

Предисловие

Эта книга представляет собой полный обзор аспектов микробиологии и иммунологии, имеющих клиническое значение. Она охватывает как теоретические основы, так и практические вопросы бактериологии, вирусологии, микологии, паразитологии и иммунологии. Издание преследует две основные цели: (1) помочь в подготовке к экзаменам, в частности к USMLE (от англ. *United States Medical Licensing Examinations*) и (2) обеспечить студентам, слушателям курсов по клинической микробиологии, источник краткой современной информации. Автор попытался предоставить читателю точную, клинически значимую, информацию на уровне, достаточном для тех, кто начинает получать медицинское образование.

Настоящее новое издание содержит современные, клинически значимые, сведения из быстро меняющихся областей микробиологии и иммунологии, множество микрофотографий окрашенных микроорганизмов, а также описание основных лабораторных тестов. Кроме того, в книгу включена глава об эктопаразитах, таких как чесоточные клещи, и современная информация об антимикробных препаратах и вакцинах.

В издании использовано несколько форматов, которые должны сделать книгу полезной для студентов с разными учебными задачами и формами обучения.

1. Повествовательный текст с полной информацией.
2. Отдельная секция, содержащая сводные данные об основных микроорганизмах, — для быстрого обзора их главных особенностей.
3. Простые вопросы с ответами после каждой группы вопросов.
4. Практический экзамен состоит из 80 вопросов по микробиологии и иммунологии. Вопросы касаются различных клинических ситуаций и имитируют компьютеризированный экзамен. Ответы приведены в конце каждой группы из 40 вопросов.

5. Описания клинических случаев обеспечивают как клиническую, так и практическую информацию для экзаменов.

6. Раздел «Избранное» представляет важную информацию по эпидемиологии, необходимую для ответов на экзаменационные вопросы.

7. Многие изображения клинически важных поражений, встречающихся у пациентов с инфекционными заболеваниями, описанными в этой книге, доступны на веб-сайте учебного центра McGraw-Hill online (www.langetextbooks.com). Названия таких изображений в тексте выделены **красным**.

Успешному усвоению студентами-читателями материала этой книги способствуют ее особенности.

1. Современная информация представлена сжато, максимально ясно и интересно.

2. В тексте сделан упор на клиническое применение знаний по микробиологии и иммунологии при лечении инфекционных заболеваний.

3. В разделах, посвященных клинической бактериологии и вирусологии, выделены основные группы микроорганизмов. Это позволяет читателю сфокусироваться на изучении микроорганизмов, наиболее важных клинически.

4. Ключевая информация выделена в удобные таблицы. Важные концепции иллюстрированы цветными рисунками.

5. В конце каждой главы в разделе «Основные положения» перечислены важные факты.

6. Наиболее значимые аспекты бактериологии, вирусологии, микологии, паразитологии и иммунологии охватывают 645 практических вопросов. Отдельный раздел содержит расширенные сравнительные вопросы, в другом представлен ряд вопросов, касающихся клинических ситуаций.

7. Краткие суммирующие описания клинически значимых микроорганизмов собраны вместе в отдельном разделе для облегчения быстрого доступа к информации и упрощения сравнения одного микроорганизма с другим.

8. Описано 50 клинических ситуаций для того, чтобы их можно было проанализировать в коротком, разрешающем проблему формате. Эти ситуации демонстрируют важность знания научных основ для клинической диагностики.

9. В текст включены 70 цветных изображений, которые иллюстрируют клинически значимые сведения, такие как окраска бактерий по Граму, электронные микрофотографии вирусов и микроскопические изображения грибов, простейших и червей.

Многолетний опыт преподавания курсов клинической микробиологии и инфекционных заболеваний показывает, что читатели хорошо принимают книгу, представляющую наиболее важную информацию в интересном и удобном формате. Автор надеется на ваше согласие с тем, что это издание соответствует таким критериям.

Уоррен Левинсон, MD, PhD
Сан-Франциско, Калифорния,
май 2010

Благодарность

Я выражаю признательность редактору пятого издания Ивоне Стронг (Yvonne Strong), редактору шестого издания Саре Лин Коффи (Cara Lyn Coffey), редактору седьмого и девятого изданий Дженнифер Бернштайн (Jennifer Bernstein), редактору восьмого издания Линде Конхиди (Linda Conheady) и редактору десятого и одиннадцатого изданий Саните Догра (Sunita Dogra). Все они обеспечили высочайший стандарт грамматики и стиля.

Неоценима и заслуживает глубокой благодарности помощь моей жены Барбары, благодаря которой эта книга стала реальностью.

Я посвящаю эту работу моим отцу и матери, привившим мне любовь к науке, удовольствие от преподавания и неоценимую способность к самоорганизации.

Как пользоваться этой книгой

1. **Текст:** сжатое полное описание клинически важной информации для студентов данной профессии. Включает основы бактериологии и ее клинические аспекты (с. 26–358), основы вирусологии и ее клинические аспекты (с. 360–606), микологию (с. 608–641), паразитологию (с. 643–728), иммунологию (с. 730–878) и эктопаразитологию (с. 880–887).

