний процес для початку синтезу вірусних компонентів. Вона відбувається по-різному залежно від типу нуклеїнової кислоти.

Вірусна дволанцюгова ДНК транскрибується так само, як і клітинна за допомогою ДНК-залежної РНК-полімерази. Якщо цей процес здійснюється в ядрі клітини (у аденовірусів), то використовується клітинна полімераза. Якщо ж в цитоплазмі (вірус віспи) - то за допомогою РНК-полімерази, яка проникає в клітину у складі вірусу.

Віруси, які містять РНК, можуть мати плюс або мінус сенс. РНК + виконує функцію інформаційної РНК. При репродукції таких вірусів (пікорнавірусів, тогавірусів) немає необхідності виділяти транскрипцію яка самостійний етап.

Якщо ж РНК є мінус-нитковою (у вірусів грипу, кору, сказу), спочатку повинна синтезуватися інформаційна РНК+ на матриці вірусної РНК- за допомогою спеціального ферменту - РНК-залежної РНК-полімерази, яка входить до складу віріонів і проникає в клітину разом з вірусною РНК. Такий же фермент входить і до складу вірусів, що містять дволанцюгову РНК (реовіруси).

Регуляція процесу транскрипції здійснюється шляхом послідовного перезапису інформації з «ранніх» і «пізніх» генів. В «ранніх» генах записана інформація про синтез ферментів,

необхідних для транскрипції генів і подальшої їхньої реплікації. В «пізніх» - інформація для синтезу оболонкових білків вірусу.

Трансляція - синтез вірусних білків. Цей процес повністю аналогічний відомій схемі біосинтезу білка. Бере участь вірусспецифічна інформаційна РНК, клітинні транспортні РНК, рибосоми, мітохондрії, амінокислоти. Спочатку синтезуються білки-ферменти, необхідні для процесу транскрипції, а також для часткового або повного придушення метаболізму зараженої клітини. Деякі вірусспецифічні білки є структурними і включаються у віріон (наприклад - РНК-полімераза), інші - неструктурними, які виявляються тільки в інфікованій клітині і необхідні для одного з процесів репродукції віріонів.

Пізніше починається синтез вірусних структурних білків - компонентів капсиду і суперкапсиду.

Після синтезу вірусних білків на рибосомах може відбуватися їх посттрансляційна модифікація, в результаті якої вірусні білки «дозрівають» і стають функціонально активними. Клітинні ферменти можуть здійснювати фосфорилування, метилювання, ацилювання і інші біохімічні перетворення вірусних білків. Істотне значення має процес протеолітичного нарізання вірусних білків з великих молекулярних білків-попередників.

Реплікація вірусного геному - синтез молекул вірусних нуклеїнових кислот, відтворення вірусної генетичної інформації.

Реплікація вірусною дволанцюговою ДНК відбувається за допомогою клітинної ДНК-полімерази за напівконсервативним типом так само, як і реплікація клітинної ДНК. Одноланцюгова ДНК реплікується через проміжну реплікативну дволанцюгову форму.

В клітині немає ферментів, здатних здійснювати реплікацію РНК. Тому такий процес завжди здійснюється вірус специфічними ферментами, інформація про синтез яких закодована у вірусному геномі. При реплікації одноланцюгових РНК геномів спочатку синтезується нитка РНК, комплементарна вірусній, а потім ця щойно зроблена нитка РНК стає матрицею для синтезу копій геному. При цьому, на відміну від процесу транскрипції, при якому синтезуються часто лише відносно короткі ланцюжки РНК, при реплікації відразу утворюється повна нитка РНК. Дволанцюгові РНК реплікуються аналогічно дволанцюговій ДНК, але за допомогою відповідного ферменту - РНК-полімерази вірусного походження.

В результаті процесу реплікації вірусного геному в клітині нагромаджуються молекули вірусних нуклеїнових кислот, необхідних для формування зрілих віріонів.

Таким чином, синтез окремих компонентів віріону роз'єднаний в часі і в просторі, відбувається в різних клітинних структурах і за різного часу.

В кінцевий, заключний період репродукції відбувається збірка віріонів і вихід вірусу з клітини.

Збірка віріонів може відбуватися різно, але в основі її лежить процес самозбірки вірусних компонентів, що транспортуються з місць їхнього синтезу в місце збірки.. Первинна структура вірусних нуклеїнових кислот і білків визначає порядок конформування молекул і їхнього з'єднання друг з другом. Спочатку утворюється нуклеокапсид за рахунок суворо орієнтованого з'єднання білкових молекул в капсомери і капсомерів з нуклеїновою кислотою. У простих вірусів на цьому збірка і закінчується. Збірка складних вірусів, що мають суперкапсид, багатоступінчата і закінчується звичайно в процесі виходу віріонів з клітини. При цьому елементи клітинної оболонки включаються в суперкапсид вірусу.

Вихід вірусу з клітини може відбуватися двома шляхами. Деякі віруси, позбавлені суперкапсиду (аденовіруси пікорнавіруси) виходять з клітини за «вибуховим» типом. Клітина при цьому лізується, а віріони виходять із зруйнованої клітини в міжклітинний простір. Інші віруси, що мають ліпопротеїнову оболонку, наприклад - віруси грипу, виходять з клітини, відгладжуючись з її оболонкою. Клітина при цьому може тривало зберігати життєздатність.

Весь цикл репродукції вірусу займає звичайно декілька годин. За 4 - 5 годин, від моменту проникнення в клітину однієї молекули вірусної нуклеїнової кислоти, може утворитися від декількох десятків до декілька сотень нових віріонів, здатних інфікувати сусідні клітини. Таким чином, спосіб розмноження вірусів корінним чином відрізняється від способу розмноження всіх інших живих істот. Всі клітинні організми розмножуються розподілом. При розмноженні вірусів окремі компоненти синтезуються в різних місцях інфікованої вірусом клітини і за різного часу. Такий спосіб розмноження отримав назву «роз'єднаний» або «диз'юнктивний».

Потрібно сказати, що взаємодія вірусу і клітини не обов'язково може приводити до описаного результату - ранньої або відстроченої загибелі інфікованої клітини з продукцією маси нових зрілих вірусних часток. Можливі три варіанти вірусної інфекції в клітині.

Перший, нами вже розібраний варіант, відбувається при **продуктивній** або **вірулентній** інфекції.

Другий варіант - **персистуюча** інфекція вірусу в клітині, коли відбувається дуже повільна продукція нових віріонів з виходом їх з клітини, але інфікована клітина тривало зберігає життєздатність.

Нарешті, третій варіант - **інтеграційний тип** взаємодії вірусу і клітини, при якому відбувається інтеграція вірусної нуклеїнової кислоти в клітинний геном. При цьому здійснюється фізичне включення молекули вірусної нуклеїнової кислоти в хромосому клітини-господаря. Для ДНК-геномних вірусів цей процес цілком зрозумілий, РНК-геномні віруси можуть інтегрувати свій геном тільки у вигляді «провіруса» - ДНК- копії вірусної РНК, синтезованої за допомогою зворотної транскриптази - РНК-залежної ДНК-полімерази. У разі інтеграції вірусного геному в клітинний вірусна нуклеїнова кислота реплікується разом з клітинною при поділі клітин. Вірус у формі провірусу може тривало зберігатися в клітині за рахунок постійної реплікації. Такий процес отримав назву «**вірогенія**».

Вірогенія забезпечує своєрідну форму збереження вірусної генетичної інформації. З іншого боку, інтеграція вірусного геному в клітинний може призводити до пухлинної трансформації ураженої клітини. По суті інтеграційний тип взаємодії вірусу і клітини є паразитуванням вірусу на генетичному рівні.

КАРДИНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ВІРУСІВ

Після відкриття вірусів Д.І.Івановським довгий час основними відмінними ознаками вірусів вважали їхні малі розміри, здатність фільтруватися через бактерійні фільтри і абсолютний паразитизм, нездатність розмножуватися зовні живої клітини.

Проте, розміри крупних вірусів подібні до розмірів хламідій і дрібних рикетсій, описані форми бактерій, що фільтруються. Абсолютний паразитизм також властивий не тільки вірусам. Абсолютними паразитами є хламідії, більшість рикетсій. Навіть серед еукаріот є абсолютні паразити - малярійний плазмодій, токсоплазма.

Тому в даний час кардинальні відмінності вірусів від інших мікроорганізмів ґрунтуються на більш істотних біологічних властивостях, про які ми якраз і говорили на цій лекції.

5 кардинальних відмінностей вірусів від інших живих істот на Землі:

1. Відсутність клітинної організації.
2. Наявність тільки одного типу нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК).
3. Відсутність самостійного обміну речовин. Обмін речовин у вірусів опосередкований через метаболізм клітин і організмів.
4. Наявність унікального, диз'юнктивного способу розмноження.
5. Здатність паразитувати на генетичному рівні.

Таким чином, ми можемо дати наступне визначення вірусам.

ПРИНЦИПИ КУЛЬТИВУВАННЯ ВІРУСІВ

Для репродукції вірусів необхідна їхня взаємодія з живою клітиною. Отже, культивувати віруси можна тільки в клітинах.

На першому етапі вивчення вірусів використовувався тільки один спосіб їхнього культивування - в сприйнятливому організмі.

Другий метод культивування вірусів - в курячих ембріонах. Цей метод широко використовується у вірусології у зв'язку з його простотою і доступністю, але не всі віруси можуть репродукуватися в курячих ембріонах.

Дуже перспективний і широко використовується метод культивування вірусів в одношарових культурах кліток. У вірусології частіше за всього застосовуються **первинні і перещеплювані** культури кліток. Цей метод дозволяє легко стежити за розвитком вірусу в моношарі і має ряд інших переваг. Використовуючи культури клітин різних видів можна визначити, в яких культурах репродукується вірус, що вивчається, що є однією з ознак для ідентифікації вірусу.

При репродукції вірусів можуть наступати характерні зміни. У лабораторних тварин розвиваються симптоми захворювання, з'являються ознаки поразки курячих ембріонів, виявляються зміни в моношарі культур кліток. Ці зміни називають **цитопатичним ефектом (ЦПЕ)** або **цитопатогенною дією вірусів (ЦПД)**. Наприклад, ЦПД вірусів в культурі кліток може виявлятися в загибелі кліток, порушенні цілісності моношару, утворенні гігантських багатоядерних кліток, клітинних синцитіїв і ін. Характер ЦПД різних вірусів розрізнений, що служить ознакою для групової ідентифікації вірусу, що репродукується.

В клітках, уражених вірусом, часто виявляються **вірусні включення**, які можуть розташовуватися в ядрі (ядерні) або в цитоплазмі (цитоплазматичні). Деякі вірусні включення можуть мати діагностичне значення, як наприклад тільця БАБЕША-НЕГРІ в клітинах головного мозку при сказі.

Вірусні включення можуть виявлятися при гістохімічному забарвленні, а також при люмінесцентній мікроскопії - при забарвленні акридиновим оранжевим, або з використанням реакції імуофлюоресценції - РІФ.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекції: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекції:

Проблемне питання: «Віруси не можуть розмножуватися поза клітиною-господарем, оскільки їм не вистачає власних систем енергетичного обміну, синтезу білків та нуклеїнових кислот. Як ця облігатна залежність від клітини впливає на розробку противірусних препаратів та чому деякі мішені вірусної реплікації більш приховані для селективної інгібіції, ніж інші?»

Клінічне питання: «Пацієнт з рецидивуючим герпетичним стоматитом отримує періодично ацикловір, проте інтервали між рецидивами поступово скорочуються, що свідчить про розвиток резистентності. Як розуміння механізмів латентної інфекції (інтеграція вірусного геному в нервові клітини) та факторів реактивації (стрес, травма, імуносупресія, менструальний цикл) допомагає розробити довгострокову стратегію профілактики та контролю над захворюванням?»

Питання для роздумів: «Персистентні вірусні інфекції часто асоціюються з хронічним запаленням та розвитком пухлин (наприклад, ВГВ та гепатоцелюлярна карцинома, ПВЛ та раки шийки матки). Як розуміння механізмів персистенції та хронічної запальної відповіді відкриває нові можливості для розробки ефективних методів лікування та профілактики вірус-асоційованих раків?»

Епідеміологічне питання: «Вакцини розробляються на основі культивування вірусів у культурах клітин (HeLa, диплоїдні лінії клітин) або у курячих яйцях (для вакцини від грипу). Як вибір системи культивування та адаптація вірусу до цієї системи впливають на якість, безпеку та ефективність вакцин, особливо у контексті швидкого виробництва вакцин під час пандемій?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Дайте визначення вірусу та його основних відмінностей від прокаріотичних і еукаріотичних клітин.
2. Охарактеризуйте будову віріона та основних компонентів (нуклеїнова кислота, капсид, суперкапсид).
3. Опишіть морфологію бактеріофагів та їхні основні типи структури.
4. Охарактеризуйте типи симетрії вірусних капсидів: спіральна, ікосаедральна, складна.
5. Назвіть основні морфологічні типи вірусів та приклади у кожній групі.
6. Опишіть будову, функції та антигенні властивості вірусних гліколіпопротеїнів (шипи, гемаглютинінді та нейрамінідази).
7. Охарактеризуйте матрикс вірусів та його роль у збиранні та вивільненні вірусних частинок.
8. Дайте визначення про розмір вірусів та його варіабельність у різних групах.
9. Опишіть типи вірусних геномів: ДНК/РНК, одно-/двониткові, сегментовані/несегментовані, лінійні/кільцеві.
10. Охарактеризуйте негативно-ланцюгові РНК-віруси та необхідність мати власну РНК-залежну РНК-полімеразу.
11. Назвіть основні категорії вірусів за ICTV класифікацією та приклади.
12. Опишіть методи культивування вірусів у живих системах: культури клітин, куряче яйце, лабораторні тварини.
13. Охарактеризуйте первинні, напівнеперервні та безперервні культури клітин та їхнього використання.
14. Дайте визначення цитопатичного ефекту (ЦПЕ) та його морфологічних проявів.
15. Назвіть основні типи ЦПЕ та вірусів, що їх викликають (лізична деформація, округлення, синцитії).
16. Опишіть бляшкові аналізи як метод кількісної оцінки інфекційних вірусних частинок.
17. Охарактеризуйте гемаглютинаційні тести та їхнього використання для ідентифікації вірусів.
18. Дайте визначення першого етапу інфекції: адсорбція вірусу на поверхні клітини-господаря.

19. Назвіть основні вірусні рецептори та їхніх функції у розпізнаванні клітин-мішеней.
20. Опишіть другого етапу: проникнення вірусу в клітину (злиття мембран, ендоцитоз, трансфекція).
21. Охарактеризуйте процес розденудування (розбирання) вірусної частинки у цитоплазмі або ядрі.
22. Дайте визначення репліцируючої фази: синтез вірусних нуклеїнових кислот і білків.
23. Назвіть основні мішені для противірусних препаратів у репліцируючій фазі.
24. Опишіть четвертий етап реплікації: складання (збирання) нових вірусних частинок.
25. Охарактеризуйте вивільнення вірусів із клітини: лізис та брунькування.
26. Дайте визначення продуктивної вірусної інфекції та її клінічного значення.
27. Назвіть основні форми неправного вірусної інфекції (латентна, персистентна, абортівна, дефектна).
28. Опишіть латентну інфекцію та механізми реактивації (на прикладі герпесвірусів).
29. Охарактеризуйте трансформуючу інфекцію та роль онкогенних вірусів у розвитку пухлин.
30. Назвіть основні методи дослідження вірусної інфекції (електронна мікроскопія, ПЛР, секвенування).

Список джерел до теми:

Основні:

1. Ширококов В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.
2. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.

Додаткові:

3. Flint S.J., Enquist L.W., Racaniello V.R., Skalka A.M. Principles of virology. ASM Press, 2015, 4th ed.: 1-900.
4. Dimitrov D.S. Virus entry: molecular mechanisms and biomedical applications. Nature Reviews Microbiology, 2004, 2(2): 109-122.

«РНК-ВМІСНІ ВІРУСИ. ДНК-ВМІСНІ ВІРУСИ»

Актуальність теми: РНК- та ДНК-вмісні віруси викликають різноманітні інфекції, від гострих респіраторних форм (грип, COVID-19) до хронічних гепатитів та онкологічних захворювань, що мають безпосереднє значення для оцінки ризиків у стоматологічній практиці. Знання груп вірусів, їхньої структури, типів геномів і стратегії реплікації допомагає розуміти принципи специфічної профілактики (вакцинації) і противірусної терапії. Для стоматолога особливо важливі герпесвіруси, які викликають хронічні та рецидивуючі ураження слизової оболонки порожнини рота; папіломавіруси (ПВЛ), асоційовані з розвитком орофарингеальних раків; віруси гепатитів (ВГВ, ВГС), що передаються через кров та являють собою професійний ризик для медичного персоналу. Розуміння механізмів мінливості РНК-вірусів (більш висока мутабельність) допомагає пояснити необхідність щорічної ревакцинації проти грипу та складність розробки універсальних вакцин. Знання про хронічні форми гепатитів важливе для оцінки комплаєнсу пацієнта при призначенні медикаментів та прогнозування ускладнень стоматологічного лікування.

Мета:

Навчальна мета:

- Систематизувати знання про основні родини РНК-вмісних вірусів людини (пікорнавіруси, ортоміксовіруси, параміксовіруси, коронавіруси, буніавіруси, арбовіруси,

ретровіруси), їхніх характеристик, особливостей реплікації та клінічного значення.

- Систематизувати знання про основні родини ДНК-вмісних вірусів людини (герпесвіруси, аденовіруси, папіломавіруси, поксвіруси, гепаднавіруси, парвовіруси), їхніх механізмів патогенності та асоційованих захворювань.
- Пояснити зв'язок між типом геному вірусу та його мутабельністю, потенціалом до формування нових варіантів, хронізацією інфекції, можливістю розробки противірусних препаратів та ефективністю вакцин.
- Сформувати знання про вірусів, значущих для стоматологічної практики (герпесвіруси, папіломавіруси, віруси гепатитів), їхніх клінічних проявів у порожнині рота, механізмів передачі, принципів профілактики та лікування.

Виховна мета:

- Виховувати активне та позитивне ставлення до вакцинації проти вірусних інфекцій (грип, гепатит В, ВПЛ) як до ключового методу профілактики та особистої та професійної безпеки.
- Розвинути відповідальність за дотримання інфекційного контролю та постконтактної профілактики при роботі з пацієнтами з вірусними інфекціями.

