



Возбудитель дифтерии

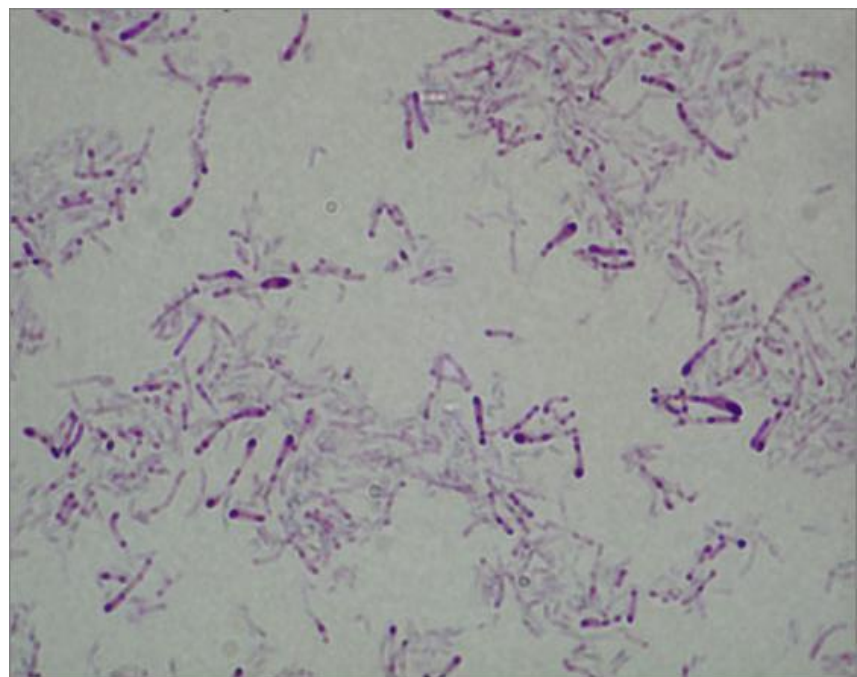
Corynebacterium diphtheriae

Таксономия коринебактерий

- Порядок Actinomycetales
- Семейство Corynebacteriaceae
- Род Corynebacterium
- Виды
 - Патогенный C. diphtheriae
 - Непатогенные C. xerosis, C. pseudodiphthericum и др., т.н. дифтероиды

Характеристика патогенных коринебактерий

- Грам(+) палочки тонкие прямые или слегка изогнутые. Имеют включения в виде зерен волютина. Спор не образуют. В мазках располагаются под углом друг к другу в виде римских букв X, V, Y
- Окраска по методу Леффлера метиленовым синим или по методу Нейссера (ацетат толуидинового синего)
- Имеют микрокапсулу, а также фимбрии, облегчающие адгезию к эпителию слизистых оболочек.



- Культивирование на элективных средах Клауберга, содержащих теллурид калия или натрия, или на дифференциально-диагностических средах Бучина.
- Биохимические свойства. Коринебактерии дифтерии ферментируют глюкозу, мальтозу. Отсутствие активности в отношении *сахарозы и мочевины* - важный дифференциальный признак среди дифтероидов. Обладают *цистеназной* активностью (расщепляют цистеин) - проба Пизу.

Биовары возбудителя

- По культуральным и некоторым биологическим свойствам выделяют 3 биовара

Свойства	GRAVIS	MITIS	INTERMEDIUS
ТИП КОЛОНИЙ	R	S	S-R
КРАХМАЛ	+	-	-
ГЛИКОГЕН	+	-	-
САХАРОЗА	±	-	-
ГЕМОЛИЗ НА КА	±	+	-



Факторы патогенности

- Экзотоксин – термолабильный высокотоксичный иммуногенный белок, который нарушает синтез белка в чувствительных клетках
- Токсигенные штаммы *C. diphtheriae* (лизогенные) обозначаются **tox+** и являются возбудителями дифтерии
- Нетоксигенные штаммы не вызывают заболевания.

Эпидемиология

- Резервуар - человек (больной, реконвалесцент, бактерионоситель).
- Основной путь передачи - воздушно - капельный,
- сезонность - осенне - зимняя.
- Возбудитель хорошо сохраняется при низких температурах, высушенном состоянии (слюна, слизь, пыль).

Клинико-патогенетические особенности

- По локализации выделяют дифтерию ротоглотки (наиболее часто), дыхательных путей, носа и редкой локализации (глаза, наружные половые органы, кожа, раневая поверхность). Дифтерия зева может быть причиной крупа и асфиксии.
- Возбудитель в месте внедрения вырабатывает экзотоксин, который вызывает местное фибринозное воспаление с образованием плотно спаянной с тканями фибринозной пленки.

- 
- Общее действие экзотоксина:
токсическое поражение почек
(токсический нефрит), сердца
(токсический миокардит),
демиелинизация нервных волокон и
др.

Клинические проявления

А. Дифтерия зева



Б. Дифтерия кожи

Микробиологическая диагностика дифтерии

- Бактериологический метод:
Посев на теллуритовые среды Клауберга или дифференциально-диагностически среды Бучина
- Определение морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств
- Определение токсигенности по методу Оухтерлони (реакция преципитации в агаре)
- Используют также ИФА с антитоксином, генетические зонды и ПЦР для выявления фрагмента А гена tox+.

