



ЛЕКЦИЮ ЧИТАЕТ



**Заведующий
Кафедрой
микробиологии,
вирусологии и
иммунологии
доктор медицинских
наук, профессор
Минухин Валерий
Владимирович**

Тема лекции:

***Микробиологическая
диагностика
дифтерии***



План лекции:

- 1. Определение заболевания «дифтерия». Краткий исторический очерк.
- 2. Биологические свойства возбудителя.
- 3. Патогенез и клинические проявления.
- 4. Методы лабораторной диагностики.
- 5. Лечение дифтерии. Методы профилактики.

Дифтерия –

- острое инфекционное заболевание, которое проявляется глубокой интоксикацией организма дифтерийным токсином и характерным фибринозным воспалением в месте локализации возбудителя.

История вопроса

1883 – 1884 гг. – Ф. Леффлер и Э. Клебс выделили и получили чистую культуру возбудителя.

1888г – Э. Ру и А. Иерсен обнаружили экзотоксин.

1892г – Э. Беринг получил антитоксическую сыворотку.

1923г – Г. Рамон предложил иммунизацию дифтерийным анатоксином.

Возбудитель дифтерии

**Corynebacterium
diphtheriae** (лат.)

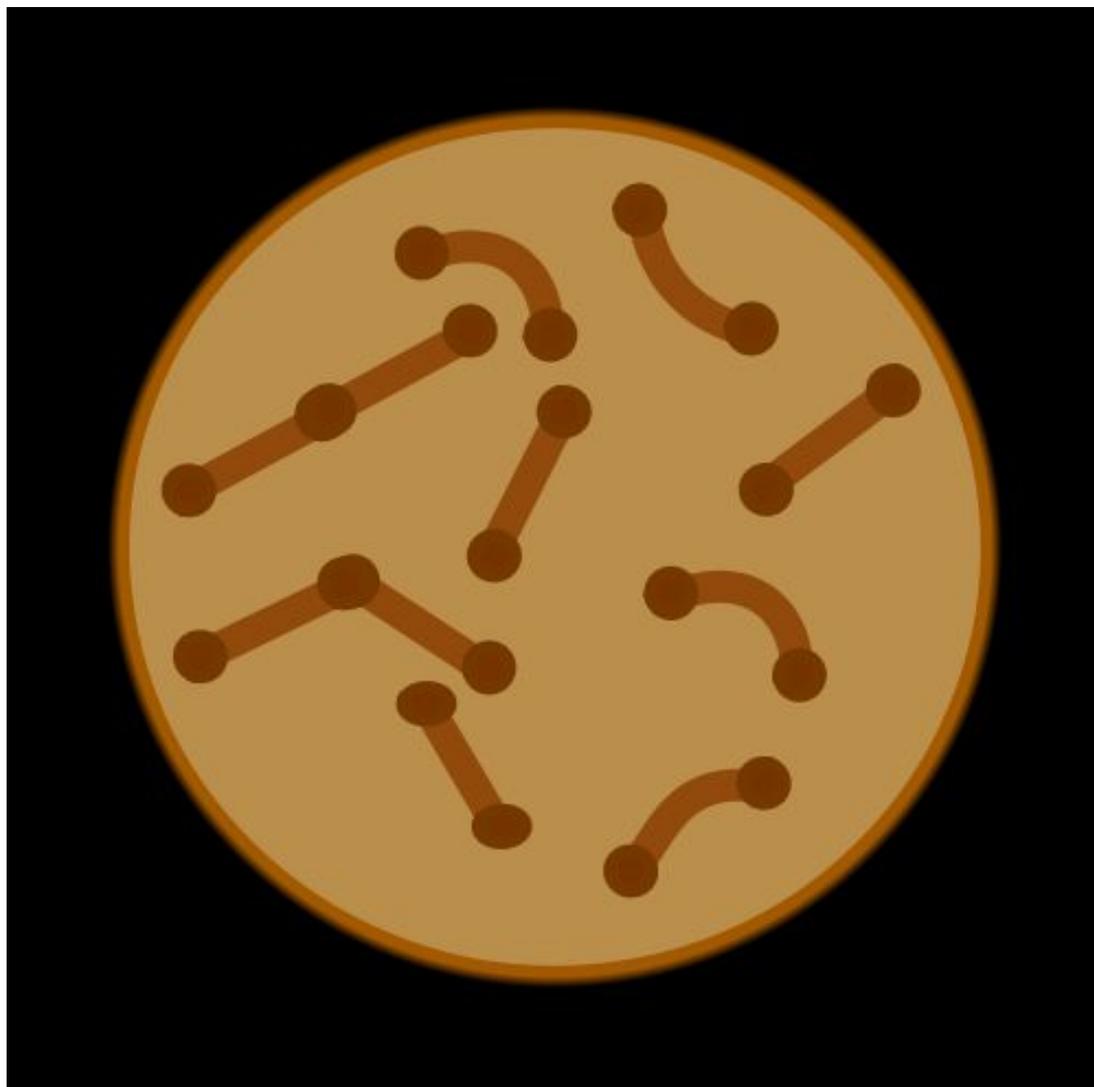
Дифтерийная палочка —

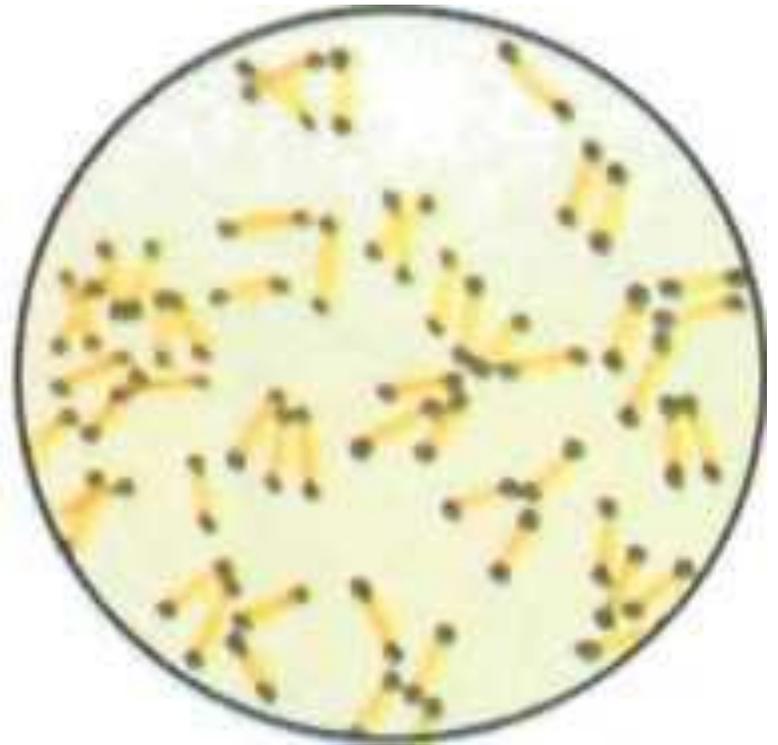
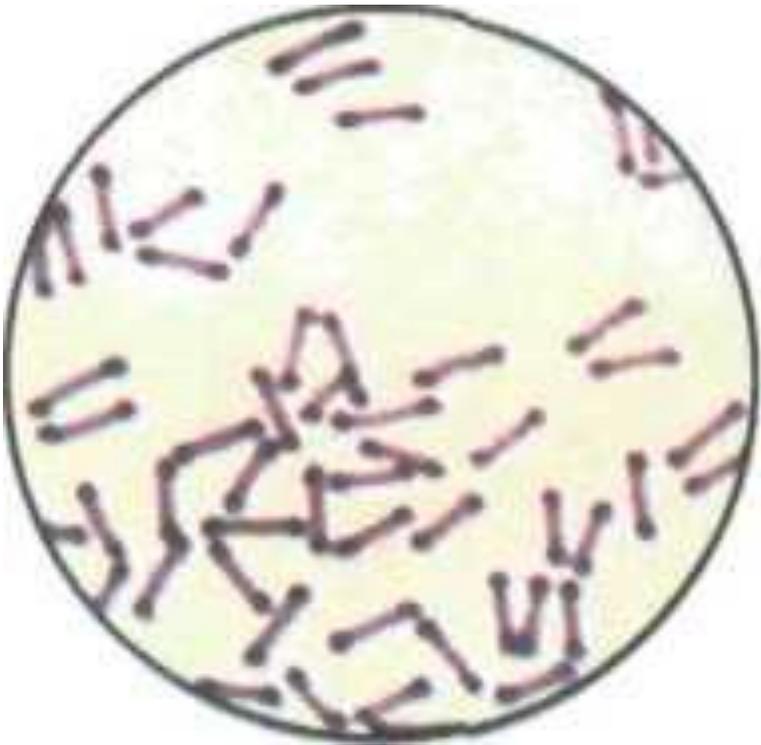
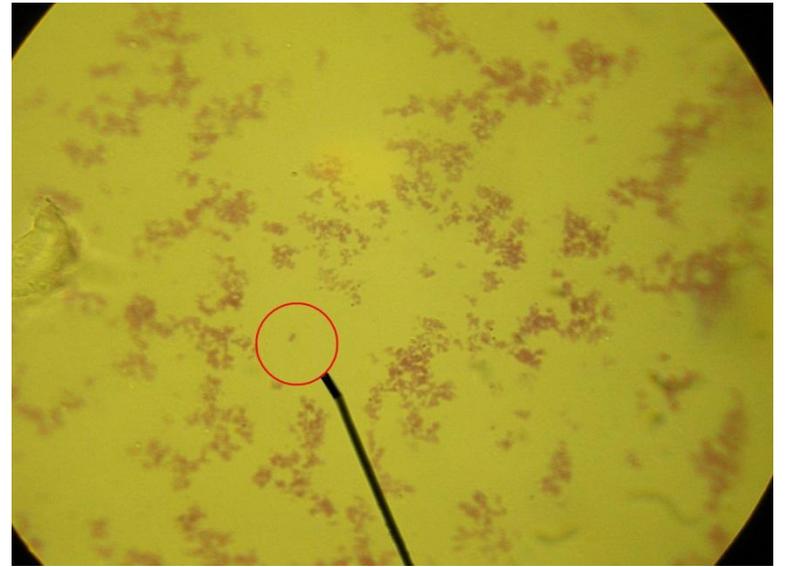
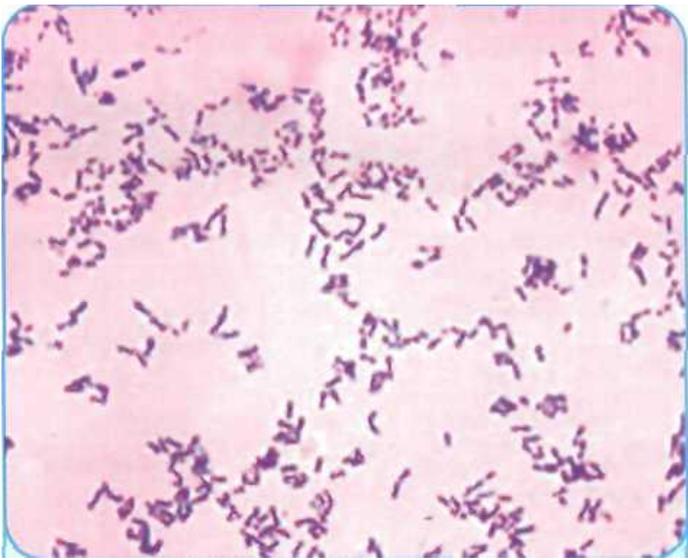
- грамположительные палочковидные бактерии рода *Corynebacterium*.
- *Corynebacterium diphtheriae* — крупные, прямые, слегка изогнутые полиморфные палочковидные бактерии.
- Длина 1—6 мкм и шириной 0,3—0,8 мкм с утолщениями на концах.