Основні поняття (перелік питань):

РНК-вмісні віруси:

Позитивно-ланцюгові (+ssRNA) – геномна РНК безпосередньо функціонує як мРНК (пікорнавіруси: поліовірус, віруси гепатиту А, риновіруси; флававіруси: вірус жовтої лихоманки, Зіка, Денге; коронавіруси: SARS-CoV-2)

Негативно-ланцюгові (-ssRNA) – геномна РНК комплементарна мРНК, потребує вірусної РНК-полімерази для транскрипції (ортоміксовіруси: грип; параміксовіруси: кір, епідемічний паротит, респіраторно-синцитіальний вірус; рабдовіруси: сказ; філовіруси: Ебола)

Двониткові (dsRNA) – сегментований геном (реовіруси: ротавіруси)

Особливості реплікації: всі РНК-віруси реплікуються в цитоплазмі (окрім ортоміксовірусів), використовують РНК-залежну РНК-полімеразу (RdRp), високий рівень мутації

ДНК-вмісні віруси:

Подвійноланцюгові (dsDNA): Герпесвіруси – великі оболонкові віруси, латентні інфекції (HSV-1/2, VZV, CMV, EBV), **Аденовіруси** – безоболонкові ікосаедричні віруси, респіраторні та очні інфекції, **Паповавіруси** – малі безоболонкові (папіломавіруси), **Поксвіруси** – найбільші віруси, складна морфологія, реплікуються в цитоплазмі (віспа)

Одноланцюгові (ssDNA): Парвовіруси – найменші ДНК-віруси (парвовірус В19)

Особливості реплікації: більшість реплікується в ядрі, використовують клітинну ДНК-полімеразу або власну, нижчий рівень мутацій порівняно з РНК-вірусами

Стратегії реплікації: залежать від типу геному та полярності нуклеїнової кислоти

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

«РНК-ВМІСНІ ВІРУСИ. ДНК-ВМІСНІ ВІРУСИ»

1. РНК-ГЕНОМНІ ВІРУСИ

До РНК-вірусів відносять 13 сімейств: Reoviridae, Togaviridae, Retroviridae, Bunyaviridae, Flaviviridae, Coronaviridae, Rhabdoviridae, Filoviridae, Paramyxoviridae, Orthomyxoviridae, Bunyaviridae, Arenaviridae, Retroviridae, Picornaviridae, Caliciviridae:

Таблиця 1. РНК -ГЕНОМНІ ВІРУСИ

СІМЕЙСТВО Підродина	Рід	Представники типів
REOVIRIDAE	Reovirus Orbivirus Rotavirus	Реовіруси типів I-3 Вірус кемеровської лихоманки, Ротавіруси людини
TOGAVIRIDAE	Alphavirus Rubivirus Pestivirus	Віруси карельської лихоманки, кінських енцефаломієлітів Вірус краснухи Вірус чуми тварин
FLAVIVIRIDAE	Flavivirus	Віруси кліщового, японського енцефаліту денге, жовтої лихоманки
CORONAVIRIDAE	Coronavirus	Коронавірус людини
RHABDOVIRIDAE	Vesiculovirus Lyssavirus	Вірус везикулярного стоматиту Вірус сказу
FILOVIRIDAE		Віруси Марбург, Ебола
PARAMYXOVIRIDAE	Paramyxovirus Morbillivirus Pneumovirus	Віруси парагрипу I-5 типів, вірус паротиту Вірус кору Респіраторно-синцитіальний вірус
ORTHOMYXOVIRIDAE	Influenzavirus	Віруси грипу А, В Віруси грипу С
BUNYAVIRIDAE	Bunyavirus Nairobivirus і ін.	Вірус Буньямвера, Вірус Кримської геморагічної лихоманки
ARENAVIRIDAE	Arenavirus	Вірус лімфоцитарного хориомеїніті
RETROVIRIDAE Oncovirinae Spumavirinae Lentivirinae	Онковіруси В, Онковіруси С, Онковіруси D	Вірус рака молочних залоз мишей Вірус саркоми Рауса Вірус МЕЗОН-ПФАЙЗЕРА Пінистий вірус людини Віруси ВІЛ- I, ВІЛ-2
PICORNAVIRIDAE	Enterovirus Cardiovirus Rhinovirus Aphthovirus	Віруси поліомієліту I-3 типів, інші ентеровіруси, вірус гепатиту А (ентеровірус 72) Вірус енцефаломіокардита Ріновіруси людини Вірус ящура
CALICIVIRIDAE	Calicivirus	Каліцивіруси людини

Віруси, що містять РНК, мають різноманітні структуру і хімічний склад: від простих, які складаються з нуклеопротеїна і 1-2 генів (пікорнавіруси і ін.), до складно влаштованих, містять десятки генів і мають в своєму складі різні білки і ферменти (віруси грипу, парагрипу і ін.). Великий інтерес представляє також група онковірусів (ретровіруси), які викликають злоякісні новоутворення у тварин і птахів, потенційних індукторів лейкозу і рака у людини.

ОРТОМІКСОВІРУСИ

Назва Муховірус була запропонована спочатку для групи оболонкових РНК вірусів, що характеризуються здібністю до адсорбції на мукопротеїнових рецепторах еритроцитів, викликаючи гемаглютинацію. Назва нагадувала спорідненість вірусів до муцинів. Подальше виявлення важливих відмінностей між вірусами грипу і іншими вірусами в цій групі навело до їхньої перекласифікації на два окремі сімейства.

Таблиця 2. ВІДМІННІСТЬ У ВЛАСТИВОСТЯХ ОРТОМІКСОВІРУСІВ І ПАРАМІКСОВІРУСІВ

Властивість	Ортоміксовіруси	Параміксовіруси
Розмір віріону	80-120 нм	100-300нм
Форма	Сферична, нитки в свіжому ізоляті (виділеному вірусі)	Плеоморфні
Геном	Сегментований, вісім частин РНК	Цільна лінійна молекула РНК
Діаметр нуклеокапсиду	9 нм	18 нм
Місце синтезу нуклеопротеїна	Ядро	Цитоплазма
Генетична перебудова	Звичайна	Відсутня
ДНК-залежний синтез РНК	Необхідний для розмноження	Не потрібний
Ефект актиномицина Д	Пригнічує розмноження	Не пригнічує
Антигенна стабільність	Варіабельні	Стабільні
Гемолізін	Відсутній	Є

Віруси грипу

Морфологія і хімічний склад. Віруси грипу мають округлу або овальну форму, діаметр 80 -100 нм, оболонковий, геном представлений ондонитковою негативною РНК, **фрагментованою** у вірусів грипу А і В на вісім, вірусу грипу С – на сім фрагментів. Фрагменти у складі віріона слабо зв'язані між собою.

У складі віріона є вірусна РНК-залежна РНК-полімераза: вона необхідна для інвазивної здатності. В оболонці присутні 2 рецептори: **гемаглютинін (Н) і нейрамінідаза (N)**. Віруси грипу А і В мають гемаглютинін і нейрамінідазу, вірус грипу типу С – тільки гемаглютинін. Є 13 різних Н антигенів і десять N антигенів. Тільки Н1-Н3 і N1-N2 були поки виявлені у вірусів людини, інші виділяються від тварин і птахів.

Гемаглютинін - глікопротеїд, складений з трьох мономерів. Він відповідає за гемаглютинацію і гемосорбцію і забезпечує адсорбцію вірусу як на мукопротеїнових рецепторах еритроцитів, так і на клітинах респіраторного епітелію. Антитіла-антигемаглютиніни утворюються після інфекції і імунізації.

Нейрамінідаза – глікопротеїновий фермент, який руйнує рецептори клітки в результаті гідролізу.

Культигування. Віруси грипу добре розмножуються в амніотичній і алантоїсній оболонках курячих ембріонів, первинно трипсинізованих культурах нирок мавп, ембріона людини і ін.

Патогенез захворювання у людини. Вхідні ворота – респіраторний тракт.

Хвороба звичайно обмежується респіраторним трактом, дуже рідко під час пандемії 1957 року вірус ізолювався з селезінки, печінки, нирок і інших органів.

Клінічні особливості. Інкубаційний період короткий – 12 - 72 години. Захворювання варіює від помірного риніту до блискавичної смертельної пневмонії. При типовій клініці початок різкий з лихоманкою, головним болем і загальною міалгією. Звичайно на перший план виступають дихальні симптоми і серйозна загальна слабкість. Можуть бути болі в животі і блювота, особливо при грипі типу В у дітей, які можуть давати картину гострого живота. Неускладнена хвороба закінчується через 2 - 7 днів.

Найважливіше ускладнення - пневмонія, яка головним чином розвивається через повторну бактерійну інфекцію або рідше, викликана безпосередньо вірусом. Кардіальні ускладнення типу застійної недостатності або міокардиту і неврологічних поразок типу енцефаліту бувають рідко.

Імунітет. Імунітет до специфічного підтипу вірусу, що розвивається після спалаху грипу, тривалий. Він обумовлений сумарно місцевими антитілами (IgA) в секретах слизових дихальних шляхів і специфічними IgG антитілами в сироватці. Імунітет до інфекції, особливо типом А, строго специфічний до сероподтипу, не створює несприйнятливості до сероподтипів, з імунологічно відмінними білками гемаглютиніна або нейрамінідази.

Епідеміологія.

Крупні пандемії пов'язані з **антигенним шифтом** - коли міняються вірусні Н або N, або ж обидва відразу. Ця зміна є дуже великою, щоб бути результатом мутації, і аналіз вірусною РНК указує, що зміна є результатом придбання нового повного 4-го і, або 5-го сегмента РНК. В лабораторних умовах легко показати, що, якщо клітка інфікована двома різними штамами вірусу, потомство буде містити вірус, молекули РНК якого отримані від кожного батька. Таким чином, «новий» вірус може бути результатом **пересортовування, рекомбінації**.

У вірусів грипу В не виявляється антигенного шифту, як немає і резервуара серед тварин і, хоча епідемії відбуваються з інтервалом в 3-6 років, вони ніколи не досягають розмірів пандемії, і їхнє розповсюдження звичайно обмежується невеликими колективами типу шкіл - інтернатів або будинків старезних. Антигенні зміни є результатом мутації, також, як і виявляються у вірусу грипу А після появи «нових» вірусних штамів, зміни обумовлені дрейфом антигенів.

Вірус грипу типу С не асоціюється з епідеміями, але дає підвищення захворюваності гострими респіраторними інфекціями, особливо у дітей. Більшість інфекцій є безсимптомними.

Лабораторна діагностика. Заснована на вірусологічному і серологічному методах дослідження. Вірусологічний метод використовується з метою виділення вірусу і його ідентифікації. Носоглоточними змивами, до яких додають антибіотики, заражають 9—11-денні курячі ембріони або клітинні культури. Після 3—4 діб культивування вірус грипу виявляють за допомогою реакції гемаглютинації в алантоїсній і амніотичній рідині курячого ембріона, а в тканинних культурах—реакцією гемадсорбції.

Ідентифікація вірусу проводиться за допомогою реакцій гальмування гемаглютинації і нейтралізації вірусу з використанням специфічних імунних сироваток.

Серологічна діагностика передбачає виявлення наростання титру специфічних антитіл в сироватках хворих в динаміці захворювання за допомогою реакцій гальмування гемаглютинації, зв'язування комплементу і нейтралізації вірусу.

Окрім описаних методів, для діагностики грипу використовують експрес-метод, заснований на застосуванні прямої і непрямой імунофлюоресценції.

Лікування. Застосовують комплексну терапію, направлену на придушення репродукції вірусу грипу в організмі і нейтралізацію токсинів. Добрий результат отриманий при введенні в перші дні хвороби протигрипозного донорського імуноглобуліну, сухої протигрипозної сироватки, лейкоцитарного інтерферону, хімічних препаратів амантадину і ремантадину, а також озельтамівіру. Попередження ускладнень досягається використанням антибіотиків в поєднанні з сульфаніламидами.

- **Вакцинація.** Вакцини проти грипу ефективні для профілактики захворювання на грип;
- **Інактивовані спліт-вакцини, рекомбінантні та живі ослаблені вакцини** доступні у тривалентній та чотиривалентній формах;

ПАРАМІКСОВІРУСИ

В сімейство Paramyxoviridae включено три роди – Paramyxovirus, Morbilivirus і Pneumovirus, містять патогенні для людини віруси.

Віруси мають сферичну форму, діаметр 100 - 300 нм. Нуклеокапсид оточений оболонкою. Володіють гемаглютинуючою, гемолітичною і нейрамінідазною активністю, здатністю утворювати синцитій в клітинних культурах; в антигенному відношенні характеризується різноманітністю. У людей параміксовіруси викликають парагрип, епідемічний паротит, кір і РС-інфекцію.

Парагрипозні віруси. Морфологія повністю відповідає описаній вище характеристиці сімейства параміксовірусів.

Культивування. Не репродукуються в курячих ембріонах, добре розвиваються на тканинних культурах ниркоподібного епітелію мавп і ембріона людини, а також на фібробластах людського ембріона. Деякі штами можуть бути пристосовані до субінокуляції Нер-2, HELA і інших

Антигенна структура. Підрозділяються на п'ять самостійних типів. У складі вірусів парагрипу є антигени, властиві кліткам-господарям. Віруси аглютинують еритроцити морської свинки, курки, людини.

Резистентність. Чутливі до ефіру. Досить швидко гинуть від нагрівання і дезінфікуючих засобів.

Патогенез захворювання у людини. Передача інфекції відбувається повітряно-краплинною шляхом. Інкубаційний період - від 3 до 6 днів, протягом якого вірус розповсюджується місцево в межах респіраторного тракту.

Віруси парагрипу виділяються від дітей з захворюваннями верхніх дихальних шляхів типу риніту, фарингіту і бронхіту, які супроводжуються підвищенням температури. Асоціюються також з **крупом**, різким уривистим кашлем дітей, знайомим багатьом матерям як подразник "середини ночі". Він розвивається при комбінації трахеїту і ларингіту, але віруси парагрипу можуть також викликати і малу хворобу верхніх дихальних шляхів. Вони відповідальні за 6-9 % інфекцій дихальних шляхів, для яких може бути встановлена вірусна етіологія.

Дуже рідко віруси парагрипу є причиною серйозних хвороб у дорослих, звичайно вони викликають захворювання дихальних шляхів середньої тяжкості. Часто віруси парагрипу виступають в асоціації з вірусом грипу і аденовірусами.

Лабораторна діагностика. Ґрунтується переважно на вірусологічних і серологічних дослідженнях. Для виділення вірусу використовують одношарові культури з нирок мавп або ембріонів людини. Наявність вірусу в культурі тканини визначається гемадсорбцією. Для ідентифікації вірусів використовують тіж реакції, що і для вірусу грипу.

Респіраторно-синцитіальний вірус.

РС-вірус відноситься до роду *Metamorphovirus*. Діаметр віріона 90 -120 нм, він чутливий до ефіру і нестійкий до заморожування, інактивується при 56° С протягом 30 - 40 хв. Не розмножується в курячих ембріонах, непатогенний для лабораторних тварин. Він культивується на лініях клітин пухлинних і нормальних тканин людини, ЦПД виявляється на 3 - 5-й день у вигляді синцитію.

У людини РС-вірус викликає гострі респіраторні захворювання, бронхіт, пневмонію, риніт. Інкубаційний період продовжується 4 - 9 діб, тривалість хвороби 5 - 6 днів. Захворювання приймають характер епідемічних спалахів тривалістю 2 - 3 міс. Вони звичайно спостерігаються серед дітей в зимово-весняний період.

Лабораторна діагностика є такою ж, як і при парагрипі. Специфічне лікування і профілактика не розроблені.

Вірус епідемічного паротиту.

Відноситься до роду *Paramorphovirus*, мають куполоподібну неправильну форму. Розміри віріону 150 - 175 нм в діаметрі.

Культивування. Віруси репродукуються в курячих ембріонах. Свіжі виділені штами вірусу добре розвиваються в первинних людських ембріональних ниркоподібних культурах клітин. ЦПД характеризується утворенням багатоядерних клітин.

Антигенна структура. Не має серологічних варіантів, він містить два антигени: S-антиген, розчинний, пов'язаний з рибонуклеопротеїдом, і V-антиген, з поверхневих вірусних структур.

Вірус епідемічного паротиту володіє гемаглютинуючими і гемолітичними властивостями відносно еритроцитів людини, мавп, барана, коня, курей, гусаків, качок і ін.

Патогенез захворювання у людини. Вірус паротиту обумовлює лихоманку, викликає запалення навколоушних, під'язикових і підщелепних залоз. Хворіють головним чином діти. Паротит (свинка) - дуже контагіозна хвороба, але у 50% заражених хвороба протікає безсимптомно. У важких випадках виникає вірусемія. При епідемічному паротиті, окрім слинних залоз, вірус проникає до інших органів і викликає орхит і менінгіт. Як ускладнення можуть розвинути поліневрити, парези вушного і лицьового нервів, порушення функцій органів слуху і зору.

Імунітет. Постінфекційний імунітет є стійким, зберігається протягом всього життя

Лабораторна діагностика. Здійснюється шляхом виділення вірусу з сечі, слини, центральної нервової системи з подальшою ідентифікацією його в реакції гальмування гемаглютинації і імуофлюоресценції. Антитіла виявляються через тиждень від початку захворювання, титр їх нарастає інтенсивно. Кращий результат дає дослідження парних сироваток.

Лікування. Хворим вводять гамма-глобулін, який полегшує перебіг хвороби, але не попереджає розвиток менінгіту і орхиту.

Профілактика. Специфічна профілактика проводиться живою вакциною КПК, яка створює імунітет, подібний набутому після захворювання.

Вірус кору.

Вірусна природа кору доведена в 1911 р. Т. Андерсеном і Дж. Гольдбергом. Вірус виділений в 1954 р. Дж. Ендерсом і Т. Піблсом. Він відноситься до роду Morbillivirus.

Морфологія. Розміри вірусу 120 - 250 нм. Нуклеокапсид має спіральний тип симетрії. Віріон володіє гемаглютинуючою властивістю, не містить нейрамінідази.

Культивування. Вірус культивується на різних тканинах і на одношарових культурах ниркоподібного епітелію людини, мавпи, собаки. Цитопатогенний ефект був отриманий на культурах кліток амніона людини.

Антигенна структура. Серед штамів вірусу кору різновидів і типів не виявлено.

Резистентність. Збудник при 58°C швидко гине. Зовні організму вірус кору зберігається не більше 30 хв. Вельми чутливий до дії сонячного світла. У зв'язку з цим дезінфекцію при кору не проводять.

Патогенність для тварин. В природних умовах тварини корі не хворіють.

Вдалося відтворити захворювання у мавп.

Патогенез захворювання у людини. Єдиним джерелом інфекції є хвора людина, яка стає заразливою з 1-го дня продромального періоду і до 4 - 5-го дня після висипання. Загальна тривалість заразливого періоду 8 - 10 діб. Кір передається повітряно-краплиним шляхом. Найбільш часто захворювання реєструються в зимовий період. Скупченість сприяє збільшенню захворюваності.

Вірус проникає через верхні дихальні шляхи, потім попадає в кров, вражає тканини дихальних шляхів. Хвороба супроводжується вірусемією, лихоманкою, висипом. Захворюванню схильні переважно діти. Проте кором можуть хворіти і дорослі, які раніше не перехворіли. У дітей, яким з профілактичною ціллю вводився противокоровий імуноглобулін, кір перебігає в легкій (мітігованій) формі.