Специфическое лечение и профилактика:

- Лечение – антитоксическая противодифтерийная сыворотка
- Специфическая профилактика – АКДС, АКДС-М, АДС-М, АД, АД-М



МИКОБАКТЕРИИ

Патогенные и условно-патогенные микобактерии
Возбудители туберкулеза

Классификация и таксономическое положение

- Порядок Actinomycetales
- Семейство Mycobacteriaceae
- Род Mycobacterium

Виды: M. tuberculosis

M. bovis – возбудители
туберкулеза

M. leprae – возбудитель лепры
(проказа; болезнь Хансена)

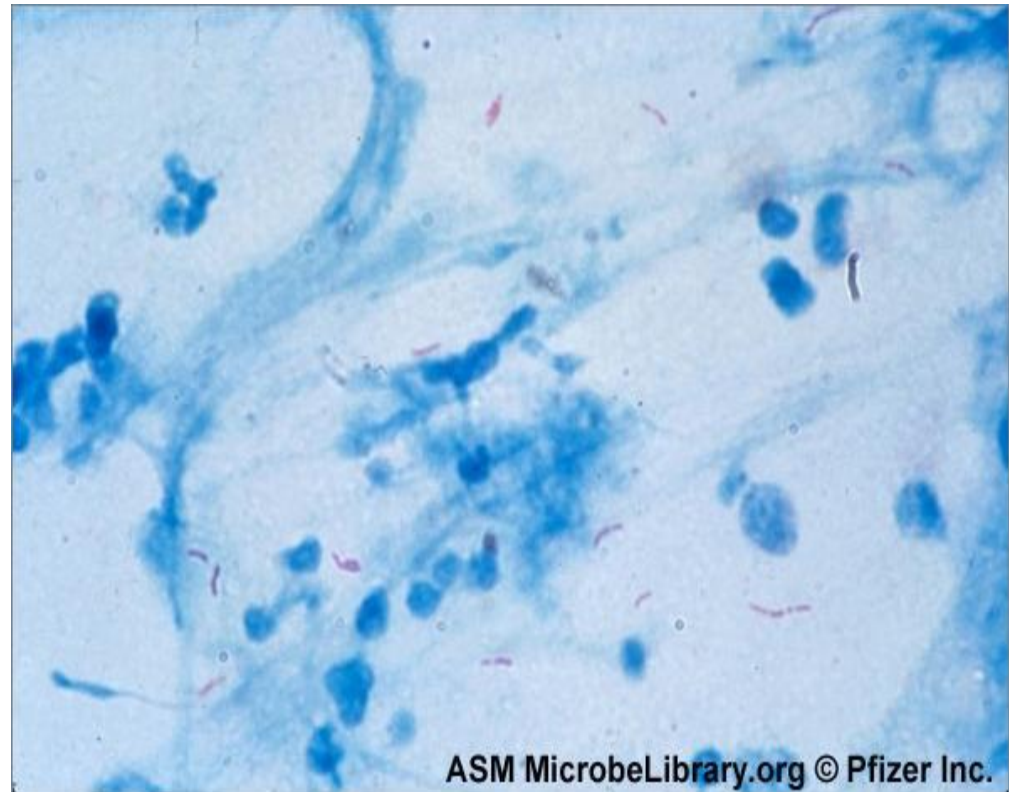
M. avium, africanum, lepraemurium и др. –
условно-патогенные виды