- У истинно дифтерийной палочки - на полюсах клеток локализуются метахроматические зёрна волютина, придавая клеткам характерную форму «булавы».
- Этих «зерен» - 2.

- Зёрна волютина (тельца Бабеша-Эрнста) окрашиваются метиленовым синим по Нейссеру.
- Клетки бактерий на микропрепаратах располагаются одиночно, или, вследствие особенностей деления клеток, располагаются в форме латинской буквы V или Y.
- Спор и капсул не образуют.

Схематическое воспроизведение мазка





Чистая культура возбудителя



Коринебактерии

(окр. синькой)



ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Культуральные свойства:

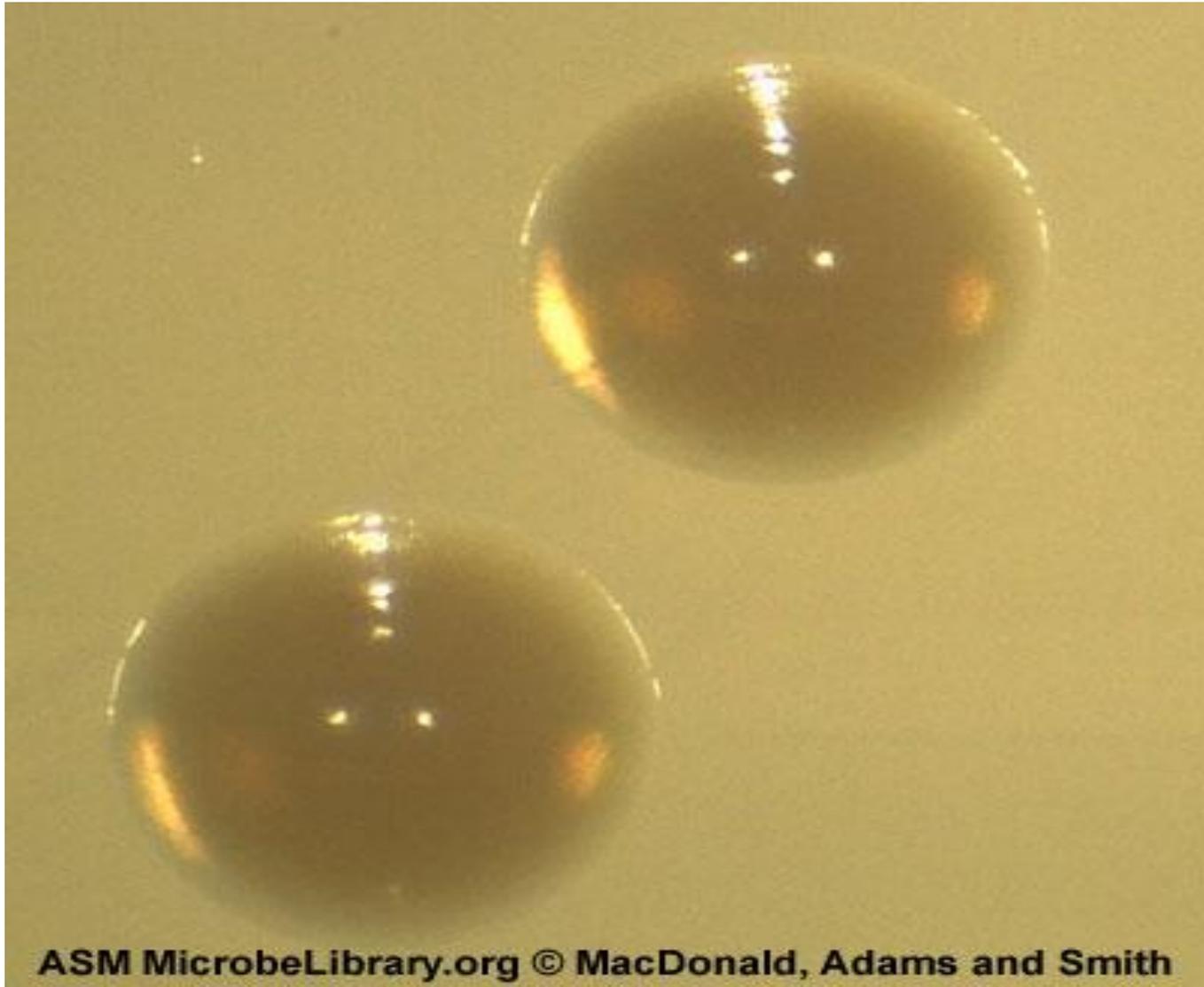
Хемоорганогетеротроф,
факультативный анаэроб.