2. **Краткий обзор микроорганизмов, имеющих клиническое значение:** краткий обзор для экзаменов, описывающий основные характеристики микроорганизмов (с. 889–1011).

3. **Избранное:** 11 таблиц, содержащих основную клиническую и эпидемиологическую информацию, которая может быть полезной для ответов на вопросы USMLE (с. 1028–1036).

4. **Практические вопросы:** 654 практических вопроса, которые можно использовать для подготовки к USMLE и другим экзаменам (с. 1038–1140).

5. **Практический экзамен:** два экзамена по 40 вопросов в формате USMLE (с. 1141–1163).

6. **Основные положения:** обобщенная информация в конце каждой главы, посвященная научным основам

7. **Клинические случаи:** 50 ситуаций, иллюстрирующих основные инфекционные заболевания с особым вниманием к диагностической информации (с. 1013–1026).

8. **Клинические изображения:** слова, выделенные **красным**, — названия клинических проблем, которые можно увидеть на веб-сайте учебного центра McGraw-Hill online (www.langetextbooks.com).

ЧАСТЬ I. ОСНОВЫ БАКТЕРИОЛОГИИ

1

Сравнение бактерий с другими микроорганизмами

Возбудители инфекционных заболеваний

Возбудители инфекционных заболеваний человека относятся к пяти основным группам организмов: бактериям, грибам, простейшим, гельминтам и вирусам. Бактерии принадлежат к царству прокариот, грибы (дрожжевые и плесневые) и простейшие относятся к царству протистов, а гельминты (черви) — к царству животных (табл. 1–1). Протисты отличаются от животных и растений тем, что они представлены либо одноклеточными, либо относительно простыми многоклеточными организмами. Гельминты являются сложными многоклеточными организмами, что выделяет их в царстве животных в отдельную группу. Гельминты и простейшие обычно носят общее название — паразиты. Вирусы существенно отличаются от других организмов — не имея клеточного строения, они могут размножаться только внутри клеток.

Таблица 1–1. Биологические взаимоотношения патогенных микроорганизмов

Царство	Патогенные микроорганизмы	Тип клеток
Животные	Гельминты	Эукариоты
Растения	Нет	Эукариоты
Протисты	Простейшие Грибы	Эукариоты Эукариоты
Прокариоты	Бактерии Вирусы	Прокариоты Не клетки

Характеристика

Основные характеристики микроорганизмов представлены в табл. 1–2. Их отличительной чертой является принадлежность бактерий, грибов, простейших и гельминтов к клеточным организмам, в то время как вирусов — к бесклеточным структурам. Это различие обусловлено тремя критериями.

Таблица 1–2. Сравнение микроорганизмов, имеющих клиническое значение

Характеристика	Вирусы	Бактерии	Грибы	Простейшие и гельминты
Клетки	Нет	Да	Да	Да
Приблизительный диаметр (мкм) ¹	0,02–0,2	1–5	3–10 (дрожжи)	15–25 (трофозоиты)
Нуклеиновая кислота	Либо ДНК, либо РНК	ДНК и РНК	ДНК и РНК	ДНК и РНК
Тип ядра	Ядро отсутствует	Прокариотический	Эукариотический	Эукариотический
Рибосомы	Нет	70S	80S	80S
Митохондрии	Нет	Нет	Имеются	Имеются
Устройство наружной поверхности	Белковый капсид и липопротеиновая оболочка	Жесткая стенка, содержащая пептидогликан	Жесткая стенка, содержащая хитин	Гибкая мембрана
Подвижность	Нет	Некоторая	Нет	Большинство
Способ размножения	Не бинарное деление	Бинарное деление	Почкование или митоз ²	Митоз ³

¹ Для сравнения: диаметр эритроцита человека составляет 7 мкм.

² Дрожжи делятся почкованием, тогда как плесневые грибы — при помощи митоза.

³ Клетки гельминтов делятся митозом, но размножение организма в целом происходит путем сложного полового жизненного цикла.

- Структура.** Ядра или нуклеоиды в клетках (см. ниже) содержат ДНК; они окружены цитоплазмой, в которой происходит синтез белков и генерируется энергия. У вирусов генетический материал представлен либо ДНК, либо РНК, но они не имеют цитоплазмы и зависимы от клетки-хозяина в обеспечении обмена веществ и энергии.
- Размножение клеток.** Размножение клеток происходит путем простого деления либо митозом, во время которого одна родительская клетка делится на две новые, наследующие ее структуру. Размножение клеток прокариот, т. е. бактерий, происходит путем деления, тогда как у эукариот — путем митоза. В отличие от них размножение вирусов происходит в результате продуцирования множества копий нуклеиновых кислот и белков, из которых затем образуется множество вирусов-потомков. Кроме того, размножение вирусов вынужденно происходит внутри клеток-хозяев в связи с тем, что, как было упомянуто выше, у них нет систем синтеза белка и генерации энергии. За исключением риккетсий и хламидий, которым для существования необходимо постоянно пребывать в клетках-хозяевах, размножение бактерий происходит вне клеток.
- Состав нуклеиновых кислот.** Клеточные организмы содержат как ДНК, так и РНК, тогда как вирусы содержат либо ДНК, либо РНК, но не обе одновременно.