**ВОЗБУДИТЕЛЬ
ТУБЕРКУЛЕЗА
(ПАЛОЧКА КОХА)**

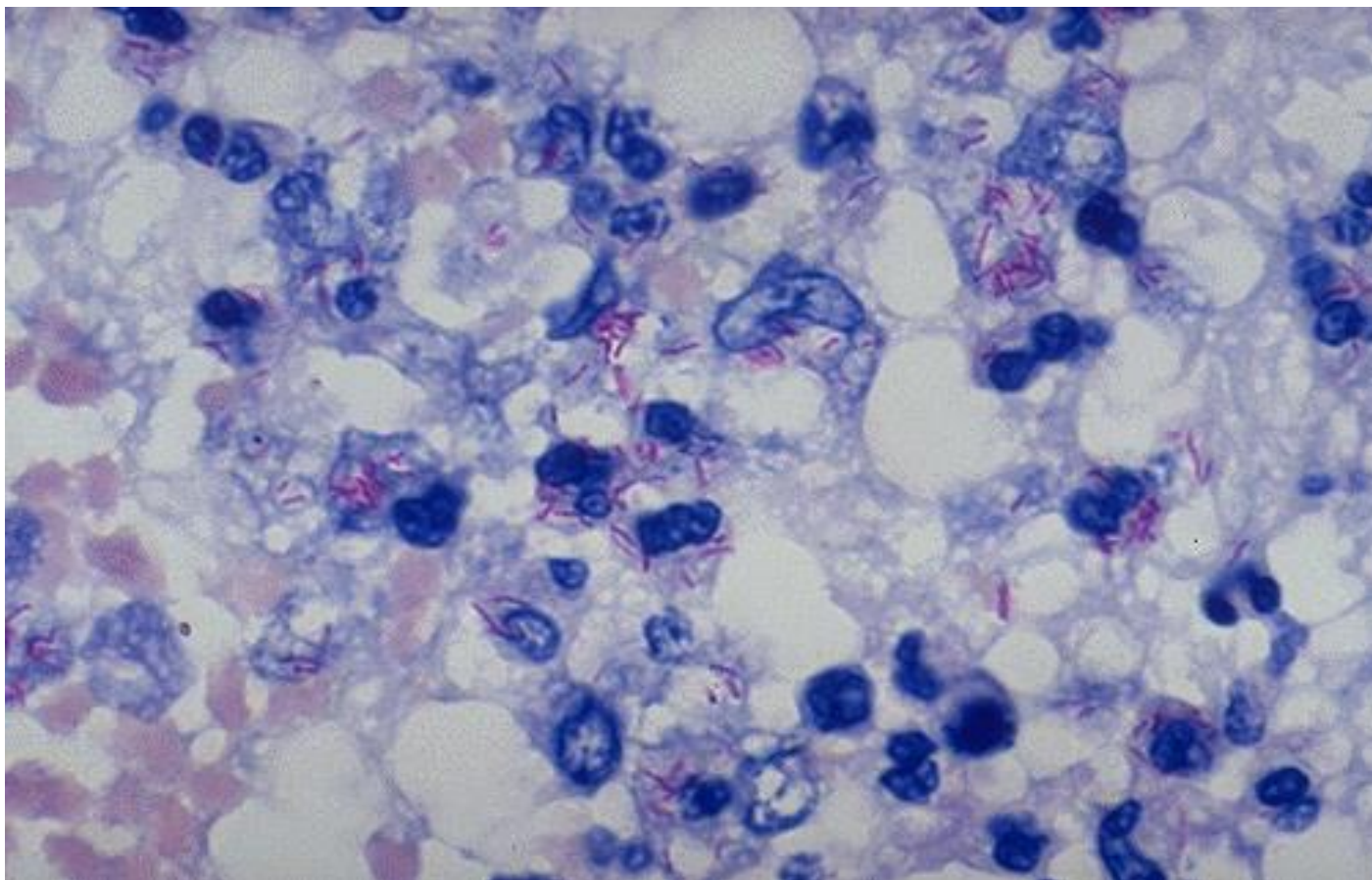
- Грамположительные тонкие прямые или слегка изогнутые палочки;
- Клеточная стенка содержит большое количество восков и липидов (миколовую кислоту), что обуславливает гидрофобность, устойчивость к кислотам, щелочам, спиртам;
- Окрашивается по Цилю-Нильсену;
- Неподвижны, спор и капсул не образует;
- Возможен переход в фильтрующиеся и L-формы

