

Кафедра медицинской биологии,
микробиологии, вирусологии и
иммунологии



Возбудители
анаэробных
инфекций

Возбудитель столбняка (*Clostridium tetani*)

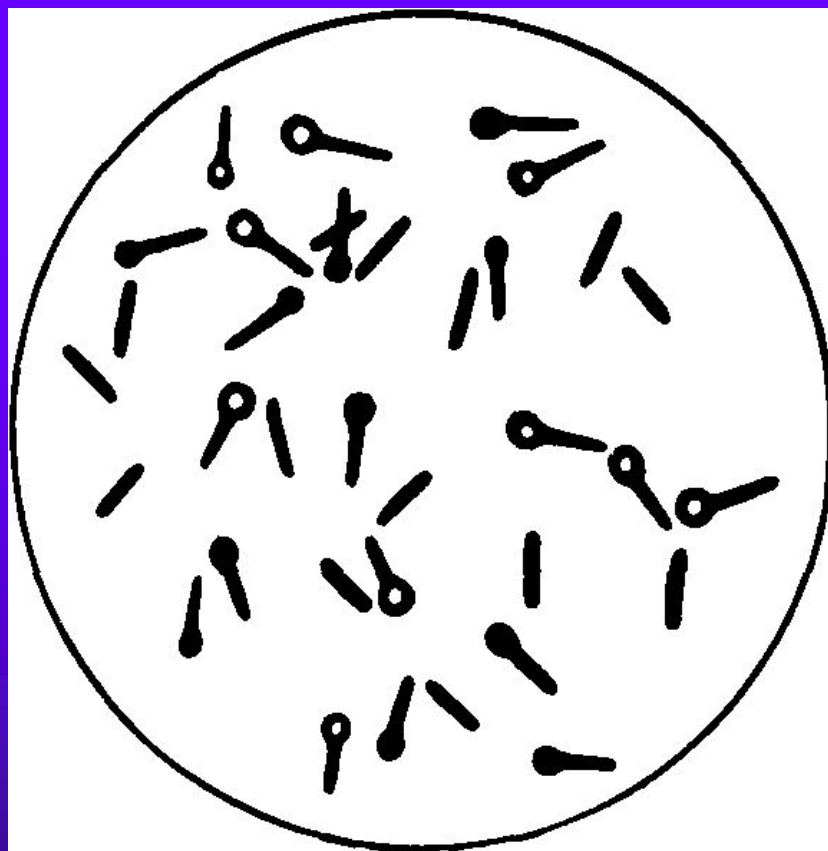
- ◆ Столбняковая палочка впервые описана М.Д. Монастирским (1883) и А. Николаером (1884), чистую культуру выделил С. Китазато в 1889 г.



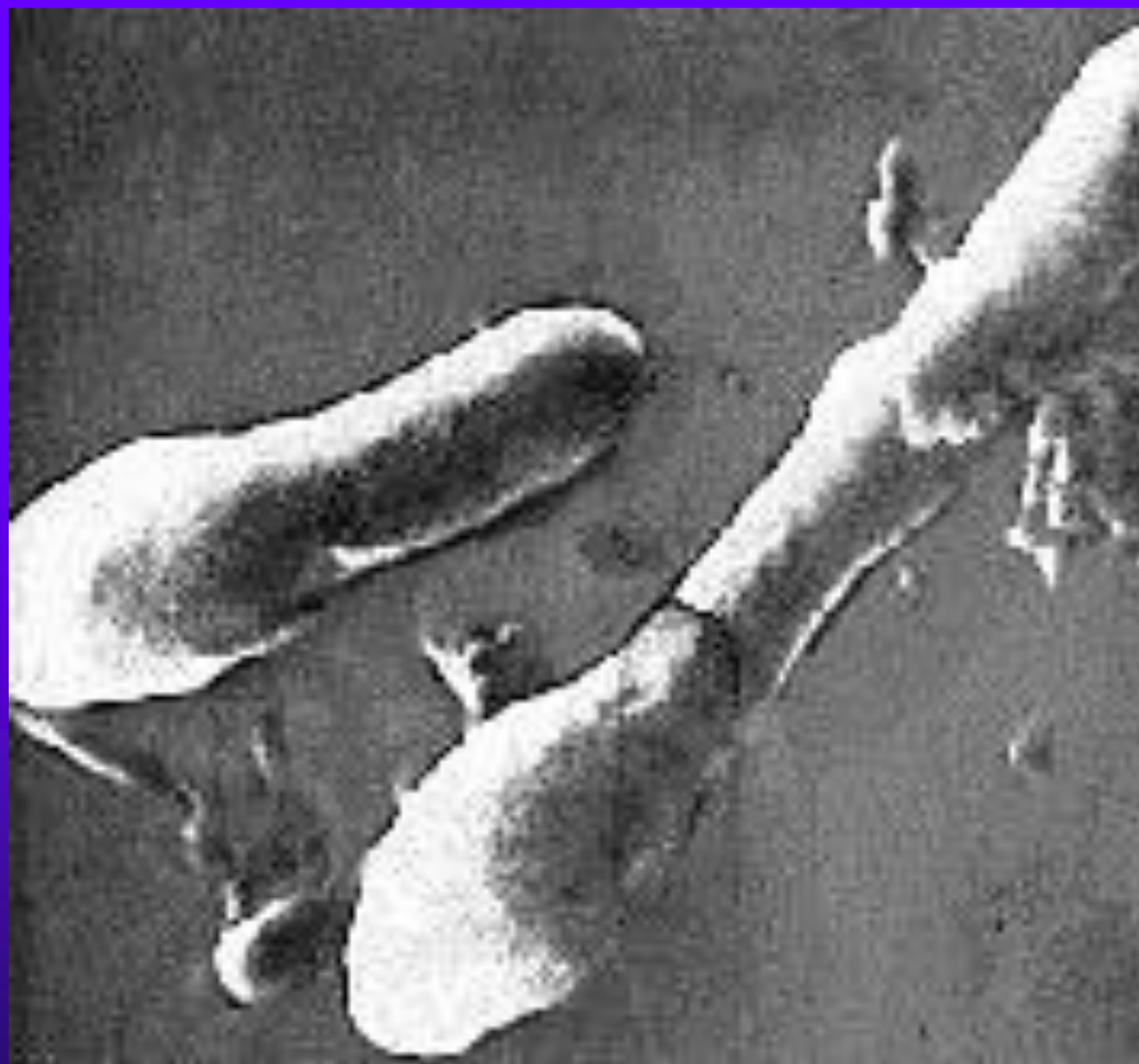
Морфология и физиология

- ◆ *S. tetani* (tetanos - судороги, оцепенения) - тонкая, длинная, подвижная, безкапсульная граммположительная палочка с терминально расположенной круглой спорой, что придает ей характерного вида барабанной палочки. Клостридии столбняка - строгие анаэробы. На среде Китта-Тароцци они растут в виде легкого помутнения без выделения газа, на дне пробирки постепенно возникает осадок. На сахарно-кровяном агаре образуют колонии с компактным центром и нитевидными отростками, которые причудливо переплетаются (колонии-пауки). Иногда растут в виде круглых колоний с зонами гемолиза. Столбняковые палочки не разлагают углеводы, медленно сворачивают молоко и разреживают желатин.





Clostridium tetani с терминальной спорой



Clostridium tetani (электронная микроскопия)



Колонии *Clostridium tetani* на кровяном агаре

Токсинообразование.

- ◆ Палочка столбняка продуцирует чрезвычайно сильный экзотоксин, который часто называют тетанотоксином. Он имеет две фракции: тетаноспазмин, который вызывает поражение двигательных центров нервной системы и вызывает спастическое сокращение мышц, и тетанолизин, лизирующий эритроциты. Силу токсина измеряют у DLM. Под действием формалина при 38-40 °С экзотоксин легко переходит в анатоксин, который широко используют для активной иммунизации людей.



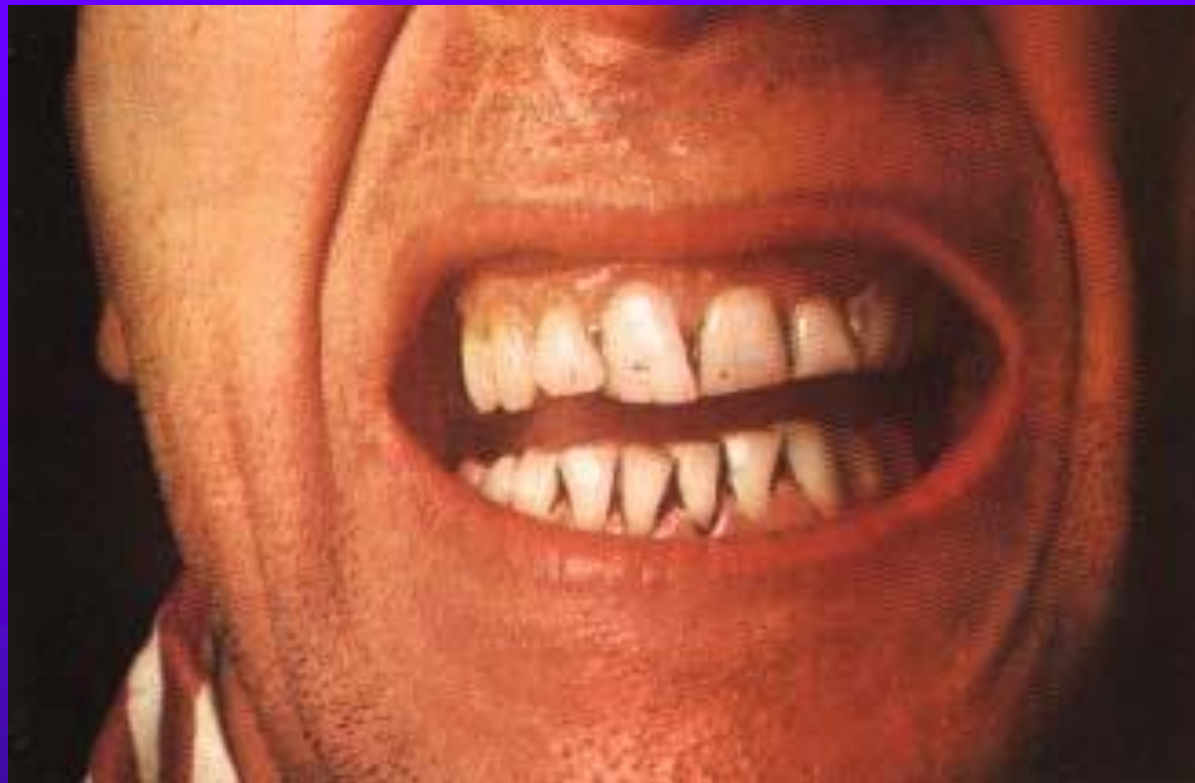
Заболевания человека

Столбняк - острая инфекционная болезнь, которая сопровождается спастическим сокращением мышц и сильной интоксикацией организма. Основное условие возникновения столбняка - наличие раны и инфицирования ее спорами столбняковых палочек. Инкубационный период длится от 4 к 30 дней и дольше. В ране споры клостридий превращаются в вегетативные формы. Они производят экзотоксин, который вызывает все клинические симптомы болезни.