Эукариоты и прокариоты

Клетки делятся на два фундаментально различных типа — эукариоты и прокариоты, которые различаются по структуре и сложности организации.

Грибы являются эукариотами, тогда как бактерии — прокариотами.

- (1) Клетки эукариот имеют истинное **ядро** с множеством хромосом, окруженных ядерной мембраной, и используют механизм митоза для обеспечения равного количества хромосом в дочерних клетках.
- (2) **Нуклеоид** прокариот — ДНК-содержащая зона, при этом отсутствует оболочка ядра и механизм митоза (табл. 1–3).

Таблица 1–3. Характеристики клеток прокариот и эукариот

Характеристика	Прокариоты (бактерии)	Эукариоты (человек)
ДНК в мембране ядра	Нет	Есть
Митотическое деление	Нет	Есть
ДНК, ассоциированная с гистонами	Нет	Есть
Число хромосом	Одна	Больше одной
Мембранные органеллы, такие как митохондрии и лизосомы	Нет	Есть
Размер рибосомы	70S	80S
Наличие пептидогликана в клеточной стенке	Есть	Нет

Кроме различия ядер два класса клеток отличаются еще по нескольким характеристикам.

- (1) Клетки эукариот содержат **органеллы**, такие как митохондрии и лизосомы, и более крупные (80S) — рибосомы, тогда как у прокариот органелл нет и рибосомы мельче (70S).
- (2) Наружная стенка большинства прокариот жесткая, содержит **пептидогликан**, полимер аминокислот и сахаров — уникальный для нее компонент. Эукариоты пептидогликан не содержат. Они либо связаны с гибкой клеточной мембраной, либо (в случае грибов) обладают жесткой клеточной стенкой, содержащей хитин, гомополимер N-ацетилглюкозамина, типичный компонент каркаса.
- (3) Мембрана клеток эукариот содержит **стеролы**, в то время как прокариоты, за исключением не имеющей стенки *Mycoplasma*, стеролов в клеточной стенке не имеют.

Еще одной особенностью, по которой можно различить эти микроорганизмы, является их **подвижность**. Большинство простейших и некоторые бактерии подвижны, тогда как вирусы и грибы неподвижны. Простейшие относятся к гетерогенной группе, обладающей тремя разными органами движения: жгутиками, ресничками и псевдоподиями. Подвижные бактерии перемещаются только с помощью жгутиков.

Терминология

Названия бактерий, грибов, простейших и гельминтов образуются в соответствии с биномиальной системой Линнея, использующей роды и виды, но но-

менклатура вирусов построена иначе. Например, у хорошо известной бактерии *Escherichia coli*, *Escherichia* — название рода, *coli* — название вида. Аналогично, название дрожжевого гриба *Candida albicans* состоит из названия рода *Candida* и названия вида *albicans*. Вирусы же, как правило, имеют однословное название, например полиовирус, вирус оспы или вирус бешенства. Некоторые вирусы именуется двумя словами (вирус простого герпеса), но и такие названия не отражают ни вид, ни род.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

- К возбудителям инфекционных заболеваний человека относятся **бактерии, грибы (дрожжевые и плесневые), простейшие, гельминты (черви) и вирусы**.
- Бактериальные клетки имеют **прокариотическое** строение, тогда как у человека, грибов, простейших и гельминтов клетки имеют **эукариотическое** ядро. Вирусы клетками не являются и не имеют ядра.
- Все клеточные организмы включают одновременно ДНК и РНК, тогда как вирусы содержат либо ДНК, либо РНК — но не одновременно.
- Клетки бактерий и грибов окружены жесткой стенкой, тогда как у человека, простейших и гельминтов клетки имеют гибкие мембраны.
- Стенка бактериальной клетки содержит **пептидогликан**, тогда как стенка клетки грибов — хитин.

Практические вопросы:

USMLE и другие экзамены

Вопросы по темам, изложенным в этой главе, можно найти в Части XII («Основы бактериологии», с. 1039) и Части XIII (с. 1141).

2

Строение бактериальной клетки

Форма и размер

По форме бактерии делятся на три основные группы: **кокки**, **бациллы** и **спирохеты** (рис. 2–1). Кокки имеют форму шариков, бациллы — палочек и спирохеты — спиралей. Форма некоторых бактерий варьирует, и их называют **плеоморфными** (многоформными). Форма бактерии определяется жесткостью ее стенки. Вид бактерии при микроскопии — наиболее важный критерий, используемый для ее идентификации.