Після перенесення кору вірус не зникає з організму перехворілого, мабуть, персистує в клітинах мозкової тканини і лімфатичних вузлів. В окремих випадках такий тривало

персистуючий вірус може активізуватися і викликати розвиток подострого склерозуючого паненцефаліту, закінчується звичайно летально. Вірус кору може проникнути через плаценту, інфікувати плід і викликати мертвонародження або вади розвитку у новонароджених.

Імунітет. Перенесення кору викликає стійкий і тривалий імунітет. Повторні захворювання майже не зустрічаються. В організмі перехворілого протягом всього життя продукуються антитіла, що викликаються вірусом, який після одужання переходить в латентний стан.

Лабораторна діагностика. Розпізнавання кору проводять на підставі клінічних і епідеміологічних даних. Використовують дослідження методом люмінесцентної мікроскопії відбитків із слизової оболонки носа, в яких виявляють гігантські клітини овальної або неправильної форми; всередині клітин знаходяться включення.

Виділення вірусу від хворого можливе тільки в продромальний період або в 1-й день висипання.

Використовують кров, носоглоточні змиви і сечу. Посіви проводять на первинні культури тканини з клітин нирок мавп і амніона людини. Застосовують також дослідження парних сироваток з метою виявлення наростання титру антитіл. Антитіла проти вірусу кору можна виявити в реакціях нейтралізації ЦПД в тканинних культурах, а також в реакціях зв'язування комплекменту або гальмування гемаглютинації.

Лікування. Специфічного лікування немає. При ускладненнях призначають антибіотики.

Профілактика. Жива атенуйована вакцина КПК, для серопрофілактики кору використовують протикоровий імуноглобулін в дозі 1,5 або 3 мл.

ЕНТЕРОВІРУСИ

Ентеровіруси включають: поліовіруси типу 1-3, віруси Коксаки А - типи 1-24 (тип 23 аналогічний ЕСНО 9), віруси Коксаки В - типи 1-6, ЕСНО віруси типи 1-34 і ентеровіруси типів 68-72.

Поліовіруси

Морфологія. Віріон - сферична частинка, приблизно 27 нм в діаметрі, капсид утворений 60 субодиницями (капсомерами), кожна з яких складається з чотирьох білків (VP1-VP4). Вірус має кубічну симетрію. Генوم – ондониткова РНК.

Антигенні властивості. Поліовіруси розділені на три типи, 1, 2 і 3. Тип 1 найбільш поширений і викликає більшість епідемій. Всередині типів в реакції нейтралізації виявляється відмінність між штамми, але вони неістотні для розвитку імунітету проти захворювання. Віруси мають загальний комплекс зв'язуючий антиген.

Круг господарів і культивування. Природна інфекція відбувається тільки у людей. Вірус легко культивується в різних культурах клітин приматів. Первинні культури нирок мавпи використовуються для діагностичного культивування і вакцинного виробництва. Інфіковані клітки округляються, скорочуються і стають пікнотичними. В забарвлених препаратах можуть бути виявлені еозинофільні внутрішньоядерні включення. В зараженому моношарі під агаровим або бентонітовим покриттям розвиваються добре оформлені бляшки.

Патогенез.

Єдине природне джерело поліовірусу - людина. Вірус розповсюджується безпосередньо від людини до людини без проміжного господаря з фекаліями і, рідко, з відокремлюваним ротоглотки.

В гострій фазі інфекції вірус знаходиться в горлі і, хоча в цей час можлива краплинна передача, звичайним є фекально-оральний шлях. Найвища інфекційність буває в останні дні інкубаційного періоду, на 7 – 10 день після зараження, але передача інфекції може відбуватися значно більш тривалий період, часто протягом декількох тижнів, за рахунок виділення вірусу з фекаліями.

Після попадання вірусу в рот йде його розмноження спочатку в **лімфоїдній тканині** мигдалин або Пейєрових бляшок тонкої кишки і потім в регіональних лімфатичних вузлах, наприклад, шийних і кишкових. В летальних випадках, при раптовій смерті, виявляються набряклі і запалені Пейєрові бляшки і кишкові лімфовузли, які містять великі кількості вірусу.

Вірус поступає в кров і потім в **центральну нервову систему** безпосередньо або після розмноження в лімфоїдній тканині. Паралітичний ефект поліовірусу пов'язаний з поразкою рухових нейронів в передніх рогах спинного мозку або бульбарних центрах. Фаза віремії знаменує кінець інкубаційного періоду і проявляється лихоманкою і симптомами загальної інтоксикації. Після періоду близько 48 год відносно доброго стану (захворювання двофазне) вірус проникає в нервову тканину і потім, у важких випадках з'являються ознаки паралічу.

Ентеровіруси володіють літичною дією і знищують інфіковану клітку за декілька годин або днів.

ЕСНО- і Коксаки-вірусні інфекції епідеміологічно подібні поліомієліту, хоча немає доступних вакцин для профілактики цих інфекцій. Серотипів цих вірусів існує набагато більше, і, хоча імунітет створюється до кожного типу вірусу, послідовні хвилі інфекції з переважаючим типом розвиваються з інтервалом в 1 або декілька років. Більшість інфекцій виявляється у дітей, часто як спалахи в дитячих садах і яслах. Захворювання у дорослих можуть бути спорадичними в результаті зараження при контакті з дітьми.

Імунітет. Після перенесеної інфекції розвивається тривалий імунітет. Віруснейтралізуючі антитіла формуються рано протягом хвороби (часто до 7-го дня) і зберігаються протягом декількох десятиріч.

Лікування. Специфічної терапії ентеровірусних інфекцій немає.

Профілактика.

Активна імунізація проти поліовірусної інфекції може проводитися:

1. Інактивованою поліомієлітною вакциною (Солка)
2. Живою ослабленою поліомієлітною вакциною (Себіна).

ДНК-геномні віруси

До ДНК-вірусів відносяться наступні сімейства: аденовіруси, герпесвіруси, папіломавіруси, парвовіруси, поксвіруси і вірус гепатиту В, який розглядається в темі вірусні гепатити.

Аденовіруси (Adenoviridae) містять лінійну дволанцюгову ДНК та мають ікосаедричний капсид, безоболонкові. Існує близько 100 серотипів аденовірусу, 52 з них здатні викликати захворювання у людини, найчастіше перші 7 серотипів. Аденовіруси діляться на 7 серогруп (А-Г). Зазвичай аденовіруси викликають ГРВІ (близько 5% інфекцій в дитячому віці), деякі серотипи викликають епідемічний кератокон'юнктивіт (8, 9, 11, 19, 35, 37 типи), гострий геморагічний цистит (11, 21 типи), гастроентерит (40, 41 типи).

Будова і розмноження аденовірусів.

Дволанцюговий лінійний ДНК-геном аденовірусів складається з 30-40 генів. Ікосаедричний капсид вірусу діаметром 70-90 нм складається з 252 капсомеров, в основному шестикутної форми - гексонів. 12 пентонів знаходяться на вершинах капсида, від них відходять фібрили, на яких розташовуються білки адгезії вірусу.

Культивування аденовірусів.

Краще всього вирощувати аденовіруси в культурах епітеліальних клітин - наприклад первинних ембріональних клітинах нирок людини, перещеплюваних клітинних лініях HELA, епідермальної карциноми людини. На це потрібно в середньому 6 днів. Розмноження вірусу викликає округлення і збільшення клітин, вони відриваються від поверхні, на якій росли, і збиваються в грона. При цьому можна виявити при фарбуванні внутрішньоядерні включення.

Епідеміологія і патогенез аденовірусних інфекцій.

Аденовіруси здатні вражати клітини епітелію верхніх і нижніх дихальних шляхів, кон'юнктиви, кишечника, сечового міхура і нирок. Первинно вірус вражає верхні дихальні шляхи і кон'юнктиву, потім поширюється в регіонарні лімфовузли і кишківник. На цьому у імункомпетентних людей поширення інфекції припиняється, однак при імунodefіциті вірус може викликати пневмонію, гепатит і менінгоенцефаліт.

Аденовіруси поширені повсюдно, циркулюють протягом року, хоча захворюваність вища в осінньо-зимовий період. Більшість захворювань викликається респіраторними штамами 1, 2, 3, 5 і 7 і кишковими 40, 41. Передача відбувається аерогенним, контактним (прямий і непрямий), і фекально-оральним шляхом. Інфекція очей зазвичай заноситься брудними руками. Інкубаційний період в середньому триває 5-6 днів, в окремих випадках до 3 тижнів. Зазвичай вірус викликає симптоми ГРВІ, найбільш характерним вважається наявність фарингіту, риніту (риносинуситу) і кон'юнктивіту. Аденовіруси 40, 41 типів навпаки викликають виражений ентероколіт і діарею та передаються переважно фекально-оральним шляхом. Симптоми ГРВІ та лихоманка часто можуть бути відсутні. Це типові збудники ентериту в ранньому дитячому віці. Епідемічний кератокон'юнктивіт викликається 8, 9, 11, 19, 35, 37 типами вірусу, передається в основному через рушники, умивальники, раковини і басейни. Протікає близько 2 тижнів, може залишати помутніння рогівки, які розсмоктуються близько 2 років. Аденовіруси 11, 21 типів викликають геморагічний цистит, частіше у хлопчиків.

Інфекція викликає формування напруженого довічного типоспецифічного імунітету.

Для діагностики в досліджуваному матеріалі і тканинах використовуються ПЛР, ІФА і РІФ для виявлення вірусу і визначення серогрупи та серотипу. Можна використовувати вірусологічний метод, однак для достовірної інтерпретації матеріал повинен бути з місця ураження при хворобі. Визначення антитіл використовується тільки при епідеміологічних дослідженнях.

Специфічного лікування немає, зазвичай використовуються препарати інтерферону і його індуктори. При важких загрозливих для життя станах можна використовувати рибавірин і цидофовір.

Герпесвіруси (Herpesviridae).

Герпесвіруси – важлива група великих ДНК-вірусів, що мають суперкапсид і взагалі подібні за морфологією, шляхами реплікації і здатністю викликати персистуючі та рецидивні інфекції. Вони діляться на 3 підродини, які включають 8 видів герпесвірусів людини: α -герпесвіруси включають в себе 1, 2, 3 типи - вірус простого герпесу (ВПГ) 1 типу, ВПГ-2 і вірус вітряної віспи

(varicella-zoster virus, VZV); β -герпесвіруси включають цитомегаловірус (5 тип) і ВГ 6 і 7 типів; γ -герпесвіруси представлені вірусом Епштейна-Бар (4 тип) і ВГ 8 типу.

Структура і життєвий цикл герпесвірусів.

Герпесвіруси – це великі оболонкові віруси, розмірами 150 нм, містять лінійну дволанцюгову ДНК. Вона упакована в ікосаедральний капсид з 162 капсомерів. Навколо капсида є суперкапсид, що містить глікопротеїни. Кілька їх різновидів служить для прикріплення, проникнення в клітину і протидії імунній відповіді. У просторі між капсидом і суперкапсидом, що зветься тегумент, знаходяться вірусні білки, що беруть участь в реплікації (прикріплені до капсиду). Загалом, стосовно всіх герпесвірусів життєвий цикл виглядає так: адсорбція вірусу на клітині, злиття суперкапсиду з мембраною призводить до виходу капсида в цитоплазму. Далі капсид транспортується в ядро, де відбувається роздягання і починається транскрипція ДНК. Вірусний геном транскрибується клітинними ДНК-залежними РНК-полімеразами і регулюється вірусними і клітинними ядерними білками. Від взаємодії цих факторів залежить який тип інфекції відбудеться - латентна, персистуюча або літична.

Властивості герпесвірусів.

Під родина	Вірус	Первинні клітини-мішені	Місце латентної інфекції	Шлях передачі
α-герпесвіруси				
ВГ-1	Вірус простого герпесу 1 типу	Мукоепітеліальні клітини	Нейрон	Тісний контакт, статевий
ВГ-2	Вірус простого герпесу 2 типу	Мукоепітеліальні клітини	Нейрон	Тісний контакт, статевий
ВГ-3	Вірус вітряної віспи	Мукоепітеліальні клітини і Т-лімфоцити	Нейрон	Аерогенний, тісний контакт
β-герпесвіруси				
ВГ-5	Цитомегало-вірус	Моноцити, лімфоцити, гранулоцити, епітеліальні клітини.	Моноцити, мієлоїдні стоволові клітини	Тісний контакт, статевий, гемо-трансфузійний, трансплацентарний, трансплантаційний
ВГ-6	ВГЛ-6	Лімфоцити	Т-лімфо-цити	Зі слиною
ВГ-7	ВГЛ-7	Лімфоцити	Т-лімфо-цити	Зі слиною
γ-герпесвіруси				
ВГ-4	Вірус Епштейн-Бара	В-лімфоцити і епітеліальні клітини	В-лімфоцити	Зі слиною
ВГ-8	Вірус саркоми Капоші	Лімфоцити та інші клітини	В-лімфоцити	Тісний контакт, статевий, зі слиною

Віруси простого герпесу.

ВПГ викликають у людини інфекцію з переважним ураженням шкіри, слизових оболонок і нервової системи, характеризуються довічним носійством та періодичними рецидивами. Віруси

простого герпесу вражають більшість клітин людини. Вірус викликає літичну інфекцію епітеліальних клітин і фібробластів та латентну інфекцію в нейронах. Час генерації вірусу становить від 8 до 16 годин.

Патогенез.

Патогенез інфекцій ВПГ-1 і 2 подібний. Обидва віруси передаються контактним шляхом, первинно заражають мукоепітеліальні клітини, викликають ураження на місці проникнення і потім спричиняють латентну інфекцію іннервуючих нейронів. ВПГ 2 більш схильний до розвитку вірусемії з грипоподібними симптомами. Вірус спричинює літичну інфекцію через порушення синтезу макромолекул в клітині, деградацію клітинної ДНК, руйнування цитоскелету. Вірус розмножується на місці проникнення, інфікує іннервуючі нейрони і шляхом ретроградного аксонального транспорту потрапляє в ганглії (ВПГ-1 в ганглії трійчастого нерву, а ВПГ-2 в сакральні ганглії), де довічно персистує. Т-кілери і γ -інтерферон важливі для підтримки вірусу в латентному стані. При реактивації вірус повертається з нейронів в первинне місце інфекції, де викликає рецидив.

Нерідко спостерігається безсимптомна реактивация, при якій немає проявів, але є виділення вірусу. При недостатності клітинного імунітету герпес рецидивує, протікає важче, схильний до генералізації з ураженням печінки та інших органів, і особливо головного мозку. Латентна інфекція нейронів протікає без їх пошкодження. Різні пускові чинники спричиняють реактивацію герпесу (стрес, травма, лихоманка, сонячне світло). При цьому активується продукція віріонів в клітині нервового ганглія і / або слабшає клітинний імунний контроль, вірус по нерву транспортується до місця минулої первинної інфекції, де викликає рецидив. Наявність антитіл не запобігає йому, але рецидиви зазвичай перебігають легше і заживають швидше завдяки наявності Т клітинної пам'яті.

Завдяки довічному носійству і безсимптомним рецидивам інфікована людина стає постійним потенційним джерелом інфекції. ВПГ передається з секретами слизових оболонок і при контакті. Вірус міститься в слині, вагінальному секреті і везикулах при висипаннях. ВПГ 2 передається в основному статевим шляхом або вагінально при народженні дитини. При первинній інфекції у вагітної висхідним шляхом вражає плаценту і викликає важку внутрішньоутробну інфекцію (входить в число TORCH інфекцій). Інфікованість серед дорослих сягає 40%.

У новонароджених герпетичний енцефаліт призводить до смерті, розумової відсталості, парезів, паралічів незважаючи на проведенне лікування, тому дуже небезпечний. За наявності рецидивуючого генітального герпесу у матері пологи проводяться шляхом планового кесаревого розтину.

Діагностика.

В зішкрібі з місця висипання або в біоптатах можна виявити ЦПД, включаючи утворення синцитіїв, «балонуючу» цитоплазму і внутрішньоядерні включення Коудрі типу А. Потім проводиться підтвердження наявності антигенів вірусу за допомогою РІФ або ДНК в ПЛР.

При генералізованій інфекції за допомогою ПЛР визначають ДНК вірусу в крові, при енцефаліті - ДНК в спинномозковій рідині. Можливо виділення вірусу з рідини везикул на клітинах HELA, людських ембріональних фібробластах та ін. Вірус розмножується протягом 1-3 днів, характер ЦПД описаний вище. Серологічна діагностика використовується тільки для визначення первинної інфекції (IgM до ВПГ 2, проводиться при обстеженні вагітних).

Лікування і профілактика.

Більшість ліків від герпесу є аналогами нуклеотидів, активуються вірусною тимідин кіназою тільки в клітинах, уражених герпесом і пригнічують роботу вірусної ДНК полімерази. Прототипом ліків цієї групи є ацикловір. Подібний механізм дії і поліпшену фармакокінетику мають валцикловір, фамцикловір і пенцикловір.

Вірус вітряної віспи. (Varicella Zoster virus, VZV).

VZV спричиняє вітряну віспу при первинній інфекції і оперізуючий лишай при рецидивах. Як α -герпесвірус VZV схожий на ВПГ тим, що викликає латентну інфекцію нейронів і рецидивуюче захворювання, пухирцеві ураження на шкірі, має тимідин кіназу і чутливий до тих же препаратів, клітинний імунітет має вирішальне значення для запобігання тяжким інфекціям і рецидивам. Реплікація VZV відбувається аналогічно ВПГ, але повільніше, вірус здатний інфікувати меншу кількість типів клітин. Зараження відбувається зазвичай аерогенним шляхом, рідше при контакті з рідиною пухирців висипу. Вірус розмножується в клітинах слизової оболонки носоглотки і мигдаликів, заражає Т-лімфоцити. З ними вірус розноситься в лімфовузлах, печінку і селезінку, там розмножується. Потім рециркулюючи Т-лімфоцити поширюють вірус по всьому організму, у тому числі до клітин шкіри і легенів, здатних виробляти інфекційні віріони. Розмноження вірусу в легенях - це основне джерело зараження оточуючих. VZV також інфікує іннервуючі шкіру нейрони і довічно персистує в задніх корінцях спинного мозку. Часто вірус вражає тільки один корінець. При рецидиві оперізуючий герпес висипає в зоні іннервації цього корінця.

Через багато років після інфікування ослаблення клітинного імунітету і падіння рівня захисних антитіл може призвести до оперізуючого лишая.

Епідеміологія.

VZV дуже контагіозний і викликає захворювання у 90% контактних осіб. Розповсюджується переважно аерогенним шляхом, зараження також можливо при контакті зі шкірними висипаннями. Інфіковано понад 90% населення. Оперізуючий лишай зустрічається у 10-20% населення, висипання містять вірус і при контакті з хворівшими людьми викликають вітряну віспу.

Клініка.