- ◆ Процесс начинается судорожными сокращениями мышц в месте входных ворот, потом сокращаются жевательные и затылочные мышцы, мимическая мускулатура **лица**, от чего на нем появляется одновременно гримаса боли и улыбка (risus sardonicus). Дальше судороги **распространяются** на мышцы туловища и **конечностей**, тело больного сгибается в виде дуги (описотонус). Важно помнить, что чем более короткий инкубационный период, тем более тяжелое течение болезни и высшая смертность. Смерть наступает от асфикции или паралича сердца.



Risus sardonicus



опістотонус



опістотонус

Лабораторная диагностика.

- ◆ Диагноз столбняка врач устанавливает на основе характерных клинических симптомов. Микробиологическое исследование с диагностической целью проводят не часто. По большей части его используют для **выявления** спор в **почве**, перевязочных материалах, лекарствах парентерального **введения**. При исследовании ранового **содержания** после бактериоскопии его **сеют** на среду Китта-Тароцци. **Через** 3-7 суток определяют наличие токсина в биопробах на белых **мышцах**. Для этого двум животным вводят по 0,5-1 мл фильтрата культуры и еще двум - такие же дозы фильтрата, нейтрализованного противостолбнячной антитоксинной сывороткой на протяжении 40 хв. При наличии тетанотоксину первые две **мышцы** погибают, а другие остаются живыми.





Tetanus ascendens у лабораторних тварин

Профилактика и лечение.

- ◆ Диагноз столбняка врач устанавливает на основе характерных клинических симптомов. Микробиологическое исследование с диагностической целью проводят не часто. По большей части его используют для выявления спор в почве, перевязных материалах, лекарствах парентерального введения. При исследовании ранового содержания после бактериоскопии его сеют на среду Китта-Тароцци. Через 3-7 суток определяют наличие токсина в биопробах на белых мышах. Для этого двум животным вводят по 0,5-1 мл фильтрата культуры и еще двум - такие же дозы фильтрата, нейтрализованного противостолбнячной антитоксинной сывороткой на протяжении 40 хв. При наличии тетанотоксину первые две мыши погибают, а другие остаются живыми.





- ◆ Мероприятия неспецифической профилактики заключаются в предотвращении травм на производстве и в быту. С целью предупреждения возникновения столбняка в раненых после первичной хирургической обработки раны вводят за методом Безредки 3000 МО антистолбняковой сыворотки внутримышечный. Специфическую профилактику проводят путем активной иммунизации взрослых столбняковым анатоксином или коклюшно-дифтерийно-столбняковой вакциной у детей, начиная с 3 месяцев до 12 лет. Вакцинируют также всех военнослужащих, работников железнодорожного транспорта, механизаторов сельского хозяйства, строителей, лесозаготовителей.



- ◆ При ранении непривитых **лиц** необходимо проводить активно-пассивную иммунизацию: вводят подкожно 0,5 мл столбнякового анатоксину и внутримышечный 3000 МО противостолбнячной сыворотки или 3 мл противостолбнячного иммуноглобулина.
- ◆ Специфическое лечение проводят внутримышечным **введением** 100000-150000 МО противостолбнячной антитоксинной сыворотки. Лучшие результаты получают при инъекциях противостолбнячного человеческого иммуноглобулина, **который** вводят дозой 6 мл (900 МО).

Возбудитель ботулизма (*Clostridium botulinum*)



- ◆ *C. botulinum* - **большая** граммположительная палочка **длиной** 4-10 мкм и в ширину 0,6-1,5 мкм с округленными концами и перитрихиально расположенными жгутиками. Попадая во внешнюю среду, образует **большие** овальные субтерминальные споры, **которые** преувеличивают поперечный размер **клетки** и деформируют ее. Палочки со спорами имеют характерный вид теннисной ракетки . Капсулы не образуют.

Морфология возбудителя ботулизма

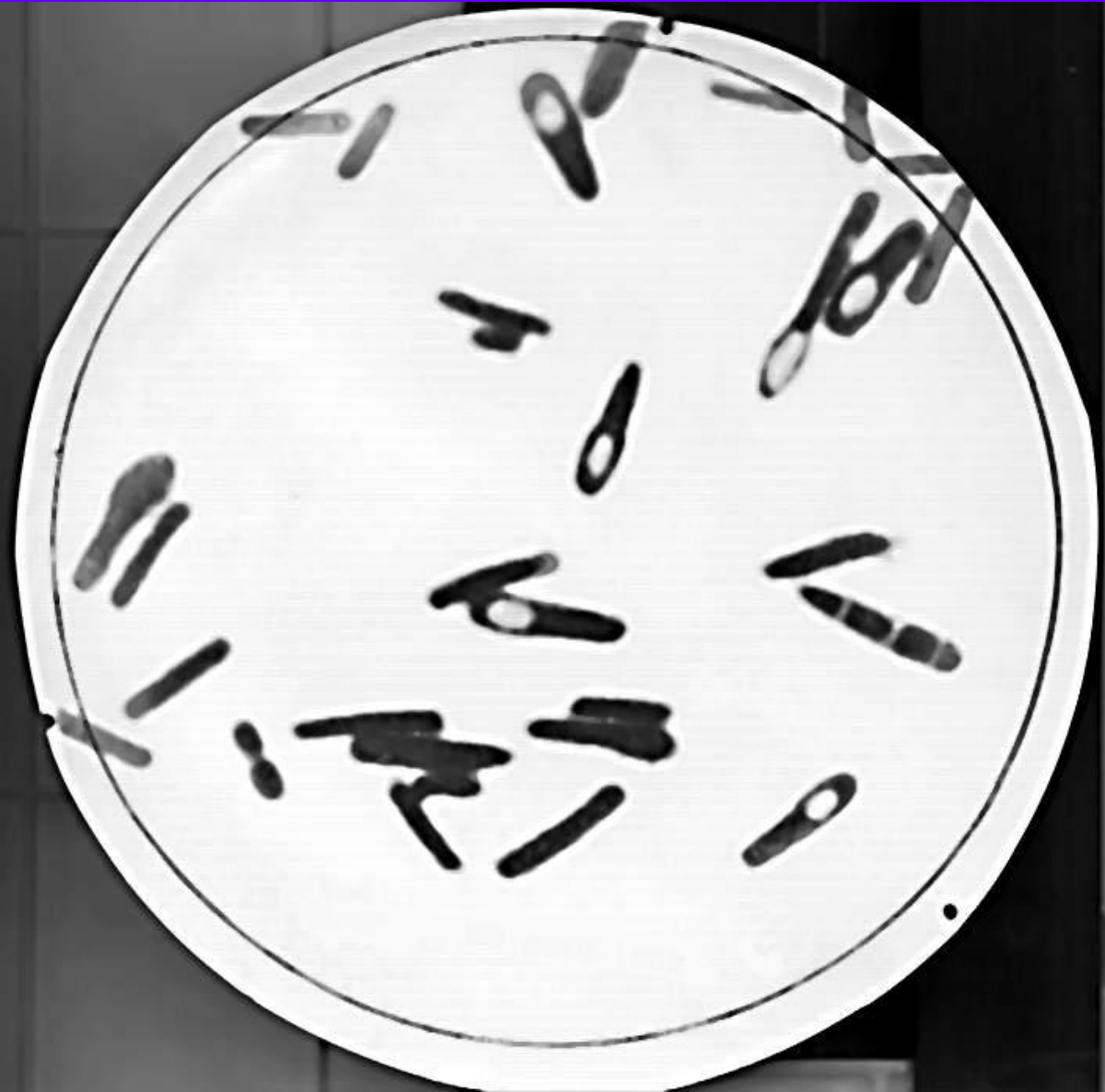


- ◆ *C. botulinum* - **большая** граммположительная палочка **длиной 4-10** мкм и в ширину **0,6-1,5** мкм с округленными концами и перитрихиаально расположенными жгутиками. Попадая во внешнюю среду, образует **большие** овальные субтерминальные споры, **которые** преувеличивают поперечный размер **клетки** и деформируют ее. Палочки со спорами имеют характерный вид теннисной ракетки. Капсулы не образуют.



Электронная микроскопия

C. botulinum

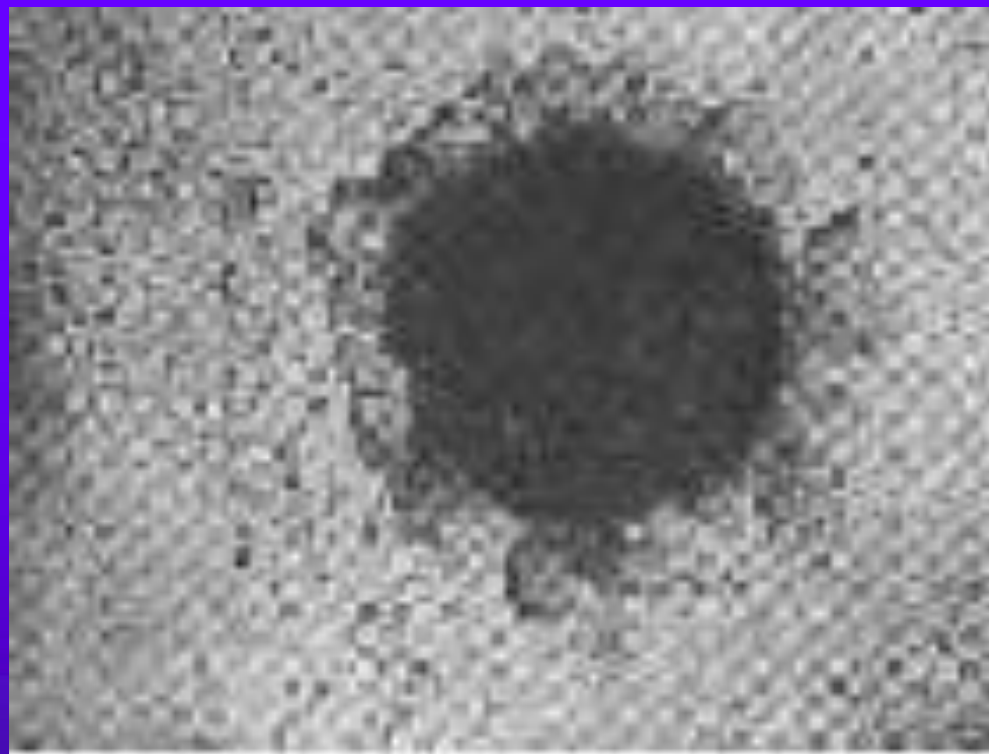


C. botulinum

Физиология возбудителя ботулизма

- ◆ Клостридии ботулизма - строгие анаэробы, непритязательные к питательным средам, оптимальная температура роста для разных сероварив колеблется от 25 до 40 °С. На среде Китта-Тароцци образуют муть и осадок на дне, имеют острый запах прогорклого масла. На сахарно-кровяном агаре вырастают неправильной формы колонии с фестончастими краями или нитевидными отростками с зонами гемолиза вокруг них.
- ◆ Палочки ботулизма ферментируют глюкозу, фруктозу, мальтозу к кислоте и газу, разреживая желатин, куриный белок, мясо, продуцируют лецитиназу.