Морфология

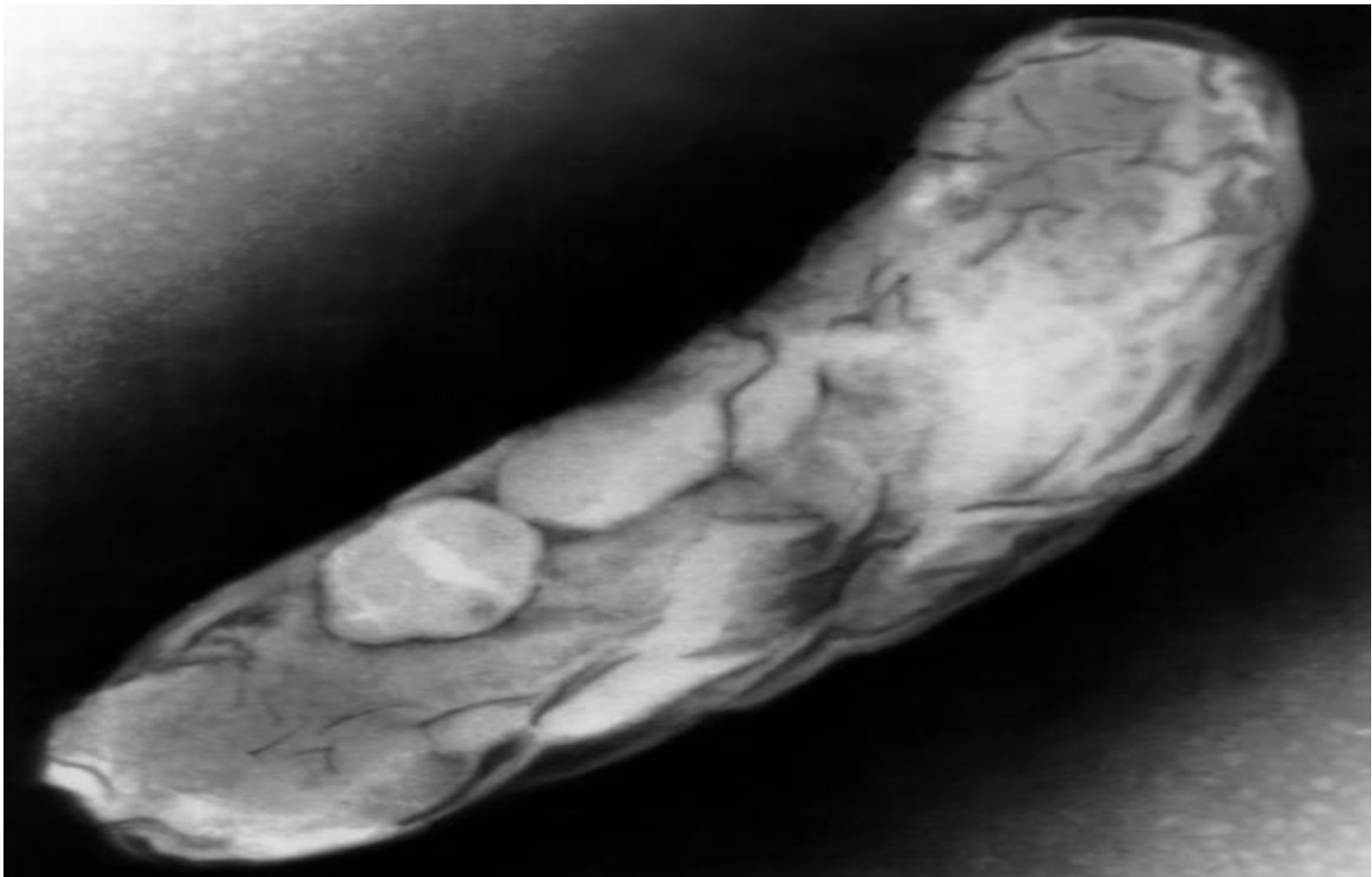


***Mycobacterium tuberculosis* (красные палочки) в мокроте. Окраска по Цилю-Нильсену.**

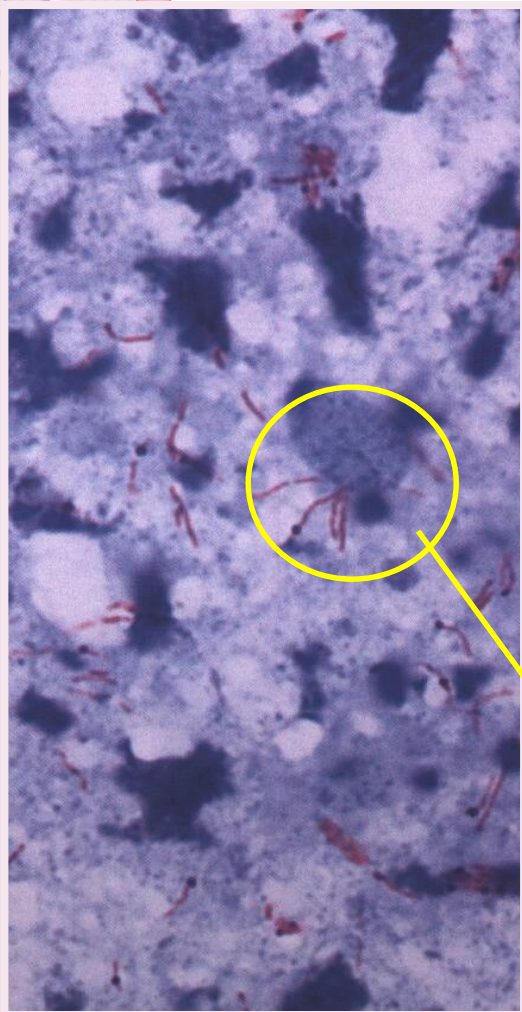
***Mycobacterium tuberculosis* внутри клеток
легкого. Окраска по Цилю-Нильсену**



