

**ГБОУ ВПО «ВЛАДИВОСТОКСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ МЗСР РФ»**

**Кафедра микробиологии и вирусологии**

# **Микробиология коринебактериозов**

**д.м.н., проф. Шаркова В.**

**А.**

Дифтерия – острое инфекционное заболевание, характеризующееся воспалением воздухоносных путей, реже кожных покровов, дегенерацией периферических нервов, сердечной мышцы и других тканей

Заболевание известно давно:

- Аретей Каппадокийский (1 век до н/э) «злокачественные язвы на миндалинах, ведущие к удушению»
- «гаратильо» - маленькая гаротта (устройство для удушения)

1883г. Т. Клебс – обнаружил МКО

1884г. Ф. Леффлер – выделил в чистом виде

# Corynebacteriaceae

Corynebacterium

C. Diphtheriae

Непатогенные: ложнодифтерийные палочки и дифтероиды или коринеформные бактерии (широко распространены в окружающей среде – воздухе, почве, пыли, воде, пищевых продуктах: молоке)

Выделяют и от клинически здоровых лиц (со слизистой оболочки носоглотки, с эпителия влагалища, из ран)

Большинство организмов представлено организмами-комменсалами:

- *C. pseudodiphtheriticum* (палочка Хоффмана)
- *C. xerosis*

Вызывающими спорадические поражения

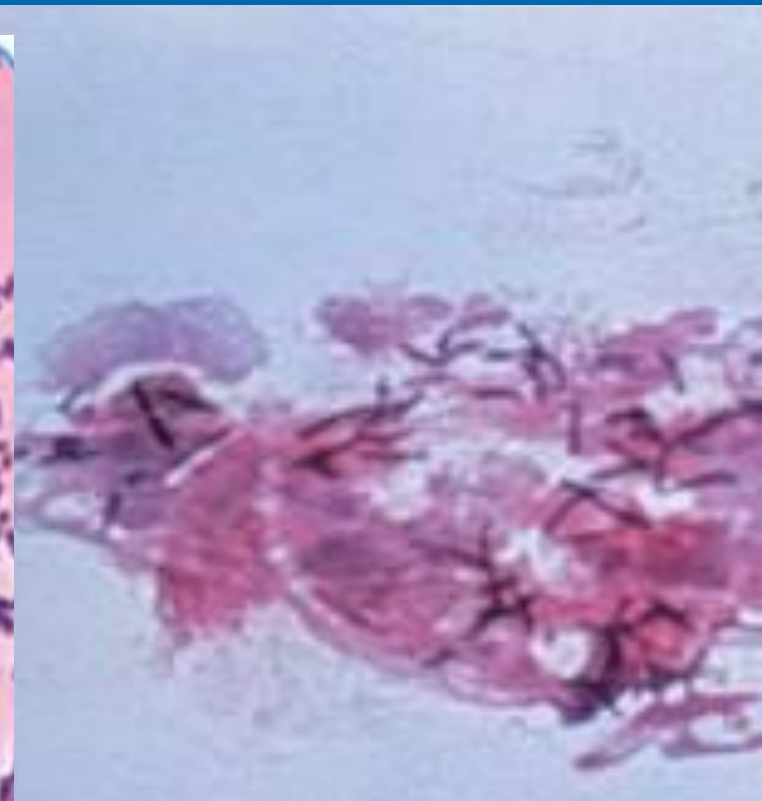