Колонии *C. botulinum*

Антигенная структура

- ◆ Возбудитель ботулизма имеет семь серологических вариантов: А, В, С (С1, С2), D, E, F, G, **которые** отличаются по характеру продуцируемых ими токсинов. Токсин каждого серовара нейтрализуется только гомологичной сывороткой. Наибольшее значение в патологии человека имеют серовари А, В, С, E.



Токсинообразование.

- ◆ Все серовари палочек ботулизма **производят** экзотоксин, **который** является самым сильным ядом биологического происхождения. Выделение токсина происходит в анаэробных условиях как в культурах на средах, так и в пищевых продуктах, **особенно** в мясных, рыбных и овощных. В отличие от столбнякового экзотоксина ботулотоксин **стойкий** к действию ферментов кишечного тракта и всасывается в кровь неизменным. Теперь полученные очищенные экзотоксины отдельных сероварив, в 1 мг **которых** содержится от 10 к 100 млн. DLM для белых **мышей**. Ботулотоксин имеет нейротропное действие. Наиболее чувствительные **к** нему **кони**, кроли, гвинейские свинки, куры. Очень чувствительный **к** нему человек. В составе ботулинового экзотоксина найден ряд ядовитых фракций: нейротоксин, гемотоксин, лейкоцидин, ферменты лецитиназу, гиалуронидазу.



Ботулизм у человека.

Заболевание возникает после употребления в еду продуктов, овощных и рыбных консервов (особенно домашнего приготовления), слабо просоленных и прокапчивают красных рыб, которых содержат возбудители или токсины ботулизма. Из желудочно-кишечного тракта токсин всасывается в кровь и будет поражать центральную нервную систему, особенно ядра вытянутого мозга. Болезнь начинается с тошноты, блюет и проноса, сухости в роте, болючести при глотании. Часто первыми проявлениями ботулизма являются жалобы на нарушение зрения: снижение его остроты, "туман" или "сетка" перед глазами, двоение предметов, ухудшения аккомодации (диплопия). Возникают нарушения языка, сиплость голоса (дисфония), вплоть до полной его потери, затруднение глотание (дисфагия), мускульная слабость. Температура в большинстве случаев остается нормальной, сознание полностью сохранено. Больной погибает в результате паралича сердца или от остановки дыхания. Летальность высокая - от 40 до 60 %.



Лабораторная диагностика.

- ◆ Для **выявления** ботулинового токсина у больного берут кровь, промывные воды желудка, блювотиння, кал, мочу и **остатки** подозрительного пищевого продукта, в случае смерти - **содержание** желудка и кишок, лимфатические узлы, головной и спинной мозг. Материал от больного нужно забирать как можно быстрее, **к введению** протиботулиновой сыворотки и антибиотиков. Ботулотоксин определяют **с помощью** биологической пробы на белых **мышях**. Одной группе животных вводят в брюшную полость фильтрат исследуемого материала или вытяжки из **остатков** еды. **Второй** - исследуемый материал с поливалентной диагностической протиботулиновой сывороткой типов А, В, С, Е.





- ◆ Если **мышь** первой группы погибла, а **второй** - остались живые, ставят реакцию нейтрализации на **мышцах** с каждой сывороткой **в частности** для установления типа токсина. Это нужно для определения того, какую гомологичную сыворотку необходимо больному немедленно ввести с лечебной целью. Используют также реакцию с энзимичными антителами, какая значительно более чувствительная от реакции нейтрализации на **мышцах**.
- ◆ Для выделения возбудителя исследуемый материал засевают в пробирки со средой Китта-Тароцци, одну из них прогревают при 80 °С на протяжении 20 хв для уничтожения посторонней микрофлоры. Выделенную чистую культуру микроскопуют, а в культуральной жидкости определяют наличие токсина и его тип в реакции нейтрализации на **животных**.



Проявления ботулизма у лабораторных
животных

Профилактика и лечение.

- ◆ Для профилактики ботулизма важное значение имеет правильная организация производства консервов, **особенно** мясных, рыбных и овощных.
- ◆ Клостридии ботулизма, **которые** сохранились после стерилизации консервов, вызывают вздутие жестянок (бомбаж). **Содержание** их имеет запах прогорклого масла. Такие консервы бракуют и уничтожают.
- ◆ Всем людям, **которые** потребляли продукты, которые послужили причиной отравления хотя бы одного человека, вводят с профилактической целью по 1000-2000 МО протиботулиновой сыворотки типов А, В, С и Е. Для активной иммунизации людей употребляют поливалентный ботулиновый анатоксин.





- ◆ При подозрении на заболевание ботулизмом после промывания желудка необходимо немедленно ввести антитоксинную противоботулиновую сыворотку типов А, В, С, Е, а после определения типа токсина перейти на **введение** гомологичной сыворотки. Сыворотку типов А, С и Е вводят по 10000 МО, типа В - 5000 МО за методом Безредки 4-6 раз в сутки на протяжении 2-4 дней. Сыворотка - **единственный** препарат, **который** может спасти жизнь больного.

Возбудители газовой анаэробной инфекции

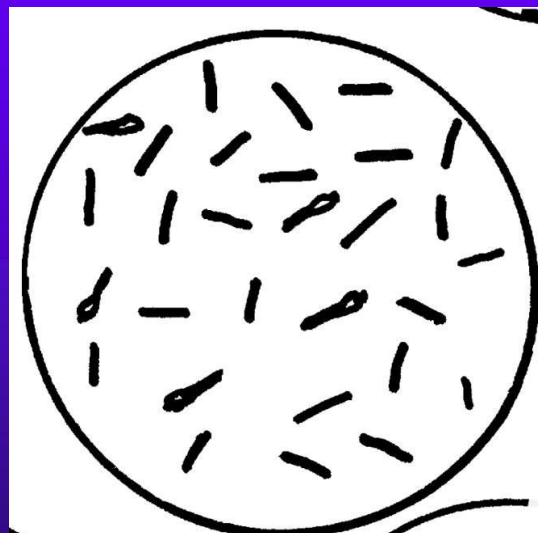
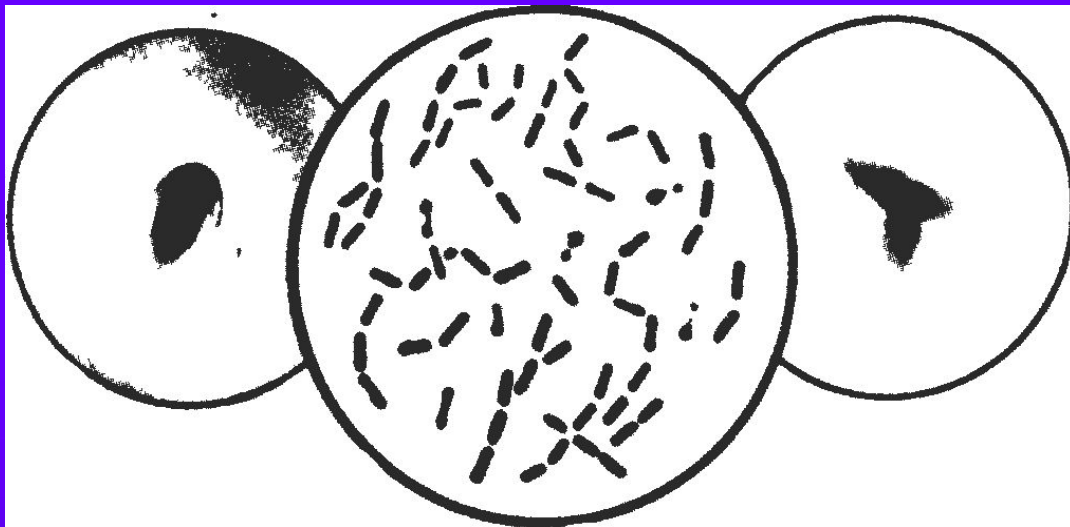
- ◆ Анаэробная ранова инфекция (газовая гангрена) - полимикробное заболевание, основными возбудителями которого являются клостридии - *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*. Значительно реже встречаются *C. histolyticum*, *C. sordellii*, *C. fallax*, *C. difficile* и др. Очень часто к ним присоединяются и аэробные микроорганизмы: стафило- и стрептококки, протей, кишечная палочка и тому подобное. Следовательно, это заболевание принадлежит к смешанным инфекциям.



Морфология и физиология.

Все названные выше основные виды кластридий являются **большими** граммположительными палочками с субтерминальными или центральными спорами. Палочки со спорами за своей формой напоминают веретено, откуда **походит** название рода этих бактерий (closter - веретено). *C. perfringens* имеет капсулу, но неподвижная. Все же другие виды имеют перитрихально расположенные жгутики и лишены капсул. *C. novyi* наибольшая **из** всех кластридий, *C. septicum* - полиморфные палочки, **которые** в культурах могут образовывать **нитевидные** формы. Остальные кластридии имеют значительно меньшие размеры.