Вітряна віспа – це одна з класичних дитячих екзантем. У дітей перебіг зазвичай легкий. Важкі прояви можуть бути у новонароджених і дорослих. Інкубаційний період триває в середньому 14 днів (10-21 день). З'являється плямисто-папульозний червоний висип на шкірі. Потім багато елементів еволюціонують в пухирці, пустули і кірочки. Через кілька днів кірочки відпадають без утворення рубців. Висип продовжується звичайно протягом 4-5 днів, поширюється зверху вниз, еволюція елемента займає 2-3 дні, тож у хворого на 3 день зустрічаються елементи висипу на всіх стадіях розвитку. Небезпечним ускладненням є вірусна пневмонія, без лікування досить вірогідний летальний кінець. У новонароджених і ослаблених людей VZV може викликати генералізовану інфекцію з ураженням печінки, легенів і мозку зі смертельними наслідками.

При оперізуючому лишаї з'являються висипання на шкірі, які нагадують вітряну віспу, на ділянці дерматому, який іннервується ураженим заднім корінцем. Найчастіше вражаються корінці грудних і поперекових сегментів, тому висипання виглядають оперізуючими. Реплікація вірусу в нейроні призводить до його серйозного пошкодження і викликає сильний біль, який з'являється перед висипкою і триває довго, часто формується постгерпетична невралгія, що триває багато місяців і вимагає окремого лікування.

Лабораторна діагностика.

ЦПД VZV нагадує ВПГ, в тому числі внутрішньоядерні включення Коудрі та утворення синцитіїв. Для постановки діагнозу зазвичай використовують ПЛР, або визначають антигени вірусу в зішкрібі за допомогою РІФ. Антитіла до вірусу визначають тільки в рамках епідеміологічних досліджень. Виділення вірусу зазвичай не проводиться.

Лікування і профілактика.

Зазвичай лікування при вітряній віспі симптоматичне - антигістамінні препарати і місцеві антисептики для профілактики вторинної інфекції. При необхідності застосовуються ті ж ліки, що і при герпесі, але у більших дозах через знижену чутливість вірусної ДНК полімерази. Оперізуючий лишай вимагає обов'язкового лікування. Для профілактики після 2 років використовується жива ослаблена вакцина. Її застосовують 2-кратно. Можливо її застосування для профілактики у контактних осіб протягом 3 діб після контакту одноразово. Для новонароджених та імунодефіцитних хворих застосовується людський імуноглобулін проти VZV. Введений протягом 4 діб після контакту він запобігає хворобі. Імуноглобулін неефективний для лікування у таких пацієнтів.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекції: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекції:

Проблемне питання: «РНК-віруси мають набагато вищу частоту мутацій (приблизно 10^{-3} – 10^{-4} на нуклеотид на цикл реплікації), ніж ДНК-віруси (приблизно 10^{-9} – 10^{-10}), оскільки їхні РНК-залежні полімерази мають дуже низьку точність копіювання. Як це об'єднана на здатність РНК-вірусів формувати нові варіанти та швидко адаптуватися до нових господарів, та чому розробка універсальних вакцин проти грипу залишається однією з найскладніших проблем вірусології?»

Клінічне питання: «Пацієнт з орофарингеальним раком припускається, що його захворювання асоційоване з інфекцією ВПЛ високого онкогенного ризику (тип 16 або 18). Як розуміння механізмів онкогенної дії ВПЛ (інтеграція вірусного геному в геном господаря, продукція онкобілків Е6 та Е7, інактивація пухлинних супресорів) та ролі вакцинації у профілактиці таких раків впливає на рекомендації щодо вакцинації та динамічної диспансеризації при діагностованій ВПЛ-інфекції?»

Питання для роздумів: «Вакцини проти вірусу грипу потребують щорічної ревакцинації через антигенний дрейф та періодичний антигенний зсув, тоді як вакцина проти поліомієліту розраховується забезпечити довгострокову або пожиттєву імунітет. Як розуміння біології РНК-та ДНК-вірусів та їхніх стратегій епідемічної поведінки та еволюції допомагає розробити оптимальні схеми вакцинації та прогнозувати ефективність вакцин?»

Епідеміологічне питання: «Пандемія COVID-19, спричинена РНК-вірусом SARS-CoV-2, продемонструвала, наскільки швидко новий вірус може поширюватися глобально. Як розуміння механізмів передачі (повітряно-крапельні, аерозольна), часу від інфікування до появи симптомів (інкубаційний період) та можливості бессимптомної передачі впливає на розробку та реалізацію ефективних контрепідемічних заходів?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Дайте визначення РНК-вмісних вірусів та основних родин, що мають медичне значення.
2. Охарактеризуйте пікорнавіруси: будова, тип геному, перелік видів та клінічного значення.
3. Назвіть основні представників пікорнавірусів.
4. Опишіть поліомієліт: патогенез, неврологічні прояви, парези та паралічі, летальність.
5. Охарактеризуйте ентеровіруси як причину різноманітних захворювань (менінгіти,

кон'юнктивіти, висипи).

6. Дайте визначення риновірусів та розповсюджених простудних захворювань, спричинених ними.

7. Назвіть основні родини РНК-вмісних оболонкових вірусів та їхні характеристики.

8. Опишіть ортоміксовіруси (вірус грипу А, В, С): сегментований геном, реасортимент, антигенний дрейф та зсув.

9. Охарактеризуйте пандемії грипу та їх причини (антигенний зсув, нові штами зутварин).

10. Дайте визначення параміксовірусів та основних представників (кір, епідемічний паротит, парагрип).

11. Назвіть клінічні прояви кіру та його можливих ускладнень (пневмонія, енцефаліт).

12. Опишіть епідемічний паротит (свинка): ураження слинних залоз, можливість ураження гонад та ЦНС.

13. Охарактеризуйте коронавіруси: мінливість, пандемія COVID-19, клінічні форми.

14. Дайте визначення SARS-CoV-2 та механізмів вірусно-індукованого запалення при важких формах COVID-19.

15. Назвіть основні буніавіруси та асоційовані з ними захворювання (Крим-Конго гемороагічна лихоманка).

16. Опишіть арбовіруси та хвороби, спричинені ними (денге, жовта лихоманка, західний нільський вірус).

17. Охарактеризуйте ретровіруси та їхню роль у розвитку хронічних інфекцій та злоякісних новоутворень.

18. Дайте визначення основних ДНК-вмісних вірусів та основних родин, що мають медичне значення.

19. Назвіть основні представники герпесвірусів.

20. Опишіть ГВЛ-1 та розвиток герпетичного стоматиту: первина та рецидивуючі форми, латентність у невронах.

21. Охарактеризуйте ГВЛ-3 та ветрянку та опоясувальний лишай: латентність, реактивація.

22. Дайте визначення цитомегаловірусу (ГВЛ-5) та його клінічного значення для імуносупресованих пацієнтів.

23. Назвіть основні представники аденовірусів та їхнього клінічного значення.

24. Опишіть папіломавіруси: типи з низьким та високим онкогенним ризиком, роль у розвитку раків.

25. Охарактеризуйте ПВЛ 16 та 18 як причини орофарингеальних раків та вакцинацію проти ПВЛ.

26. Дайте визначення Епштейна-Барр вірусу (ГВЛ-4) та інфекційного моновірусозу.

27. Назвіть зв'язок ГВЛ-4 з розвитком назофарингеального раку та лімфом.

28. Опишіть гепаднавіруси на прикладі вірусу гепатиту В: структура, реплікація, хронізація.

29. Охарактеризуйте парвовіруси та клінічне значення (еритема інфекційна, арталгія).

30. Назвіть основні принципи вакцинопрофілактики РНК- та ДНК-вмісних вірусів та глобальні програми ліквідації.

Список джерел до теми:

Основні:

1. Широбоков В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.

2. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.

Додаткові:

3. Knipe D.M., Howley P.M. Fields virology. Lippincott Williams & Wilkins, 2013, 6th ed.: 1-2300.

4. Ndiaye C., Mena M., Alemany L., et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. Lancet Oncology, 2014, 15(12): 1319-1331.

ЛЕКЦІЯ **«РЕТРОВІРУСИ. ОНКОВІРУСИ. ВІРУСИ ГЕПАТИТІВ. ВІРУС ІМУНОДЕФІЦИТУ ЛЮДИНИ»**

Актуальність теми: Ретровіруси (передусім ВІЛ), онкогенні віруси та віруси гепатитів є глобальною проблемою охорони здоров'я з вагомими наслідками для стоматологічної практики. Для лікаря-стоматолога ці інфекції важливі як з точки зору професійного ризику зараження (ВІЛ, ВГВ, ВГС при контакті з кров'ю та слиною), так і щодо особливостей ведення пацієнтів із хронічними вірусними інфекціями. ВІЛ-інфіковані пацієнти часто мають опортуністичні ураження порожнини рота (кандидоз, герпес, волоста лейкоплакія), що може бути першим клінічним проявом імунодефіциту. Хронічні гепатити впливають на вибір медикаментів, режим дозування препаратів та план комплексного лікування. Онкогенні віруси (ВІЛ, ГВЛ-4, ВГВ) асоційовані з розвитком пухлин голови та шиї, які нерідко вперше виявляються під час стоматологічного огляду. Розуміння патогенезу ВІЛ-інфекції, механізмів розвитку імунодефіциту та ролі новітньої антиретровірусної терапії дозволяє стоматологу адекватно оцінювати ризики та надавати якісну допомогу цій вразливій категорії пацієнтів. Знання про механізми постконтактної профілактики критично важливе для безпеки медичного персоналу. Сучасна проблема антибіотикорезистентності ВІЛ та резистентності вірусів гепатитів до противірусних препаратів вимагає від лікаря розуміння складності ведення таких пацієнтів.

Мета:

Навчальна мета:

- Ознайомити здобувачів з будовою та реплікацією ретровірусів, механізмами зворотної транскрипції, інтеграції вірусного геному в геном господаря, формуванням латентної та персистентної інфекції, особливостями генетичної мінливості.
- Пояснити механізми вірус-індукованого онкогенезу (трансформація, інтеграція геному, вірусні онкобілки, інактивація пухлинних супресорів), роль різних онкогенних вірусів (ВІЛ, ГВЛ-4, ВГВ, ГВЛ-8, HTLV-1) у розвитку пухлин, включаючи орофарингеальні раки.
- Розкрити характеристики вірусів гепатитів (А, В, С, D, E), їхніх типів геному, шляхів передачі, механізмів патогенезу, розвитку хронічних форм, ускладнень (цироз, гепатоцелюлярна карцинома), тестів для діагностики.
- Сформувати знання про патогенез ВІЛ-інфекції (реплікативний цикл, пошкодження CD4+ Т-клітин), клінічні стадії (від гострої інфекції до СНІДу), опортуністичні інфекції порожнини рота, принципи антиретровірусної терапії, особливості ведення ВІЛ-позитивних пацієнтів у стоматолога.

Виховна мета:

- Виховувати відповідальне ставлення до профілактики професійного зараження ВІЛ та вірусами гепатитів, дотримання інфекційного контролю та постконтактної профілактики.
- Розвинути емпатію, толерантність та неупереджене ставлення до пацієнтів з ВІЛ-інфекцією та хронічними вірусними гепатитами, розуміння їхніх медичних та соціальних потреб при наданні стоматологічної допомоги.

Основні поняття (перелік питань):

Ретровіруси – РНК-віруси, що реплікуються через ДНК-проміжник завдяки зворотній транскриптазі (ревертазі)

Структура геному: два ідентичних ланцюги +ssRNA, гени gag (структурні білки), pol (зворотна транскриптаза, інтеграза, протеаза), env (оболонкові глікопротеїни), регуляторні гени

Цикл реплікації: прикріплення та злиття з клітинною мембраною, зворотна транскрипція РНК в ДНК (за участю зворотної транскриптази та тРНК-праймера), інтеграція провірусної ДНК у геном клітини-господаря (за участю інтегрази), транскрипція провірусу клітинною РНК-

полімеразою II, трансляція вірусних білків, складання та брунькування через плазматичну мембрану, дозрівання (протеолітичне розщеплення білків вірусною протеазою)

Інтеграція провірусу – напіввправномірна, переважно в транскрипційно активні, CpG-багаті регіони геному

Диверсифікація: висока частота помилок зворотної транскриптази, рекомбінація між двома геномними РНК, що призводить до високої мінливості

Онковіруси – віруси, що індукують пухлини

ДНК-онковіруси: папіломавіруси (ПВЛ), віруси Епштейна-Барр (ГВЛ-4), гепатиту В (ГВВ), герпесвірус саркоми Капоші (ГВЛ-8)

РНК-онковіруси: HTLV-1 (Т-клітинний лейкоз/лімфома)

Механізми онкогенезу: інактивація білків-супресорів пухлин (p53, Rb), експресія онкобілків, інсерційний мутагенез, хронічне запалення

Віруси гепатитів:

Гепатит А (ВГА) – пікорнавірус, +ssRNA, фекально-оральний шлях, гостра інфекція

Гепатит В (ГВВ) – гепаднавірус, частково двониткова ДНК, зворотна транскриптаза, парентеральний шлях, хронізація, цироз, гепатоцелюлярна карцинома

Гепатит С (ВГС) – флавівірус, +ssRNA, парентеральний шлях, висока хронізація

Гепатит D (ВГД) – дефектний РНК-вірус, потребує HBV як помічник

Гепатит E (ВГЕ) – калицивірус, +ssRNA, фекально-оральний шлях

Вірус імунodefіциту людини (ВІЛ):

Типи: ВІЛ-1 (пандемічний) та ВІЛ-2 (переважно в Західній Африці)

Структура: два +ssRNA геноми, капсид, матриксні білки, суперкапсид з глікопротеїнами gp120/gp41

Генетична організація: gag, pol, env, регуляторні гени (tat, rev, nef, vif, vpr, vpu/vpx)

Тропізм: CD4+ Т-лімфоцити (основна мішень), макрофаги, дендритні клітини; корецептори CCR5 (М-тропні штами) та CXCR4 (Т-тропні штами)

Патогенез: прогресивне зниження кількості CD4+ Т-клітин, порушення клітинного імунітету, розвиток опортуністичних інфекцій та пухлин (СНІД)

Діагностика: ІФА (виявлення антитіл), вестерн-блот (підтвердження), ПЛР (визначення вірусного навантаження)

Особливості: висока мутабельність (висока помилковість зворотної транскриптази), рекомбінація між геномами, формування квазівидів, антигенна варіабельність (перешкода для вакцинації)

HTLV-1 – ретровірус, що викликає Т-клітинний лейкоз/лімфому дорослих, тропічний спастичний парепарез

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

«РЕТРОВІРУСИ. ОНКОВІРУСИ. ВІРУСИ ГЕПАТИТІВ. ВІРУС ІМУНОДЕФІЦИТУ ЛЮДИНИ»

ВІРУСИ ГЕПАТИТІВ

Термін «вірусний гепатит» відноситься до первинної інфекції печінки будь-яким представником різномірної групи «вірусів гепатиту», яка в даний час полягає з вірусів гепатиту типів А, В, С, D, E і G (таблиця 1), а також нових TTV та SenV. Єдина загальна властивість вірусів гепатиту - їхній первинний гепатотропізм. До речі, гепатит може розвиватися при інфекції багатьма іншими вірусами, наприклад, вірусом жовтої лихоманки, лихоманки Ласса, Марбурга,

вірусами Епштейна-Барра, цитомегалії, простого герпесу, вітряної віспи, кору, краснухи або Коксакі, але ці процеси не включаються в категорію вірусного гепатиту.

Таблиця 1. ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНИХ ЗБУДНИКІВ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТІВ ЛЮДИНИ

Властивості	ВГА	ВГВ	ВГС	ВГД	ВГЕ	ВГГ
Сімейство	<i>Picornaviridae</i>	<i>Hepadnaviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>	<i>Deltaviridae</i>	<i>Hepeviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>
Вид	<i>Hepatitis virus a</i>	<i>Orthohepadnavirus hominoides</i>	<i>Hepatitis virus hominis</i>	<i>Deltavirus spp.</i>	<i>Parvovirus heparis</i>	<i>Pegivirus hominis</i>
Суперкапсид	ні	так (HBsAg)	так	так (HBsAg)	ні	так
Клас за Балтімором	IV	VII	IV	V	IV	IV
Генотипи	4	8	11	3	4	7
Початок	раптово	підступний*	підступний*	раптово	раптово	-
Шлях передачі: фекально-оральний статевий гемотрансфузійний вертикальний	так дуже рідко рідко	ні так так так	ні рідко так	ні так так	так ні ні	ні так так так
Інкубаційний період (дні)	15-45 (30)	30-180 (60-90)	15-160 (50)	30-180 (60-90)	14-60 (40)	-
Блискавична форма	0,1%	0,1-1%	0,1%	5-20%	1-2% 20-40% (вагітні)	-
Носійство	ні	0,1-30%	1,5-3,2%	мінлива	ні	-
Хронізація	ні	5-15%	70-80%	2-7%	ні	-
Онкогенність	ні	так	так	так	ні	-
Вакцинація	так	так	ні	так (вакцина від ВГВ)	ні	-

ГЕПАТИТ ТИПУ А

Гепатит типу А зустрічається, головним чином, у дітей і молодих осіб. Вірус попадає в організм через рот і розмножується в епітелії кишечника перш, ніж досягає печінки гематогенним шляхом. Він виділяється з фекаліями протягом останніх днів інкубаційного періоду і продромальної фази хвороби. Після розвитку жовтяниці вірус рідко виявляється у фекаліях. Вірус є присутнім в крові протягом короткого періоду під час переджовтяничної стадії, але звичайно зникає, коли розвивається жовтяниця. Він може іноді присутній в сечі і слині.

Вірус А Гепатиту (HAV)

HAV – безоболонковий вірус, що містить РНК-, розміром 27 нм, має кубічний тип симетрії. На відміну від ентеровірусів, HAV не викликає цитопатичних змін в культурах клітин. Вірус гепатиту А в даний час належить до нового роду - **Hepavirus** у складі сімейства *Picornaviridae*. Існує тільки один серотип цього вірусу.

Клінічні особливості. Більшість захворювань протікає безсимптомно. Явна форма захворювання розвивається приблизно у 5 відсотків інфікованих. Інкубаційний період - 2-6 тижнів. Маніфестні форми захворювання складаються з двох стадій, продромальної або переджовтяничної стадії і стадії жовтяниці. Початок може бути гострим або непомітним з лихоманкою, нездужанням, відсутністю апетиту, нудотою, блювотою і хворобливістю печінки. Ці прояви звичайно зникають з початком жовтяниці. Одужання йде поволі, протягом 4-6 тижнів. В деяких випадках розвивається фатальний блискавичний гепатит. Хвороба протікає менш важко у дітей, у яких більшість захворювань є безжовтяничними. Летальність є невисокою, в межах від 0,1 до 1 відсотка, більшість летальних результатів буває у дорослих.

Наявність вірусу у фекаліях є основним чинником розповсюдження захворювання. Вірус зберігається в природі шляхом послідовної фекально-оральної передачі від людини до людини. Інфекція легко виникає в умовах недостатньої санітарії і перенаселеності.

Вірус може бути інактивованим адекватним хлоруванням води, але хлорування не може бути ефективним у присутності забруднення органічними речовинами.