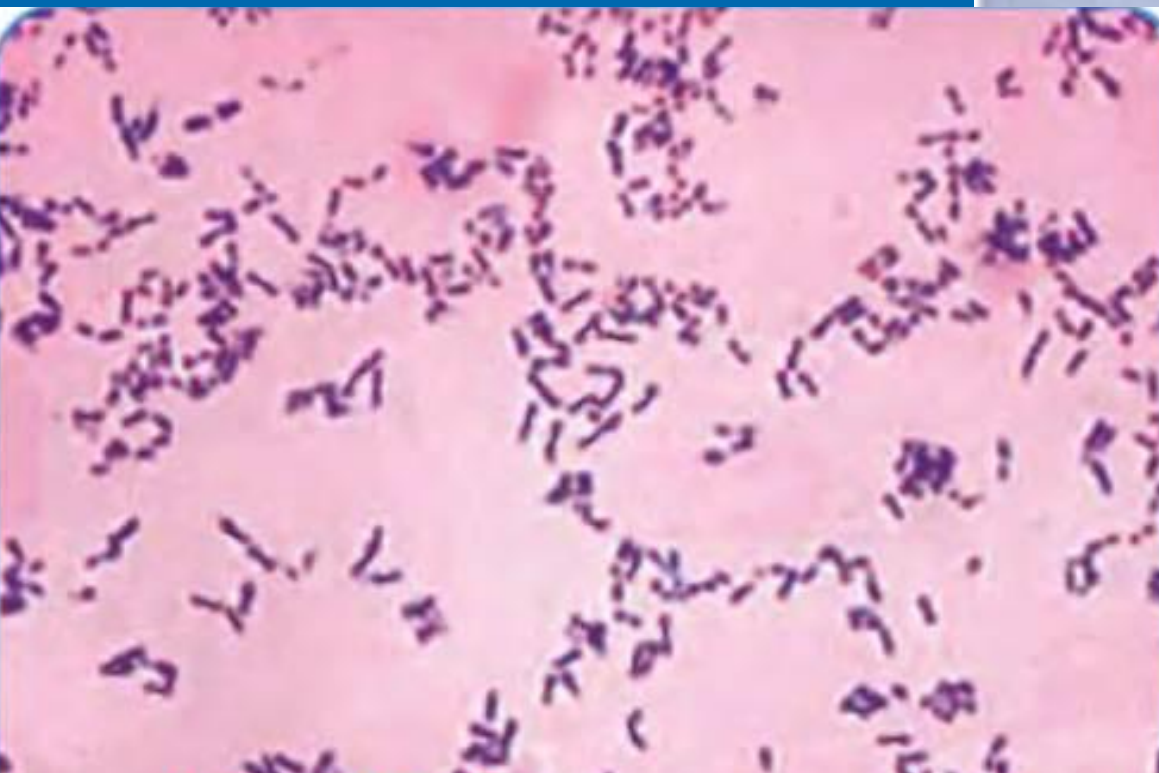
- *C. ulcerans*, *C. urealyticum*

## Палочка Клебса-Леффлера:

- тонкие, слегка изогнутые или прямые палочки (3-6x0,3-0,5 мкм)
- полиморфны: изогнутые, прямые, длинные, короткие, толстые, нитевидные, коккобактерии
- на концах – утолщения (*зерна волютина* или *Бабеца-Эрнста*)
- Окрашиваются основными анилиновыми красителями
- Gr+, окр. по Леффлеру (щелочной метиленовый синий), по Нейссеру



- фимбрии – адгезия к эпителию слизистой
- в мазках *расположены попарно, под острым или тупым углом, в виде растопыренных пальцев, паркета*
- неподвижны
- не имеют спор и капсул
- Бактерии способны образовывать L- и фильтрующиеся формы



## *Corynebacterium diphtheriae* выделяют три биовара — *gravis*, *mitis* и *intermedium*

- Бактерии биовара дифтерии *gravis* — короткие неправильной формы, с небольшим количеством метакроматических гранул.
- Биовар *mitis* - длинные изогнутые полиморфные палочки, содержащие много волютиновых зёрен
- биовар *inmtermedius* наиболее крупные, с бочковидными очертаниями; характерны поперечные перегородки, разделяющие клетку на несколько сегментов
- В настоящее время биовар дифтерии *intermedius* относят в группу *gravis*