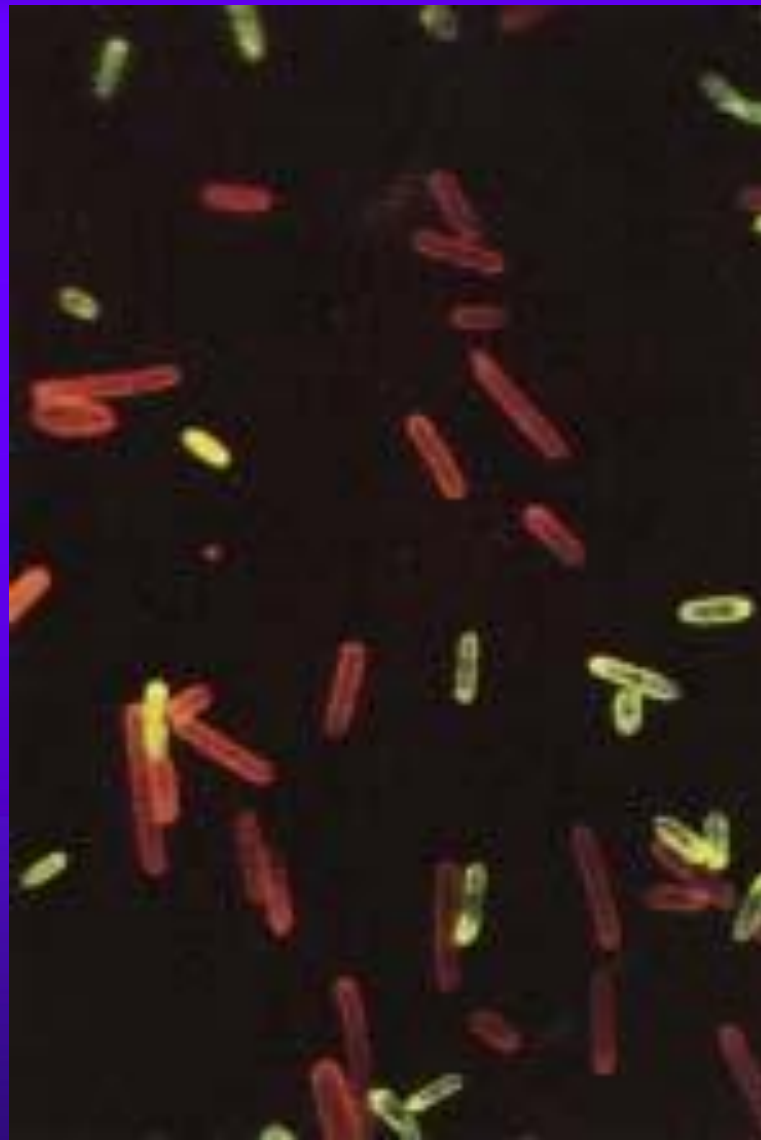




Чистая культура и колонии Clostridium perfringens



Мазок *Clostridium perfringens*



Clostridium perfringens



Clostridium histolyticum



Clostridium septicum

Культуральные свойства

- ◆ Выращивают анаэробные клостридии на среде Китта-Тароцци и сахарно-кровоном агаре. На **жидкой** среде они образуют муть, потом оседают хлопьями на дно пробирки. *C. perfringens* и *C. septicum* на среде Китта-Тароцци растут с бурным газообразованием. Очень характерный рост *C. perfringens* на молоке: **через 4-6 часов** оно интенсивно сворачивается, образуется дырчатый сгусток, пропитанный газом, **который** часто **подбрасывает** его **к** ватной пробке. Такое характерное **изменение** молока используют в лабораториях для экспресс-диагностики анаэробной инфекции, вызванной *C. perfringens*.
- ◆ На сахарно-кровоном агаре *C. perfringens* образует гладкие и блестящие сероватые колонии с **ровными** краями и поднятым центром; *C. novyi* - шершавые колонии с зоной гемолиза; *C. septicum* - сплошной налет в виде сплетенных **нитей** на фоне гемолиза.

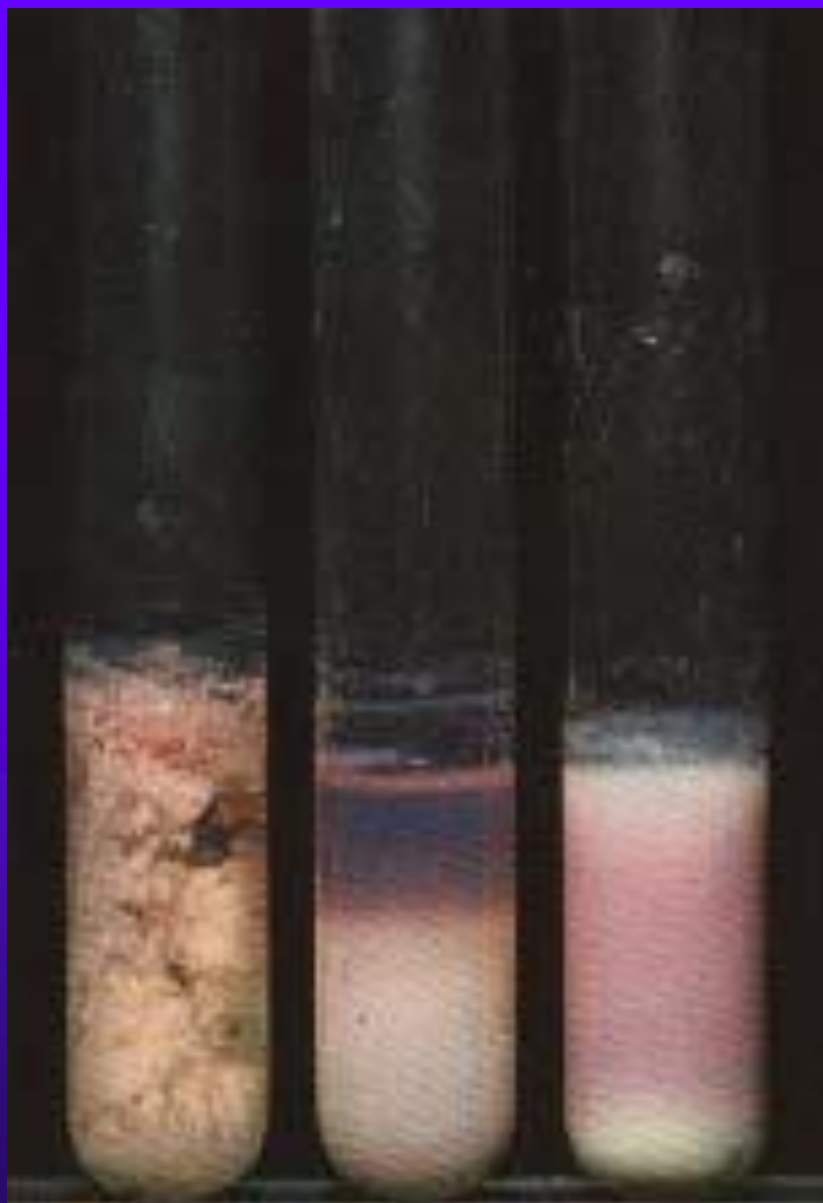




Колонії на кров'яному агарі *Clostridium perfringens*



*Протеолитические
свойства Clostridium
perfringens*



*Протеолитические
свойства Clostridium
perfringens*

Токсинообразование.

- ◆ Все клостридии продуцируют сложные экзотоксины. Да, *C. perfringens* выделяет токсин, который включает свыше 10 фракций. Среди них наибольшее значение имеют α-гемолизин, φ-гемолизин, β-токсин (некротоксин), ε-токсин (нейротоксин), энтеротоксин и тому подобное. Этот вид продуцирует также большое количество ферментов агрессии: лецитиназу *C*, протеиназу, колагеназу, гиалуронидазу, фибриназу, ДНК-азу, нейраминидазу. Они играют большую роль в развитии гангренозного процесса. Еще более сильный токсин образует *C. novyi*. К его составу также входят многие отдельные токсичные фракции и ферменты. Токсичная активность *C. septicum* несколько более слабая. Токсины других возбудителей анаэробной газовой инфекции еще недостаточно выучены. *C. difficile* образует энтеротоксин и цитотоксин, которые вызывают геморрагическое воспаление толстого кишечника при пищевых токсиноинфекциях.





Определение
лецитиназной
активности на ЖСА



Антигенная структура.

- ◆ В **практических** бактериологических лабораториях антигены **разных** видов клостридий для их дифференциации не используют. Иногда определяют только серовари *C. perfringens* А, В, С, D, Е, F, **которые** продуцируют **разные** токсины, в отдельных случаях - четыре биовара *C. novyi*.



Заболевания человека.

- ◆ Заболевание возникает когда есть травма, рана, инфицированная анаэробными клостридиями. На рану поверхность они попадают при загрязнении ее землей, обрывками тканей и тому подобное. Заболевание характеризуется **быстрым** омертвением и распадом тканей с образованием газов и явлениями тяжелой общей интоксикации. Так как анаэробная инфекция является полиэтиологичным заболеванием, в ране одновременно размножаются и выделяют токсины несколько видов анаэробов, часто в ассоциации с аэробными бактериями.
- ◆ **Следовательно**, в организм проникает одновременно несколько токсинов. При этом один токсин может значительно усиливать ядовитое действие другого (эффект потенцирования). Возможно, именно этим можно объяснить молниеносные формы анаэробной инфекции, когда больной погибает **через** несколько часов при явлениях чрезвычайно тяжелой интоксикации организма.
- ◆ Кроме анаэробной газовой инфекции, отдельные виды клостридий, **особенно** *C. perfringens* и *C. difficile*, могут вызывать пищевые токсикоинфекции.





FIG. 21-10 In this case of gas gangrene there is a discharge from the lower end of the wound. The gangrenous area is turning black due to tissue necrosis.

Лабораторная диагностика.

- ◆ Для исследования необходимо брать кусочки поврежденных мышц, особенно на границе со здоровой тканью, рановый экссудат, кровь, перевязочные и шовные материалы, обрывки одежды, почва. Его проводят несколькими этапами: микроскопия - выявление кластридий и капсул *S. perfringens*; бактериологическое исследование - выделение чистых культур и микробных ассоциаций, определения их видового состава и получения токсинов; установление вида токсина в биологических пробах на мышцах с помощью теста нейтрализации соответствующей антитоксинной сывороткой.
- ◆





Используют и экспресс-методы диагностики: занял материалов на молоко и среду Вильсона-Блера (агар с хлорным железом и сульфитом натрия). Если в исследуемом материале есть *S. perfringens*, уже через 4-6 часов происходит характерное изменение молока - бурное свертывание и образование губчатого сгустку, а среда Вильсона-Блера за это время почернеет.

Профилактика и лечение.

- ◆ К ускоренным методам диагностики принадлежит и газожидкостная хроматография, с помощью которой за несколько минут можно выявить в рановом содержании наличие специфических жирных кислот клостридий, но их виды этим способом не определяют.

Для предупреждения возникновения анаэробной газовой инфекции важное значение имеют своевременная и полноценная первичная хирургическая обработка раны и раннее профилактическое внутримышечное введение антитоксинных сывороток (по 10000 МО сывороток против *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum* - основных возбудителей заболевания).

Для лечения анаэробной инфекции используют те же антитоксинные сыворотки, но значительно больше в дозах (50-100 тыс. МО).