Электронная микроскопия



БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

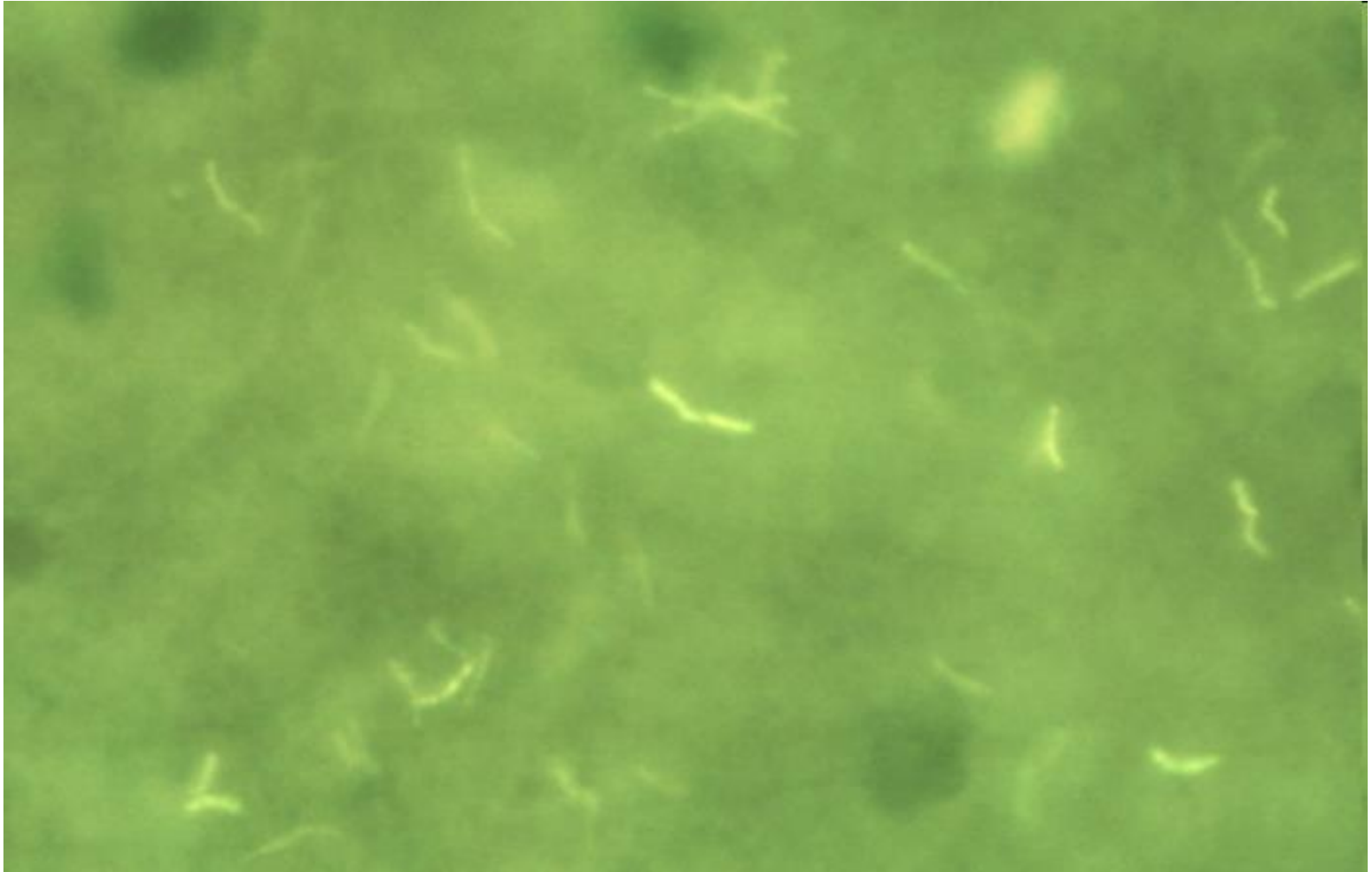


♦ ОКРАСКА ПО ЦИЛЮ-НЕЛЬСЕНУ (F.Ziehl, F.Neelsen):

окраска карболовым фуксином с
подогреванием и последующим
обесцвечиванием серной
кислотой или солянокислым
спиртом и докраской
метиленовым синим

скопление кислотоустойчивых
микобактерий

Люминесцентная микроскопия



Культуральные свойства



**Среда Левенштейна-Йенсена и
рост микобактерий.**



- Аэробы;
- Растут на средах, содержащих яйца, глицерин, картофель, аспарагин, витамины, соли;
- Чаще всего применяют яичную среду Левенштейна-Йенсена и синтетическую среду Сотона;
- растут медленно (рост обнаруживается через 2-3 недели и позднее);
- Колонии сухие, морщинистые, сероватые;
- Обладают биохимической активностью, позволяющей дифференцировать виды
- Основной тест – ниациновая проба (накопление в жидкой среде никотиновой кислоты)

Биологические свойства микобактерий

- Высокое содержание липидов, в том числе жирных кислот, таких как миколовая, фтиоидная, туберкулостериановая и др.
- Кислото-спирто-щелоче устойчивость
- Гидрофобность
- Незавершенный фагоцитоз
- Способность в тканях вызывать выраженную реакцию ГЗТ

Факторы патогенности

- Фактор адгезии - корд – фактор
- Антифагоцитарные факторы – воска (особенно воск Д),сульфаты и некоторые другие соединения, препятствующие слиянию фаго- и лизосомы;
- Сульфолипиды подавляют активностьлизосомальных ферментов;
- Фосатидная и восковая фракции липидов вызывают сенсibilизацию организма;
- Ацетон-растворимые липиды усиливают иммуносупрессивные свойства микобактерий и модифицируют мембраны клетки хозяина;
- Липиды обеспечивают устойчивость к комплементу, свободным радикалам фагоцитов
- Основной фактор –туберкулин – обладает токсическими и аллергическими свойствами

Патогенность микобактерий

- Основной фактор патогенности – токсический гликолипид – корд фактор (трегалоза-6,6-димиколат), который располагается в толще и на поверхности клеточной стенки