## Культуральные свойства :

- 36-37 °C
- pH 7.4-8,0
- Питательные среды содержат ростовые факторы: аминокислоты, витамины, ионы металлов ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$  и др.)
- На сывороточных средах (например, среде Лёффлера) дают рост уже через 10-12 ч; за это время контаминирующая микрофлора не успевает развиться
- осн. Среды: ср. Бучина, ср. Тинсдаля, ср. Клауберга (сыв-ку+ТеК)



- Наибольшее распространение получили среды с теллуридом, так как возбудитель резистентен к высоким концентрациям теллурида калия или натрия, ингибирующим рост сопутствующей микрофлоры
- На ср. с теллуридом - серовато-чёрные колонии в результате восстановления теллурида до металлического теллура, аккумулирующегося внутри бактерий
- В жидких средах образуют помутнение и осадок; их образование и характер варьируют у различных биоваров

Биовар *gravis* растет в виде крупных колоний 2-3 мм, R-форме



Mitis - небольших, гладких, S-формы



# Культуральные особенности биоваров дифтерии

Свойства	Биовар дифтерии <i>gravis</i>	Биовар дифтерии <i>intermedius</i>	Биовар дифтерии <i>mitis</i>
Рост на средах с теллуритом	Крупные сухие матовые плоские серо-чёрные колонии приподняты в центре, радиальная исчерченность («маргаритки») и неровные края	Мелкие сухие матовые серо-чёрные колонии с более прозрачной периферией, поднятым центром и неровными краями	Мелкие гладкие блестящие полупрозрачные чёрные колонии с ровными краями
Рост на бульоне	Плётка, помутнение (иногда отсутствует), крошковидный или крупнозернистый осадок	Помутнение с последующим просветлением и образованием мелкозернистого осадка	Равномерное помутнение и порошкообразный осадок
Гемолиз на КА	±	-	+

## **Биохимическая активность**

- сбраживает с образованием кислоты глюкозу, мальтозу, галактозу, декстрин
- не разлагает сахарозу, лактозу, маннит
- Способность разлагать крахмал и гликоген варьирует у различных штаммов
- Дифтерийная палочка не гидролизует мочевины и не образует индол
- Отсутствие способности ферментировать сахарозу, разлагать мочевины и способность разлагать цистин — дифференцирующий признак, отличающий дифтерийную палочку от других коринебактерий
- Дифтерийная палочка лизирует эритроциты морской свинки и кролика

**Дифтерийная палочка образует бактериоцины (корицины), обладающие узким спектром действия**

**Гены, кодирующие синтез бактериоцинов, передаются плазмидами**



## ***Факторы патогенности:***

- адгезины
- каталазу
- гиалуронидазу
- нейраминидазу
- ДНКазу
- фибринолизин
- корд-фактор – нарушает фосфорилирование и дыхательные процессы в кл-ке
- экзотоксин — основной фактор патогенности
- Нетоксигенные штаммы дифтерии не вызывают развитие заболевания

**В чистом виде токсин впервые получили Э. Ру и А. Иерсен (1888)**

- **экзотоксин — проявляет все свойства экзотоксина (термолабильный, высокотоксичный, иммуногенный белок, нейтрализуемый антитоксической сывороткой)**
- **его образуют фрагменты А (проявляет ферментативную активность) и В (взаимодействует с клеточными рецепторами, облегчая проникновение фрагмента А)**
- **Клетки всех чувствительных организмов способны рецептировать В-фрагмент и поглощать молекулу посредством эндоцитоза**
- **В кислой среде эндосом (фаголизосом) дисульфидные связи, объединяющие оба компонента, разрушаются, фрагмент В взаимодействует с мембраной эндосомы, облегчая проникновение фрагмента А в цитоплазму**