- ◆ До определения видов клостридий (токсинов) вводят все три сыворотки, после установления возбудителя вводят гомологичную сыворотку. В случае выявления стафилококков - антистафилококковый гамма-глобулин или гипериммунную протистафилококковую плазму. Если такая терапия окажется неэффективной, проводят хирургическое лечение, вплоть до ампутации конечностей.
- ◆ Достаточно эффективным для лечения анаэробной газовой инфекции оказался метод гипербарической оксигенации в специальных барокамерах, в которых создают атмосферу с повышенным парциальным давлением кислорода

Бактероиды (Bacteroides)

- ◆ Из известных свыше 40 видов бактероидов самыми частыми возбудителями воспалительных процессов являются *B. fragilis* и *B. melaninogenicus*.
- ◆ Бактероиды - мелкие полиморфные палочки (0,8-1,5 мкм), которые располагаются в одиночку или в виде диплобактерий и коротких цепочек. Одни виды имеют жгутики, другие неподвижные, отдельные из них образуют капсулы. Они прихотливые к питательным средам. Их культивируют в анаэробных условиях на кровяных средах с добавлением гемину, витамина К, глюкозы. Посевы инкубируют на протяжении 5-7 дней.





- ◆ Бактероиды ферментируют **многие** углеводы, **разлагают** пептоны. Они населяют кишечник, другие биотопы и входят в состав нормальных микробиоценозов человека. Заболевания, какие они вызывают, принадлежат к эндогенным инфекциям и возникают у **лиц с** иммунодефицитным **состоянием**. Чаще всего заболевания имеют **гнойно-воспалительный** характер и могут поражать какие-нибудь ткани и органы человека. Лабораторная диагностика проводится подобно той, **которая** применяется при клостридиальных инфекциях. Лечение, в основном, проводят антибиотиками (пеницилин, карбеницилин, хлорамфеникол) и метранидазолом.

Фузобактерии

- ◆ Бактероиды ферментируют **многие** углеводы, **разлагают** пептоны. Они населяют кишечник, другие биотопы и входят в состав нормальных микробиоценозов человека. Заболевания, какие они вызывают, принадлежат к эндогенным инфекциям и возникают у **лиц** с иммунодефицитным **состоянием**. Чаще всего заболевания имеют **гнойно-воспалительный** характер и могут поражать какие-нибудь ткани и органы человека. Лабораторная диагностика проводится подобно той, **которая** применяется при клостридиальных инфекциях. Лечение, в основном, проводят антибиотиками (пеницилин, карбеницилин, хлорамфеникол) и метранидазолом.





Пептококи и пептострептококи.

- ◆ **К** шаровидным анаэробным бактериям принадлежат пептококи и пептострептококи. Это неподвижные беспорови микроорганизмы. Первые за морфологией подобные **к** стафилококкам, **вторые** напоминают стрептококков. **Естественными** их биотопами является слизевая оболочка рта и носа, кишечник и мочеполовые органы. Могут вызывать аппендицит, плеврит, абсцесс мозга, смешанные инфекции. Лечат их пеницилином, карбеницилином, левомицетином.



Вейлонелы

- ◆ Вейлонели - очень мелкие (0,3-0,6 мкм) анаэробные грамотрицательные кокки. Спор не образуют, жгутиков не имеют. Паразитируют на слизистой оболочке ротовой полости, дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. При определенных условиях могут повлечь рановидные инфекции, абсцессы, сепсис. Лечение проводят антибиотиками.





Кафедра медицинской биологии, микробиологии,
вирусологии и иммунологии

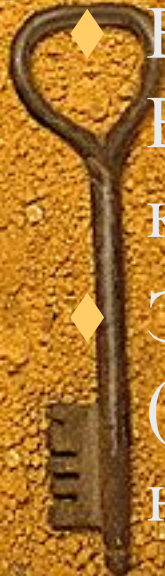
Возбудители дифтерии,
туберкулеза и лепры

доц. Ткачук Н. И.

Дифтерия – острое инфекционное заболевание, вызываемое *Corynebacterium diphtheriae* и ее ТОКСИНОМ.

Бактерии вызывают воспаление воздухоносных путей, реже кожных покровов. Токсин приводит к дегенерации периферических нервов, сердечной мышцы и других тканей. Заболевание известно очень давно.

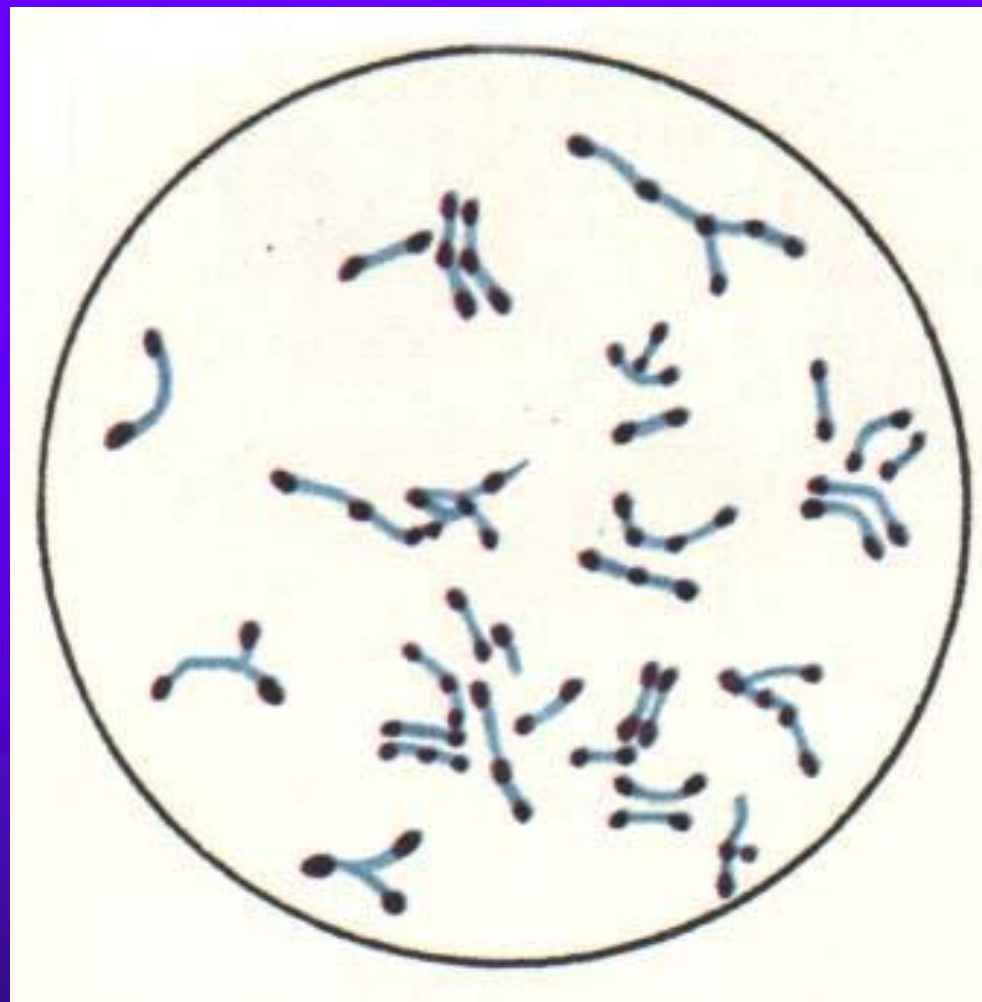




- ◆ Возбудитель - *Corynebacterium diphtheriae*;
Впервые его выделил Э.Колебс (1883), а чистую культуру возбудителя получил Ф.Леффлер (1884).
- ◆ Эпидемиология: Резервуар инфекции – человек (больной, реконвалесцент, бактерионоситель); наибольшую эпидемическую опасность представляют больные лица. Реконвалесценты выделяют дифтерийную палочку в течение 15-20 суток. Основной путь передачи – воздушно капельный; также возможно заражение через предметы, используемые больными и инфицированные пищевые продукты (обычно молоко).



Corynebacterium diphtheriae, окраска по
Нейссеру




Corynebacterium diphtheriae,
окраска по Леффлеру

Морфология и тинкториальные свойства

- ◆ Дифтерийная палочка (палочка Клебса-Леффлера) представлена тонким, слегка изогнутыми или прямыми палочками размером 1-12x0,3-0,8 мкм. Часто они утолщены на концах и напоминают булаву (от греч. *corune*, булава). Для дифтерийной палочки характерен выраженный полиморфизм.






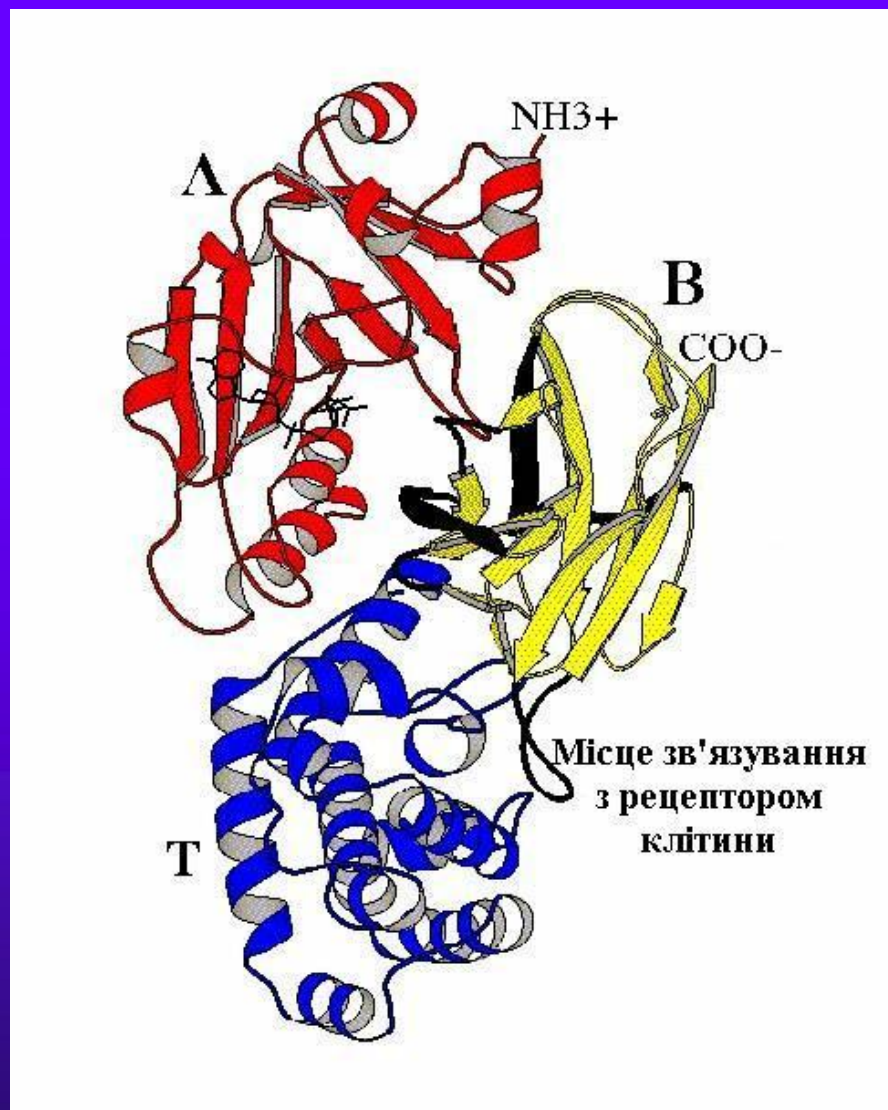
У *S. diphtheriae* выделяю три биовара – *gravis*, *mitis*, *intermedius*.