Палочки дифтерии растут только на сложных питательных средах, содержащих сыворотку (свёрнутая лошадиная сыворотка – среда Ру, смесь бычьей сыворотки с сахарным бульоном – ср. Леффлера).

На кровяном агаре с теллуридом (ср. Клаубера) - колонии чёрного цвета.



Колонии *C.diphtheriae* (сывороточный агар)



- По культурально-морфологическим и ферментативным свойствам различают 3 биовара:
gravis, mitis и intermedius.

**Тип *gravis* -
сбраживает крахмал.**

**Типы *mitis* и *intermedius* -
нет.**

Тип Gravis:

- Имеет R- форму колоний.
- Эти колонии - крупные шероховатые.
- На плотных питательных средах, на среде с теллуrom чёрного цвета. На жидких питательных средах — плёнка и зернистый осадок.

Тип mitis:

- Образует колонии S- формы: гладкие с блестящей поверхностью на плотных питательных средах, на среде с теллуrom чёрного цвета.
- На жидких питательных средах — диффузное помутнение.

Тип intermedius:

- промежуточная форма между двумя вышеперечисленными.
На плотных питательных средах — мелкие колонии, в процессе роста на жидких средах дают помутнение и осадок.

Факторы патогенности

- 1. Поверхностные структуры белкового и липидного происхождения (корд-фактор).
- 2. Миколовые кислоты микрокапсулы.
- 3. Ферменты и токсины.

Ферменты адгезии и инвазии:

- 1. Нейраминидаза.
- 2. N-ацетилнейрамиатлиаза.
- 3. Гиалуронидаза –
обеспечивает отек тканей!
- 4. Гемолизин.
- 5. Дермонекротоксин.

Токсигенность (Ру, 1888 г.)

- Возбудителем заболевания являются токсигенные штаммы Corynebacterium diphtheriae.
- Токсигенные коринебактерии дифтерии обладают геном tox^+ , детерминирующим синтез дифтерийного экзотоксина.

Способность токсигенных коринебактерий дифтерии к токсинообразованию не утрачивается и не изменяется:

1. При длительной циркуляции в коллективах иммунных лиц.

2. В процессе лечения больных противодифтерийной сывороткой или санации бактерионосителей антибиотиками.

Экзотоксин состоит из 2-х фрагментов:

- 1. А – проявляет ферментативной активностью.
- 2. В – обладает рецептор связывающей активностью.
- Механизм действия: ингибирует синтез белка, в т.ч в миокарде (миокардит)!
- А так же – блокирует синтез белка в миокарде, а так же демиелинизация нервных волокон.

Устойчивость во внешней среде

Возбудитель Д. может длительно сохраняться на фибринозных пленках, удаленных из очага воспаления (до 3-5 мес.), на поверхности сухих предметов и в пыли (до 2 мес.), в продуктах питания (до 2-3 нед.), в трупах - (до 2 нед.).

Быстро погибают под воздействием прямого солнечного света, дезинфицирующих средств, при влажной уборке.