Кров пацієнтів у фазі віремії заразна і дуже рідко може відбуватися парентеральна передача інфекції. Трансплацентарна передача вірусу не спостерігається. Епідеміологія гепатиту типу А схожа з епідеміологією поліомієліту. В Індії, гепатит типу А – найчастіша причина гострого гепатиту у дітей, але значно рідше буває у дорослих.

Лабораторна діагностика

Лабораторна діагностика майже для всіх вірусних гепатитів є однаковою:

1. Демонстрація вірусу:

- Імунна електронна мікроскопія;
- ІФА для визначення вірусних антигенів;
- ПЛР на нуклеїнові кислоти – якісне та вірусне навантаження;
- Ізоляція – переважно не виконується.

2. Виявлення антитіл:

- ІФА, РІА, імуноблоти (антитіла IgM та IgG до капсидних антигенів, виключення - вірус гепатиту В (HBV), де визначаються антитіла до HBs- та HBe антигенів, детально обговоримо в розділі гепатит В)

3. Біохімічні дослідження:

- АЛТ, АСТ, лужна фосфатаза, білірубін прямий і непрямий.

Профілактика. Оскільки хвороба передається фекально-оральним шляхом, загальна профілактика полягає в дотриманні санітарних норм і запобіганні фекального забруднення продовольчих продуктів і води. Ефективна пасивна імунізація імуноглобуліном людським нормальним. Застосовується також безпечна і ефективна інактивована формаліном проти НАV. Вона вводиться двократно з інтервалом 2 - 4 тижнів.

Лікування симптоматичне. Немає ніяких доказів ефективності противірусних препаратів.

ГЕПАТИТ ТИПУ В (HBV)

Морфологія. Морфологія вірусу гепатиту В (HBV) характеризується наявністю **віріона** (інфекційної частинки Дейна) діаметром 42 нм з ліпідною оболонкою та ікосаедричним **нуклеокапсидом**, всередині якого містяться кільцева вірусна ДНК та фермент ДНК-полімераза;

також існують неінфекційні надлишкові сферичні та ниткоподібні форми, що складаються лише з поверхневого антигену (HBsAg). Це один із найменших оболонкових вірусів тварин, що належить до родини [Hepadnaviridae](#).

Клінічні особливості. Інкубаційний період гострої інфекції HBV становить приблизно 12 тижнів, більшість пацієнтів мають легку форму хвороби, яка самообмежується протягом 6 місяців - менше ніж у 1% розвивається фульмінантна печінкова недостатність;

Продромальний період характеризується симптоми анорексії, нездужання та втоми, які є найпоширенішими початковими клінічними симптомами. Деякі пацієнти можуть відчувати біль у правому верхньому квадранті через запалення печінки. У невеликого відсотка пацієнтів спостерігається лихоманка, артралгії або висип. Як тільки ці пацієнти переходять до гострої фази, у них розвивається жовтяниця і болюча гепатомегалія, сеча темного кольору і бліді випорожнення.

Після жовтяниці клінічний перебіг може бути варіабельним, коли у деяких пацієнтів спостерігається швидке покращення симптомів. На противагу цьому, в інших розвивається затяжний перебіг хвороби з повільним одужанням і періодичними загостреннями. У невеликої кількості пацієнтів спостерігається швидке прогресування хвороби, що може призвести до фульмінантної печінкової недостатності протягом декількох днів або тижнів. Після того, як гостра інфекція минає, у більшості дорослих пацієнтів і невеликого відсотка інфікованих немовлят виробляються антитіла проти HBsAg, і вони повністю одужують, однак у невеликого відсотка дорослих пацієнтів і більшості інфікованих немовлят розвивається хронічна інфекція. Приблизно від 10% до 30% носіїв проявляють симптоми хронічної інфекції. Вони також можуть мати позапечінкові прояви захворювання. Приблизно у 20% хворих на хронічний гепатит розвивається цироз і печінкова декомпенсація, а у 5% - гепатоцелюлярна карцинома.

Особливості діагностики гострого гепатиту В:

Першим сироватковим маркером, який з'являється у пацієнта з **гострою інфекцією ВГВ**, є HBsAg. Цей антиген вказує на наявність у пацієнта віремії, але не дозволяє відрізнити гостру інфекцію від хронічної, особливо за відсутності симптомів; наявність HBsAg переконливо свідчить про гостру інфекцію ВГВ, однак це не виключає хронічної інфекції ВГВ з загостренням або суперінфекції. HBsAg зникає приблизно через 6 місяців після гострої інфекції у пацієнтів з самолімітуючим ВГВ. Якщо HBsAg залишається присутнім більше 6 місяців, це свідчить про хронічну інфекцію.

У тих, хто позбувся віремії ВГВ, з'являються антитіла до HBsAg (анти-HBs). Ці антитіла можуть зберігатися протягом усього життя і забезпечують пацієнтам імунітет проти ВГВ.

HBeAg також присутній на ранній стадії інфекції і вказує на те, що вірус активно реплікується. Після того, як реплікація вірусу зменшується, концентрація HBeAg стає невизначуваною, а антитіла до HBeAg (анти-HBe) з'являються і можуть зберігатися в крові протягом невизначеного часу.

Першими антитілами, що з'являються при гострому вірусному гепатиті В є IgM до корового антигену ВГВ HBsAg. Після того, як IgM анти-HBs зникають, впродовж декількох тижнів з'являються IgG анти-HBs, які зазвичай залишаються присутніми протягом усього життя;

Пацієнти з **хронічною інфекцією ВГВ** матимуть позитивний HBsAg. Ці пацієнти можуть бути неактивними носіями ВГВ або мати активний хронічний гепатит. У всіх пацієнтів з хронічною інфекцією ВГВ виявляються анти-HBs. HBeAg може бути або не бути присутнім у

пацієнтів з активним хронічним гепатитом. Якщо він присутній, це свідчить про активну реплікацію вірусу.

Аналогічно, ДНК ВГВ може визначатися або не визначатися, але її високий рівень може вказувати на активний хронічний гепатит. У пацієнтів з хронічною інфекцією ВГВ зазвичай відсутні анти-НВс. Проте наявність анти-НВс з позитивним НВsAg у пацієнтів з хронічною інфекцією ВГВ вказує на те, що антитіла не змогли індукувати вірусний кліренс.

У разі отримання незрозумілих лабораторних результатів, як правило, рекомендується перевірити реплікацію вірусу за допомогою ПЛР.

У вакцинованих проти гепатиту В, виробляються протективні анти-НВс. До складу вакцини входить тільки рекомбінантний НВsAg, тому вакциновані пацієнти не є позитивними на анти-НВс, якщо вони не були попередньо інфіковані вірусним гепатитом В.

ТАБЛИЦЯ 2 - ЛАБОРАТОРНІ МАРКЕРИ ВІРУСНОГО ГЕПАТИТУ В

НВsAg	НВеAg	IgM анти-НВс	сумарні анти-НВс	анти-НВс	анти-НВе	ДНК ВГВ	АЛТ	Інтерпретація
Гострий вірусний гепатит В								
+	+	+	+ / -			+++	Підвищений	Ранній період
		+	+ / -			+	Підвищений	Період вікна
			+	+	+	+ / -	Нормальний	Видужання
Хронічний вірусний гепатит В (позитивний НВsAg більше 6 місяців)								
+	+		+	-	-	+++	Нормальний або незначно підвищений	Імунно-толерантна фаза
+	+		+	-	-	+++	Постійно підвищений	Імунно-активна фаза, позитивний НВеAg
+	-		+	-	+	++	Підвищений	Імунно-активна фаза, негативний НВеAg

Лікування вірусного гепатиту В поділяється на 2 категорії:

Лікування гострого гепатиту В:

Лікування гострого гепатиту В є підтримуючим і подібним до лікування гострого гепатиту А, за винятком випадків, коли наявна більш тяжка інфекція. Медикаментозне лікування слід розглядати для пацієнтів з гострою печінковою недостатністю, тяжким затяжним перебігом (>4 тижнів), з ослабленим імунітетом або з конфекцією іншими вірусами, такими як ВГС або ВГД. У разі призначення терапії, як правило, рекомендують нуклеозидні або нуклеотидні інгібітори зворотної транскриптази. Слід уникати інтерферонотерапії через ризик некрозапалення печінки та погіршення стану печінки, а також через потенційні побічні ефекти.

Лікування хронічного гепатиту В:

Основною метою лікування є пригнічення реплікації вірусу. Це проявляється пригніченням ДНК ВГВ і подальшою втратою НВеAg. Вторинні цілі включають зменшення симптомів і запобігання прогресуванню хронічного гепатиту до цирозу або розвитку гепатоцелюлярної карциноми. Препарати першої лінії включають пегільований інтерферон альфа-2а (ПЕГ-ІФН) або пероральні нуклеозидні або нуклеотидні аналоги. Тривалість лікування (ПЕГ-ІФН) становить 48 тижнів як для НВеAg-позитивного, так і для НВеAg -негативного хронічного гепатиту. Однак

ПЕГ-ІФН має багато побічних ефектів, включаючи грипоподібні симптоми, втому, втрату ваги, аутоімунні захворювання, депресію та пригнічення кісткового мозку, і, як правило, погано переноситься.

Лікування пероральними нуклеозидами або нуклеотидними аналогами (наприклад, тенофовір), як правило, триває протягом невизначеного періоду, оскільки відміна лікування зазвичай призводить до рецидиву. Перевагами перорального лікування є простота прийому, менша кількість побічних ефектів і відмінний профіль безпеки. Пацієнти, яким ПЕГ-ІФН протипоказаний, зазвичай добре переносять ці пероральні препарати. Пероральні нуклеозидні або нуклеотидні аналоги мають потужну противірусну дію, при цьому вірусне пригнічення спостерігається у понад 90% пацієнтів протягом 5 років з подальшою регресією фіброзу.

ГЕПАТИТ ТИПУ С (HCV)

Морфологія вірусу: Вірус гепатиту С (HCV) є оболонковим, дрібним (30-60 нм) РНК-вірусом з родини Flaviviridae, що складається з ліпідної оболонки з глікопротеїнами (E1, E2) та серцевини з одноланцюговою позитивною РНК. Його структура має виступи на поверхні та здатен асоціюватись із ліпопротеїнами, що впливає на його розмір та вигляд під мікроскопом (60-70 нм).

Клінічні особливості. У більшості пацієнтів (80%) гострий гепатит С протікає безсимптомно. У симптомних пацієнтів можуть спостерігатися жовтяниця, нудота, темна сеча та біль у правому верхньому квадранті, зазвичай спостерігається помірне або високе підвищення рівня амінотрансфераз у сироватці крові, у безсимптомних пацієнтів вони можуть залишатися невиявленими. Хоча багато пацієнтів з хронічною інфекцією ВГС мають симптоми, більшість симптомів є неспецифічними і не є наслідком самої інфекції ВГС. Навіть якщо розвивається цироз, багато пацієнтів мають лише неспецифічні симптоми. Іноді у пацієнтів спостерігаються специфічні позапечінкові симптоми (наприклад, кріоглобулінемія, захворювання нирок або специфічні дерматологічні розлади), які безпосередньо пов'язані з інфекцією ВГС.

Гостру інфекцію ВГС слід запідозрити у пацієнтів з клінічними проявами гострого гепатиту або з можливим нещодавнім контактом з ВГС (наприклад, поранення голкою, нещодавнє вживання ін'єкційних наркотиків). Такі пацієнти повинні пройти тестування на наявність РНК ВГС та антитіл до нього в сироватці крові.

Особливості діагностики гострого гепатиту С:

Виявлення РНК ВГС на тлі відсутності анти-ВГС-антитіл (з'являються протягом 12 тижнів після інфікування) зазвичай вважається остаточним доказом гострої інфекції ВГС. Вперше виявлені РНК ВГС чи анти-ВГС-антитіла з документальним підтвердженням негативних результатів тестів протягом попередніх шести місяців також є діагностичним показником гострої інфекції ВГС. За відсутності історії досліджень пацієнта розрізнення між гострою інфекцією ВГС та вперше виявленою хронічною інфекцією не є простим, оскільки в обох випадках пацієнти можуть мати РНК ВГС, антитіла до ВГС та підвищений рівень амінотрансфераз у сироватці. Діагностика гострої інфекції ВГС є важливою, оскільки спонтанний кліренс все ще може відбуватися, схеми лікування можуть відрізнятися від схем лікування хронічної інфекції, а ретельний збір анамнезу може виявити фактори ризику постійної передачі інфекції. Підхід до діагностики гострої ВГС-інфекції дещо відрізняється залежно від клінічної картини: чи є у пацієнта гострий гепатит, чи є у нього явна ознака інфікування ВГС.

Лікування. Лікування гепатиту С проводиться сучасними противірусними препаратами прямої дії (ПППД), які забезпечують ефективність понад 90% і тривалість курсу 8-12 тижнів. Найчастіше застосовують комбінації софосбувіру з даклатасвіром або ледіпасвіром, які діють на всі генотипи, або інші комбіновані схеми, що підбираються лікарем залежно від генотипу вірусу та стану пацієнта. Уряд України закуповує ці інноваційні ліки для безкоштовного лікування пацієнтів, забезпечуючи доступ до лікування та запобігаючи цирозу та раку печінки. ВГС-інфікованих осіб є зниження смертності від усіх причин та печінково-асоційованої захворюваності (наприклад, термінальної стадії захворювання печінки, гепатоцелюлярної карциноми), що досягається шляхом вірусологічного виліковування.

Без противірусної терапії пацієнти, інфіковані ВГС, або спонтанно очищаються від вірусу, або розвивається хронічна інфекція. Спонтанне зникнення гострої інфекції ВГС може спостерігатися у 15-50% пацієнтів. Пацієнтам, у яких, як видається, РНК ВГС очистилася, слід пройти подальше визначення РНК ВГС, щоб переконатися, що кліренс був стійким (тобто, щонайменше два негативні тести на РНК ВГС з інтервалом не менше 12 тижнів і не менше 6 місяців після передбачуваної дати контакту з хворим).

ГЕПАТИТ ТИПУ D (HDV)

Морфологія вірусу: Вірус гепатиту D (HDV) належить до родини **Deltavirus** (рід Delta), але він унікальний тим, що є дефектним РНК-вірусом (подібним до віроїдів), який **потребує вірусу гепатиту В (HBV)** (**HBsAg-білка для своєї оболонки**) для реплікації та передачі, тому він може інфікувати людей лише **одночасно з вірусом гепатиту В** або після нього, викликаючи важчі форми захворювання печінки, ніж сам гепатит В.

HDV — це сферичний вірус, діаметром близько 36 нм, з РНК-геномом та білком HDAg, інкапсульованим в оболонку з HBsAg (поверхневого антигену ВГВ). Повний цикл реплікації HDV залежить від HBV, який діє як вірус-помічник і забезпечує білки оболонки, необхідні для збирання вірусних частинок.

Клінічні особливості. Клінічний спектр ВГД - інфекції варіюється від неактивного безсимптомного носійства до гострої печінкової недостатності. Пацієнти демонструють гетерогенні клінічні прояви з більш тяжким перебігом захворювання при генотипах 1 і 3, у людей, що вживаються наркотичні речовини ін'єкційно та пацієнтів старшого віку. Інкубаційний період для ВГД становить приблизно 13 тижнів. Інфекція ВГД викликає гепатит лише в осіб з гострою або хронічною коінфекцією ВГВ. Симптоми подібні до гострої інфекції ВГВ, проте пацієнти з хронічною інфекцією ВГВ та інфекцією ВГД, як правило, швидше прогресують до цирозу печінки, ніж пацієнти з хронічною інфекцією ВГВ. У пацієнтів, вже інфікованих ВГВ, може розвинути суперінфекція ВГД. Суперінфекція може призвести до фульмінантної печінкової недостатності. Більшість пацієнтів з одночасним інфікуванням ВГВ та ВГД мають самолімітуючу інфекцію.

Особливості діагностики гепатиту D:

Скринінг на ВГД слід розглядати у всіх HBsAg-позитивних пацієнтів, особливо у тих, у кого спостерігається погіршення перебігу захворювання печінки. Першим етапом діагностики є визначення анти-HDV антитіл (IgM та IgG) за допомогою ІФА. Позитивний результат вимагає підтвердження за допомогою ЗТ-ПЛР сироваткової РНК ВГД. Кількісне визначення РНК ВГД у сироватці крові є важливим для оцінки необхідності та ефективності противірусної терапії.

Лікування хронічної ВГD-інфекції необхідно в осіб з виявленою вірусною РНК та ознаками біохімічного або гістологічного активного захворювання печінки, особливо за наявності значного фіброзу. Безсимптомні пацієнти з нормальним рівнем печінкових ферментів не потребують лікування.

Для лікування коінфекції ВГВ та ВГD зазвичай використовують пегільований інтерферон. З'явилися три нові препарати для лікування хронічної ВГD-інфекції: інгібітор пренілювання ВГD – лонафарніб, як монотерапія або в комбінації з ритонавіром чи ПЕГ-ІНФ; хоча терапевтичні переваги, що спостерігалися, корелювали з дозою лонафарнібу, лімітуючими є побічні ефекти, такі як нудота, діарея, здуття живота і втрата ваги;. Інгібітор проникнення ВГD – булевіртид, як монотерапія або в комбінації з пегінтерфероном або тенофовіром; інгібітор секреції віріонів – REP 2139 має потенціал для пригнічення вірусного навантаження у пацієнтів з коінфекцією ВГВ-ВГD. Пероральні нуклеозидні та нуклеотидні аналоги мають обмежену ефективність або взагалі не ефективні.

Основною профілактикою інфікування ВГD є вакцинація проти вірусу гепатиту В.

ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ Е

Морфологія вірусу: Вірус гепатиту Е (HEV) належить до родини *Hepeviridae*, роду *Hepevirus*, є невеликим (32-34 нм), без оболонки, ікосаедричним віріоном з одноланцюговою (+) РНК геномом, стійким у воді, але чутливим до нагрівання та дезінфекції.

Клінічні особливості. У більшості пацієнтів, інфікованих ВГЕ, хвороба протікає безсимптомно або може розвинутися легка, самолімітуюча, схожа на ВГА хвороба (генотипи ВГЕ 1 та 2). Зазвичай цьому передують інкубаційний період від 2 до 10 тижнів. ВГЕ 3 і 4 (зоонозні генотипи) спричиняють хронічний гепатит майже виключно у людей з ослабленим імунітетом. Менш ніж у 5% пацієнтів з гострим гепатитом Е розвивається гостра печінкова недостатність (здебільшого вагітні або пацієнти коморбідними станами). Діагноз ВГЕ слід розглядати у пацієнтів з гострим або хронічним гепатитом, який не можна пояснити іншими причинами. Особливо важливо, щоб діагноз ВГЕ - інфекції розглядався в групах ризику розвитку швидко прогресуючих захворювань печінки, таких як вагітні жінки, пацієнти з супутніми захворюваннями печінки, реципієнти трансплантатів солідних органів та особи з гематологічними злоякісними новоутвореннями.