Кроме характерной формы важна также группировка бактерий. Например, определенные кокки группируются в пары (**диплококки**), некоторые в цепочки (**стрептококки**), другие — в кистеобразные кластеры (**стафилококки**). Эти группировки определяются ориентацией и степенью прикрепления бактерии

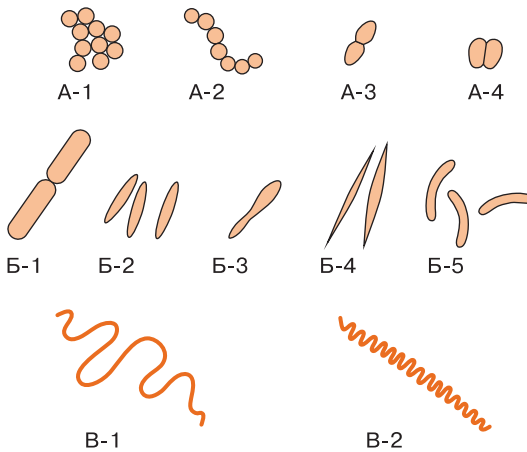


Рис. 2–1. Морфология бактерий. **А:** кокки в кластерах, например *Staphylococcus* (A-1); цепочках, например *Streptococcus* (A-2); в парах в виде цепочки, например *Streptococcus pneumoniae* (A-3); в парах почкообразной формы, например *Neisseria* (A-4). **Б:** Палочки (бациллы): с прямоугольными концами, например *Bacillus* (B-1); с закругленными концами, например *Salmonella* (B-2); булабовидные, например *Corynebacterium* (B-3); веретенообразные, например *Fusobacterium* (B-4); в форме запятых, например *Vibrio* (B-5). **В:** Спирахеты: вытянутая спираль, например *Borrelia* (B-1); плотная спираль, например *Treponema* (B-2). (С разрешения из: Joklik WK *et al. Zinsser Microbiology*. 20th ed. Впервые опубликовано Appleton & Lange. Copyright 1992 by McGraw-Hill.)

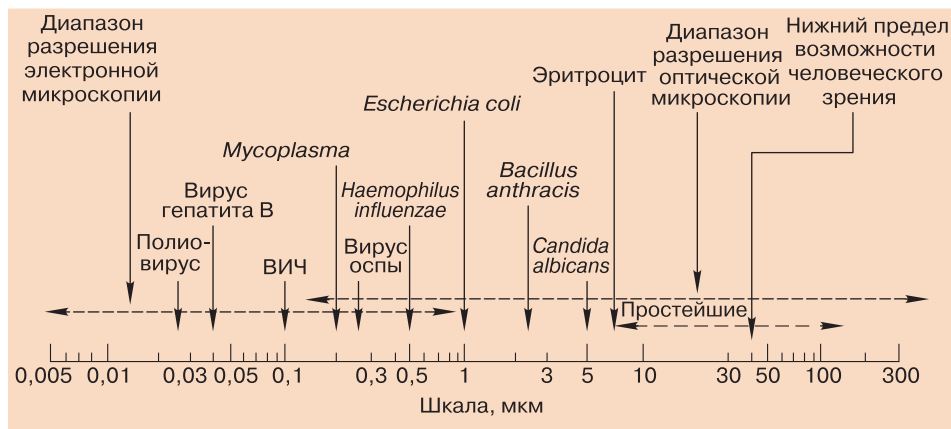


Рис. 2–2. Размеры бактерий, вирусов, дрожжевых грибов, простейших и эритроцита человека. Размеры бактерий варьируют от *Mycoplasma*, самой маленькой, до *Bacillus anthracis*, одной из самых крупных. Размеры вирусов варьируют от размера полиовируса, самого маленького, до размера вируса оспы, самого крупного. Дрожжевые грибы, такие как *Candida albicans*, в основном крупнее бактерий. Простейшие имеют много различных форм и их размеры варьируют очень широко. ВИЧ, вирус иммунодефицита человека. (С разрешения из: Joklik WK et al. *Zinsser Microbiology*. 20th ed. Впервые опубликовано Appleton & Lange. Copyright 1992 by McGraw-Hill.)

во время деления клетки. Группировка палочек и спирохет имеет меньшее клиническое значение и далее в этой вводной главе не упоминается.

Размер бактерий варьирует в диапазоне 0,2–5 мкм (рис. 2–2). Самая маленькая бактерия (*Mycoplasma*) приблизительно одного размера с самым большим вирусом (вирус оспы) и является самым маленьким организмом, способным существовать вне организма хозяина. Самая длинная бактерия-палочка приблизительно одного размера с некоторыми дрожжевыми грибами и эритроцитами человека (7 мкм).

Строение

Строение типичной бактериальной клетки представлено на рис. 2–3, а наиболее важные черты каждого ее компонента отмечены в табл. 2–1.

Клеточная стенка

Клеточная стенка показывает клетку снаружи, типична для всех бактерий (за исключением семейства микоплазм, которые окружены клеточной мембраной, но не стенкой). У некоторых бактерий на наружной поверхности клетки есть образования, такие как капсула, жгутики и пили. Эти структуры обнаружены не у всех бактерий и о них будет сказано ниже.

Клеточная стенка — многослойная структура, расположенная снаружи от цитоплазматической мембраны. Она состоит из внутреннего слоя **пептидогликана** (см с. 7) и внешней мембраны, толщина и химический состав которой варьируют в зависимости от типа бактерии (рис. 2–4). Пептидогликан обеспечивает структурную поддержку и сохраняет характерную форму клетки.