Патогенез туберкулеза

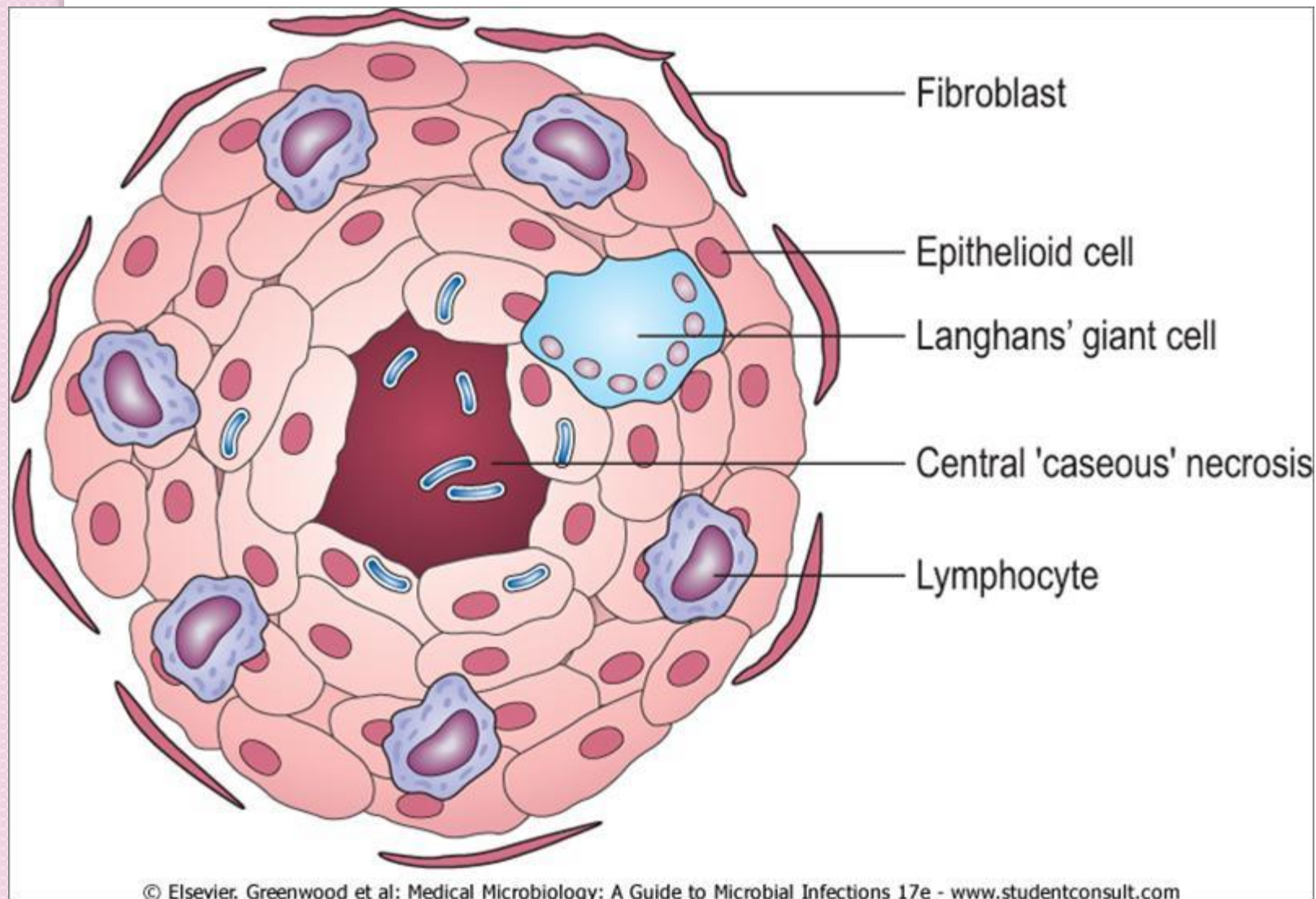
- Взаимодействие Mycobacterium tuberculosis с организмом человека начинается при попадании возбудителя в легкие
- После адгезии с помощью корд-фактора захватываются альвеолярными макрофагами;
- События, которые происходят дальше (макрофаги либо сдерживают размножение микобактерий, либо нет), определяются соотношением между бактерицидной активностью макрофагов и вирулентностью микобактерий.
- После размножения внутри макрофага микобактерии его разрушают

- 
- Моноциты, выходящие из кровотока под влиянием факторов хемотаксиса, захватывают освобожденные из разрушенных макрофагов микобактерии
 - Макрофаги переносят микобактерии в ближайшие лимфоузлы, где они долго сохраняются в виду незавершенного фагоцитоза
 - Таким образом, *первоначальное попадание возбудителя в легкие или другие органы вызывает развитие малого или неспецифического воспаления с макрофагальной инфильтрацией*

Патогенез (продолжение)

- Через 2-4 нед после заражения начинается следующий этап взаимодействия микобактерий с макроорганизмом. При этом наблюдаются два процесса - реакция повреждения ткани по типу ГЗТ(специфическая воспалительная реакция) и реакция активации макрофагов.
- С развитием иммунитета и накоплением в первичном очаге большого количества активированных макрофагов формируется туберкулезная гранулема .
- Гранулемы состоят из лимфоцитов и активированных макрофагов, то есть эпителиоидных и гигантских клеток .