- ◆ Бактерии биовара *gravis* – короткие, неправильной формы, с небольшим количеством метахроматических гранул.
- ◆ Биовар *mitis* образует длинные изогнутые полиморфные палочки, содержащие много волютиновых зерен (тельца Бабеша-Эрнста)
- ◆ Бактерии биовара *intermedius* наиболее крупные с бочковидными очертаниями, для них характерны поперечные перегородки, разделяющие клетку на несколько сегментов. В настоящее время биовара *intermedius* относят в группу *gravis*.

Токсинообразование



◆ *C. diphtheriae* продуцирует мощный экзотоксин — основной фактор патогенности. Нетоксигенные штаммы не вызывают развитие заболевания. В чистом виде токсин впервые получил Э. Ру и А. Иерсен (1888). Нативный токсин — полипептид с M около 72000; его образуют фрагменты А (проявляют ферментативную активность) и В (взаимодействуют с клеточными рецепторами, облегчая проникновение фермента А). Клетки всех чувствительных органов способны рецептировать В-фрагмент и поглощать молекулу посредством эндоцитоза.



Строение токсина



Токсин ингибирует белковый синтез в том числе и в миокарде , приводя к структурным и функциональным нарушениям, способным вызвать смерть больного. Результат действия токсина на нервную ткань — демиелинизация нервных волокон, часто приводит к параличам и парезам.



Способность к токсинообразованию

проявляют лишь лизогенные штаммы *S.diphtheriae*, инфицированные бактериофагом (β -фаг), несущим ген *tox*, кодирующий структуру токсина. Образование последнего наиболее выражено при вступлении бактериальной популяции в стадию отмирания.



Дифтерийный фаг с tox+ генами



Патогенез поражений

◆ Входные ворота для возбудителя – слизистые оболочки носоглотки, иногда глаз, половых органов (у женщин), поврежденные кожные покровы. Дифтерийная палочка колонизирует ткани в месте внедрения, вызывая развитие местного фибринозного воспаления. Подобный тип поражений известен как дифтеритическое воспаление.

3. Disease

Pharyngeal diphtheria
Pharyngitis
Hypoxia - pseudomembrane
obstruction
Fever
Lymphadenitis

Cutaneous diphtheria
Systemic complications

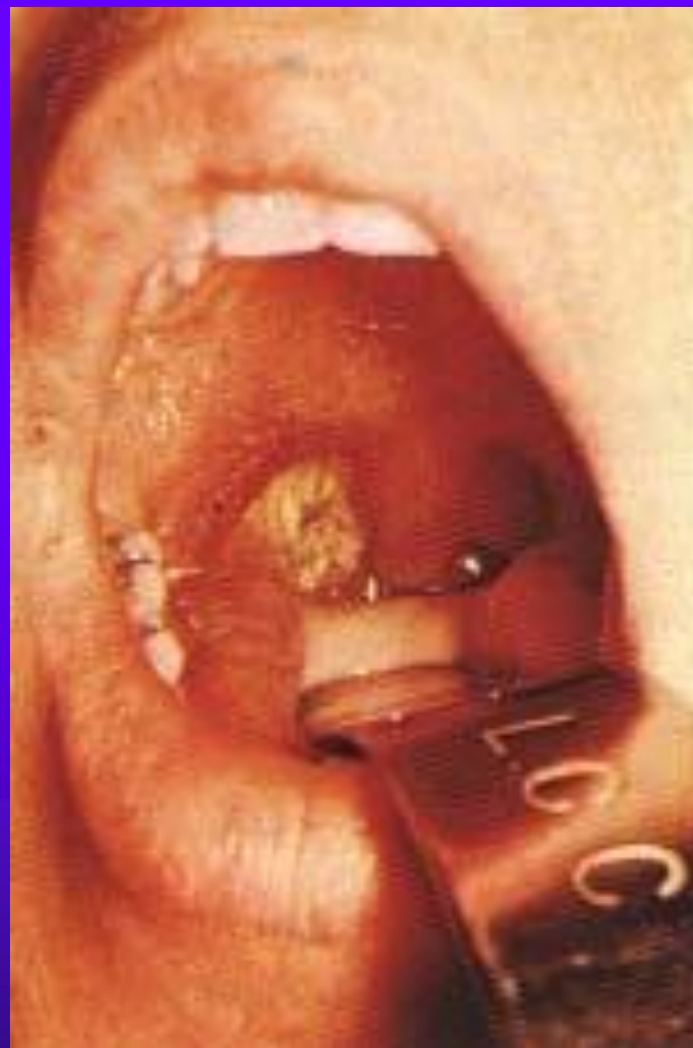
Toxic peripheral neuropathy
Toxic myocarditis and
congestive heart failure

1. Entry

4. Exit

2. Spread - bacteria
rarely become
disseminated but
toxin becomes
blood borne

Патогенез захворювання



Дифтерия ротоглотки



Пленки на миндалинах



◆ Развитие пленок и переход процесса на воздухоносные пути может вызвать асфиксию. Системные проявления обусловлены действием токсина, поражающего нервную систему (преимущественно периферические симпатические узлы), сердце и сосуды, надпочечники и почки. Ферменты *S. diphtheriae* (гиалуронидаза, нейраминидаза, фибринолизин) обеспечивают проникновение возбудителя в различные ткани.




Дифтерия гортани



Дифтерия носа

Принципы микробиологической диагностики




- ◆ С целью раннего выявления заболевания и определения носителей необходимы выделение и идентификация возбудителя, а также определение его способности к токсинообразованию. Материалом для исследования служат дифтиритические пленки, слизь из носоглотки или отделяемое из подозрительных пораженных кожных покровов. Забор материала проводят двумя стерильными ватными тампонами: один используют для посева, с другого делают амзки и окрашивают их по Граму и Нейссеру. Взятый материал следует доставить в лабораторию не позднее чем через 3 ч.



Бактериоскопия

- ◆ Окраска по Нейссеру позволяет выявить характерные зерна Бабеша-Эрнста и отличить дифтерийную палочку от ложнодифтерийной палочки, часто обитающей в носоглотке (по Леффлеру).

Культивирование



◆ Бактерии выделяют посевом на элективные среды с теллурином (например Кауберга П или Маклеода), ложнодифтерийная палочка (палочка Хофмана) теллур не восстанавливает. Для выделения чистой культуры часть подозрительной колонии засевают на скошенный агар (или среду Ру), вторую часть – на твердую питательную среду для определения токсигенности и (не обжигая петли) проводят определение цистинозной активности (проба Пизу). При положительном результате наблюдают образование коричневого облачка вокруг линии укола. Чистую культуру идентифицируют на средах Хисса.



Биовар *gravis*



Биовар mitis



Биовар *intermedius*

Определение токсигенности

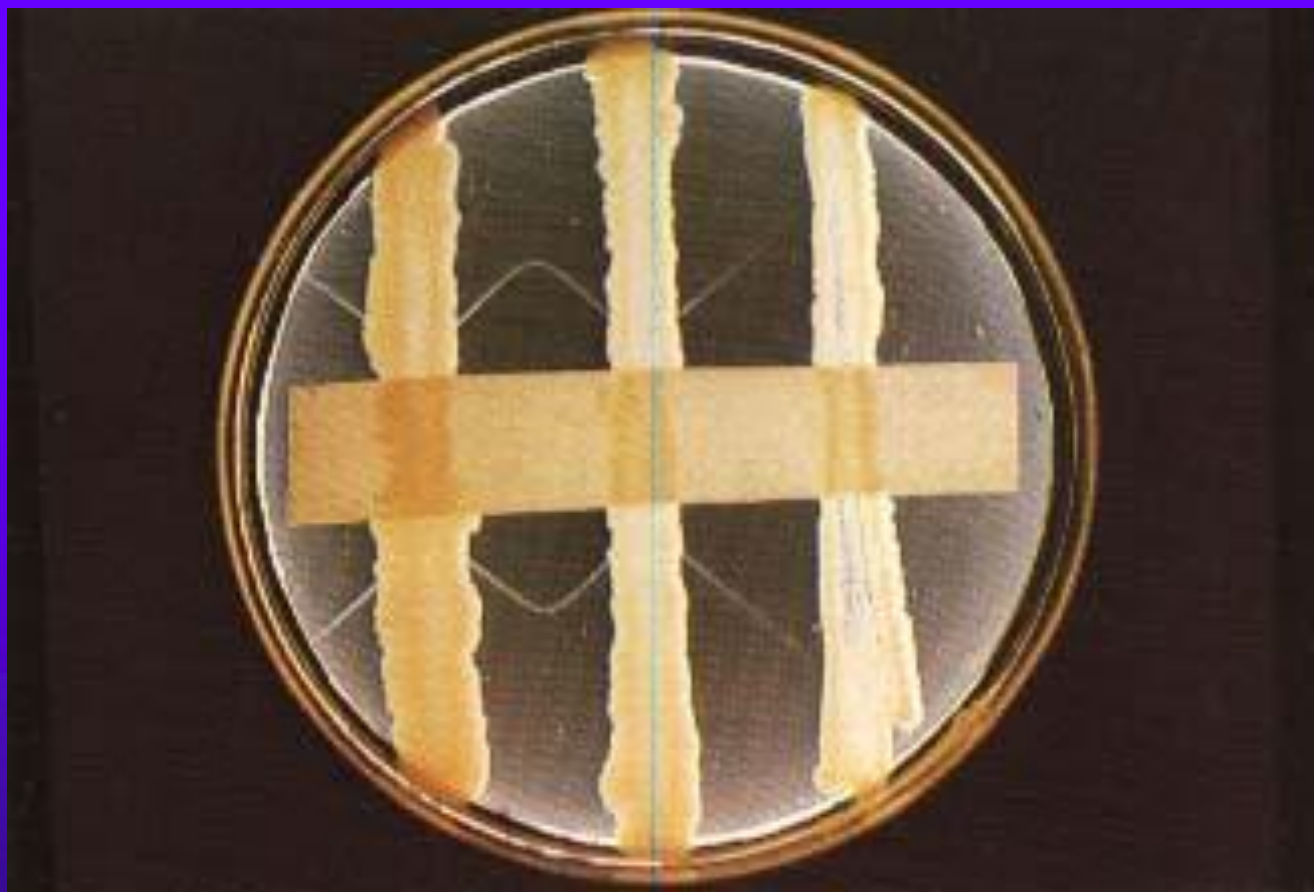
◆ Определение *in vivo*. Проводят подкожным или внутрикожным заражением 0,5-1,0 мл бактериальной культуры морских свинок массой 250 г. За 24 часа до заражения одно животное иммунизируют дифтерийным анатоксином. При положительном результате иммунизированное животное погибает в течение 3-5 суток.