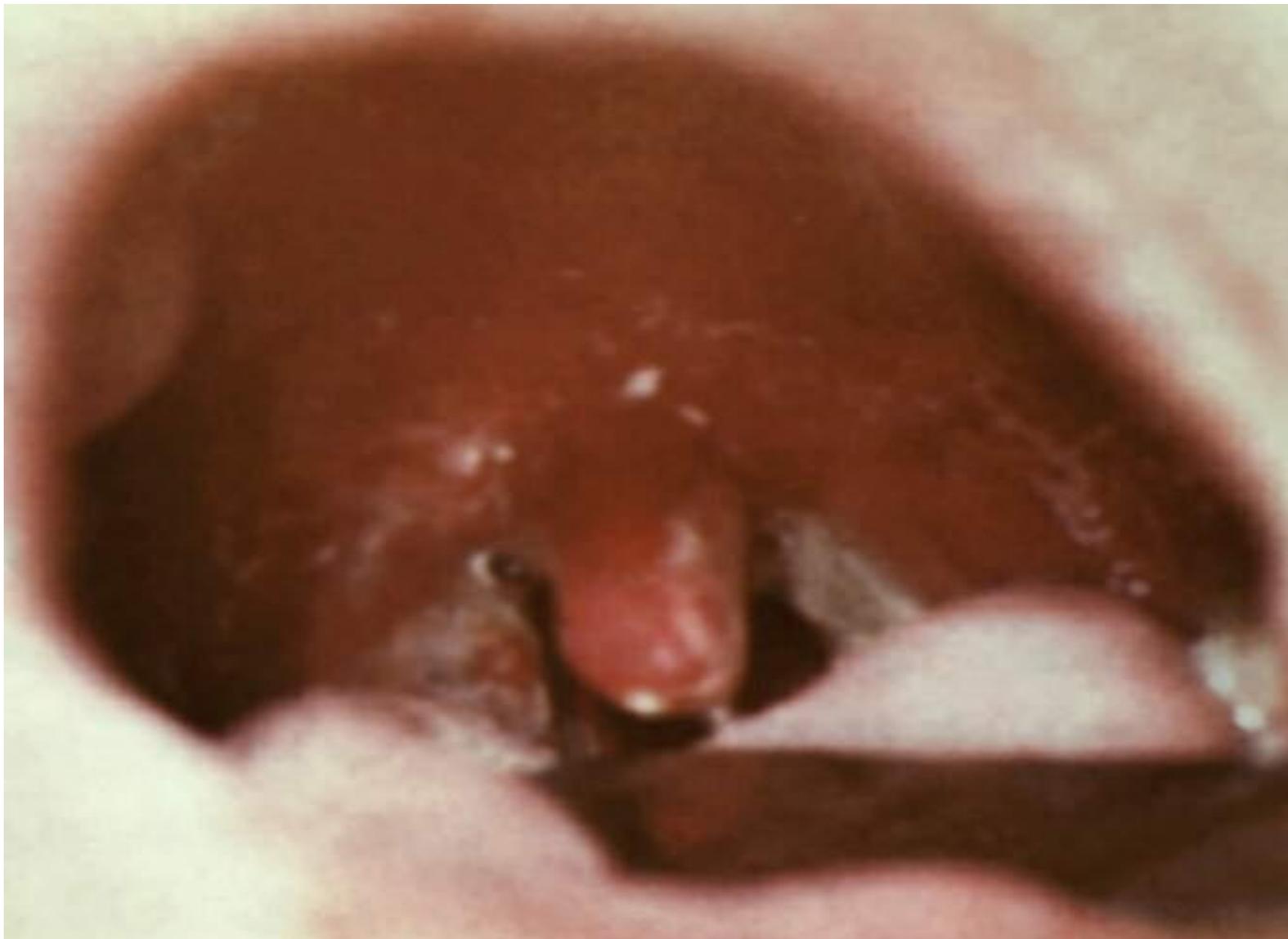
Эпидемиология инфекции:

- **Источник инфекции – больной человек.**
- **Инкубационный период – чаще 2-7 сут.**