Таблица 2–1. Строение бактериальной клетки

Структура	Химический состав	Функция
Обязательные компоненты		
Клеточная стенка		
Пептидогликан	Основа в виде сахаров и поперечносшитых цепочек пептидов	Обеспечивает жесткость, защищает от осмотического набухания, область действия пенициллинов и цефалоспоринов, разрушается лизосомами
Наружная мембрана грамотрицательных бактерий	Липид А Полисахарид	Токсический компонент эндотоксина Основной поверхностный антиген, часто используется для лабораторной диагностики
Поверхностные волокна грамположительных бактерий	Тейхоевая кислота	Основной поверхностный антиген, редко используется для лабораторной диагностики
Плазматическая мембрана	Двойной слой липопротеинов без стеролов	Область расположения окислительных и транспортных ферментов
Рибосома	РНК и белок, находящийся в 50S и 30S субъединицах	Синтез белков; область действия аминогликозидов, эритромицина, тетрациклинов и хлорамфеникола
Нуклеоид	ДНК	Генетический материал
Мезосома	Инвагинация плазматической мембраны	Участвует в делении клеток и секреции
Периплазма	Пространство между плазматической и наружной мембранами	Содержит многие гидролитические ферменты, включая β -лактамазы
Необязательные компоненты		
Капсула	Полисахарид ¹	Защищают от фагоцитоза
Пили или фимбрии	Гликопротеин	Два типа: (1) обеспечивают прикрепление к поверхности клетки; (2) половой жгутик обеспечивает прикрепление двух бактерий во время конъюгации
Жгутики	Белок	Обеспечивают подвижность
Споры	Кератиноподобная оболочка, дипиколининовая кислота	Защищают от высыхания, нагревания и действия химических веществ
Плаزمида	ДНК	Содержит набор генов, кодирующих резистентность к антибиотикам и синтез токсинов
Гранулы	Гликоген, липиды, полифосфаты	Место нахождения питательных веществ в цитоплазме
Гликокаликс	Полисахарид	Обеспечивает прикрепление к поверхностям

¹ За исключением *Bacillus anthracis*, у которой это полипептид D-глутаминовой кислоты.

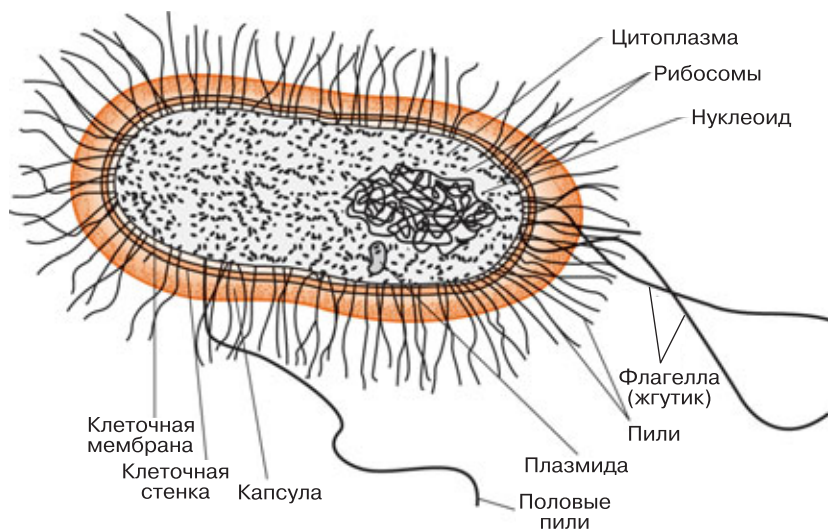


Рис. 2–3. Строение клетки бактерии. (С разрешения из: Ryan *et al.* *Sherris Medical Microbiology*. 4th ed. Copyright 2004 McGraw-Hill.)