Определение токсигенности *in vitro*



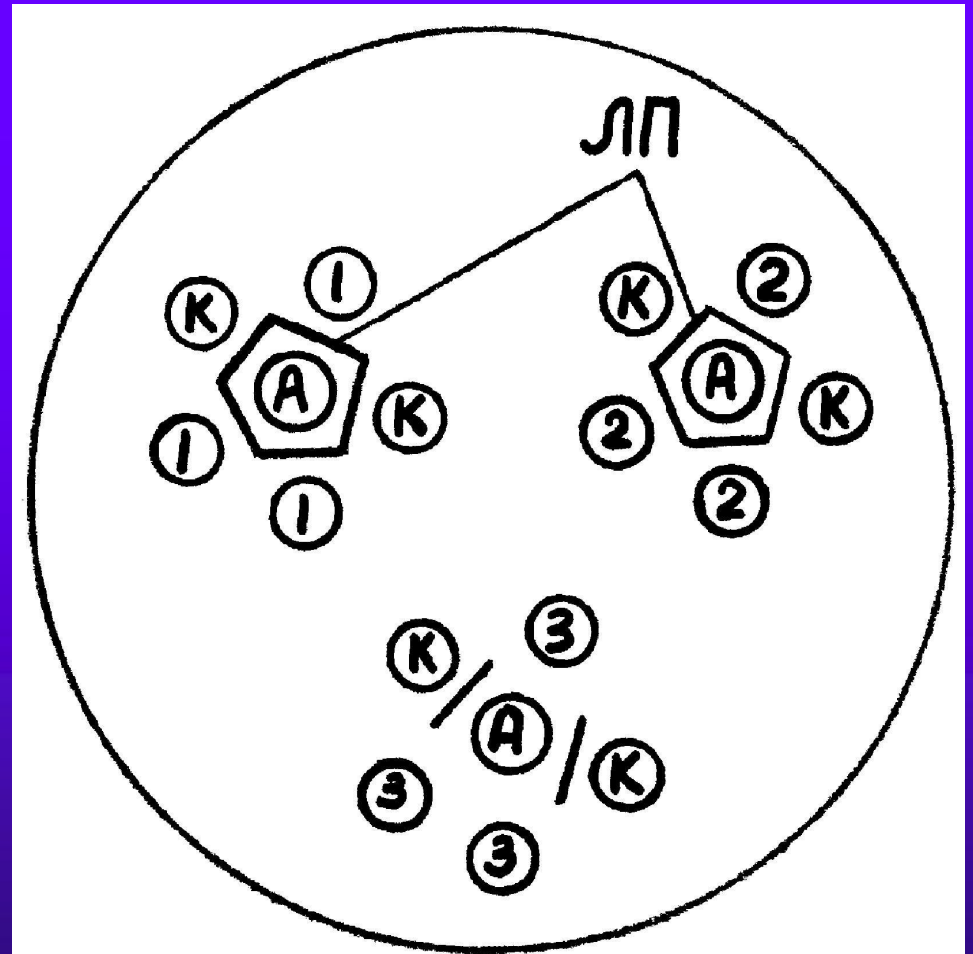
- ◆ Способность к образованию токсина можно определить заражением куриных эмбрионов или культур клеток с регистрацией последующего цитопатического эффекта. Можно использовать твердофазный ИФА с использованием антитоксинов, меченых пероксидазой. Также предложены ПЦР и ДНК-зонды для обнаружения гена *tox* в бактериальной хромосоме. Однако наибольшее распространение получил тест иммунодиффузии.




Определение токсигенности дифтерийных палочек



Определение
токсигенности
дифтерийных
палочек




Лечение




◆ Поскольку патогенез нарушений обусловлен действием токсина, то основу специфической терапии составит противодифтерийная лошадиная сыворотка (антитоксин), содержащая не менее 2000 международных антитоксических единиц активности (МЕ) в 1 мл. Антитоксин вводят внутримышечно или внутривенно в дозах, соответствующих тяжести заболевания (от 20000 до 100000 ЕД).

Профилактика



◆ Для иммунопрофилактики применяют дифтерийный анатоксин, разработанный Г. Рамоном. Препарат-токсин, лишенный ядовитых свойств обработанный 0,4% раствором формалина и выдержанной в термостате при температуре 40°C в течение 30 суток, но сохранивший иммуногенность. Очищенный и концентрированный препарат входит в состав комбинированных вакцин – АКДС, АДС, АДС-М.



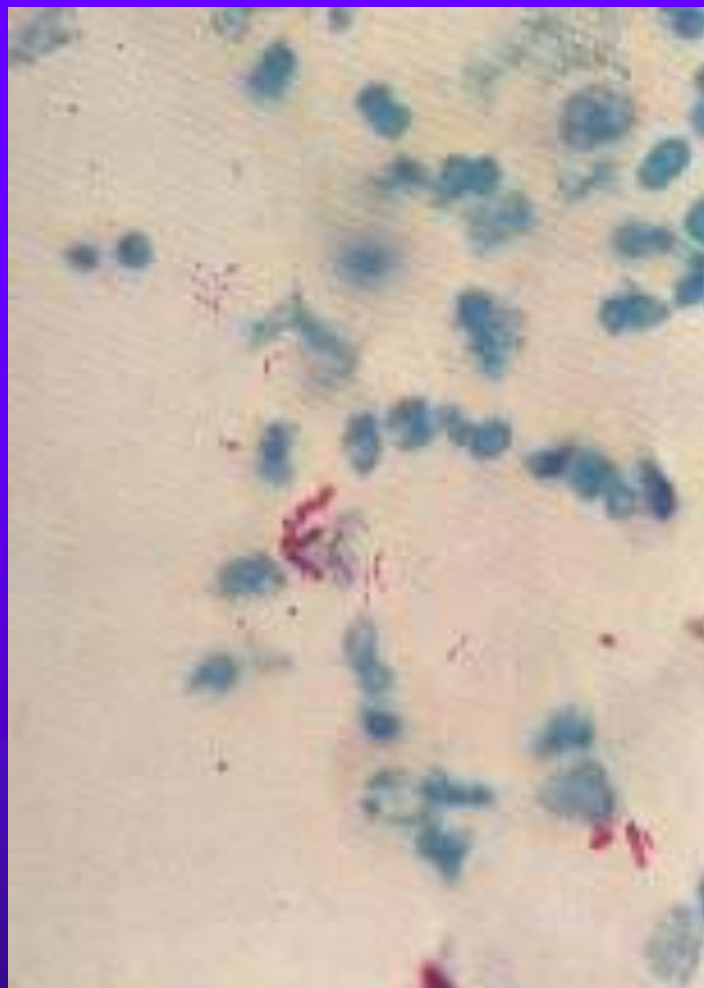
Туберкулез – хроническая инфекция, проявляющаяся поражением органов дыхания, костей, суставов, кожи, мочеполовых органов и др.

◆ **Этиология.** Резервуар возбудителя – больной человек; основной путь передачи – аэрогенный, реже через кожу и слизистые оболочки. Проникновение возбудителя не всегда вызывает развитие заболевания; огромную роль играют неблагоприятные условия жизни и трудовой деятельности.

Морфология и тинкториальные свойства.

- ◆ *M. tuberculosis* (палочка Коха) – тонкая, прямая или слегка изогнутая палочка, размером 1-10x0,2-0,6 мкм со слегка закругленными концами. В молодых культурах палочки более длинные, а старых склонны к ветвлению. Бактерии способны образовывать L-формы, сохраняющие способность к инфицированию, а также фильтрующиеся формы, патогенетическая роль которых остается плохо изученной. Капсул не имеют, но образуют микрокапсулу. Методом Циля-Нильсена окрашиваются в ярко-красный цвет. Содержат кислотонеустойчивые гранулы (зерна Муха), располагающиеся в цитоплазме.





Mycobacterium tuberculosis в мазках из мочи

Культуральные свойства

◆ Туберкулезные палочки могут расти как в аэробных, так и факультативно аэробных условиях. Повышенное содержание CO_2 (5-10%) способствует более быстрому росту. Оптимальная температура 37-38°C; pH – 7,0-7,2. Нуждается в присутствии белков, глицерина, фактора роста, ионов (магния, калия, натрия, железа) и др. Для выращивания наиболее часто применяют глицериновые, картофельные с желчью, яичные, полусинтетические и синтетические среды. Наиболее оптимальная среда Левенштейна-Йенсена.





Рост туберкулезных палочек в жидкой питательной
среде

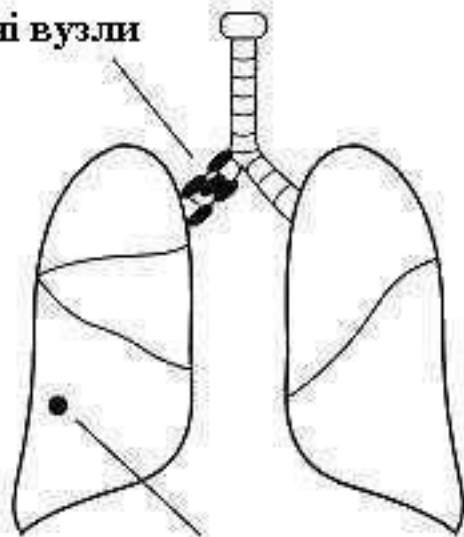


Рост туберкулезных палочек на среде
Левенштейна-Йенсена



Первинний туберкульоз

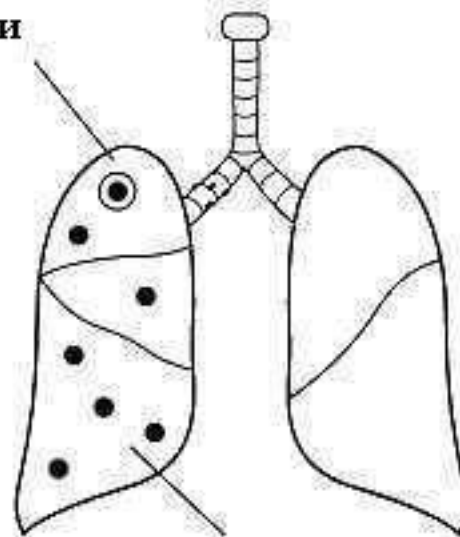
Лімфатичні вузли



Первинне вогнище

Вторинний туберкульоз


Каверни




Міліарні ураження

Механізм формування туберкулеза

Микроскопия патологического материала



◆ В мазках окрашенных по Цилю-Нильсену, обнаруживают кислотоустойчивые палочки. Нередко материал содержит мало бактерий и для повышения вероятности их обнаружения используют методы обогащения: центрифугирование и флотацию. Материал обрабатывают аурамин-родамином и бактерии окрашивают в бело-желтый цвет. Для выявления L-форм применяют АТ, меченые флюорохромами.