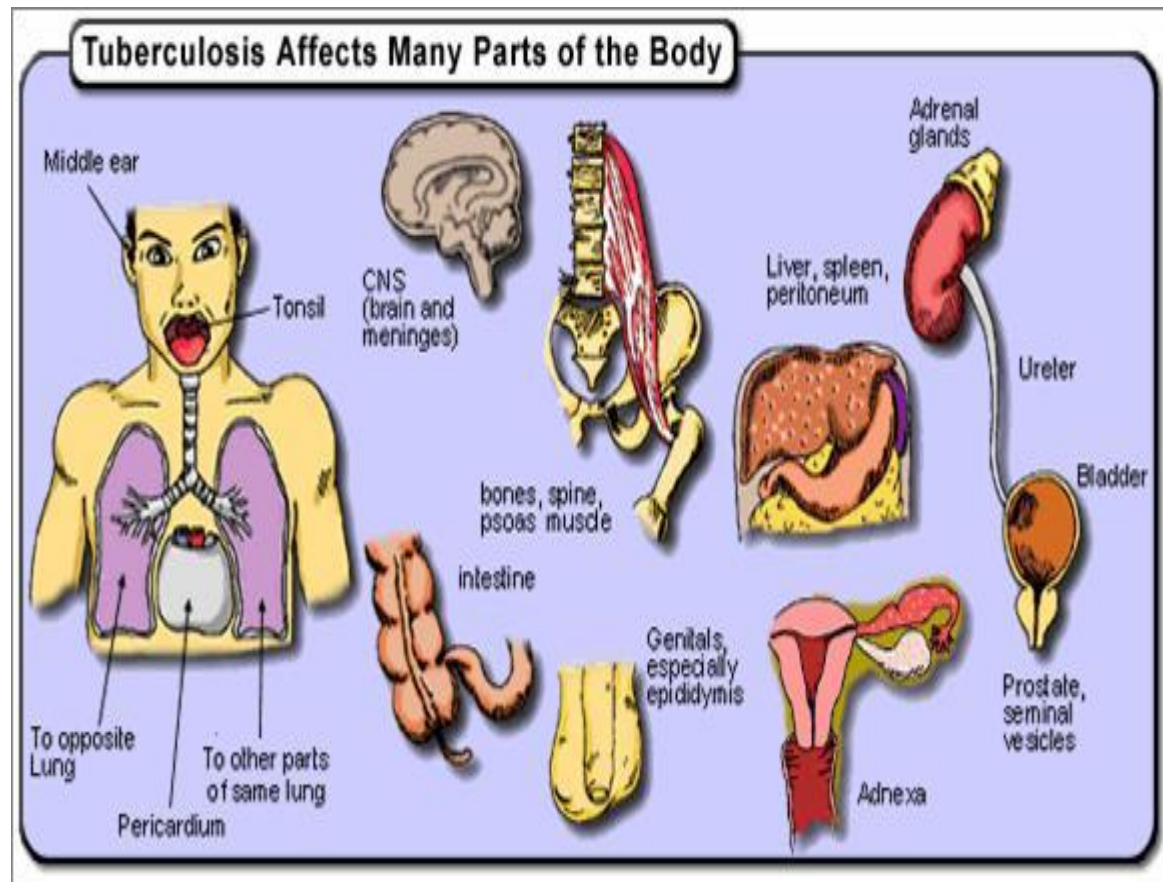
Структура туберкулезной гранулемы



- 
- Развитие реакции повреждения ткани приводит к образованию в центре гранулемы очага казеозного некроза
 - В случае заживления очага некротические массы уплотняются, обызвествляются в результате отложения солей кальция, вокруг очага формируется соединительно-тканная капсула – очаг Гона
 - НО микобактерии в виде L-форм сохраняют в таком очаге жизнеспособность долгие годы
 - При снижении резистентности макроорганизма происходит активация очага с развитием вторичного туберкулеза

Патогенез (продолжение)

- Из первичного туберкулезного очага может происходить бронхогенная, лимфогенная и гематогенная диссеминация микобактерий с образованием очагов в других органах и тканях (внелегочный туберкулез)



Эпидемиология

- *Основной источник инфекции – больной туберкулезом органов дыхания*
- *Пути передачи – воздушно-капельный, реже алиментарный, контактный*
- *микобактерий туберкулеза очень устойчивы во внешней среде. В проточной воде они могут сохранять жизнеспособность до 1 года, в почве и навозе — 6 мес., на различных предметах — до 3 мес., в библиотечной пыли — 18 мес., в высушенном гное и мокроте— до 10мес. При кипячении палочка Коха погибает через 5 мин, в желудочном соке— через 6ч, при пастеризации— через 30мин*
- *прямой солнечный свет убивает микобактерии в течение полутора часов, а ультрафиолетовые лучи за 2-3 минуты. Дезинфектанты, содержащие хлор, убивают микобактерии в течение 5 часов.*

Эпидемиология (продолжение)

- *Туберкулез распространен повсеместно*
- *Росту заболеваемости способствуют социально-экономические факторы (основной фактор – голодание)*
- *С 1990 года во всем мире регистрируется резкий подъем заболеваемости*
- *Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и синдром приобретенного иммунодефицита вызвали заметное увеличение числа случаев туберкулеза в некоторых странах*
- *С другой стороны, проблема заключается в распространении микобактерий с множественной лекарственной устойчивостью*

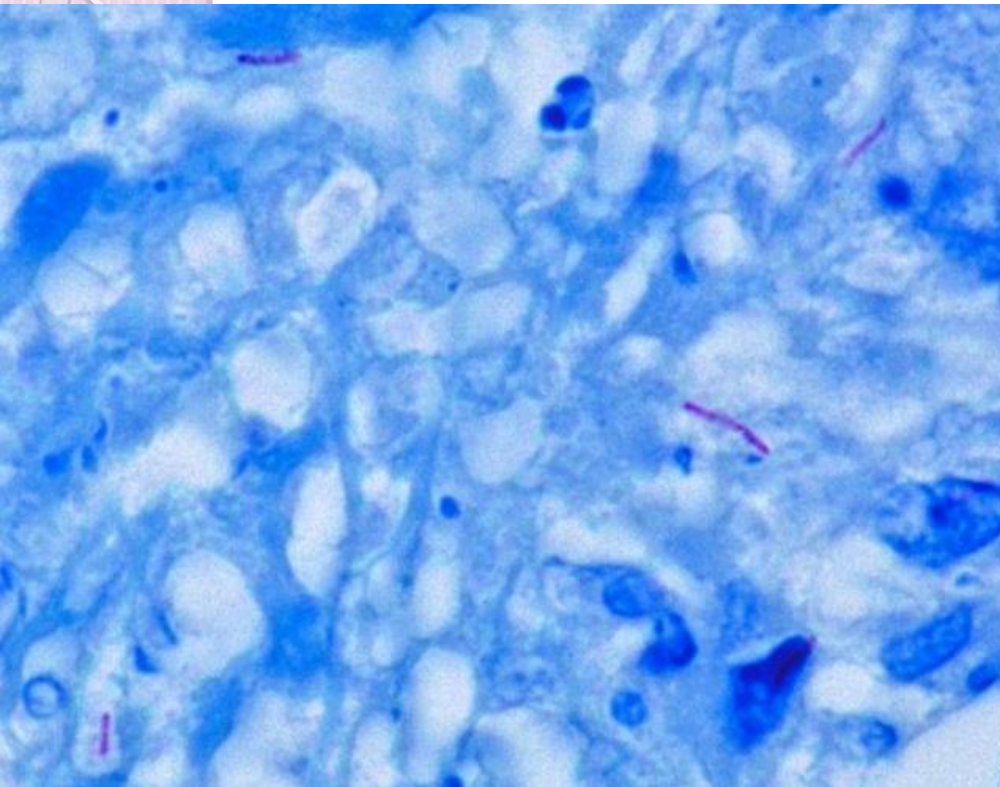
Лабораторная диагностика

Клинический материал: гной, мокрота, кровь, бронхиальный экссудат, спинномозговая жидкость, плевральная жидкость, моча и др.