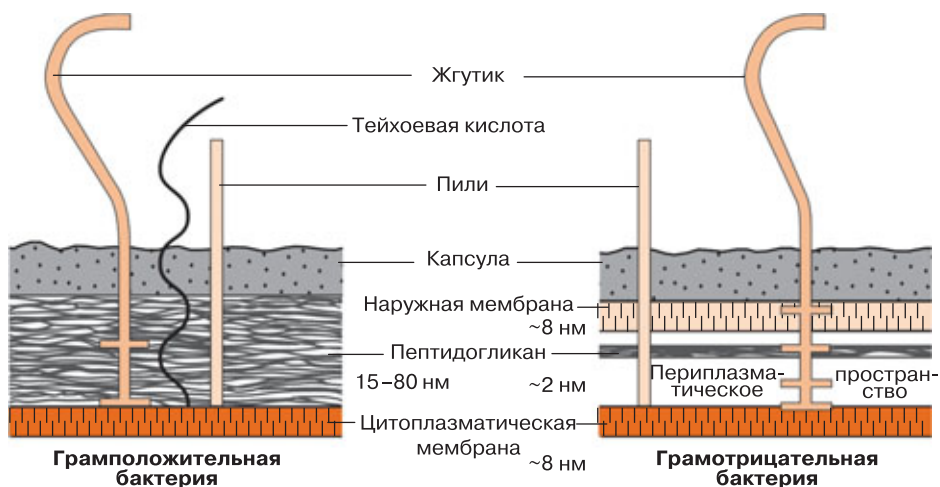


Рис. 2–4. Клеточная стенка грамположительных и грамотрицательных бактерий. Обратите внимание, что пептидогликан у грамположительных бактерий значительно толще, чем у грамотрицательных. Обратите внимание также на то, что только у грамотрицательных имеется наружная мембрана, состоящая из эндотоксина (липополисахарида [LPS]), и периплазматическое пространство, в котором находятся β -лактамазы. Некоторые клинически значимые грамположительные бактерии содержат тейхоевые кислоты. (С разрешения из: Ingraham JL, Maaloe J, Neihardt FC. *Growth of the Bacterial Cell*. Sinauer Associates; 1983.)

Клеточная стенка грамположительных и грамотрицательных бактерий

Структура, химический состав и толщина клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий различны (табл. 2–2 и «Окраска по Граму»).

- (1) У грамположительных бактерий слой пептидогликана значительно толще, чем у грамотрицательных. Некоторые грамположительные бактерии имеют также тейхоевые кислоты, выступающие над пептидогликаном, отсутствующие у грамотрицательных бактерий.
- (2) В отличие от грамположительных грамотрицательные бактерии обладают сложным наружным слоем, состоящим из липополисахарида, липопротеина и фосфолипида. Между наружным мембранным слоем и цитоплазматической мембраной у грамотрицательных бактерий расположено **периплазматическое пространство**, в котором у некоторых видов находятся энзимы, называемые β -лактамазами (разрушают пенициллин и другие β -лактамы препараты).

Клеточная стенка обладает рядом других важных особенностей.

- (1) У грамотрицательных бактерий она содержит **эндотоксин**, представляющий собой липополисахарид (см. с. 37 и 85).
- (2) Липополисахариды и белки клеточной стенки служат антигенами, которые используют для лабораторной идентификации.
- (3) **Пориновые** белки клеточной стенки обеспечивают прохождения небольших гидрофильных молекул в клетку. Пориновые белки наружной мембраны грамотрицательных бактерий действуют как каналы, позволяющие проникать в клетку таким важным веществам, как сахара, аминокислоты, витамины и металлы, равно как и многим антимикробным препаратам, например пенициллину.

Клеточные стенки кислотоустойчивых бактерий

У микобактерий, таких как *Mycobacterium tuberculosis*, клеточная стенка необычна, что делает невозможным ее окраску по Граму. Считается, что эти бактерии должны быть **кислотоустойчивыми**, так как они устойчивы к кислотно-спиртовому обесцвечиванию после окраски карболфуксином. Это свойство связано с высокой концентрацией липидов, называемых **миколовыми кислотами**, в стенке клетки микобактерии.

С учетом их значимости три компонента клеточной стенки — пептидогликан, липополисахарид и тейхоевая кислота — будут рассмотрены детально.

Таблица 2–2. Сравнение клеточных стенок грамположительных и грамотрицательных бактерий

Компонент	Грамположительные клетки	Грамотрицательные клетки
Пептидогликан	Толще, многослойный	Тоньше, один слой
Тейхоевые кислоты	Есть	Нет
Липополисахарид (эндотоксин)	Нет	Есть

Пептидогликан

Пептидогликан представляет комплекс, состоящий из ковалентно сшитых слоев полимера и окружающий всю клетку. Он имеется *только* в клеточной стенке бактерий. Пептидогликан обеспечивает жесткую структуру клетки, что позволяет сохранять характерную форму и поддерживать постоянство осмотического давления в средах с низким осмотическим давлением, например в воде. Сегмент слоя пептидогликана представлен на рис. 2–4. Термин «пептидогликан» — производное от слов «пептиды» и «сахара» (гликаны), из которых состоит молекула. Синонимы пептидогликана — муреин и муркопептид.

На рис. 2–5 представлен углеводный скелет, состоящий из чередующихся молекул N-ацетилмураминовой кислоты и N-ацетилглюкозамина. Прикрепленный к каждой молекуле мурамовой кислоты тетрапептид состоит одновременно из D- и L-аминокислот, состав которых у бактерий различен. Две из этих аминокислот заслуживают особого внимания: диаминопимелиновая кислота, которая уникальна для бактериальной клетки, и D-аланин, который участвует в пере-