- Токсин ингибирует белковый синтез, в т. ч.*
- в миокарде, приводя к структурным и функциональным нарушениям, способным вызвать лет исход
  - надпочечниках
  - нервных ганглиях – действуя на нервную ткань, токсин приводит к демиелинизации нервных волокон, что приводит к параличам и парезам



Способность к токсинообразованию проявляют лишь лизогенные штаммы *Corynebacterium diphtheriae*, инфицированные бактериофагом, несущим ген *tox*, кодирующий структуру токсина дифтерии

Переход умеренного фага в литическую форму мало влияет на синтез токсина

## **Активность токсина**

**1 ЕД D1m дифтерийного токсина равна наименьшей концентрации, убивающей морскую свинку массой 250 г на 4-5-е сутки (около 0,25-0,1 мкл)**

**Дифтерийный экзотоксин малоустойчив, быстро разрушается под влиянием  $t$ , света,  $O_2$  воздуха. После добавления к токсину формалина, выдерживания при  $t$  38-40 °С в теч 3-4 нед, он переходит в анатоксин**

**Для получения анатоксина используют штамм PW-8 либо его варианты — «Массачусетс», «Торонто» и др.**

## Антигенная структура

**О- и К- антигены ( Аг )**

**О-антиген - Липидные и полисахаридные термолабильные фракции преимущественно представлены межвидовыми антигенами**

**К-антигены - Поверхностные термолабильные (нуклеопротеиды, белки) обеспечивают видовую специфичность и проявляют выраженную иммуногенность.**

**С помощью анти-К-сывороток дифтерийные бактерии разделяют на серологические варианты (около 58)**

**Биовар *mitis* включает 40 сероваров**

***gravis* — 14**

***intermedius* — 4**

*В отечественной практике используют диагностические агглютинирующие, неадсорбированные сыворотки; в том числе полигрупповые и к сероварам для РА на стекле и в пробирках*



Среди коринебактерий различают 19 фаговаров, что учитывается при идентификации культур



## Резистентность:

- При комнатной температуре во влажной атмосфере сохраняется долго
- При 60 °С отмирает в течение 10 мин
- в высушенных плёнках выдерживает температуру 98 °С в течение 1 ч
- при комнатной температуре сохраняется до 7 мес.
- На игрушках сохраняется до 2 нед
- в пыли — до 5 нед
- в воде и молоке — до 6-20 сут
- на рассеянном свете жизнеспособны до 8 ч.
- Дезинфектанты и антисептики инактивируют возбудителя в течение 5-10 мин.

## Резервуар:

- человек (больной, реконвалесцент, бактерионоситель); наибольшую эпидемическую опасность представляют больные лица
- Реконвалесценты выделяют дифтерийную палочку в течение 15-20 сут.

## путь передачи

- аэрогенный (воздушно-капельный)
- Контактный (через предметы, инфицированные пищевые продукты (обычно молоко))

## Патогенез

- Входные ворота— слизистые оболочки носоглотки, иногда глаз, половых органов (у женщин), повреждённые кожные покровы
  - Дифтерийная палочка колонизирует ткани в месте внедрения, вызывая развитие местного фибринозного воспаления
  - При этом тип воспаления зависит от строения слизистых оболочек:
    - Например, в однослойном цилиндрическом эпителии дыхательных путей формируется крупозное воспаление,
    - на многослойном плоском эпителии образуется жёлто-серая фибринозная плёнка, плотно спаянная с прилежащими тканями: состоит из разрушенного эпителия, фибрина, лейкоцитов, бактерий (дифтеритическое воспаление)
- При ее снятии – слизистая кровоточит



В процессе размножения бактерии в некротических участках накапливается экзотоксин, что приводит к отеку слизистой. Разрастание плёнок и переход процесса на воздухоносные пути могут вызвать асфиксию

Системные проявления обусловлены действием токсина, поражающего нервную систему (преимущественно периферические симпатические узлы), сердце и сосуды, надпочечники и почки

Ферменты дифтерии (гиалуронидаза, нейраминидаза, фибринолизин) обеспечивают проникновение возбудителя в различные ткани, включая кровоток. Однако (в отличие от токсинемии) бактериемия клинически не проявляется

## Клиника

- инкубационный период - 2-12 сут.
- период манифестных проявлений фибринозного процесса и ранних токсических осложнений (первые 5-10 сут)
- период поздних токсических осложнений (не обязательный, с 10-12 сут до 6 нед),
- период реконвалесценции (2-3 мес после исчезновения проявлений).