Для получения повышения эффективности выделения и уничтожения контаминирующей микрофлоры применяют методы обогащения или обрабатывают материал 6-12 % серной кислотой. Основным недостатком бактериологического метода - длительность получения результата (от 2 до 12 недель). В связи с этим разработаны ускоренные микрометоды выделения. Один из распространенных методов, метод Прайса.

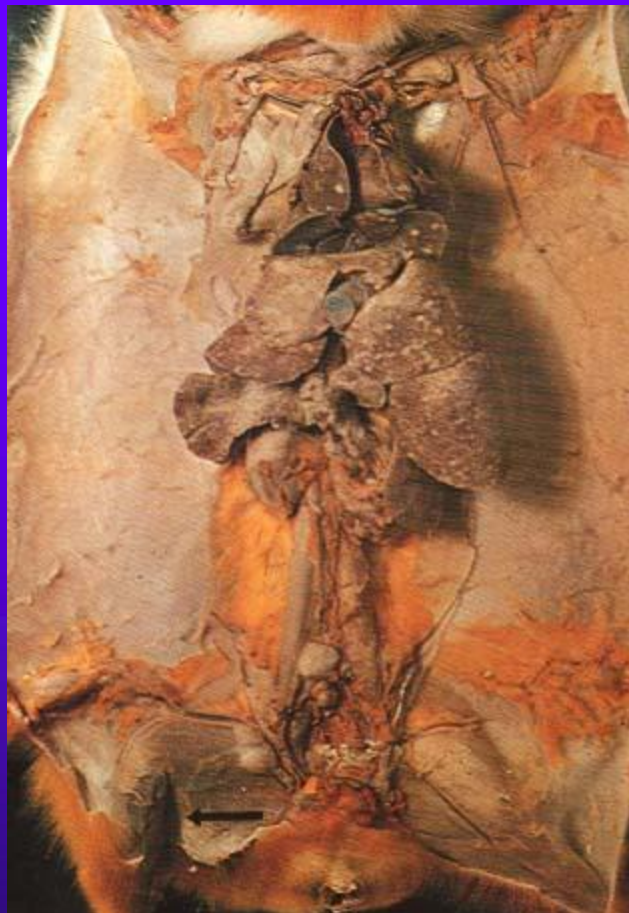


Mycobacterium tuberculosis в микрокультуре




Биологическая проба

◆ Представляет «золотой стандарт» в диагностике туберкулеза. Морским свинкам подкожно или внутрибрюшинно вводят 1 мл исследуемого материала (например, мокрота, отделяемое свищей и т. д.). Через 1-2 мес. Развивается генерализованная инфекция с летальным исходом.



Туберкулез у гвинейских свинок

Кожные пробы с туберкулином



◆ Позволяют проводить обследование населения. Включают внутрикожное введение 5 ЕД РРД – белкового экстракта культуры *M. tuberculosis* (реакция Манту). При положительном результате через 48 ч. в месте введения формируется папула диаметром 10 мм с гиперемизированными краями. Положительная реакция указывает на контакт лица с Аг *M. tuberculosis* или других бактерий, дающих перекрестную реакцию.



Туберкулиновая проба Манту



◆ Положительный результат нельзя рассматривать как признак активного процесса. Если папула имеет меньшие размеры (5-10 мм) то результат считают сомнительным и пробу повторяют с введением 10 ЕД РРД . Если размеры папулы еще меньше, то реакция считается отрицательной. Следует помнить, что отрицательная реакция Манту не всегда указывает на отсутствие туберкулезного процесса – у больных с иммунодефицитами реакция обычно также отрицательна.

Для специфической иммунопрофилактики

◆ Применяют аттенуированный штамм *M. Bovis*; так называемые бациллы Кальметта-Герена (БЦЖ). Иммунизацию проводят внутрикожным введением 0,1 мл вакцины всем новорожденным. После вакцинации на некоторое время отказываются от постановки кожных проб для предупреждения гиперреактивных осложнений (некротические реакции). Реакцию проводят в возрасте 7, 12, 17, 22, 17-30 лет лицам с отрицательными реакциями Манту.




Лепра

◆ Лепра (проказа, или болезнь Хансена) – хроническая генерализованная инфекция с преимущественным поражением производных эктодермы (кожа, и периферическая нервная система).



Эпидемиология

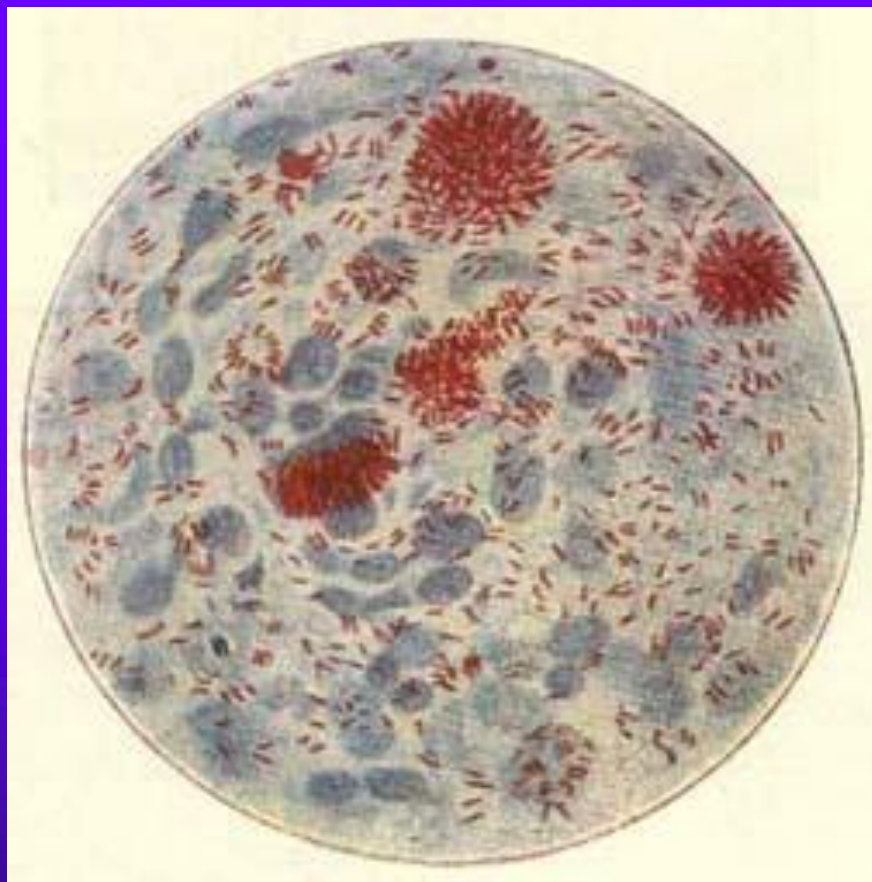


◆ Единственный резервуар – больной человек. Пути и механизмы передачи лепры остаются до конца не изученными, поскольку *заболевание малоконтагиозно*. Доказана возможность заражения контактным и воздушно-капельным путем.

Морфология и тинкториальные свойства


◆ М. *leprae* (палочка Хансена) — непродолжительная прямая, или изогнутая бактерия с заостренными или утолщенными краями. Хорошо окрашивается по Цилю-Нильсену. В мазках из очагов поражений бактерии располагаются параллельными группами («пачки сигар») или шаровидными скоплениями окруженными полупрозрачной неокрашивающейся массой.





Mycobacterium leprae (окраска по Цилю-Нильсену)

Патогенез поражений



◆ Попав в организм человека, бактерии проникают в нервные окончания а оттуда – в лимфатические и кровеносные капилляры; не вызывают видимых поражений в месте внедрения. В большинстве случаев возбудитель погибает и Элиминируется; болезнь может протекать латентно, не проявляясь в течение всей жизни. Вероятность развития лепры зависит от состояния факторов резистентности. При небольших отклонениях развивается abortивная инфекция в виде ограниченных гранулематозных высыпаний.



Клинические проявления

- ◆ Инкубационный период длится 4-6 лет, нередко затягивается до 10-15 лет и более. Это обусловлено медленным размножением возбудителя. Продромальные явления (лихорадка, слабость, потеря аппетита, боли в костях) могут отсутствовать.



Лицо больного проказой



Клинические проявления лепры



Туберкулоидная форма


- ◆ Характеризуется разрастанием гранулематозной ткани в коже и слизистых оболочках. Чаще наблюдается один очаг (иногда единственное проявление болезни), реже – кожные высыпания недифференцированной формы. При туберкулоидной форме очаги характеризуются выраженной анестезией. При пограничной (слепроматозной) туберкулоидной форме анестезия очагов выражена меньше; часто наблюдают невриты.

Лепроматозная форма

◆ Поражения локализуются преимущественно на лице и дистальных отделах конечностей в виде сплошных инфильтратов, имеющих красно-бурую окраску. У больных часто наблюдается выпадение бровей и ресниц, а узлы и инфильтраты часто придают лицу своеобразное выражение, известное как «львиное лицо».




Принципы микробиологической диагностики



◆ Обнаружение *M. leprae* делает диагноз несомненным и помогает определить тип заболевания. Материал получают энергичным соскобом слизистой оболочки носовой перегородки, выделением тканей жидкости (после надреза пораженных тканей глубиной 2-3 мм) или пункцией увеличенных лимфатических узлов. Мазки окрашивают по Цилю-Нильсену; обращают внимание на любые кислотоустойчивые бактерии. При сомнительных результатах можно поставить биологическую пробу на морских свинках. Для дифференциальной диагностики туберкулоидной формы применяют кожную пробу с аллергеном *M. leprae* всегда отрицательную при лепроматозной форме, при которой отсутствуют клеточные иммунные реакции.

Лечение



◆ Проводят интенсивную и длительную химиотерапию, часто в течение всей жизни больного. Основные препараты – сульфоны (дапасон, солюсульфон), рифампицин, клофазилин – назначаются отдельно или в комбинациях. Для иммунопрофилактики лепры создана экспериментальная вакцина.