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ДИФТЕРИИ

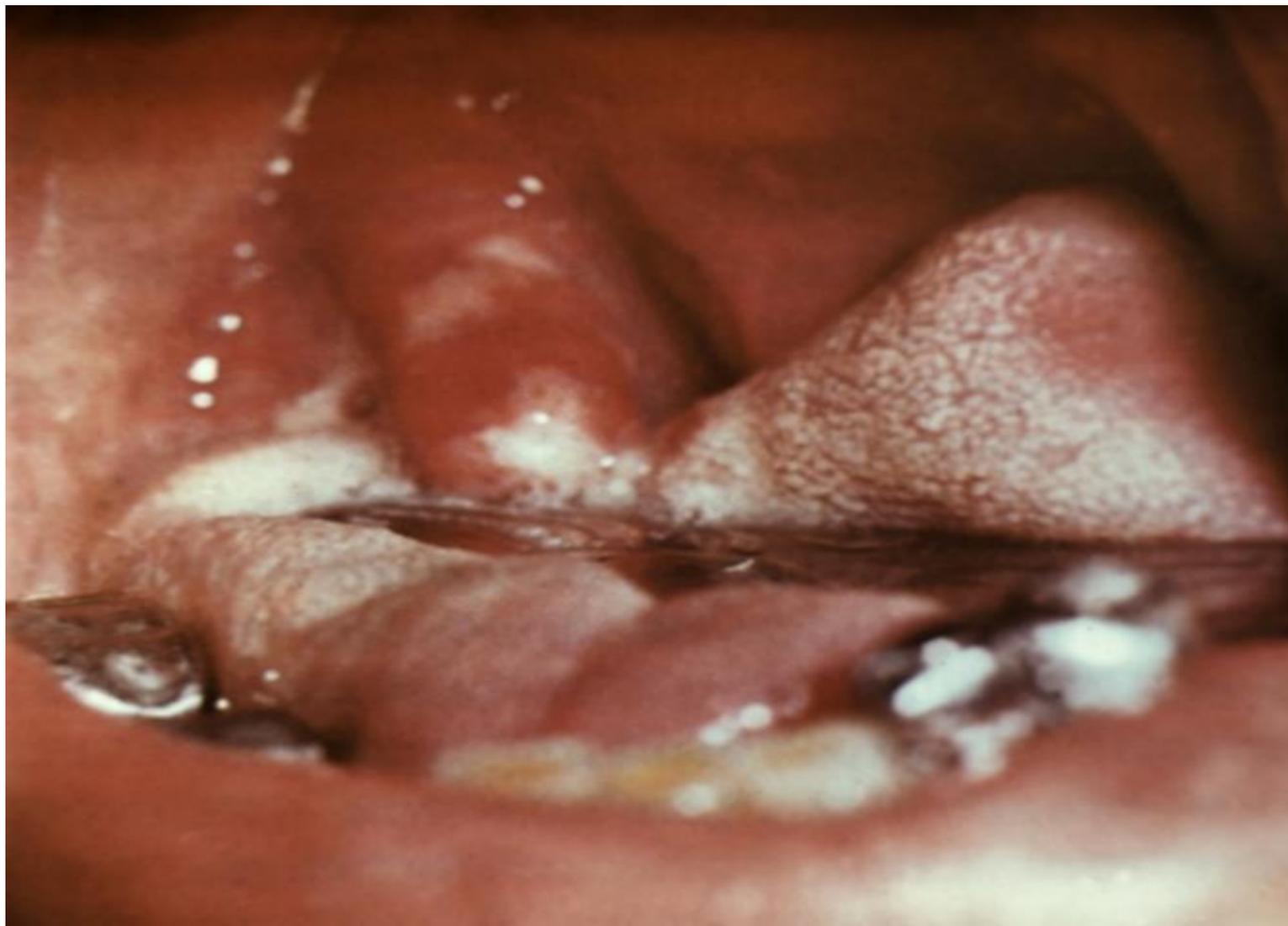
Клинические формы дифтерии (Д)