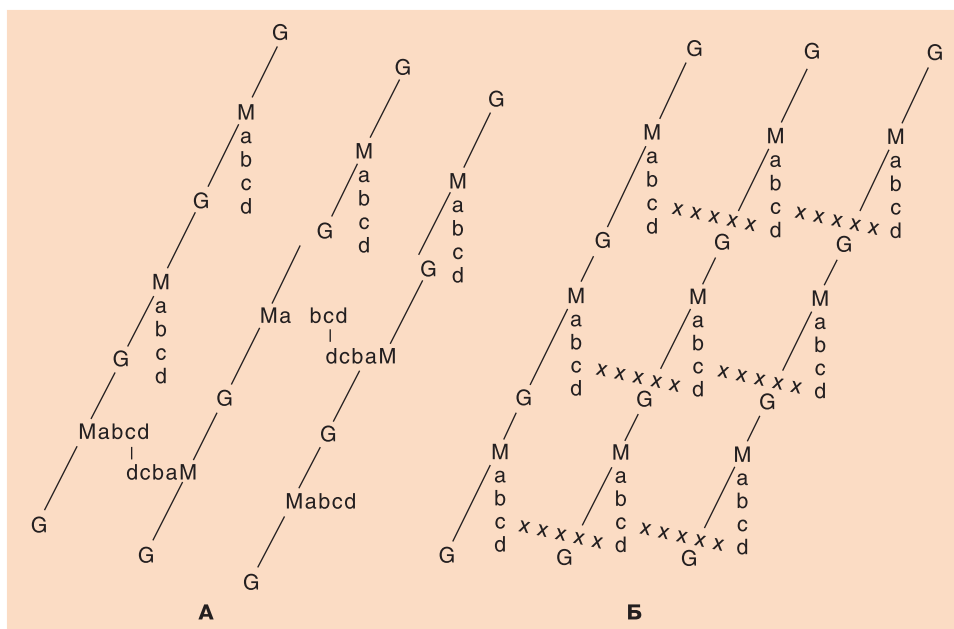


Рис. 2–5. Структура пептидогликана *Escherichia coli* (А) отличается от *Staphylococcus aureus* (Б) наличием поперечной сшивки. У *E. coli* пять молекул глицина прямо сшиты с d, тогда как у *S. aureus* они поперечно сшиты с с и d. Однако у обоих видов микроорганизмов молекула d-аланина является конечной частью сшивки. М — мурамовая кислота; G — глюкозамин; а — L-аланин; b — D-глутаминовая кислота; с — диаминопимелиновая кислота (А) или L-лизин (Б); d — D-аланин; x — пентагликановый мостик. (С разрешения из: Joklik WK *et al.* *Zinsser Microbiology*. 20th ed. Впервые опубликовано Appleton & Lange. Copyright 1992 by McGraw-Hill.)

крестной сшивке тетрапептидов и действию пенициллина. Следует обратить внимание на то, что этот тетрапептид содержит редкий D-изомер аминокислот; большинство белков содержат L-изомер. Другой важной особенностью является наличие поперечной сшивки между двумя тетрапептидами. Эта сшивка различна у разных видов бактерий: например, у *Staphylococcus aureus* пять молекул глицина связывают конечную молекулу D-аланина с предпоследней молекулой L-лизина.

ОКРАСКА ПО ГРАМУ

Этот способ окраски, разработанный в 1884 г. датским врачом Кристианом Грамом, стал одним из самых важных микробиологических методов. Он разделяет большинство бактерий на две группы: грамположительные, которые окрашиваются в голубой цвет, и грамотрицательные, которые окрашиваются красным цветом. Способ окраски по Граму состоит из четырех последовательных этапов.

- (1) Кристаллический фиолетовый краситель окрашивает все клетки в голубой/фиолетовый цвет.
- (2) Раствор йода (закрепитель) добавляют для образования кристаллического виолет-йодного комплекса; все клетки продолжают выглядеть голубыми.
- (3) Органический растворитель, такой как ацетон или спирт, экстрагирует комплекс голубой краски из богатой липидами, тонкостенной клетки грамотрицательных бактерий в большей степени, чем из бедных липидами толстостенных грамположительных бактерий. Грамотрицательные выглядят бесцветными, грамположительные остаются голубыми.
- (4) Обработка красным красителем сафранином изменяет цвет грамотрицательных клеток на красный/розовый; грамположительные бактерии остаются голубыми.

Применение окраски по Граму особенно важно для:

- (1) идентификации многих бактерий;
- (2) выбора антибиотика, так как в целом грамположительные бактерии более чувствительны к пенициллину, чем грамотрицательные.

По методике Грама, однако, окрашиваются не все бактерии. В табл. 2–3 приведены имеющие клиническое значение бактерии, которые не окрашиваются по Граму, и описаны причины этого. Там же даны альтернативные способы окраски.

Следует помнить, что для обнаружения 1 бактерии в поле зрения микроскопа с использованием (100×) линз масляной иммерсии, концентрация бактерий должна составлять приблизительно 100 000 клеток в 1 мл. Таким образом, чувствительность окраски по Граму невысока. Это объясняет то, почему кровь пациента не красят сразу, а инкубируют на кровяных культурах до следующего дня — за это время число бактерий увеличивается. Из данного правила есть одно важное исключение — при менингококцемии концентрация в крови *Neisseria meningitidis* может быть очень высокой.

В связи с тем, что пептидогликан имеется у бактерий, но отсутствует в клетках человека, он становится удобной мишенью для действия антибактериальных препаратов. Некоторые из лекарств, такие как пенициллин, цефалоспорины и ванкомицин, блокируют синтез пептидогликана, ингибируя транспептидазу, образующую перемычки между двумя расположенными рядом тетрапептидами (см. гл. 10).