В зависимости от локализации дифтерии выделяют

- поражения ротоглотки (наиболее часто),
- дыхательных путей, носа и
- редкой локализации (глаза, наружные половые органы, кожа, раневые поверхности)

- Синдром интоксикации
- Синдром местного фибринозного воспаления
  - в ротоглотке
  - в гортани
  - при дифтерии кожи и половых органов



# Иммунитет

- антитоксический и антибактериальный (15% населения)
- у грудных детей – пассивный иммунитет
- постинфекционный иммунитет нестойкий (6-7% повторное заболевание)

# Профилактика

- ранняя диагностика
- Изоляция
- Дезинфекция
- выявление носителей
- Специфическая профилактика



# Специфическая профилактика:

- Анатоксин

АКДС – комплексная ассоциированная комбинированная вакцина:

- дифтерийный анатоксин
- столбнячный анатоксин
- взвесь убитых коклюшных палочек



вакцинируют детей с 3-х мес возраста с последующей ревакцинацией

Для ревакцинации вводят АДС

Наличие антитоксического иммунитета

- Определяется наличием защитных АТ к дифтерийному токсину в РНГА
- ранее ставилась р. Шика 1/40 DLM в 0,2 мл NaCl в/к в область предплечья, ч/з 24-48 час – гиперемия, припухлость (2 см в d) – при отсутствии в крови антитоксина, при его наличии реакция – (р. нейтрализации)



# Лечение

1. основу специфической терапии составляет противодифтерийная лошадиная сыворотка (антитоксин), содержащая не менее 2000 МЕ/1мл, в/м в дозах, соответствующих тяжести заболевания

- вводят дробно



1895г.



## Лечение

2. Параллельно антимикробные препараты (цефалоспорины, аминогликозиды)
3. Симптоматическая терапия



Материал исследования:



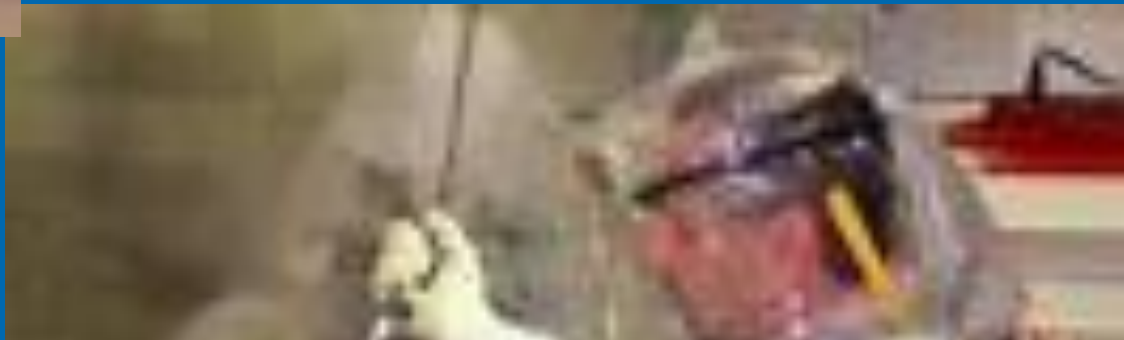
## Методы исследования:

- Микроскопический
- Микробиологический (положителен в 50-70%)
- биологический



# Работа в ламинарном боксе





Работа в  
ламинарном боксе

**Спасибо за внимание**