Діагностика гострого ВГЕ ускладнюється відсутністю стандартизованого аналізу. Розроблено багато комерційних наборів для ІФА, які мають високу варіабельність з точки зору результативності; як хибнопозитивні, так і хибнонегативні результати є поширеним явищем серед доступних тестів. Як правило, початковим методом дослідження є анти-ВГЕ IgM. Наявність анти-ВГЕ IgM свідчить про нещодавнє інфікування ВГЕ. Якщо первинний тест є позитивним, слід провести підтверджувальне тестування, якщо воно доступне. Підтверджувальне тестування може включати альтернативне визначення анти-ВГЕ IgM, докази зростання титрів анти-ВГЕ IgG (більш ніж п'ятикратна зміна протягом двох тижнів) або виявлення РНК ВГЕ у сироватці або калі. Використання ПЛР особливо важливе в осіб з ослабленим імунітетом та підозрою на ВГЕ через високу частоту хибнонегативних тестів на антитіла.

Лікування гострої ВГЕ-інфекції є підтримуючим. Пацієнти, у яких розвивається гостра печінкова недостатність, можуть потребувати трансплантації печінки. У пацієнтів з імуносупресією та реципієнтів трансплантатів солідних органів може розвинути хронічна ВГЕ-інфекція, і вони можуть отримувати лікування рибавірином. ПЕГ-ІФН застосовується у пацієнтів з хронічним гепатитом та неуспішною терапією рибавірином, але асоціюється з багатьма побічними ефектами, такими як холестаза.

Профілактика залишається найефективнішим підходом до боротьби з вірусним гепатитом Е: підтримання стандартів якості громадського водопостачання та дотримання гігієнічних практик. Універсально затверджені вакцини від ВГЕ-інфекції наразі не має. У 2011 році в Китаї була зареєстрована рекомбінантна вакцина для профілактики ВГЕ. Введення імуноглобуліну не запобігає захворюванню.

ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ G (ПЕГІВІРУС ЛЮДИНИ - HPgV-1)

Морфологія вірусу: Вірус гепатиту G (HGV) належить до родини [Flaviviridae](#), роду *Hepacivirus*, морфологія схожа на інші флавіруси – вірусна частинка (віріон) є сферичною з ліпопротеїдною оболонкою, містить позитивну одноланцюгову РНК і має діаметр близько 40-60 нм, передається переважно парентерально (з кров'ю) та статевим шляхом, часто співіснує з іншими гепатитами (В, С).

Клінічні особливості. Інфекція HPgV-1 зазвичай триває понад 6 місяців і спонтанно виліковується у понад 50 відсотках випадків протягом двох років. Точна роль HPgV-1 у розвитку захворювання у людини, якщо вона взагалі існує, залишається незрозумілою. Переважна більшість доказів свідчить про те, що HPgV-1 не викликає гепатиту у людини.

Віремія HPgV-1 асоціюється з підвищенням ризиком розвитку лімфоми. HPgV-1 може впливати на перебіг захворювання у пацієнтів з коінфекцією ВІЛ або ВГС: у пацієнтів з ВІЛ-інфекцією віремія HPgV-1 асоціюється з повільнішим прогресуванням захворювання та нижчою смертністю. У пацієнтів з ко-інфекцією ВІЛ/ВГС віремія HPgV-1 була пов'язана зі значним зниженням захворюваності печінки, пов'язаної з ВГС.

Діагностика. HPgV-1 зазвичай виявляють за допомогою ПЛР. Одночасне виявлення РНК HPgV-1 та антитіл до HPgV-1 не є поширеним явищем. Після кліренсу вірусу антитіла з'являються, і пацієнти повністю одужують. Пацієнти з персистуючою РНК HPgV-1 можуть не мати біохімічних або гістологічних ознак захворювання печінки. У невеликого відсотка пацієнтів з хронічним HPgV-1 може розвинути фіброз печінки. Наразі не існує рекомендованого лікування HPgV-1;

Профілактика. Наразі не існує вакцини від HPgV-1.

ОНКОГЕННІ ВІРУСИ

Вперше віруси пов'язали із злоякісними новоутвореннями в своїх спостереженнях Еллерман і Банг (1908), які відзначили, що спосіб передачі лейкемії у домашнього птаха нагадує такий при інфекційній хворобі. Раус (1911) показав, що солідна злоякісна пухлина, куряча саркома викликається вірусом; за цього відкриття він був удостоєний Нобелівської премії в 1966. Віруси, що викликають пухлини у ссавців були вперше виявлені Шоупом, який виділив вірус фіброми кролика в 1932 і вірус папіломи в 1933. Протягом 1950-их років була виявлена велика кількість вірусів, викличних лейкемію у гризунів. Великий інтерес був викликаний відкриттям

Стюарт і Едді (1957) вірусу поліоми, який при введенні новонародженим гризунам міг викликати розвиток великої кількості різноманітних пухлин. Трентіном (1962) було показано, що введення деяких типів аденовірусів людини новонародженим хом'якам викликало розвиток сарком. Беркіт (1963) виявив специфічне географічне розповсюдження лімфом у африканських дітей. Виділений з лімфоми Беркіта вірус Епштейна-Барра було запропоновано вважати етіологічним агентом лімфоми Беркіта.

Віруси, які викликають пухлини у своїх природних господарів або у піддослідних тварин, або ж стимулюють злоякісне перетворення в культурі клітини, відомі як **онкогенні** віруси. Трансформація представляє собою різні зміни, які супроводжують перетворення нормальної клітини в злоякісну. Трансформація з нормальних в злоякісні клітини є багатостадійним процесом, і може бути частковою або повною. Наприклад, деякі вірусні агенти можуть перетворювати інфіковані клітини на «невмирущі», так що вони стають здібними до безперервного розмноження в культурі, без придбання інших особливостей злоякісного розвитку.

Таблиця 3 - ОНКОГЕННІ ВІРУСИ

РНК-ВІРУСИ	I. Retroviruses: 1. Віруси лейкозу птахів 2. Віруси лейкозів мишей 3. Віруси рака молочних залоз мишей 4. Лейкозно-саркоматозні віруси різних тварин 5. Віруси Т-клітинної лейкемії людини
	II. Papovaviruses 1. Папіломавіруси людини, кроликів і інших тварин 2. Поліомавірус 3. Вакуолізуючий вірус мавп SV40 4. ВК і JC віруси
ДНК- ВІРУСИ	III. Poxviruses: 1. Вірус контагіозного молюска 2. Вірус Яба 3. Вірус фіброми Шоупа
	IV. Аденовіруси Багато типів аденовірусів людини і тварин
	V. Herpesviruses 1. Вірус хвороби Марека 2. Вірус пухлини жаб Люку 3. Епштейна-Барра вірус 4. Віруси простого герпесу типів 1 і 2 5. Вірус цитомегалії
	VI. Вірус гепатиту В

Перетворені клітини змінені формою і втрачають здібність до «контактного гальмування» так що замість зростання одним шаром, вони ростуть скупченнями, одна над іншою, формуючи

«мікропухлини». Ділянки трансформації можуть бути легко виявлені і використовуються при дослідженні онкогенних вірусів, таких як вірус саркоми Рауса.

Біля четверті з приблизно 600 вірусів ссавців володіють онкогенним потенціалом (Таблиця 3). Віруси, пов'язані з раковими утвореннями людей описані в Таблиці 4.

Таблиця 4 - Віруси, що асоціюються з раком людини

Сімейство	Вірус	Форми пухлини
Parovaviridae	Вірус папіломи людини	Рак шийки матки Плоскоклітинна карцинома
Herpesviridae	Вірус Епштейна-Барра	Назофарінгіальна карцинома, Лімфома Беркіта, В –клітинна лімфома
	ВПГ -2	Рак шийки матки ?
Hepadnaviridae	Вірус гепатиту В	Гепатоцелюлярна карцинома
Retroviridae	HTLV-I, HTLV-II	Т-клітинна лейкемія дорослих

Віруси папіломи можуть викликати розвиток доброякісних пухлин у їхніх природних господарів, але деякі з них (наприклад, *condyloma acuminatum* у людей, папілома кролика) можуть стати злоякісними. Є дані про зв'язок між інфекцією вірусом папіломи людини (ВПЧ), і раком шийки матки, особливо ВПЧ 16 і 18 типів. В перещеплюваній клітинній лінії HELA, отриманій багато десятиріч тому з карциноми шийки матки і яка широко використовується в різних лабораторіях, була знайдена ДНК ВПЧ-18.

Вірус поліоми викликає природну латентну інфекцію у лабораторних і домашніх мишей. Проте, після введення новонародженим мишам або іншим гризунам, він викликає розвиток великої кількості гістологічно різних пухлин. Вірус можна культивувати у фібробластах ембріону миші або клітинах нирок новонародженого хом'яка, в яких він викликає трансформацію.

Вакуолізуючий вірус мавп SV40 був виявлений в нормальних на вигляд культурах нирок мавпи, які використовувалися для виробництва поліомієлітної вакцини. Він викликає безсимптомну інфекцію у мавп резус і циномольгус, але не має цитопатичної дії в культурах клітин цих мавп. Проте коли рідина з таких культур вводиться в культури клітин нирок, отриманих від африканських зелених мавп, проявляються цитопатичні зміни з виразною цитоплазматичною вакуолізацією. Введення новонародженим хом'якам призводить до розвитку пухлини. Трансформація викликається в культивованих клітинах декількох видів, включаючи клітини людини. До відкриття вірусу були використані мільйони доз поліомієлітної вакцини, виготовлених на культурах клітин нирок мавпи, які могли містити SV-40. За більше ніж 25 років ніякі пухлини, пов'язані з SV-40 не було відзначено. Були значні побоювання після виявлення онкогенного ефекту SV-40, проте немає ніяких даних, що введення вакцини, яка містить SV-40 викликало рак у людей.

Папонавіруси ВК і JC, викликають широко поширену безсимптомну інфекцію у людей, але можуть викликати утворення пухлин у імунодефіцитних індивідуумів Серологічне обстеження здорового населення США показало, що близько 70 % дорослих людей мають антитіла до вірусів JC і ВК. Онкогенність їх для людини не з'ясована. Вірус JC був виділений з

мозку людини з прогресивною багатоосередковою лейкоенцефалопатією. Ці ж віруси виділені від хворих з поточними респіраторними захворюваннями.

Поксвіруси. Три представники групи поксвірусів викликають розвиток доброякісних пухлин - вірус фіброми кролика, вірус контагіозного моллюска і Яба вірус. Останній викликає розвиток природно виникаючих доброякісних гістіоцитом у мавп. Очевидно він передається комахами. Подібні пухлини можуть бути викликані експериментально у багатьох видів приматів, включаючи людей. Пухлини спонтанно регресують через декілька тижнів. Інші тварини, що не відносяться до приматів, нечутливі.

Аденовіруси. Хоча деякі типи (12, 19, 21) аденовірусів людини можуть викликати розвиток сарком у новонароджених гризунів після експериментального щеплення, не встановлений їхній зв'язок з пухлинами людини.

Герпесвіруси. Багато хто герпесвіруси асоціює з природними пухлинами тварин і людей.

Вірус Епштейна-Барра (ВЕБ) регулярно виявляється в культивованих лімфоцитах хворих лімфомою Беркіта. В тілі пухлини вірус не виявляється, але лінії клітин, отриманих від цих пухлин, майже завжди містять 5-20 відсотків клітин, які продукують вірус. Вірус розмножується тільки в людських лімфоїдних клітинах. Серологічні дослідження показують, що інфікування вірусом - повсюдне явище. Інфекція звичайно безсимптомна. У молодих осіб, які не мають антитіл, інфекція ВЕБ викликає інфекційний мононуклеоз. Вважають, що лімфома розвивається при інфікуванні дітей, чия імунна система пригнічена, наприклад хронічною малярією. Лімфоми пов'язані з ВЕБ наголошуються у реципієнтів трансплантатів. ВЕБ також пов'язаний з носоглотковою карциномою у представників популяції китайських чоловіків Південної Азії і Східної Африки.

Вірус простого герпесу і рак шийки матки. Було запропоновано зв'язати вірус простого герпесу 2-го типу і рак шийки матки, хоча це не так очевидно, як зв'язок з ВПЧ 16-го і 18-го типів. Також було вказано припущення про зв'язок вірусу простого герпесу 1-го типу з раком губи.

Цитомегаловірусну інфекцію пов'язують з раком простати і саркомою Капоші.

Вірус гепатиту В. HBV безпосередньо пов'язаний з етіологією гепатоцелюлярної карциноми. Дослідження в багатьох країнах показали велике переважання маркерів інфекції ВГВ у пацієнтів з первинним гепатоцелюлярним раком в порівнянні з контролем або зі всією популяцією. Гепатит С також веде до гепатоцелюлярного раку.

Ретровіруси. Т-лімфотропні віруси людини (HTLV). Вони були виділені в 1980 з культур клітин від дорослих хворих шкірною Т-клітинною лімфомою (грибковий мікоз) і лейкомією (синдром Сезара) в США. Подібні віруси були виділені від хворих Т-клітинною лейкомією в Японії і Карибському басейні. HTLV 1-го типу є у всьому світі, але поширеність захворювань обмежена ендемічними областями. Крім Т-клітинної лейкомії, HTLV-I також пов'язаний з тропічним спастичним парепарезом, демієлінізуючою хворобою. Вірус в основному інфікує Т4 (CD4) клітини. На інфікованих Т-клітинах виявляється велика кількість рецепторів до ІЛ-2. Близько родинний HTLV-II також пов'язаний з Т-клітинними злоякісними новоутвореннями. Відомо, що HTLV-інфекція передається при переливанні крові і іншими способами введення лейкоцитів.

ВІРУС ІМУНОДЕФІЦИТУ ЛЮДИНИ (ВІЛ)

Віруси імунodefіциту людини 1-го і 2-го типу (HIV-1, HIV-2) належать до родини Retroviridae, роду Lentivirinae. Ретровіруси - оболонкові, сферичні віруси, які виходять брунькуванням через клітинну мембрану господаря. Вони мають від 90 до 120 нм в діаметрі. Генوم полягає з двох ідентичних лінійних одноланцюгових позитивних молекул РНК. Нуклеокапсид (р24) ВІЛ має конічну форму (конусоподібну) і складається з вірусної РНК, асоційованої з білками нуклеокапсиду (р7 та р6), які захищають генетичний матеріал від руйнування. В оболонці присутні рецептори, які складаються з двох частин: зовнішнього глікопротеїну gp120 і трансмембранного gp41, вони є основними поверхневими компонентами вірусу, які зв'язуються з CD4 рецепторами на сприйнятливих клітинах – Т-лімфоцитах хелперах і макрофагах. Для повноцінного проникнення вірусу в клітини потрібні також корецептори на означених клітинах-мішенях –CXCR4 та CCR5. Між нуклеокапсидом і оболонкою присутній матриксний шар – р17. Характерна особливість ретровірусів - присутність у віріоні незвичайного ферменту - РНК залежної ДНК полімерази або **зворотної транскриптази**. На відміну від класичної транскрипції генетичної інформації від ДНК на РНК, фермент зворотна транскриптаза готує ДНК-копію РНК-геному ретровірусу - спочатку РНК-ДНК гібрид, а потім його дволанцюгову ДНК-форму. Дволанцюгова ДНК-форма ретровірусного геному, звана провірусом, інтегрується в ДНК інфікованої клітини-господаря за допомогою ще одного ферменту - інтегрази. Провірус залишається інтегрованим в ДНК клітини-господаря до кінця життя клітини і відтворюється разом з клітинним геномом при розмноженні клітини.

Геномна структура. Генوم складається з трьох структурних генів, необхідних для вірусної реплікації - gag, pol, і env. Ген **gag** кодує білки нуклеокапсиду (білок попередник р55, який шляхом протеолізу поділяється на р15, р18 і р24), вони є **групоспецифічними антигенами**, ген **pol** кодує РНК-залежну ДНК-полімеразу, інтегразу і вірусну протеазу (білки р31, р51 і р66), ген **env** кодує глікопротеїни оболонки (gp120 та gp41). З обох кінців є довгий кінцевий повтор (LTR), що безпосередньо зв'язується з ДНК клітини-господаря. LTR-ділянки забезпечують контроль регуляторних генів вірусу.

ТАБЛИЦЯ 5. ПРОДУКТИ ГЕНІВ ВІЛ-1 ТА ЇХ ФУНКЦІЇ

Ген	Білок	Функція
<i>Структурні гени, присутні у всіх ретровірусах</i>		
gag	p24 (CA)	Білок капсиду
	p7 (NC)	Білок нуклеокапсиду, покриває вірусну РНК
	p17 (MA)	Матриксний білок, підтримує структуру віріону
pol	p66/51 (RT, зворотня транскриптаза)	Забезпечує синтез провірусної длДНК на матриці вірусної РНК
	p14 (PR, протеаза)	Розщеплює попередник р55 (продукт gag) у віріоні
	p31 (IN, інтеграза)	Забезпечує інтеграцію провірусної ДНК в генوم клітини
env	gp120 (SU, поверхневий)	Забезпечує прикріплення вірусу до рецепторів та ко-рецепторів клітини
	gp41 (TM, трансмембранний)	Забезпечує злиття суперкапсиду вірусу з мембраною клітини
<i>Регуляторні гени ВІЛ, що необхідні для реплікації</i>		

tat	Tat	Трансактиватор транскрипції (transactivator of transcription), рекрутує клітинні фактори транскрипції до промотора ВІЛ; порушує імунний нагляд; індукує апоптоз
rev	Rev	Регулятор експресії вірусних білків (regulator of expression of viral proteins), експортує несплайсовані мРНК з ядра
<i>Регуляторні гени ВІЛ, що не беруть участі у реплікації (додаткові)</i>		
nef	Nef	Негативний фактор (negative factor), зменшує експресію CD4 та МНС I на Т-клітинах, порушує внутрішньоклітинні сигнальні шляхи для попередження апоптозу
vif	Vif	Фактор інфекційності вірусу (viral infectivity factor), індукує руйнування клітинного антивірусного білка APOBEC3G
vpr	Vpr	Вірусний білок R (viral protein R), частина преінтеграційного комплексу, блокує поділ клітини
vpu	Vpu	Унікальний (тільки в ВІЛ-1) вірусний білок (viral protein unique), руйнує CD4, стимулює виділення вірусу з клітини

Антигенні варіанти і різноманітність ВІЛ.

ВІЛ – високо мінливий вірус. У нього виявляються як часті антигенні зміни, також і зміни інших властивостей, таких як нуклеотидні послідовності, клітинний тропізм, особливості зростання і цитопатології. Відмінності спостерігаються не лише між ізолятами з різних регіонів або різних осіб, але і між повторними ізолятами від однієї і тієї ж людини і навіть між ізолятами з різних місць однієї людини в один і той же час. Ця велика варіабельність ВІЛ, як вважають, є слідством помилок, властивих природі зворотної транскрипції. Антигенні варіації найбільш часто наголошуються відносно білків оболонки, але виявляються рідше відносно інших антигенів.