Фермент **лизоцим** присутствует в слезах, слизи и слюне человека и может расщеплять каркас пептидогликана, разрушая его гликозидные связи и внося вклад в естественную резистентность организма против бактериальных инфекций. Действие лизоцима при высоком осмотическом давлении внутри клетки приводит к попаданию воды, набуханию и разрушению бактерий. Однако, если обработанные лизоцимом клетки находятся в растворе с таким же осмотическим давлением, что и внутри бактерии, они выживают, принимая сферические формы, которые называют протопластами, окруженными только цитоплазматической мембраной.

Липополисахарид

Липополисахарид (ЛПС) наружной мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий является **эндотоксином**. Он обуславливает многие проявления заболеваний, такие как лихорадка и шок (особенно гипотензию), вызываемые этими микроорганизмами (см. с. 84). Название «эндо» показывает, что это составная часть клеточной стенки, в отличие от экзотоксинов, активно секретируемых бактериями. Комплекс симптомов, вызываемых эндотоксином одной грамотрицательной бактерии, сходен с таковым у другой, но тяжесть симптомов при этом может варьировать весьма широко. Симптомы, вызываемые экзотоксинами различных бактерий, напротив, обычно совершенно разные.

Таблица 2–3. Клинически значимые бактерии, не окрашивающиеся по Граму

Название	Причина	Альтернативная методика микроскопии
Микобактерии, включая <i>M. tuberculosis</i>	Краситель не может проникнуть через клеточную стенку из-за слишком большого содержания липидов	Кислотоустойчивая окраска
<i>Treponema pallidum</i>	Слишком тонка, чтобы ее видеть	Микроскопия в темном поле или реакция иммунофлуоресценции антител
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Нет клеточной стенки; очень малый размер	Нет
<i>Legionella pneumophila</i>	Слабо накапливает красный краситель	Удлинение времени контрастирования
Хламидии, включая <i>C. trachomatis</i>	Внутриклеточное существование; очень малый размер	Тельца включения в цитоплазме
Риккетсии	Внутриклеточное существование; очень малый размер	Окраска по Гимзе или другие способы окраски тканей

ЛПС состоит из трех определенных единиц (рис. 2–6).

- (1) Фосфолипид (называемый липидом А) отвечает за токсические эффекты.
- (2) Коровый (внутренний) полисахарид, состоящий из пяти сахаров, связан при помощи кетодиоксиоктоновой кислоты (КДО) с липидом А.
- (3) Полисахариды внешней мембраны, включающие до 25 повторяющихся единиц, состоящих из 3–5 сахаров. Этот наружный полимер является важным соматическим, или О-антигеном у нескольких грамотрицательных бактерий, который используется для идентификации микроорганизмов в клинических лабораториях.

Тейхоевая кислота

Это полимер глицеролфосфата или рибитолфосфата, расположенный в наружном слое стенки грамположительных клеток и выступающий из него. Некоторые полимеры глицеролтейхоевой кислоты проникают слой пептидогликана и ковалентно связываются с липидами цитоплазматической мембраны, в таких случаях это соединение называют **липотейхоевой кислотой**, другие прикрепляются к мураминовой кислоте пептидогликана.

Клиническое значение тейхоевых кислот заключается в их способности индуцировать шок при заболеваниях, вызываемых некоторыми грамположительными бактериями. Так, они активируют те же самые патологические процессы, что и эндотоксин (ЛПС) у грамотрицательных бактерий. Тейхоевые кислоты опосредуют прикрепление стафилококков к клеткам слизистой. У грамотрицательных бактерий тейхоевых кислот нет.

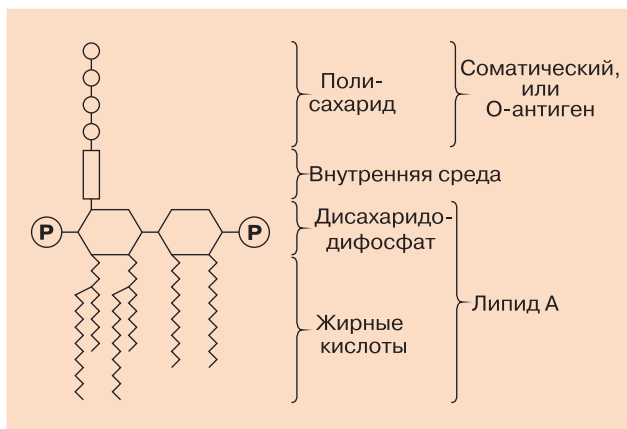


Рис. 2–6. Структура эндотоксина (ЛПС). Полисахаридный О-антиген расположен на наружной поверхности стенки, тогда как липид А обращен внутрь. (С разрешения из: Brooks GF *et al.* *Medical Microbiology*. 19th ed. Впервые опубликовано Appleton & Lange. Copyright 1991 McGraw-Hill.)

[. . .]