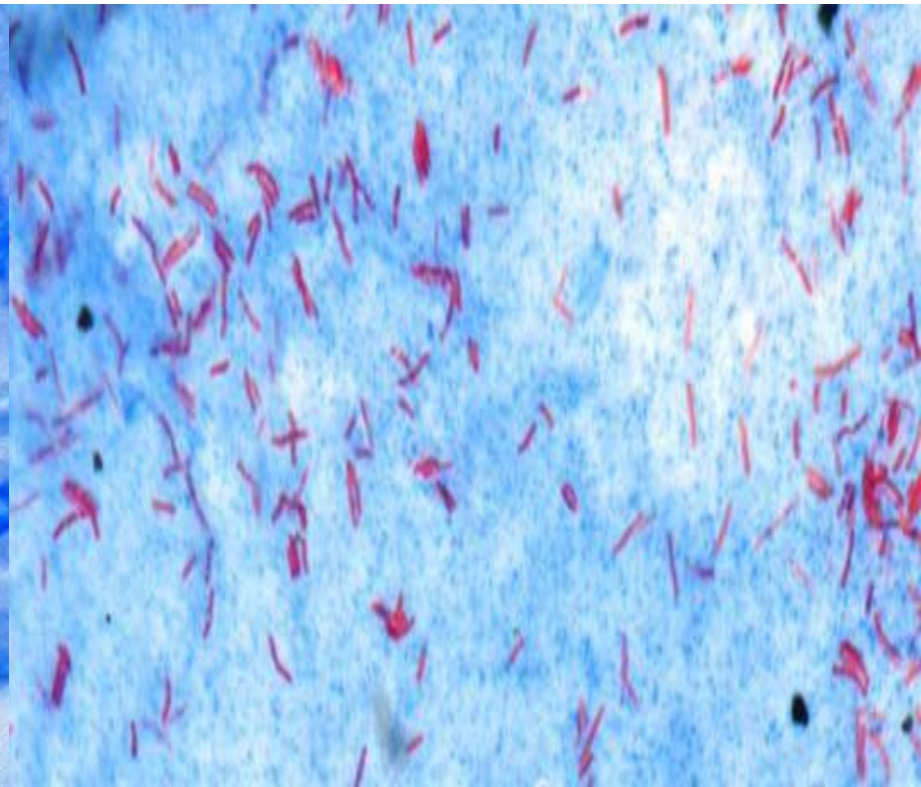
Методы:

1. **Бактериоскопический:** прямая окраска мазка мокроты по методу Циля-Нильсена или мазка после обогащения (концентрирования методами флотации или гомогенизации)

**Прямая окраска мазка мокроты по
Цилю-Нильсену**



**Мазок из флотационного слоя по
Цилю-Нильсену**



Лабораторная диагностика

2. Люминесцентный метод (окраска родамин-ауромином));



Лабораторная диагностика

3. **Метод микрокультур Прайса** (густой мазок мокроты на стекле обрабатывают кислотой, не фиксируют и помещают в сыворотку; через 5-7 дней окрашивают по Цилю-Нильсену; при наличии корд-фактора видны слипшиеся в жгуты микобактерии)



Лабораторная диагностика

4. **Бактериологический (культуральный) метод** используется для проверки эффективности лечения (2-8 недель необходимы для роста колоний на среде Левенштейна-Йенсена и еще некоторое время для оценки эффекта препаратов, вводимых в среду роста);
5. **Биологический метод** (заражение морских свинок и кролика с последующим выделением чистой культуры возбудителя);
6. **Туберкулиновая проба Манту**
7. **Молекулярно-генетический метод (ПЦР)**

Кожно-аллергическая проба Манту

- Внутрикожное введение высокоочищенного туберкулина (**PPD**= Purified Protein Derivative) вызывает у инфицированных микобактериями людей местную воспалительную реакцию в виде инфильтрата и покраснения (реакция ГЗТ).
- Неинфицированные люди никакой реакции на введение туберкулина не дают. Эту пробу применяют для выявления инфицированных, сенсibilизированных людей.



Дифференциация *M. tuberculosis* и *M. bovis*

- Ниациновый тест (продукция никотиновой кислоты *M. tuberculosis*)
- Биологическая проба (заражение кроликов и морских свинок)

Лечение

- В настоящее время по степени эффективности противотуберкулезные препараты делятся на 3 группы:
- Группа **А** – изониазид, рифампицин и их производные (рифабутин, рифатер)
- Группа **В** – стрептомицин, канамицин, этионамид, циклосерин, фторхинолоны и др.
- Группа **С** – ПАСК и тиацетозон

Специфическая профилактика

- Вакцина БЦЖ (BCG – бацилла Кальметта и Герена) – содержит живые авирулентные микобактерии полученные из *M.bovis* путем многолетних пассажей на средах, содержащих желчь
- Поствакцинальный иммунитет связан с формированием ГЗТ (гиперчувствительности замедленного типа)