На підставі антигенних відмінностей виділено два типи ВІЛ. Спочатку виділений ВІЛ і родинні штами, поширені у всьому світі, належать ВІЛ типу 1. Штами ВІЛ, спочатку ізолювані в Західній Африці в 1985 р., які дуже слабо або взагалі не реагують з імунною сироваткою супроти ВІЛ-1, були названі ВІЛ типу 2. Антигени оболонки двох типів різні, хоча їхні основні поліпептиди виявляють деяку перехресну реактивність. ВІЛ-2 має генетичну ідентичність з ВІЛ-1 лише на 40 відсотків. Він більш близько родинний вірусу імунodefіциту мавп, ніж ВІЛ-1. Він, як вважають, набагато менш вірулентний, ніж ВІЛ-1, в більшій мірі зустрічається в Західній Африці, хоча є повідомлення про виділення його з інших областей, включаючи західну і південну Індію.

ВІЛ-1 штами класифікувалися в принаймні дев'ять підтипів, заснованих на секвенуванні їх *gag* і *env* генів. Ці підтипи позначені як буквами від А до І.

Резистентність. ВІЛ термолабільний, інактивується за 10 хв при 50°C і за секунди при 100°C. При кімнатній температурі (20-25°C), у висохлій крові можуть зберігатися до семи днів, стійкий при ліофілізації. В ліофілізованих продуктах крові вірус може бути інактивованим прогріванням при 68°C протягом 72 годин і в рідкій плазмі – при 60°C протягом 10 годин. ВІЛ інактивується протягом 10 хвилин обробкою 50 % етиловим спиртом, 35 % ізопропіловим спиртом, 0,5 % лізолом, 0,5 % параформальдегідом, 0,3 % перекисом водню або 10% побутовими вибілюючими речовинами (наприклад – хлорним вапном). Він також інактивується при крайніх значеннях рН (1,0 і 13,0).

Патогенез.

Рецептор для вірусу - антиген CD4, і тому вірус може інфікувати будь-яку клітку, несучу на поверхні антиген CD4. Це - перш за все Т4 (хелпер/індуктор) лімфоцит. Деякі інші імунні клітини також володіють CD4 антигеном на поверхні і також сприйнятливі до інфекції. Таким чином, сприйнятно приблизно 5 - 10 відсотків В лімфоцитів і 10 -20 відсотків моноцитів і макрофагів, включаючи спеціалізовані макрофаги типу альвеолярних макрофагів в легенях і клітини Лангерганса шкіри, клітини мікроглії в центральній нервовій системі. Фолікулярні дендритні клітини мигдалин можуть інфікуватися ВІЛ без участі CD4.

Специфічне прикріплення вірусу до CD4 здійснюється глікопротеїдом оболонки gp 120. Проте, для інфекції істотне злиття. Це забезпечується трансмембранним gp 41.

Найпоширеніший шлях передачі у світі: статевий (75%) (вагінальний, 60% > анальний, 15%) > від батьків до дитини (10%) > ін'єкційне вживання наркотиків (10%) > переливання крові (5%) > укол голкою (0,1%). До ключових груп щодо інфікування ВІЛ відносять групи людей, які через особливості їх поведінки та поведінки їхнього оточення мають підвищений ризик інфікування ВІЛ незалежно від епідеміологічного контексту, що впливає на динаміку поширення ВІЛ;

Ключові групи щодо інфікування ВІЛ:

- статеві партнери та партнерки людей, які живуть з ВІЛ;
- люди, які вживають наркотики ін'єкційно;
- чоловіки, які мають сексуальні стосунки з чоловіками;
- люди, які надають сексуальні послуги;
- статеві партнери та партнерки людей, які вживають наркотики ін'єкційно;
- люди, які перебувають в установах виконання покарань і слідчих ізоляторах, а також звільнені з них;
 - трансгендерні люди.

Інфекція передається, коли вірус поступає в кров або тканини людини і входить в контакт з відповідною кліткою - господарем, переважно Т4 лімфоцитом. Інфекція, ймовірно, більш часто розвивається після введення клітини, інфікованих ВІЛ (при переливанні крові або статевому контакті), ніж вільного від клітини вірусу (як при введенні продуктів крові).

Дволанцюгова ДНК - транскрипт вірусною ДНК інтегрується в геном інфікованої клітини, викликаючи латентну інфекцію. Час від часу індукується літична інфекція з виходом вірусного потомства, які інфікують інші клітини. Тривалий і змінний інкубаційний період при ВІЛ інфекції пов'язаний з латентністю. Від інфікованої людини ВІЛ може бути виділений з крові, лімфоцитів, звільненою від клітини плазми, сперми, цервікального секрету, слини, сліз, сечі і грудного молока.

Самий ранній патогенетичний механізм при ВІЛ інфекції – пошкодження Т4 лімфоцитів. Т4 клітини зменшуються в кількості і співвідношення Т4 : Т8 (хелпери : супресори) змінюється. Вірусна інфекція може пригнічувати функцію інфікованих клітин без структурних пошкоджень. Інфіковані Т4 клітини не виділяють нормальної кількості інтерлейкіну-2, гама-інтерферону і інших лімфокінів. Це приводить до інгібування як гуморальної, так і клітинної імунної відповіді.

Важлива особливість ВІЛ інфекції – поліклональна активація В лімфоцитів, приводить до гіпергамаглобулінемії. Збільшується вміст імуноглобулінів всіх класів, але особливо підвищується рівень IgG і IgA. У немовлят і дітей підвищується рівень IgM.).

Функція моноцитів-макрофагів також порушується, очевидно, через нестачу секреції Т4 лімфоцитами чинників активації. В результаті хемотаксис, презентація антигену і внутрішньоклітинний кілінг моноцитами/макрофагами знижується. Вражається також

активність NK клітини і цитотоксичних Т-лімфоцитів. Це робить хворого сприйнятливим до опортуністичних інфекцій і злоякісних новоутворень.

ВІЛ-інфекція поділяється на три основні стадії: гостра інфекція, безсимптомна інфекція (або клінічна латентність) та СНІД (синдром набутого імунodefіциту).

Гостра інфекція характеризується важкими симптомами, схожими на грип, на додаток до втрати ваги, лімфаденопатії та висипу. Симптоми тривають 2-4 тижні.

Безсимптомна фаза ВІЛ-інфекції характеризується повільною реплікацією вірусу і поступовим виснаженням пулу CD4 Т-клітин.

Клінічне прогресування хвороби можна передбачити за вірусним навантаженням і кількістю CD4 Т-клітин в організмі інфікованої людини. Неінфікована людина зазвичай має від 500 до 1500 CD4 Т-клітин/мкл крові. Ймовірність зараження опортуністичною інфекцією зростає, коли кількість CD4 Т-клітин падає нижче 500 клітин/мкл, а СНІД діагностується, коли рівень CD4 Т-клітин падає нижче 200 клітин/мкл. Окрім опортуністичних інфекцій, у ЛЖВ спостерігається підвищений рівень захворюваності на рак та ВІЛ-асоційовані захворювання нирок і неврологічні захворювання.

Застосування ВААРТ (високоактивна антиретровірусна терапія) призвело до значного зниження темпів прогресування ВІЛ-інфекції та різкого збільшення тривалості життя ЛЖВ (люди, які живуть з ВІЛ).

Діагноз гострої ВІЛ-інфекції вимагає високого рівня клінічної підозри і повинен розглядатися у пацієнтів, які мають стійкі ознаки та симптоми, включаючи нечітко виражену лихоманку та/або асептичний менінгіт. Ранню ВІЛ -інфекцію також слід розглядати у пацієнтів, які нещодавно мали контакт з джерелом підвищеного ризику, або у тих, хто нещодавно переніс інфекцію, що передається статевим шляхом (зокрема, сифіліс), незалежно від наявності симптомів або ознак.

ТАБЛИЦЯ 6. КЛІНІЧНА КЛАСИФІКАЦІЯ СТАДІЙ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ

У ДОРOSЛИХ ТА ПІДЛІТКІВ

ГОСТРА ВІЛ-ІНФЕКЦІЯ
Безсимптомна
Гострий ретровірусний синдром
КЛІНІЧНА СТАДІЯ I
Безсимптомний перебіг
Персистуюча генералізована лімфаденопатія
КЛІНІЧНА СТАДІЯ II
Немотивована втрата ваги (менше 10% від маси тіла)
Рецидивуючі бактеріальні інфекції верхніх дихальних шляхів (синусит, середній отит, тонзиліт, фарингіт – 2 або більше епізодів протягом 6 місяців); оперізувальний герпес; рецидивуючий афтозний стоматит (два або більше епізодів протягом 6 місяців); папульозний сверблячий дерматит; себорейний дерматит; грибкові ураження нігтів.
КЛІНІЧНА СТАДІЯ III
<i>попередній діагноз може бути поставлений на основі клінічних ознак або простих досліджень</i>
Немотивована хронічна діарея тривалістю понад 1 місяця

Немотивована виражена втрата ваги (більше 10% від маси тіла) Рецидивуючий кандидоз (молочниця) ротової порожнини (два або більше епізодів протягом 6 місяців);волосиста лейкоплакія язика;легенений туберкульоз.
Гострий некортизуючий виразковий стоматит, гінгівіт або некротизуючий виразковий періодонтит Важкі бактеріальні інфекції (пневмонія, менінгіт, емпієма, гнійний міозит, артрит або остеомієліт, бактеріємія, важкі запальні захворювання малого таза та ін.) <i>необхідне підтверджуюче діагностичне тестування</i> Немотивована анемія (<8 г/дл), та/або нейтропенія (<500 клітин/мкл), та/або хронічна тромбоцитопенія (<50 000/мкл) протягом більше одного місяця
КЛІНІЧНА СТАДІЯ IV
<i>попередній діагноз може бути поставлений на основі клінічних ознак або простих досліджень</i> Токсоплазмоз; Саркома Капоші і ВІЛ-асоційовані злоякісні новоутворення; ВІЛ-асоційована енцефалопатія; Синдром виснаження (ВІЛ-кахексія); Кандидоз стравоходу; Позалегеновий туберкульоз (в тому числі лімфатичних вузлів); Пневмоцистна пневмонія <i>необхідне підтверджуюче діагностичне тестування</i> Рецидивуюча сальмонельозна бактеріємія, викликана нетифоїдними сальмонелами Нетуберкульозна мікобактеріальна інфекція або дисемінований нетуберкульозний мікобактеріоз; Цитомегаловірусний ретиніт чи інфекція інших органів, крім печінки, селезінки чи лімфатичних вузлів; Хронічна або персистуюча інфекція, викликана вірусом простого герпесу тривалістю понад 1 міс.; Прогресуюча множинна лейкоенцефалопатія (ПМЛ); Вісцеральний лейшманіоз; Криптоспоридіоз (з діареєю тривалістю понад 1 міс.); Кандидоз трахеї, бронхів або легенів; Хронічний ізоспороз Дисеміновані мікози (кандидоз, кокцидіомікоз, гістоплазмоз); Криптококовий менінгіт Інвазивна карцинома шийки матки; Т-клітинна лімфома Ходжкіна; ВІЛ-асоційована кардіоміопатія; ВІЛ-асоційована нефропатія

Всі люди повинні проходити скринінг на ВІЛ принаймні один раз у житті. Частота тестування частково залежить від факторів ризику. Для осіб з факторами ризику інфікування ВІЛ рутинне обстеження повинно проводитися незалежно від віку. Для осіб з високим ризиком інфікування ВІЛ скринінг рекомендуємо проводити щорічно або частіше.

Алгоритм тестування використовує комбінований серологічний тест на антиген/антитіло до ВІЛ-1/2 (ІФА), за яким слідує підтверджуючий серологічний на диференціацію антитіл до ВІЛ-1/ВІЛ-2 (імуноблотінг), якщо скринінг-тест на антиген/антитіло є позитивним. Діагностичні тести на ВІЛ є точними і чутливими, та застосовується для трьох основних цілей: індивідуальної діагностики, епідеміологічного нагляду та скринінгу донорів крові та тканинних продуктів. Кількість CD4 можна використовувати для кількісної оцінки впливу вірусу на імунну систему. Кількість CD4 допомагає вивчати наслідки поширення опортуністичних інфекцій. Кількість CD4 також допомагає підтвердити ефективність лікування.

Використання систем четвертого та п'ятого покоління для виявлення ВІЛ прискорює процес тестування та значно скорочує вікно виявлення (до 2 тижнів після контакту).

Генотипування та секвенування є найбільш поширеними та адаптованими методами ідентифікації та виявлення мутацій та резистентності до ліків у пацієнтів з ВІЛ.

Лікування. Рекомендованим режимом першого ряду для більшості ЛЖВ, які розпочинають АРТ, є схема АРТ, що складається з інгібітору перенесення ланцюга інтегрази (ПІІ) долутегравіру (DTG) у поєднанні з основою із нуклеозидного інгібітору зворотної транскриптази (НІЗТ), враховуючи переваги АРТ з DTG. Режими на основі DTG є більш ефективними та мають кращий профіль переносимості, що дозволяє подолати потенційну резистентність до ненуклеозидних інгібіторів зворотної транскриптази (ННІЗТ) першої генерації.

Профілактика.

Запобігання СНІДУ ґрунтується в даний час на загальних заходах типу санітарної освіти, виявленні джерел і усуненні поведінки, що приводить до високого ризику. Немає доступної вакцини. Висока мінливість, різноманітні антигенні типи і підтипи, тривалий латентний період, персистенція в інфікованих клітинах у формі провірусу створюють серйозні проблеми в створенні вакцин. Ідеальна вакцина повинна не лише запобігати інфекції, але мати також і терапевтичне застосування для серопозитивних осіб в безсимптомному періоді. В даний час немає достатньо надійної і ефективною ВІЛ вакцини.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекцій: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекцій:

Проблемне питання: «ВІЛ має надзвичайно високий потенціал до генетичної мінливості через низьку точність зворотної транскриптази та величезну кількість повних реплікаційних циклів (мільярди вірусних частинок на день). Як розуміння цих механізмів молекулярної еволюції впливає на розробку комбінованої антиретровірусної терапії та на критичну необхідність дотримання комплаєнсу пацієнта до призначеного лікування?»

Клінічне питання: «Медична сестра стоматологічного кабінету випадково уколосся голкою після маніпуляції у ВІЛ-позитивного пацієнта з невідомим вірусним навантаженням. Якими повинні бути невідкладні та подальші дії для профілактики ВІЛ-інфекції (обробка рани, початок постконтактної профілактики), та якою повинна бути довгострокова стратегія моніторингу та психологічної підтримки постраждалої?»

Питання для роздумів: «Онкогенні віруси (ВПЛ, ГВЛ-4, ВГВ, ГВЛ-8) здатні до персистенції та латентної інфекції в організмі господаря, однак не всі люди, інфіковані цими вірусами, розвивають злоякісні новоутворення. Яким чинникам (віровому штаму та його онкогенному потенціалу, імунному статусу хазяїна, генетичній передиспозиції, канцерогенним факторам навколишнього середовища) належить роль у розвитку вірус-асоційованого онкогенезу?»

Епідеміологічне питання: «Хронічні вірусні гепатити В і С залишаються глобальною проблемою охорони здоров'я, визначаючи найбільше число хронічно інфікованого населення та суттєво сприяючи розвитку цирозу та гепатоцелюлярної карциноми. Як розуміння шляхів передачі та факторів ризику для медичного персоналу допомагає розробити ефективні стратегії профілактики в медичних закладах, включаючи обов'язкову вакцинацію проти ВГВ?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Дайте визначення ретровірусів та їхньої унікальної стратегії реплікації.
2. Охарактеризуйте будову ретровірусів: гени gag, pol, env, LTR (довгі термінальні повтори).
3. Назвіть основні етапи реплікації ВІЛ: адсорбція, злиття мембран, зворотна транскрипція.
4. Опишіть зворотну транскриптазу ВІЛ: механізм дії, помилковість копіювання,

генетична мінливість.

5. Охарактеризуйте інтегразу ВІЛ та процес інтеграції вірусного геному в геном CD4+ Т-клітин.
6. Дайте визначення первинної ВІЛ-інфекції та гострого ретровірусного синдрому при ВІЛ.
7. Назвіть клінічні прояви гострого ретровірусного синдрому ВІЛ (лихоманка, висипь, аденопатія, гепатоспленомегалія).
8. Опишіть асимптоматичну фазу та прогресивне зниження рівня CD4+ Т-клітин (вікони CD4).
9. Охарактеризуйте СНІД та розвиток опортуністичних інфекцій при CD4 < 200 клітин/мкл.
10. Назвіть основні опортуністичні інфекції порожнини рота при ВІЛ/СНІДу (кандидоз, герпес, волосата лейкоплакія).
11. Дайте визначення шляхів передачі ВІЛ та факторів ризику для медичного персоналу.
12. Охарактеризуйте ризик кожного типу контакту з ВІЛ-контамінованою біологічною рідиною (кров, слина, інші).
13. Назвіть основні групи антиретровірусних препаратів та механізми їхньої дії.
14. Опишіть інгібітори зворотної транскриптази (нуклеозидні та нуклеозидні).
15. Охарактеризуйте протеазні інгібітори та інгібітори інтегрази.
16. Дайте визначення комбінованої антиретровірусної терапії (АРТ) та її принципів.
17. Назвіть основні онкогенні ВІЛ-асоційовані пухлини (лімфома, саркома Капоші, рак анального каналу).
18. Охарактеризуйте механізми онкогенезу при ВІЛ (імуносупресія, активація латентних вірусів, хронічна запальна відповідь).
19. Дайте визначення інших ретровірусів людини (HTLV-1, HTLV-2) та асоційованих захворювань.
20. Назвіть основні онкогенні ДНК-віруси та механізми їхньої трансформуючої дії.
21. Охарактеризуйте HPV як причину раків (шийки матки, ануса, ротоглотки).
22. Опишіть механізм онкогенного дії ВПЛ: інтеграція геному, вірусні онкобілки E6/E7, інактивація p53 та Rb.
23. Дайте визначення вірусу гепатиту А та його клінічного значення.
24. Охарактеризуйте вірус гепатиту В: структура, шляхи передачі, хронізація, асоційовані раки.
25. Назвіть основні маркери ВГВ-інфекції (HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc, HBV DNA).
26. Опишіть вірус гепатиту С та проблему хронічних форм, розвитку цирозу та гепатоцелюлярної карциноми.
27. Охарактеризуйте вірус гепатиту D (дельта) та його залежність від ВГВ.
28. Дайте визначення вірусу гепатиту Е та його клінічного значення для вагітних жінок.
29. Назвіть основні методи діагностики ВІЛ-інфекції та вірусних гепатитів (ІФА, швидкі тести, ПЛР).
30. Опишіть принципи профілактики професійного зараження ВІЛ та вірусами гепатитів (ЗІЗ, безпечні інструменти, постконтактна профілактика).

Список джерел до теми:

Основні:

1. Широбоков В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.

2. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.