- Д. вульвы - отек половых губ, изъязвления и гнойные выделения.
- Д. глаза - отек век, фибринозный налет на конъюнктиве век.
- Д. кожи – сыпь и геморрагические пятна, пустулы.
- Д. носа - серозно-кровянистые выделения (ринит).
- Д. раны – осложнение раневого процесса.
- Д. токсическая – обширные фибринозные пленчатые налеты в зеве, выраженным регионарным лимфаденитом, отеком шейной клетчатки и явлениями интоксикации.



Распространенная дифтерия ротоглотки: серовато-белые отторгающиеся налеты на гиперемированных с цианотичным оттенком небных миндалинах, дужках и язычке.

Токсическая форма Д.







Дифтерия

Выраженный отек шеи. Ребенок не может закрыть рот. Язык приподнят. Ринит. Субфебрильная температура. Ребенок погиб от миокардита. Антитоксина не было. Лаос.

(«бычья шея»)

Дифтерия кожи



Осложнения дифтерии

- связаны с повреждением нервных и других клеток крайне ядовитым дифтерийным токсином.
- Миокардиты, нарушения работы нервной системы, которые обычно проявляются в виде параличей. Чаще всего дифтерия осложняется параличами мягкого нёба, голосовых связок, мышц шеи, дыхательных путей и конечностей.
- Из-за паралича дыхательных путей может наступить асфиксия (при крупе), провоцирующая летальный исход.

Иммунитет при дифтерии

- После перенесённого заболевания формируется стойкий иммунитет, но через 10-11 лет 5-7% переболевших может заболеть повторно.
- Повторное заболевание носит нетяжёлый характер и переносится легче.

Диагностика дифтерии:

Материал для исследования берут 2 тампонами: дифтерийные пленки, полученные со слизистых оболочек носа и ротоглотки, глаз, гениталий, кожи и др.

Посев на питательные среды необходимо осуществить не позднее 2-4 часов после взятия материала. – выделение чистой культуры.

Бактериоскопическое исследование:

- Окраска по методу Нейссера для выявления телец Бабеша-Эрнста.
- **ВНИМАНИЕ!**
- Следует дифференцировать от других зернистообразующих бактерий – стрептобацилл.

Бактериологическое исследование:

- 1. Посев материала от больного на питательные среды: Клауберга, Маклеода и/или кровяной агар.
- 2. Далее часть колонии пересевают на среду Ру.
- 3. После выделения чистой культуры – посев на среды Гисса.

Определение токсигенности:

- 1. На морских свинках массой 250 гр. - подкожно или внутрикожно (0,5-1,0 мл) живой культуры.
- 2. *In vitro* – реакция преципитации в агаровом геле с использованием стандартных штаммов заведомо токсигенных и не токсигенных референс-штаммов *C.diphtheriae*.
- 3. ПЦР-диагностика –выявление фрагмента А гена *tox*.

Серологическая диагностика:

- Определение нарастания титра антитоксических антител производится с помощью РНГА и имеет вспомогательное диагностическое значение.
- Эта реакция используется для определения напряженности противодифтерийного иммунитета для решения вопроса о необходимости проведения ревакцинации.

Специфическая профилактика

- адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина (АКДС-вакцина),
- адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин (АДС-анатоксин),
- адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин с уменьшенным содержанием антигенов (АДС-М-анатоксин),
- адсорбированный дифтерийный анатоксин с уменьшенным содержанием антигена (АД-М-анатоксин).

Вакцинация – в 3 месяца.

Ревакцинация – 1,5-2 года, 9-16 лет, далее через каждые 10 лет.

Для лечения применяется

- Антитоксическая
- противодифтерийная
- сыворотка.
- Антибиотики.



Один из первых пузырьков дифтерийного
антитоксина (1895), произведённый
Гигиенической Лабораторией
Соединённых Штатов Америки