Додаткові:

3. WHO. Consolidated guidelines on HIV prevention, testing, treatment, service delivery and monitoring. World Health Organization, 2021: 1-400.

4. Deeks S.G., Overbaugh J., Phillips A., Buchbinder S. HIV infection. Nature Reviews Disease Primers, 2015, 1(15035): 1-22.

ЛЕКЦІЯ

«МІКРОФЛОРА РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ. МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ПОРОЖНИНИ РОТА»

Актуальність теми: Мікробіом ротової порожнини – це надскладна екосистема, що містить понад 700 видів мікроорганізмів, яка відіграє ключову роль у формуванні стоматологічного здоров'я та має глибокі зв'язки із системним здоров'ям. Порушення рівноваги між мікрофлорою (дисбіоз), місцевими факторами захисту (слина, секреторний IgA, десенна рідина) та загальним імунітетом приводить до розвитку карієсу, гінгівіту, пародонтиту, ендодонтичних інфекцій, орального кандидозу, вірусних уражень. Розуміння мікробіологічних і імунологічних основ цих захворювань є ключем до розробки ефективних профілактичних та лікувальних стратегій. Нові дані свідчать про вірогідний зв'язок між оральною мікробіотою та системними захворюваннями (серцево-судинні захворювання, діабет, ревматоїдний артрит, хвороба Альцгеймера), що вимагає комплексного розуміння ролі стоматолога в збереженні загального здоров'я пацієнта. Розвиток молекулярних методів дозволив перейти від культуральних методів діагностики до метагеномного аналізу мікробіому, що відкриває нові можливості для персоналізованої профілактики та лікування. Знання про здоровий оральний мікробіом та принципи його підтримки (через гігієну, дієту, контроль медикаментів, застосування пробіотиків) є основою сучасної стоматологічної практики. Ця лекція являє собою синтез усіх попередніх знань мікробіології, вірусології та імунології в контексті практичної стоматологічної діяльності.

Мета:

Навчальна мета:

- Сформувати цілісне уявлення про склад та функції нормального мікробіому ротової порожнини (бактерійний склад у різних біотопах: язик, ясна, зубні поверхні, слина), роль коменсальної мікрофлори у захисті від патогенів та функціонуванні місцевого імунітету.
- Пояснити мікробіологічні та імунологічні механізми розвитку карієсу (роль *S. mutans* та лактобацил, кислотопродукція, формування біоплівки, роль дієти та слини), гінгівіту та пародонтиту (патогенність «червоного комплексу», вплив імунної відповіді на деструкцію тканин), ендодонтичних та грибкових інфекцій.
- Розкрити роль вірусних інфекцій у патології порожнини рота (ГВЛ-1/2, ВПЛ, ГВЛ-4, ГВЛ-5), механізми персистенції та реактивації герпесвірусів, онкогенний потенціал HPV та його зв'язок з раком ротоглотки.
- Сформувати знання про фактори місцевого імунітету слини (sIgA, лізоцим, лактоферин, антимікробні пептиди, комплемент), роль десневої рідини в захисті пародонта, механізми порушення місцевого імунітету при ксеростомії та імуносупресії, принципи підтримання здорового орального мікробіому (гігієна, дієта, пробіотики, селективні антисептики).

Виховна мета:

- Виховувати активне ставлення до профілактики стоматологічних захворювань через розуміння їхніх мікробіологічних механізмів, значення гігієни порожнини рота та здорового способу життя.
- Розвинути навички комплексного та індивідуалізованого підходу до лікування пацієнтів з урахуванням їхнього мікробіому, імунного статусу та системного здоров'я, розуміння зв'язку між оральним здоров'ям та системними захворюваннями

Основні поняття (перелік питань):

Мікробіом порожнини рота – складна екосистема з понад 700 видів бактерій, грибів, архей, вірусів та найпростіших

Основні компоненти нормальної мікробіоти: *Streptococcus* (*S. salivarius*, *S. mitis*, *S. sanguinis*) – домінуючий рід, комменсальні види, *Neisseria* – аероби слизової оболонки, *Veillonella* – анаероби, що метаболізують лактат, *Actinomyces* – філаментозні бактерії, беруть участь у формуванні біоплівки, *Lactobacillus* – кислотопродуруючі бактерії, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* – анаероби, причетні до захворювань пародонту, *Candida albicans* – дріжджоподібний гриб, опортуністичний патоген

Функції нормальної мікробіоти: колонізаційна резистентність (захист від патогенів), стимуляція імунної системи, метаболічна активність (деградація глікопротеїнів слини, синтез вітамінів), підтримання рН порожнини рота

Дисбіоз порожнини рота – порушення балансу мікробіому, що призводить до захворювань
Карієс:

Етіологія: *Streptococcus mutans* (основний збудник), *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Veillonella*, *Propionibacterium*

Патогенез: ферментація вуглеводів → продукція органічних кислот → зниження рН → демінералізація емалі → каріозна порожнина

Біоплівка (зубний наліт): складна мікробна спільнота в екзополісахаридному матриксі, що сприяє адгезії та кислотостійкості

Фактори вірулентності *S. mutans*: глюкозилтрансферази (GtfBCD) – синтезують екзополісахариди з сахарози, кислотопродукція та кислототолерантність, адгезини для прикріплення до емалі

Захворювання пародонту (гінгівіт, пародонтит):

Етіологія: полімікробні інфекції, "червоний комплекс" (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*) – ключові патогени

Патогенез: накопичення субгінгівальної біоплівки, запальна відповідь на ліполісахариди та протеази бактерій, активація нейтрофілів, макрофагів, продукція прозапальних цитокінів (IL-1 β , TNF- α , IL-6), активація остеокластів (RANKL), резорбція альвеолярної кістки, деструкція періодонтальних тканин матриксними металопротеїназами

P. gingivalis – ключовий патоген, продукує гінгіпаїни (цистеїнові протеази), ліполісахарид, фібрії

Роль імунної відповіді: гіперактивна імунна відповідь сприяє тканинній деструкції, дисрегуляція місцевого імунітету

Ендодонтичні інфекції: полімікробні, анаероби (*Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*), спричиняють пульпіт, періапикальний абсцес

Стоматити: герпетичний стоматит – спричинений ГВЛ-1, виразки на слизовій, **кандидоз порожнини рота** – опортуністична інфекція *Candida albicans*, біла наліт на слизовій, часто при імунodefіцитах

Місцевий імунітет у порожнині рота: секреторний IgA (sIgA) – основний гуморальний фактор захисту, блокує адгезію мікроорганізмів, нейтралізує токсини, **інші компоненти слини:** лізоцим, лактоферин, пероксидаза, гістатини, дефензини, муцини, **десенна рідина:** IgG, IgM, комплемент, нейтрофіли – захист зубоясенної борозни, **клітинний імунітет:** макрофаги, дендритні клітини, лімфоцити в lamina propria

Зв'язок орального мікробіому з системними захворюваннями: серцево-судинні захворювання (*P. gingivalis* виявляється в атеросклеротичних бляшках), діабет (двосторонній зв'язок: пародонтит погіршує глікемічний контроль), респіраторні інфекції (аспірація оральних патогенів), ревматоїдний артрит (*P. gingivalis* продукує пептидиларгінін деїмінази, що індукують цитрулінування), несприятливі наслідки вагітності, хвороба Альцгеймера

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

Ротова порожнина є складною біологічною екосистемою, яка постійно контактує з зовнішнім середовищем і водночас перебуває під контролем захисних механізмів організму. Вона

характеризується значним різноманіттям мікроорганізмів, які формують стабільну мікробіоценотичну систему. Сукупність мікроорганізмів ротової порожнини називають оральною мікрофлорою або оральним мікробіомом.

Мікрофлора ротової порожнини в нормі

Формування мікрофлори ротової порожнини починається з перших днів життя. У новонароджених переважають аеробні та факультативно анаеробні бактерії. Після прорізування зубів і появи твердих поверхонь створюються умови для формування зубного нальоту та стабільних мікробних спільнот. У дорослої людини в ротовій порожнині виявляється понад п'ятсот видів мікроорганізмів, більшість з яких є умовно-патогенними або сапрофітними.

Основними бактеріальними представниками нормальної мікрофлори є стрептококи, зокрема *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*. Вони домінують на слизовій оболонці щік, язика та твердого піднебіння і відіграють важливу роль у підтриманні мікробної рівноваги. Актиноміцети та вейлонели беруть участь у метаболізмі органічних кислот, знижуючи їх шкідливий вплив на емаль зубів. Лактобактерії в невеликій кількості також присутні в нормі, але їх надмірне розмноження пов'язане з розвитком карієсу.

Окрім бактерій, у ротовій порожнині можуть бути присутні гриби роду *Candida*, переважно *Candida albicans*. У нормальних умовах вони не викликають захворювань і перебувають під контролем імунної системи та бактеріальної мікрофлори. Іноді виявляють найпростіші мікроорганізми, такі як *Entamoeba gingivalis* і *Trichomonas tenax*, які зазвичай не мають клінічного значення.

Мікроорганізми ротової порожнини існують не ізольовано, а у вигляді біоплівки. Найбільш відомою біоплівкою є зубний наліт. Це складна структура, що складається з бактерій, міжклітинного матриксу, білків слини та залишків їжі. Біоплівки забезпечують мікроорганізмам захист від механічних і хімічних факторів, у тому числі від антисептиків та імунних механізмів.

Нормальна мікрофлора ротової порожнини виконує низку важливих функцій. Вона забезпечує колонізаційну резистентність, перешкоджаючи заселенню патогенних мікроорганізмів. Мікрофлора бере участь у формуванні місцевого імунітету, стимулює продукцію секреторного імуноглобуліну А та інших захисних факторів. Також вона впливає на кислотно-лужний баланс у порожнині рота та бере участь у процесах травлення.

Мікрофлора ротової порожнини при патології

Порушення кількісного та якісного складу мікрофлори ротової порожнини називають дисбіозом. Дисбіоз виникає під впливом різних чинників, серед яких провідну роль відіграють недостатня гігієна ротової порожнини, тривале застосування антибіотиків, гормональні порушення, імунодефіцитні стани, куріння, хронічні соматичні захворювання, зокрема цукровий діабет.

У разі дисбіозу зменшується кількість захисних мікроорганізмів і зростає чисельність умовно-патогенних та патогенних бактерій. Це створює умови для розвитку запальних і деструктивних процесів у тканинах порожнини рота.

Карієс зубів є одним із найпоширеніших захворювань, пов'язаних із порушенням мікробного балансу. Провідну роль у його розвитку відіграють *Streptococcus mutans* та *Streptococcus sobrinus*, які здатні утворювати кислоти внаслідок ферментації вуглеводів. Кисле середовище призводить до демінералізації емалі та утворення каріозних порожнин.

Захворювання пародонта, зокрема гінгівіт і пародонтит, пов'язані з переважанням анаеробної мікрофлори. До основних збудників належать *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*,

Treponema denticola. Ці мікроорганізми продукують ферменти та токсини, які ушкоджують тканини ясен, руйнують періодонтальну зв'язку та альвеолярну кістку.

Кандидоз порожнини рота виникає внаслідок надмірного розмноження грибів роду *Candida*. Він часто розвивається у дітей, літніх людей, пацієнтів з імунодефіцитами або після тривалої антибіотикотерапії. Клінічно кандидоз проявляється білим нальотом, почервонінням, болем і печінням слизової оболонки.

Мікробіологія захворювань порожнини рота

Мікробіологічні дослідження захворювань порожнини рота включають бактеріоскопію, бактеріологічний посів, молекулярно-генетичні методи та визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів. Це дозволяє встановити етіологію захворювання та обрати ефективну терапію.

Бактеріальні інфекції порожнини рота можуть мати гострий або хронічний перебіг. До них належать стоматити, гнійні запалення, одонтогенні інфекції та абсцеси. У патогенезі цих захворювань важливу роль відіграє взаємодія мікроорганізмів з імунною системою хазяїна.

Вірусологія захворювань порожнини рота

Вірусні ураження слизової оболонки рота зустрічаються досить часто. Найбільш поширеним є вірус простого герпесу першого типу, який спричиняє гострий і рецидивний герпетичний стоматит. Вірус папіломи людини може призводити до утворення папілом і бородавок у ротовій порожнині, а деякі його типи мають онкогенний потенціал. Вірус Епштейна–Барр асоціюється з волосистою лейкоплакією, особливо у пацієнтів з імунодефіцитами.

Імунологія захворювань порожнини рота

Імунна система порожнини рота включає механічні, хімічні та клітинні фактори захисту. Слина відіграє ключову роль у підтриманні імунологічного гомеостазу. Вона містить секреторний імуноглобулін А, лізоцим, лактоферин, пероксидази та інші антимікробні компоненти.

Клітинний імунітет представлений макрофагами, нейтрофілами, лімфоцитами та клітинами Лангерганса. Вони забезпечують розпізнавання антигенів, фагоцитоз і розвиток імунної відповіді. Порушення імунної регуляції може призводити до хронічного запалення, аутоімунних процесів та підвищеної схильності до інфекцій.

Висновок

Таким чином, мікрофлора ротової порожнини є невід'ємною складовою здоров'я людини. Її баланс забезпечує нормальне функціонування тканин рота, тоді як порушення цього балансу сприяє розвитку широкого спектра стоматологічних захворювань. Розуміння мікробіологічних, вірусологічних та імунологічних аспектів цих процесів є основою для ефективної профілактики та лікування патології порожнини рота.

Матеріали щодо активації здобувачів вищої освіти під час проведення лекції: питання, тести, ситуаційні задачі і т.п.:

Питання для обговорення під час лекції:

Проблемне питання: «Нормальний мікробіом ротової порожнини містить понад 700 видів мікроорганізмів, які інгібують колонізацію патогенів через конкуренцію за поживні речовини та місце, продукцію антимікробних субстанцій та стимуляцію місцевого імунітету. Як порушення цього балансу (дисбіоз) при прийомі антибіотиків, при ксеростомії та при імуносупресії призводить до розвитку захворювань (карієс, пародонтит, кандидоз), і як це можна

профілакувати?»

Клінічне питання: «Пацієнт з генералізованим пародонтитом має глибокі пародонтальні кишені, заповнені анаеробною мікрофлорою («червоний комплекс»: *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*). Як розуміння мікробіологічного складу та механізмів взаємодії цих патогенів з макрофагами та остеокластами впливає на вибір комплексної тактики лікування (механічна обробка, системні та локальні антибіотики, імунна модуляція)?»

Питання для роздумів: «Новітні епідеміологічні та молекулярно-біологічні дослідження свідчать про значний зв'язок між оральним мікробіомом та системними захворюваннями (ішемічна хвороба серця, діабет 2-го типу, ревматоїдний артрит, хвороба Альцгеймера). Як лікар-стоматолог повинен інтегрувати ці знання у свою практику та як це впливає на його розуміння взаємодії орального та системного здоров'я?»

Епідеміологічне питання: «Карієс залишається однією з найпоширеніших інфекційних захворювань людства, особливо в розвинутих індустріальних країнах через високе і часте споживання цукру та легкоферментуючихся вуглеводів. Як розуміння мікробіологічних механізмів карієсу та ролі *Streptococcus mutans* та *Lactobacillus spp.* у різних популяціях допомагає розробити персоналізовані стратегії профілактики та лікування, враховуючи соціально-економічні, культурні та поведінкові фактори?»

Питання для самоконтролю до теми:

1. Дайте визначення мікробіому ротової порожнини та його складності (> 700 видів мікроорганізмів).
2. Охарактеризуйте склад нормальної мікрофлори язика, ясен, зубних поверхонь та слини.
3. Назвіть основних представників нормальної мікрофлори порожнини рота в кожному біотопі.
4. Опишіть функції нормального мікробіому (захист від патогенів, синтез вітамінів, гомеостаз).
5. Охарактеризуйте поняття «біоплівка» та її структуру.
6. Дайте визначення матриксу біоплівки та його компонентів (ЕПС, білки, ліпіди, ДНК).
7. Назвіть переваги мікроорганізмів у складі біоплівки (захист від антибіотиків, дезінфектантів, фагів).
8. Опишіть етапи формування біоплівки: адгезія, мікроколонії, зрілість, дезагрегація.
9. Охарактеризуйте *Streptococcus mutans* як основного карієс-асоційованого мікроорганізму.
10. Дайте визначення механізмів кислотопродукції та демінералізації емалі при карієсу.
11. Назвіть роль слини у захисті від карієсу (буферна здатність, лізоцим, лактоферин, IgA).
12. Опишіть *Lactobacillus spp.* та їхню роль у розвитку карієсу.
13. Охарактеризуйте дієту та його вплив на розвиток карієсу (частота вуглеводування, рН).
14. Дайте визначення «червоного комплексу» пародонтопатогенів (*P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*).
15. Назвіть інші пародонтопатогенні мікроорганізми та їхнього клінічного значення.
16. Опишіть механізми патогенності пародонтопатогенів: протеаза, ліпополісахарид, інвазія тканин.
17. Охарактеризуйте роль імунної відповіді в деструкції тканин пародонту (цитокіни, остеокласти).
18. Дайте визначення ендодонтичних інфекцій та основних мікроорганізмів.
19. Назвіть домінуючих анаеробів у кореневих каналах та їхнього значення для прогнозу лікування.
20. Опишіть вірусні ураження порожнини рота: герпетичний стоматит, афтозний

стоматит.

21. Охарактеризуйте волосату лейкоплакію при ВІЛ-інфекції та етіологію (ГВЛ-4).
22. Дайте визначення орального кандидозу та факторів ризику (антибіотики, імуносупресія, ксеростомія).
23. Назвіть клінічні форми орального кандидозу (псевдомембранозний, еритематозний, ангулярний, хронічний).
24. Охарактеризуйте механізми переходу *Candida albicans* від коменсала до патогена.
25. Дайте визначення фізіологічних та місцевих факторів захисту слини (розмір потоку, рН, гідролітичні ферменти).
26. Назвіть роль секреторного IgA у контролі над мікрофлорою ротової порожнини.
27. Опишіть лізоцим, лактоферин та інші антимікробні білки слини.
28. Охарактеризуйте лізування кровоносних судин у слині та їхня роль у захисті.
29. Дайте визначення дисбіозу ротової порожнини та його причин (антибіотики, ксеростомія, радіація).
30. Назвіть принципи підтримання здорового орального мікробіому (гігієна, дієта, пробіотики, профілактика).

Список джерел до теми:

Основні:

1. Ширококов В.П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: 3-тє видання, оновлено та доповнено за ред. – Вінниця: «Нова книга», 2021. – 920 с.
2. Майкл Р Барер. Медична мікробіологія, Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль: 19-е видання: у двох томах / Вілл Ірвінг, Ендрю Свонн, Нелюн Перера – Київ: Медицина, 2021, – 434 с.

Додаткові:

3. Marsh P.D., Martin M.V. Oral microbiology. Churchill Livingstone Elsevier, 2009, 5th ed.: 1-240.
4. Wade W.G. The oral microbiome in health and disease. Pharmacological Research, 2013, 69(1): 137-143.